



# 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

## STUDIUM VLIVU PROTEINŮ NA STABILITU PIVNÍ PĚNY

INFLUENCE OF BEER PROTEIN ON FOAM STABILITY

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

David Benda

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1556/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **David Benda**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Biotechnologie  
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Studium vlivu proteinů na stabilitu pивní pěny

### Zadání bakalářské práce:

Definovat vliv proteinů na vlastnosti a stabilitu pивní pěny

1. Zpracovat literární rešerši na dané téma
2. Vyvinout a validovat analytickou metodu pro stanovení celkového obsahu proteinů v pивu na základě Kjeldalovy metody
3. Zajistit dostatečné množství komerčních vzorků pив
4. Provést stanovení celkového obsahu proteinů
5. Stanovit vlastnosti a stabilitu pěny pomocí Rudinovy metody
6. Definovat závěry experimentu

### Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

-----  
David Benda  
student(ka)

-----  
Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá studiem vlivu proteinů, fenolických látek, hořkosti a vybraných kationtů kovu na stabilitu pивní pěny. V teoretické části je popsána pěna z fyzikálního hlediska, stabilita pивní pěny a způsoby jejího měření a faktory, které pozitivně či negativně stabilitu a kvalitu pивní pěny ovlivňují. Dále jsou popsány vybrané proteiny, které mají na stabilitu pивní pěny vliv, jejich původ a technologický význam. Experimentální část je zaměřena na stanovení stability pивní pěny metodou NIBEM, analýzu celkového obsahu proteinů v pivu, analýzu obsahu fenolických látek, hořkosti a prvkovou analýzu vzorků pивa. Celkem bylo analyzováno 36 piv tuzemské výroby, z toho 16 piv bylo výčepních, 15 piv ležáckého typu a 5 piv ležáckého typu z minipivovarů. Z naměřených dat byly zjištěny korelace mezi celkovým obsahem proteinů, fenolických látek, hořkosti a kovových iontů se stabilitou pивní pěny. Z výsledků vyplývá, že proteiny a fenolické látky jako izolované parametry nemají zcela zásadní vliv na stabilitu pивní pěny. Avšak hořkost jako izolovaný parametr má na stabilitu pивní pěny vliv.

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with the influence of beer proteins, phenolic compounds, bitterness and selected metal ions on beer foam stability. The theoretical part describes beer foam from the physical aspect, beer foam stability and its measurement and the factors that positively or negatively influences the stability and quality of the beer foam. In the theoretical part are described selected proteins that influence beer foam. In theoretical part is described the origin and technological significance of proteins. The experimental part is dedicated to the measurement of beer foam stability with the NIBEM method, the analysis of total protein content, the analysis of total phenolic content, bitterness and element analysis of beer samples. Measured data indicated correlations between protein content, phenolic compounds content, bitterness and metal ions with the beer foam stability. The results show that proteins and phenolic compounds as isolated parameters don't essentially affect the beer foam stability. It was found out, that bitterness as isolated parameter influences the beer foam stability the most.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Pивní pěna, stabilita pивní pěny, bílkoviny, fenolické látky, hořkost, NIBEM, UV-VIS, ICP-OES

## **KEY WORDS**

Beer foam, beer foam stability, proteins, phenolic compounds, bitterness, NIBEM, UV-VIS, ICP-OES

## **CITACE**

BENDA, David. *Studium vlivu proteinů na stabilitu pивní pěny*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124163>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval vedoucímu své bakalářské práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za odborné rady, pomoc při zpracování dat, připomínky a čas, který mi věnoval, dále bych chtěl poděkovat Ing. Lence Punčochářové za pomoc při měření, ochotu, rady při psaní bakalářské práce a trpělivost. Děkuji taktéž Ing. Jakubu Křikalovi za ochotu a pomoc při měření. Mé poděkování patří taktéž Ing. Ivetě Černoškové, vedení pivovaru Zubr, a. s., a jeho laborantkám za umožnění měření na jejich přístrojích, za jejich ochotu a odbornou pomoc. Rád bych taktéž poděkoval nejbližším kolegům za pomoc při studiu a rodině za podporu a vytvoření ideálních studijních podmínek.

## OBSAH

1	ÚVOD .....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	8
2.1	FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI PĚNY .....	8
2.1.1	Definice pěny .....	8
2.1.2	Klasifikace pěn .....	8
2.1.3	Statická a dynamická pěna .....	9
2.2	TVORBA A ROZPAD PĚNY .....	9
2.2.1	Vznik pěny a velikost bublin .....	9
2.2.2	Vysychání pěny .....	10
2.2.3	Korálkování, nukleační aktivita .....	11
2.2.4	Koalescence .....	12
2.2.5	Disproporcionace .....	13
2.3	STABILITA PĚNY .....	13
2.3.1	Pěnotvorná činidla .....	14
2.3.2	Struktura pивní pěny .....	14
2.4	MĚŘENÍ STABILITY PIVNÍ PĚNY .....	15
2.4.1	Vodivostní měřiče založené na poklesu povrchu pивní pěny .....	15
2.4.2	Vodivostní měřiče založené na měření vodivosti pěny .....	16
2.4.3	Optické měřiče založené na průchodu světla pěnou .....	16
2.4.4	Měření pohybu rozhraní mezi pivem a pěnou .....	16
2.4.5	Měření stability pивní pěny měřiči s digitální kamerou .....	16
2.5	FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PĚNIVOST .....	17
2.5.1	Látky pozitivně ovlivňující kvalitu pивní pěny .....	17
2.5.2	Látky negativně ovlivňující kvalitu pивní pěny .....	18
2.5.3	Ostatní faktory ovlivňující kvalitu pивní pěny .....	19
2.6	PŮVOD A TECHNOLOGICKÝ VÝZNAM BÍLKOVIN V PIVU .....	19
2.6.1	Sladovnický ječmen .....	19
2.6.2	Zásobní látky ječmene a jejich technologický význam .....	19
2.6.3	Obsah bílkovin v ječném zru .....	20
2.7	DUSÍKATÉ LÁTKY OBSAŽENÉ V PIVU .....	21
2.7.1	Rozdělení dusíkatých látek podle molekulové hmotnosti .....	21
2.7.2	Intracelulární přenašeč lipidů .....	21
2.7.3	Protein Z .....	22
2.7.4	Bílkoviny vázající lipidy .....	22
2.7.5	Hordeiny .....	22
2.7.6	Volně vázaný aminový dusík .....	22
2.7.7	Vliv použité technologie na obsah bílkovin v pivu .....	24
2.8	METODY PRO STANOVENÍ OBSAHU BÍLKOVIN .....	24
2.8.1	Kjeldahlova metoda .....	24
2.8.2	UV-VIS Spektrofotometrie .....	24
2.9	METODY STANOVENÍ HOŘKÝCH LÁTEK .....	26
2.10	METODY STANOVENÍ FENOLICKÝCH LÁTEK .....	26
2.11	OPTICKÁ EMISNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM .....	27
3	CÍL PRÁCE .....	29
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	30
4.1	LABORATORNÍ VYBAVENÍ .....	30
4.1.1	Přístroje .....	30

4.1.2	Pomůcky .....	30
4.1.3	Chemikálie .....	30
4.2	SPECIFIKACE VZORKŮ .....	31
4.3	ÚPRAVA VZORKŮ .....	33
4.4	POSTUPY STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH CHARAKTERISTIK .....	34
4.4.1	Stanovení obsahu proteinů Hartree–Lowryho metodou.....	34
4.4.2	Stanovení celkových fenolických látek.....	34
4.4.3	Stanovení hořkosti.....	34
4.4.4	Prvková analýza .....	34
4.4.5	Stanovení stability pивní pěny .....	36
5	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	37
5.1	STANOVENÍ STABILITY PIVNÍ PĚNY .....	37
5.2	STANOVENÍ CELKOVÝCH PROTEINŮ A JEJICH VLIV NA STABILITU PIVNÍ PĚNY.....	39
5.3	STANOVENÍ CELKOVÝCH FENOLICKÝCH LÁTEK A JEJICH VLIV NA STABILITU PIVNÍ PĚNY 41	
5.4	STANOVENÍ HOŘKOSTI PIV .....	44
5.5	PRVKOVÁ ANALÝZA PIV .....	46
5.6	VÍCEROZMĚRNÁ ANALÝZA DAT.....	47
5.7	VLIV SKUPINOVÝCH PARAMETRŮ NA STABILITU PIVNÍ PĚNY .....	49
	ZÁVĚR.....	50
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	52
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	59
	PŘÍLOHY.....	60

# 1 ÚVOD

Typická česká spodně kvašená piva jsou charakteristická svou pěnou. Pivní pěna patří mezi znaky, které jsou konzumentem vnímány jako první. Pivní pěna, která se vytvoří po nalití piva do sklenice, by měla být ideálně bohatá, dlouhotrvající a ve sklenici by měla zaujímat velký objem. Kromě toho může být hodnocena i na základě její stability, barvy, krémovitosti a ulpívání na skle, tzv. kroužkování. Pivní pěna je z fyzikálního hlediska disperze plynu v kapalině. Na její kvalitu (popř. stabilitu) působí řada faktorů, ať už pozitivních, či negativních. Mezi pozitivní faktory patří především bílkoviny s hydrofobní strukturou, ale také hořké látky původem z chmele, látky fenolické povahy, některé kovové ionty atp. Mezi faktory negativně ovlivňující kvalitu pivní pěny patří především lipidy, bazické aminokyseliny a proteolytické enzymy [1, 2].

Mezi nejčastěji používané metody pro měření stability pivní pěny patří metoda NIBEM, Sigma head value, Rudin head retention nebo měření stability pivní pěny podle Rosse a Clarka. Kvalita pivní pěny může být určena i podle indexu ulpívání na skle, případně třepáním [2].

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, zda a jakým způsobem ovlivňuje obsah proteinů, hořkých chmelových látek, fenolických látek, makroprvků a stopových prvků stabilitu a vlastnosti pivní pěny. Piva analyzovaná v této práci byla komerčně dostupná piva výčepní a ležácká z průmyslových pivovarů a ležácká piva z minipivovarů. Obsah proteinů, fenolických látek a hořkých kyselin byl stanoven pomocí UV-VIS spektrofotometrie, stabilita pivní pěny byla měřena metodou NIBEM, prvková analýza byla provedena metodou ICP-OES. Pro posouzení statisticky významných rozdílů byla použita analýza rozptylu (ANOVA). Pro vícerozměrnou analýzu byla použita analýza hlavních komponent (PCA). Výsledky byly srovnány se dostupnou literaturou.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Fyzikální vlastnosti pěny

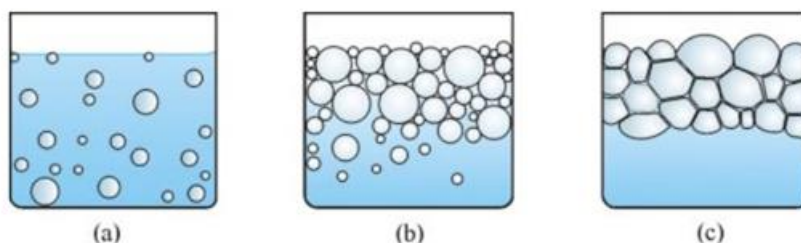
#### 2.1.1 Definice pěny

Pěna je z fyzikálního hlediska disperzí plynu v kapalině, resp. v kapalném prostředí, kde dispergovanou fází je vždy plyn. Částice disperzní fáze bývají velké, vlastnosti pěny jsou ale významně ovlivňovány především tenkými přepážkami, které oddělují jednotlivé bubliny pěny. Reálné pěny bývají polydisperzní, mívají nižší stupeň disperzity než jiné disperzní soustavy a zároveň mají vysoký objemový podíl disperzní fáze [2, 3].

#### 2.1.2 Klasifikace pěn

Hlavním faktorem pro klasifikaci pěn je zastoupení dispergované fáze uvnitř systému:

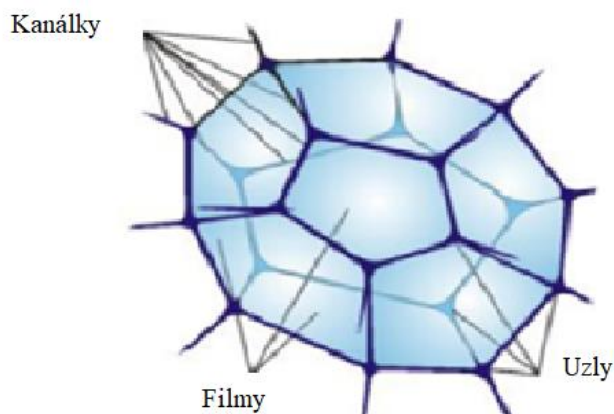
- Málo koncentrované pěny – bubliny disperzní fáze jsou od sebe velmi vzdálené, vyznačují se krátkou životností a nejčastěji se vyskytují u piva, perlivých a šumivých vín a sodovek.
- Vlhké pěny – bubliny jsou odděleny silnou vrstvou disperzního prostředí, zachovávají si kulovitý tvar, vlivem gravitace u nich dochází k odvodnění, čímž se mění na suchou pěnu, ale celkový objem pěny se mění jen minimálně.
- Suché pěny – plynný podíl tvoří více než 90 % objemu, vzájemné stlačování velkého podílu disperzní fáze je důsledkem vzniku nekulových bublin, které potom zaujímají spíše tvar mnohostěnu [3].



Obrázek 1: (a) Zředěná soustava plyn-kapalina, (b) vlhká pěna, (c) suchá pěna [3]

Dispergované částice suché pěny mívají plástvovitý tvar, jednotlivé polyedrické buňky dispergované fáze jsou odděleny tenkým filmem disperzního prostředí. Za ideální tvar buněk suché pěny je považován pětiúhelníkovitý dvanáctistěn. V ideálním případě je mezi třemi stěnami buněk svírán úhel  $120^\circ$  a tvoří tzv. Gibbsův-Plateauův kanálek, který je zaplněn disperzním prostředím. Povrch kanálku má konkávní tvar a dochází zde ke kapilárním jevům. Kvůli konkávnímu tvaru je pod zakřiveným povrchem tlak v kapalině nižší než ve stěnách jednotlivých buněk, což vede k přenosu kapaliny z částí plochých do částí konkávních. Idealizované buňky nejsou schopny svým tvarem zaplnit celou plochu dispergovaného systému. Počet filmů, které v reálné pění obklopují buňku dispergované fáze je blízký čtrnácti. Místo, ve kterém se stýkají vrcholy sousedních polyedrů, se nazývá uzel a ústí do něj čtyři kanálky. Pomocí kanálků a uzlů je tvořena tzv. rozvětvená soustava, po které je uskutečněn přenos kapalně fáze disperzního systému za pomoci gravitační síly [3].





Obrázek 2: Ideální buňka suché pěny [3]

### 2.1.3 Statická a dynamická pěna

Rozdíl mezi statickou a dynamickou pěnou spočívá ve způsobu doplňování disperzním podílem. V případě statické pěny není pěna kontinuálně doplňována disperzním podílem, což má za následek ztenčení filmů mezi jednotlivými buňkami, důsledkem čehož dojde k praskání bublin a následnému opadnutí pěny. U dynamické pěny je podíl plynu doplňován kontinuálně, pěna je v ustáleném stavu a rychlost tvorby a zániku bublin jsou si rovny [3].

## 2.2 Tvorba a rozpad pěny

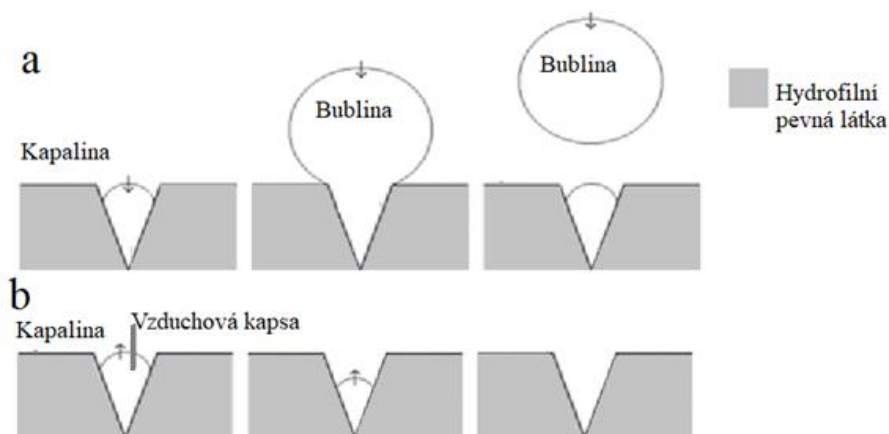
Z fyzikálního hlediska se vznikem a zánikem pěny zabýval Ronteltap a spol., kteří rozdělili celkový proces na 4 části – vznik bublin, odvodňování pěny, disproporcionaci a koalescenci. Bamforth u pěny sledoval navíc její korálkování (angl. beading) [1, 4, 5].

### 2.2.1 Vznik pěny a velikost bublin

Bubliny nápoje přesyceného oxidem uhličitým nevznikají samovolně, k jejich vzniku je potřeba nukleační (katalytické) centrum. Tím může být již existující mikrobublina, oděrka na stěně sklenice či prachová částice. Nukleační centrum by mělo být ideálně co nejmenší, aby byly tvořeny malé bublinky, které zajistí požadovanou krémovitost pěny ve sklenici a tzv. homodisperzní rozložení bublinek. Na vzniku pěny má podíl taktéž způsob nalití a úhel, pod kterým je kapalina přelita do sklenice [1, 2, 4].

Pokud je tvar vzniklé bubliny konkávní a její povrch je v nukleačním centru úplně smáčen okolní kapalinou, bublina se snaží zaujmout co možná nejmenší povrch. Tlak v bublině je ale větší, než je tlak v okolní kapalině, tudíž bublina praská a uvnitř obsažený plyn se rozpouští, což vede k inaktivaci katalytické polohy. V případě druhém je povrch bubliny konvexní, její povrch není úplně smáčen okolní kapalinou a plyn z přesyceného nápoje vniká do nukleačního centra, čímž je dosaženo růstu bubliny. Převodění plynu do bubliny z kapaliny je dosaženo prostou difuzí, jelikož Laplaceův tlak v bublině je daleko nižší než tlak v kapalině. Hodnota Laplaceova tlaku v bublině o poloměru 0,1 mm je 800 Pa, v přesyceném nápoji se hodnoty tlaků pohybují v rozmezí 0,3–0,4 MPa [1, 5].

Dalším způsobem tvorby pěny je dispergace plynu do kapaliny v přítomnosti pěnidla, kdy jsou větší bubliny mechanicky rozbity mícháním, třepáním či šleháním nebo kondenzačními metodami z přesycené kapaliny vlivem heterogenní nukleace či chemické reakce [3].



Obrázek 3: Porovnání vzniku bubliny v přesyceném roztoku (a) a v rovnovážném systému (b) [2]

Faktory ovlivňující vznik a velikost bublin popisuje následující rovnice [5]:

$$\text{Poloměr bublin} = \left[ \frac{3 \cdot R_m \cdot \gamma}{2 \cdot \rho \cdot g} \right]^{1/3}, \quad (1)$$

kde  $R_m$  je poloměr nukleační polohy (m),

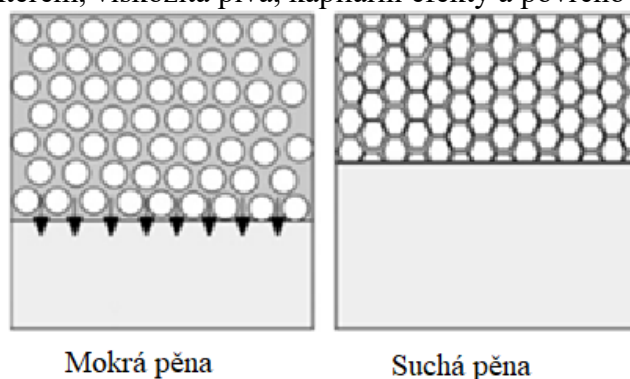
$\gamma$  je povrchové napětí ( $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ),

$\rho$  je relativní hustota ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ),

$g$  je gravitační konstanta ( $9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ ).

### 2.2.2 Vysychání pěny

Vysychání je jev, ke kterému dochází vlivem gravitačních sil a podtlaku. Vysychání mokré pěny vede k přeměně na pěnu suchou, u které vede následující vysychání ke ztenčení filmů kapaliny na povrchu bublin a případně i k destrukci bublin. Proti vysoušení pěny působí látky s hydrofobním charakterem, viskozita piva, kapilární efekty a povrchová viskozita piva [4, 5].



Obrázek 4: Schematické znázornění mokré a suché pěny [2]

Vysychání pěny je popsáno rovnicí [5]:

$$Q = \frac{2\rho g q \delta}{3\eta}, \quad (2)$$

kde  $Q$  je průtok kapaliny ( $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ),

$\eta$  je viskozita kapaliny tvořící film ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ),

$\rho$  je relativní hustota piva ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ),

$q$  je délka Plateauovy přepážky (m),

$g$  je gravitační zrychlení ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ ),

$\delta$  je tloušťka filmu (m).

Z uvedené rovnice lze nadále určit čas potřebný k vytvoření filmu o požadované tloušťce [5]:

$$t(\delta) = \frac{6\eta h}{\rho g \delta^2}, \quad (3)$$

kde  $h$  je výška filmu (m).

### 2.2.3 Korálkování, nukleační aktivita

Korálkování (angl. beading) piva je jev, při kterém je pěna doplňována jednotlivými bublinkami tvořenými v nukleačních centrech. Doplnění pěny by mělo ideálně trvat po celou dobu konzumace, aby byla pěna co možná nejvíce stálá. Nukleační aktivita je popsána rovnicemi [5]:

$$\alpha_n^0 = 3,11C + 0,0962\gamma - 218\rho + 216, \quad (4)$$

$$\alpha_n^0 = -10,7 - \gamma + 3060\rho - 2406 \quad (5)$$

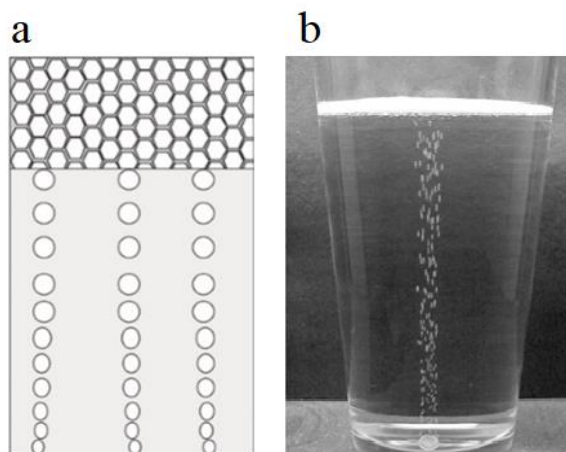
kde  $\alpha_n^0$  je počáteční nukleační aktivita (-),

$\gamma$  je povrchové napětí ( $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ ),

$\rho$  je hustota ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ),

$C$  je podíl  $\text{CO}_2$  v pivu ( $V_{\text{CO}_2}/V_{\text{Pivo}}$ ).

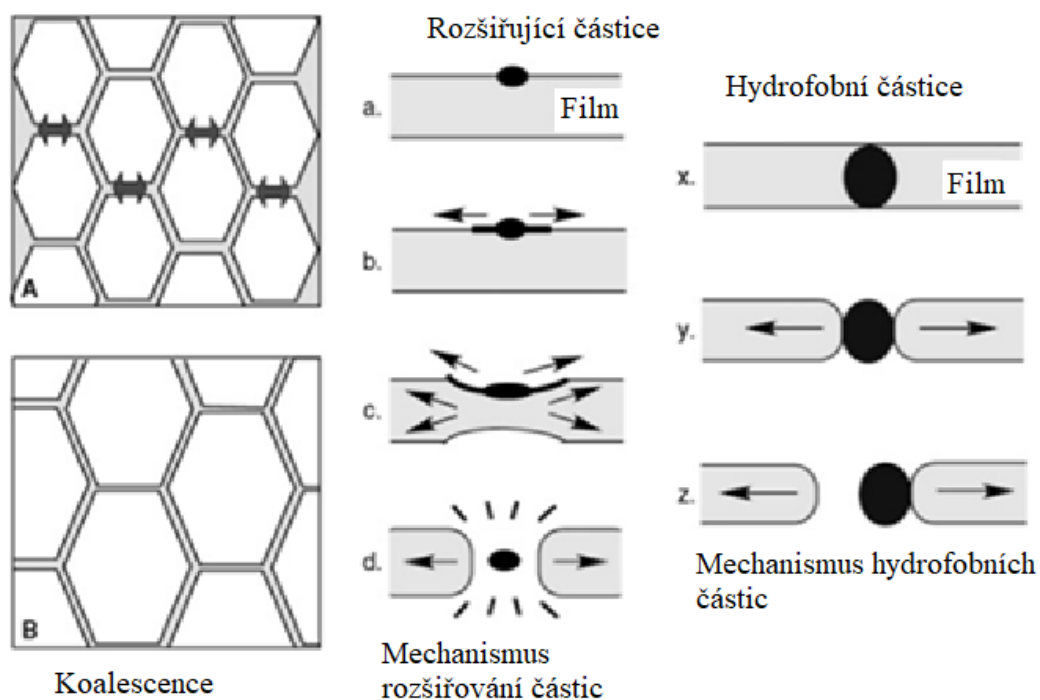
První uvedená byla vytvořena na základě měření velkého množství neupravených piv s jediným definovaným nukleačním centrem, druhá platí pro piva s modifikovanou hodnotou povrchového napětí přidáním ethanolu nebo vody se standardizovaným podílem  $\text{CO}_2$  [5, 6].



Obrázek 5: Schematické zobrazení korálkování (a) a jednotného nukleačního centra (b) [2, 6]

### 2.2.4 Koalescence

Koalescence je proces, při kterém jsou dvě malé bubliny spojeny do jedné větší, méně stabilní bubliny. Jev je způsoben zvětšováním bublin, které zapříčiňuje ztenčení filmu mezi jednotlivými bublinami, což následně vede k jejich prasknutí. Koalescence může být urychlena tzv. mechanismem hydrofobních částic – vliv lipidů, tj. rezidua smaženého jídla, rtěnka, mycí prostředek, ale i nesprávně umyté sklo; či mechanismem rozšiřování částic – vliv detergentů, tj. malé rušivé částice umístěné ve filmu daných bublin [2, 4, 7].



Obrázek 6: Schematické znázornění koalescence, mechanismu rozšiřování částic a mechanismu hydrofobních částic [2]

### 2.2.5 Disproporcionace

K disproporcionaci dochází při difuzi plynu z menší bubliny do větší. Děje se tak na základě snahy o vyrovnání Laplaceova tlaku, který v menších bublinách dosahuje větších hodnot než v těch velkých. Společně s větším Laplaceovým tlakem je v menších bublinách pozorována i větší koncentrace plynů. Stejně jako při koalescenci dochází k tvorbě stále větších bublin, které mohou být konzumentem považovány za méně přitažlivé. Pokud pěna není celkově monodisperzní, obsahuje bubliny o různých velikostech, tudíž se v pěně objevují místa s různou hodnotou tlaku a různou rozpustností plynu, čímž je ovlivněn gradient rozpustnosti ovlivňující směrovou difuzi. Na základě disproporcionace probíhá tzv. hrubnutí bublin, které se nejrychleji projeví na povrchu pěny. Disproporcionace je velmi ovlivněna složením hnacího plynu při čepování piva. Pokud by byl pro účely čepování piva použit dusík, byla by vytvořená pěna daleko stabilnější, ale pivo by mohlo ztratit říz. V případě použití oxidu uhličitého jako hnacího plynu by při pomalé výtoči mohlo dojít k rozpouštění plynu v pivu, které by následně bylo přesycené a v chuti kyselé. Ideálním hnacím plynem je tudíž směs  $N_2$  a  $CO_2$ , která zachová podmínky inertního prostředí a potlačí negativní vlivy [2, 4, 7, 8].

Disproporcionace může být popsána pomocí rovnice podle De Vries [2, 8]:

$$r_t^2 = r_0^2 - \frac{4RTDS\gamma t}{P\theta}, \quad (6)$$

kde  $r_t$  (m) je poloměr bubliny v čase  $t$  (s),

$r_0$  je poloměr bubliny na počátku (m),

$R$  je plynová konstanta ( $8,3 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),

$T$  je termodynamická teplota (K),

$D$  je plynový difuzní koeficient ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ),

$S$  je rozpustnost plynu ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$ ),

$\gamma$  je povrchové napětí (nejčastěji  $0,05 \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$ ),

$t$  je čas (s),

$P$  je tlak (Pa),

$\theta$  je tloušťka filmu mezi bublinami (m).

### 2.3 Stabilita pěny

Stabilita pěny je definována jako čas od vzniku pěny po její samovolnou destrukci. Aby byl umožněn vznik stabilní a dlouhotrvající pěny, musí být v kapalině obsaženo vhodné pěnotvorné činidlo, které je schopno okolo částic disperzního podílu vytvořit stabilizační film. Mezi faktory ovlivňující stabilitu pивní pěny patří soudržnost, pružnost a stálost filmu, tloušťka přepážek mezi jednotlivými bublinami, viskozita disperzního prostředí, na které závisí odvodňování pěny, elektrický náboj povrchového filmu, tlak nasycené páry disperzního prostředí nad pěnou, na kterém je závislá rychlost odpařování z povrchových vrstev pěny. Důležitá je taktěž závislost povrchového napětí roztoku na koncentraci povrchově aktivní látky. Aby byl roztok schopen reagovat vhodnou změnou povrchového napětí na vnější mechanické vlivy, je nutné, aby měla změna povrchového napětí s koncentrací dostatečně vysokou zápornou hodnotu. V případě protažení přepážky mezi jednotlivými bublinami dojde ke zvětšení povrchu přepážky, a tedy i ke snížení koncentrace povrchově aktivní látky, ale zároveň k nárůstu hodnoty povrchového napětí. Jestliže je zvýšení povrchového napětí dostatečně velké, dojde ke kompenzaci síly, která prodlužuje přepážku. Pokud je přepážka

stlačena, roztok bude poskytovat opačnou reakci. Pěna bude tudíž stáječší při složení, při kterém bude změna povrchového napětí maximální s koncentrací, ale ne při koncentraci, kdy složení odpovídá maximu povrchové energie. Tento jev je závislý na rychlosti difuze povrchově aktivní látky z Gibbsových-Plateauových kanálků do povrchové vrstvy filmu a nazpět – tzv. Gibbsův-Marangoniho efekt [3].

### 2.3.1 Pěnotvorná činidla

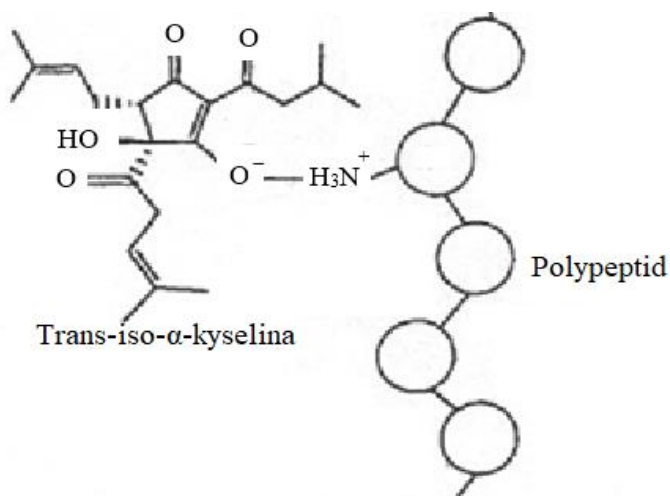
Pěnotvorná činidla jsou povrchově aktivní látky schopné hromadit se na fázovém rozhraní systému kapalina/plyn, kde tvoří stabilizující film, který je v ideálním případě dostatečně stálý, pevný a dosahuje určité pružnosti. Ideální pěnotvorné činidlo vytváří film, který je schopen reagovat změnou povrchového napětí na jakékoliv mechanické vlivy. Důležitý faktor je taktéž rychlost difuze pěnotvorného činidla z Gibbsových-Plateauových kanálků do přepážek mezi bublinami, což zajišťuje udržení tloušťky přepážek. Mezi pěnotvorná činidla patří mýdla a detergenty (látky s nižší molekulovou hmotností) s velkou povrchovou aktivitou, bílkoviny, jejichž stabilizační film má velkou mechanickou odolnost, práškovité tuhé látky s lyofobním povrchem, saponiny, některé polymerní látky, barviva a glycidy [3, 7].

Nízkomolekulární pěnotvorná činidla jsou látky mýdlového charakteru, u kterých je hydrofobní část tvořena alifatickým řetězcem a hydrofilní část nemá jednoznačné složení. Většina těchto amfifilních látek není dobře rozpustná ve vodě. Mezi nejpoužívanější nízkomolekulární pěnotvorná činidla v potravinářství patří fosfolipidy a mono- a di- glyceridy [7].

Polymerní i nízkomolekulární pěnotvorná činidla obsahují hydrofilní a hydrofobní části. Vzhledem ke komplexnější struktuře polymerních činidel vykazují tyto látky jiné chování. Toto chování je způsobeno množstvím změn v strukturních konformacích, které vznikají při adsorpci na fázovém rozhraní, kde se snaží své hydrofobní části vystavit a rozšířit na povrch. Mezi polymerní pěnotvorná činidla patří především bílkoviny, polysacharidy, modifikovaná celulóza a pektiny [7].

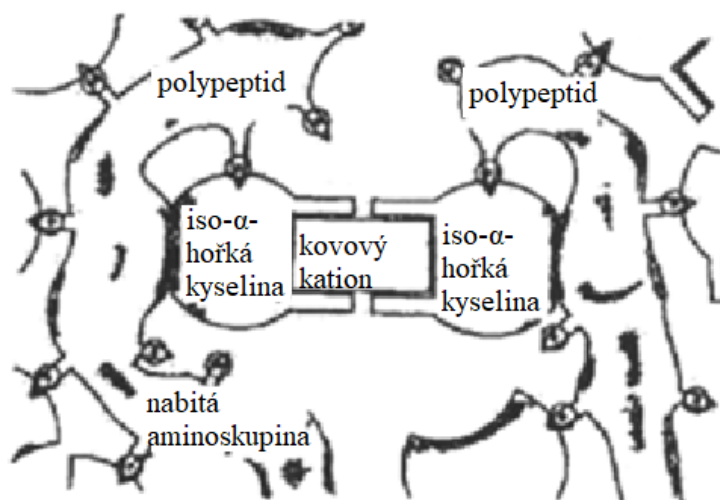
### 2.3.2 Struktura pívní pěny

Mezi první uznávaný model pívní pěny patří model od Asana a Hashimota z roku 1976, kde je zohledněna přitažlivost záporně nabitých chmelových iso- $\alpha$ -kyselin a kladně nabitých aminoskupin v pěně obsažených polypeptidů. Teorie je založena na ztrátě kladných nábojů aminoskupin po provedení acetylace, kdy po opětovném přidání iso- $\alpha$ -kyselin nedochází k nárůstu pěnovosti. Obdobný efekt je dosažen okyselením roztoku před tvorbou pěny, čímž je opět potlačena ionizace polypeptidických aminoskupin [9,10].



Obrázek 7: Struktura pívní pěny podle Asana a Hashimota [10]

Jelikož Asanův a Hashimotoův model nevysvětluje některé jevy ovlivněné změnami pH a schopnosti dalších chmelových hořkých kyselin, byl navržen komplexnější model zahrnující přítomnost dvojmocných kationtů dle Simpsona. Ten říká, že na jeden dvojmocný kovový kationt jsou navázány alespoň dvě molekuly hořké kyseliny, čímž se zvýší afinita dané kyseliny k vazbě na polypeptidickou aminoskupinu. Zároveň platí, že chmelová kyselina nemusí být nutně ionizována. Kovové kationty jsou schopny vázat se na ionizovanou i neionizovanou formu, model tudíž nevychází z představy, že vazba mezi polypeptidy spojené přes hořké kyseliny a kationty kovu nemají iontovou povahu jako v předešlém případě. U tohoto modelu pivní pěny je důležitá přítomnost kladného náboje na aminoskupinách polypeptidů, jelikož podmiňují možnost interakce s molekulami vody a komplexy hořkých chmelových kyselin s kovy [9, 11].



Obrázek 8: Struktura pivní pěny podle Simpsona [11]

## 2.4 Měření stability pivní pěny

Jednotné měření kvality pivní pěny je z důvodu rozlišných měřitelných znaků složité, jelikož neexistuje jedna komplexní metoda, která by počítala s rozdílnými požadavky na měření. Mezi tyto požadavky patří stabilita, kvantita, bělost a krémovitost s ulpíváním. Při měření taktéž záleží na tom, zda je pivo do sklenice převedeno z výčepního zařízení, či z obalového materiálu, jelikož v obou případech bude pozorován rozdílný vliv na formování pivní pěny. Přesnějšího hodnocení pivní pěny jsou schopni hodnotící experti, u kterých je nutno počítat s rozlišnou představou o dokonale vypadající pěně [2, 12, 13, 14, 15].

V návaznosti na nejednoznačnost měření bylo navrženo posuzovat kvalitu pivní pěny podle schopnosti tvořit kroužky na sklenici, jelikož k němu dochází bez jakýchkoliv prerekvizit tvorby pěny a zároveň se jedná o nejlépe rozpoznatelného ukazatele kvality pěny. Dle novějšího průzkumu ovšem není kroužkování na sklenici považováno za žádoucí všemi konzumenty. Mezi nejpoužívanější metody měření pivní pěny se řadí NIBEM, u kterého se měří propad pěny u zpěněného piva. K dalším často používaným metodám patří Sigma head value, Rudin head retention a měření podle Rose a Clarka, u kterých je měřena doba vysychání pěny zplyněného či odplyněného piva v závislosti na metodě. Metody používané pro měření stability pivní pěny budou podrobněji popsány v následujících podkapitolách [13, 15, 16].

### 2.4.1 Vodivostní měřiče založené na poklesu povrchu pivní pěny

Přístroje jsou opatřeny vodivostním čidlem, kterým je snímán pokles hladiny pěny v závislosti na čase. Měřicí přístroj stability pivní pěny NIBEM zaznamenává čas, za který pěna klesne o 10, 20 a 30 mm. Pivo je před měřením napěněno do kalibrované nádoby

pomocí rozpěňovače. Novější verze přístroje NIBEM-T a NIBEM-TPH jsou upraveny tak, aby u naměřené hodnoty byla provedena korekce na teplotu, vlhkost vzduchu a barometrický tlak [17, 18, 19, 20].

U přístroje 1-CUBE je pivo napěňováno nízkotlakým způsobem, který simuluje přelití piva z lahve, probíhá při 10–20 kPa nebo vysokotlakým způsobem, kdy se hodnota tlaku pohybuje v rozmezí 200–300 kPa. Měření je podobné jako u přístroje NIBEM, elektrody automaticky zaznamenávají sledované znaky pěny až do výšky 0,5 mm nad povrchem piva [17].

U poloautomatického měřiče je nutno rozpěnit pivo ultrazvukem, rozpěňovačem nebo volným pádem z nálevky. Přístroj je opatřen zvukovou a světelnou signalizací, která upozorňuje na kontakt čidla s povrchem pěny. V případě, že není povrch pěny rovnoměrný, je vyžadován manuální posun či jiná manipulace s měřicí nádobkou tak, aby byl povrch vyrovnán. U přístroje je taktéž nutný manuální odečet polohy na stupnici [17, 21].

Automatický přístroj SITA je schopen zaznamenat tvar povrchu pивní pěny pomocí senzoru tvořeného soustavou měřících jehel. Pivo je nutno rozpěnit přívodem vzduchu nebo mícháním tzv. rotorem [17].

#### **2.4.2 Vodivostní měřiče založené na měření vodivosti pěny**

Měření vodivosti pěny probíhá pomocí konduktometrické komůrky, která je ponořena do pěny. Cílem je změřením změn vodivosti pěny v průběhu jejího rozpadu a sestavení křivky, která by měla odpovídat různým fázím pěnové destrukce [17, 22].

#### **2.4.3 Optické měřiče založené na průchodu světla pěnou**

Při měření průchodu světla pěnou se používají měřiče se spodním a s horním zdrojem světla. Měřič s horním zdrojem světla je opatřen 60 W žárovkou, jako detekční zařízení je využit fotočlánek umístěný pod měřicí nádobkou, pomocí kterého je měřen průchod světla pěnou. U měřiče se spodním zdrojem světla je světelný zdroj umístěn na dně nádoby a fotočlánek je umístěn ve víku. Oba přístroje měří průchod světla ve svislém směru [17, 23, 24].

#### **2.4.4 Měření pohybu rozhraní mezi pivem a pěnou**

Metoda je založena na měření průchodu světla ve vodorovném směru kolmo k nádobce. Přístroje mají dva nebo více optických detektorů, které zaznamenávají pohyb na rozhraní piva a pěny [17].

U měřiče poklesu pěny je pivo napěněno plynem o známém objemu, měří se pohyb na rozhraní pěny a vzduchu a současně pěny a piva. Měřič je vhodný k vyhodnocování jak suché, tak mokré pěny [17, 25].

Analyzátořem Carlsberg je digitální kamerou s přesností na 0,1 mm sledováno rozhraní pěny a piva. Analyzátoř může být automatický, ale i manuální [17, 26, 27].

U přístroje Lg Automatic je za pomoci trysky vytvořena pěna, u které je následně pomocí infračervených čidel měřen pohyb rozhraní mezi dvěma ryskami. Z naměřených dat je následně možno vyhodnotit poločas rozpadu pěny [17, 28, 29].

#### **2.4.5 Měření stability pивní pěny měřiči s digitální kamerou**

Pomocí měřičů s digitální kamerou jsou nahrávány změny pohybu povrchu pěny a jejího rozhraní s pivem, záznam je zpracováván pomocí softwaru [17].

Laserový měřič pěny snímá pokles hladiny pomocí odrazu laserového paprsku, je schopen měřit i pohyb rozhraní kapaliny a pěny průchodem bílého světla, které je vyzařováno křemennou lampou. Obraz je zpracován digitálně, zobrazuje rozhraní pěny a piva, výšku pěny a její pokles [17, 30].



Při měření stability pивní pěny digitální kamerou je nutno pivo napěnit třepáním v atmosféře oxidu uhličitého, kamerou je zachycen pohyb na rozhraní pěny a piva, zaznamenávána je taktéž výška pěny. Ze změřených hodnot lze nadále dopočítat poločas rozpadu pěny a pěnovostní potenciál [17, 31].

Při měření parametrů pěny je zaznamenáván vzhled pěny vytvořené manuálním přelitím piva do válce. Určuje se množství vytvořené pěny, rychlost poklesu, tvorba kroužků, doba destrukce bublin a jejich rozměry [17, 32].

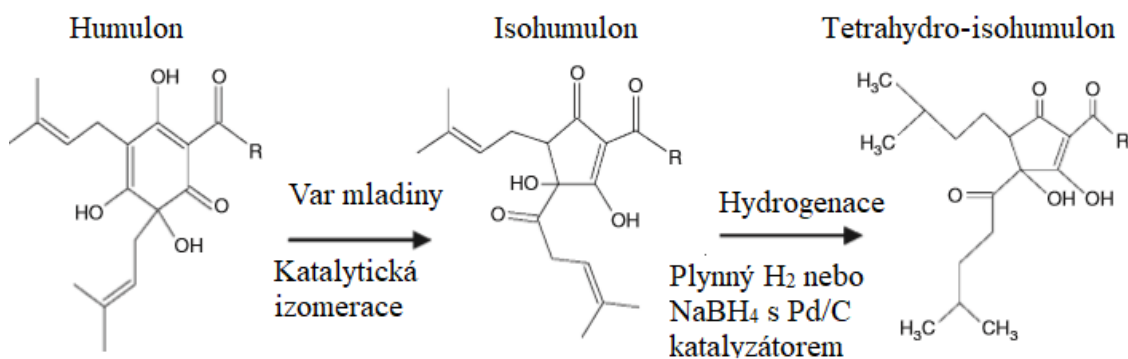
## 2.5 Faktory ovlivňující pěnovost

Pivo obsahuje velké množství látek ovlivňujících pěnovost. Řada těchto látek pochází ze surovin použitých při výrobě, některé látky vznikají při výrobním procesu. Obsažené látky mohou mít pozitivní nebo negativní vliv na výslednou kvalitu pивní pěny ať už v malých či větších koncentracích [1].

### 2.5.1 Látky pozitivně ovlivňující kvalitu pивní pěny

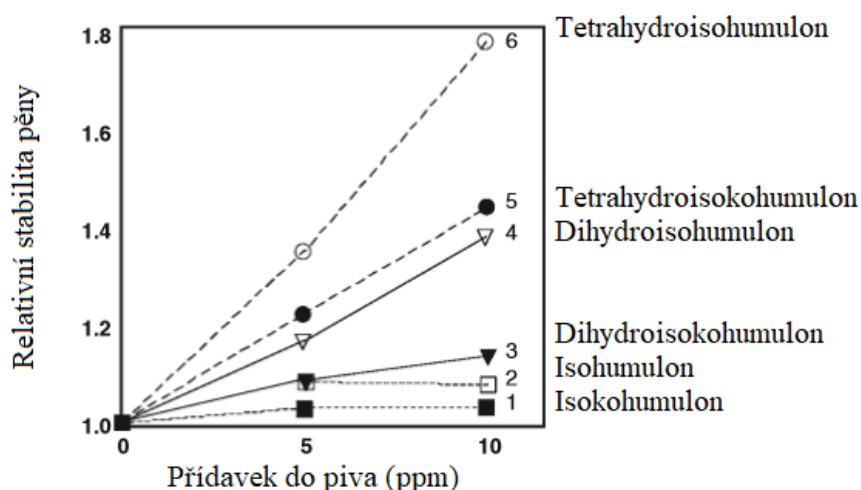
Látky, které působí pozitivně na tvorbu pěny, jsou soustředěny v mezifázovém rozhraní, kde zpevňují povrchovou blanku bubliny mezi kapalinou a pěnou. Jedná se o amfifilní látky, u kterých směřuje hydrofobní část do plynu a hydrofilní do kapaliny. Mezi látky pozitivně působící na kvalitu pивní pěny patří některé bílkoviny, některé kovové ionty, hořké chmelové látky, oxid uhličitý, některé z polysacharidů a produkty vzniklé reakcemi sacharidů a bílkovin [1].

Chmelové kyseliny se nepodílí jen na chuťové charakteristice piva, spolu s proteiny taktéž patří k látkám, které výrazně napomáhají ke zlepšení stability pивní pěny. Pro získání hořké chuti je nutná izomerace hořkých kyselin, které je dosaženo při varu mladiny, při katalytické hydrogenaci chmelových extraktů nebo při hydrogenaci chmelových kyselin [2].



Obrázek 9: Zobrazení strukturálních modifikací humulonu během varu [2]

Mezi hořkými chmelovými látkami a polypeptidy tvořícími pěnu se vyskytují i jiné interakce přispívající ke stabilizaci pивní pěny – jde o hydrofobní vazby postranních řetězců hořkých chmelových látek se zbytky aminokyselin na polypeptidických řetězcích, které jsou patrné u dihydro-, tetrahydro- a hexahydro-iso- $\alpha$ -kyselin, které jsou schopny zajistit vyšší stabilitu než samotné iso- $\alpha$ -kyseliny. K podpoře pěnovosti hydrogenovaných hořkých kyselin přispívá zvýšená hydrofobicita postranních řetězců, které vznikají redukcí karbonylové skupiny či dvojných vazeb mezi uhlíkovými atomy na postranních řetězcích. Více hydrogenované hořké kyseliny jsou schopny vytvořit stabilnější pěnu, která je více adhezivní ke stěnám sklenice, po opadnutí ale působí nevzhledně [9, 33].



Obrázek 10: Relativní stabilita pивní pěny v závislosti na přídavku modifikovaných hořkých kyselin [2]

Mezi významné polysacharidy z hlediska stability pивní pěny patří  $\beta$ -glukany, pentozany, látky vytvářející gummy a melanoidiny, které jsou schopny zpomalit vysychání pěny a zlepšují její stabilitu. Melanoidiny a glykosylované bílkoviny vznikají Maillardovými reakcemi při hvozdění sladu, v pивu následně zlepšují kostru pěny pomocí iontových vazeb s bílkovinami. Významným polysacharidem je propylenglykolalginát, který se váže na bílkoviny ve stěnách bublin a zamezuje tak nežádoucímu kontaktu s lipidy, snižuje odvodňování pивní pěny a zvyšuje hydrofobicitu pивa [1, 2, 34, 35, 36].

Kationty kovů jsou schopny velmi dobře podporovat stabilitu pивní pěny, v některých případech dochází i k tzv. gushingu. Kationty kovů mohou být podle afinity k isohumulonu rozděleny do 3 skupin. Do skupiny s největší afinitou patří  $Mn^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ni^{2+}$  a  $Sn^{2+}$ . Nižší afinitu mají  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  a  $Ba^{2+}$ , nulovou afinitu vykazují  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  a  $Rb^+$ . Kationty  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  mohou pozitivně ovlivnit vývoj pивní pěny, ale jsou extrémně toxické, případně negativně ovlivňují chuť a koloidní stabilitu pивa [1, 2, 37, 38].

### 2.5.2 Látky negativně ovlivňující kvalitu pивní pěny

Látky negativně působící na kvalitu pивní pěny jsou především lipidy, některé kovové ionty, v určitých koncentracích ethanol, polyfenoly, proteolytické enzymy a bazické aminokyseliny. Jedná se o látky, kvůli kterým se pozitivně působící látky nejsou schopny shromáždit v pěně, případně jsou úplně vytlačovány z povrchových filmů bublin. Důsledkem působení těchto látek je disproportionace, rychlejší odvodňování a celkově oslabená struktura pěny [1].

Lipidy, stejně jako některé detergenty, jsou považovány za látky, které nejvíce narušují stabilitu pивní pěny. Jedná se především o malé částice, které jsou schopny zabraňovat stabilizačním interakcím proteinů s hořkými chmelovými kyselinami a kationty. Lipidy jsou taktéž jednou z hlavních příčin koalescence, která je příčinou zrychlené destrukce pěny [39, 40].

Mastné kyseliny o délce řetězce  $C_6$ – $C_{10}$  jsou poměrně málo škodlivé, u mastných kyselin s delším řetězcem ( $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ) se efekt narušení pěny zvyšuje. Platí, že nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem mají větší negativní účinek na stabilitu pивní pěny než nenasyčené mastné kyseliny [41, 42, 43].

### 2.5.3 Ostatní faktory ovlivňující kvalitu pивní pěny

Ethanol v nižších koncentracích (1–3 hm. %) ovlivňuje kvalitu pивní pěny pozitivně, jelikož zvyšuje viskozitu a snižuje povrchové napětí. Pokud je koncentrace ethanolu v pивu do 10 hm. %, neprojevují se negativní efekty jeho působení. Pokud je jeho koncentrace ale příliš vysoká, působí podobně jako látky lipidické povahy a narušuje interakce proteinů a hořkých chmelových kyselin [1, 2, 16, 44].

Polyfenoly by mohly mít analogický účinek jako hořké chmelové kyseliny – předpokládá se tvorba křížové vazby mezi proteiny ovlivňujícími pěnivost a polymerizovanými polyfenoly. V současné době ale není polyfenolům přisuzována důležitá role ve stabilizaci pивní pěny [2, 16].

Jelikož mají bílkoviny a hořké chmelové kyseliny amfifilní charakter, předpokládá se, že se budou jejich schopnosti ovlivňovat stabilitu pивní pěny měnit společně se změnou pH. Při větším nasycení piva oxidem uhličitým dochází ke snížení pH, díky čemuž dochází k větší disociaci chmelových kyselin a změně náboje proteinů. To může vést k migraci těchto látek do pěny a jejich vzájemné interakci. Zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> taktéž urychlí nukleaci bublin. Někteří autoři v modelových systémech připisují lepší stabilitu pивní pěny hodnotě pH v rozmezí 3,8–4,6 [2, 6, 45].

## 2.6 Původ a technologický význam bílkovin v pивu

### 2.6.1 Sladovnický ječmen

Obilka ječmene má 3 části – obalovou (pluchy, oplodí, osemení), zárodečnou (klíček) a endosperm. Ječmen obsahuje přibližně 65 % zásobních sacharidů, 10 % bílkovin a 2,5 % minerálních látek. V obalových částech zrna se nacházejí látky fenolické povahy, které mají vliv na výslednou chuť a vlastnosti piva (hořkost, zákal). V České republice je pěstováno okolo 20 jarních odrůd a 4 odrůdy zimní pro sladařské a pivovarské účely. U ječmene se hodnotí procentuální vlhkost (průměrný obsah vlhkosti je okolo 12 %, maximální vhodný pro skladování pak 15 %), která je důležitá pro vhodné skladování, obsah dusíkatých látek, velikost přepadu nad 2,5 mm sítím, obsah příměsí sladařsky nevyužitelných (jakékoliv poškození zrna – biologické, zelená zrna, zlomkový materiál), obsah příměsí sladařsky částečně využitelných (nahá zrna, zrna se zahnědlou špičkou), klíčivost a obsah škrobu [46, 47].

### 2.6.2 Zásobní látky ječmene a jejich technologický význam

Bílkoviny, enzymy, sacharidy a polyfenoly se z pivovarského hlediska dají považovat za nejdůležitější látky ječmene, jelikož utváří výsledný profil piva. Obsah bílkovin je z 80 % ovlivněn agroekologickými podmínkami. Celkový obsah dusíkatých látek v ječmeni je 8–12 %, ve výjimečných případech až 16 % a z celkového množství jich do výsledného piva přestupuje asi třetina. Dusíkaté látky jsou v ječmeni obsaženy především v aleuronové vrstvě. Bílkoviny v ječmeni lze rozdělit na jednoduché a složené. Mezi jednoduché se řadí proteiny (albuminy, prolaminy, gluteliny, globuliny), mezi složené – proteidy – patří glykoproteidy, fosfoproteidy a nukleoproteidy. Dále jsou zde obsaženy nebílkovinné látky, jako jsou např. aminokyseliny, amidy a aminy. Bílkoviny pak dělíme na strukturální (albuminy, globuliny) a zásobní (prolaminy, gluteliny). Proteiny představují asi 92 % celkového množství látek bílkovinné povahy v ječmeni [48].

Albuminy patří mezi vysokomolekulární látky rozpustné v čisté vodě s  $M_r \approx 70\,000$ . Obsah albuminů v ječmeni je 11–12,1 %. Globuliny jsou bílkoviny nerozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v solných roztocích. Rozdělují se na 4 skupiny –  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - globuliny o  $M_r = 26\,000$ ,  $100\,000$ ,  $166\,000$  a  $300\,000$ . Obsah globulinů v ječmeně je 8,4–15 %. Prolaminy jsou bílkoviny nerozpustné ve vodě a roztocích solí, ale dobře rozpustné v 50–90%

ethanolu. Prolaminy jsou hlavní příčinou zákalů piva. Obsah prolaminů v ječmeni je přibližně 25–37 %. Gluteliny jsou bílkoviny rozpustné v alkalických roztocích, jejich obsah se pohybuje mezi 30–54,5 %, při výrobě piva jsou odstraněny společně s mlátem [48].

Štěpné produkty bílkovin jsou ve vodě vždy rozpustné, v ječmeni je jich okolo 8 %. Vysokomolekulární štěpné produkty kladně ovlivňují pěnivost piva, ale některé z nich mohou způsobit i nežádoucí zákal (zásobní prolaminové frakce). Nízkomolekulární štěpné produkty slouží především kvasinkám jako výživa, pokud obsahují  $\alpha$ -aminoskupinu [48].

### 2.6.3 Obsah bílkovin v ječném zrně

Tabulka 1: Obsah bílkovin v ječmeni v závislosti na umístění zrna [48]

Dělení klasu	Hmotnost 1000 zrn [g]	Obsah bílkovin [%]
Horní třetina	39,2	10,7
Střední třetina	47,3	10,3
Spodní třetina	45,4	9,8

Obsah bílkovin se také mění při velikosti zrna nad propadovým sítem. Zrna nad propadovým sítem 2,5 mm obsahují zpravidla méně bílkovin než zrna nad sítem 2,2 mm [48].

Obsahem bílkovin je ovlivněna i tvrdost ječmene. Platí, že čím je vyšší obsah bílkovin, tím tvrdší je zrnko. Moučnatá zrna obsahují 8,6–14,1 % bílkovin, polosklovitá 10,7–15,2 %, sklovitá 12,4–16,6 %. Sklovitá zrna nejsou zcela vhodná pro sladování, jelikož špatně přijímají vodu, je nutno je déle namáčet, prodloužit klíčení a častěji dokrápět, což zvyšuje riziko plísňové kontaminace. V případě takto připraveného sladu bude mít výsledné pivo více rozpustných bílkovin, tudíž budou snáze podléhat chladovému zakalení a menší koloidní stabilitě. Na druhou stranu jsou sklovitá zrna vhodná pro přípravu barevných a diastatických sladů, jelikož tvorba látek obsažených v těchto sladech se odvíjí od celkového počtu bílkovinných štěpných produktů [48, 49].

Ječmen ideální pro sladování by měl obsahovat 10,5–11,7 % bílkovin. Vyšší obsah snižuje extraktivnost sladu, nižší obsah bílkovin v ječmeni způsobuje nedostatečnou enzymovou aktivitu – takto vyrobené pivo by mělo prázdnou chuť a nízkou stabilitu pивní pěny [48].

Tabulka 2: Hodnocení ječmene podle obsahu bílkovin [48]

Obsah bílkovin [%]	Hodnocení
<7,5	Nepříznivé množství
7,5-8,5	Málo příznivé množství
8,5-9,0	Příznivé množství
9,0-10,5	Velmi příznivé množství
10,5-11,0	Příznivé množství
11,0-11,5	Ještě příznivé množství
11,5-12,0	Nepříznivé množství
12,0-12,5	Mnoho
12,5-13,0	Velmi mnoho
>13,0	Abnormálně mnoho

## 2.7 Dusíkaté látky obsažené v pivu

### 2.7.1 Rozdělení dusíkatých látek podle molekulové hmotnosti

Proteiny jsou rozděleny na LMW (low molecular weight) a HMW (high molecular weight) frakce podle molekulové hmotnosti, kde LMW má 5–15 kDa, HMW 35–50 kDa. Hmotnost vyšší než 50 000 má pouze malá část bílkovin. Hmotnost nad 200 kDa se připisuje bílkovinám, které mají původ v kvasnicích. Vysokomolekulární frakci tvoří především protein Z, LMW frakci protein LTP1, hordeinové a glutelinové fragmenty. Pěnotvorné proteiny by ideálně měly být odolné vůči pivovarnickým procesům, tj. tolerance vysokých teplot a odolnost vůči proteolytickým enzymům [1].

### 2.7.2 Intracelulární přenašeč lipidů

Intracelulární přenašeč lipidů (angl. Lipid transfer protein, LTP) patří mezi hlavní proteiny, které jsou spojovány s pěnivostí piva. Jedná se o albuminovou bílkovinu se schopností inhibovat některé ze sladových cysteinových endoproteáz. Existují dva druhy proteinů vázajících lipidy – LTP1 a LTP2, které se nacházejí v ječmeni. LTP2 se nachází v aleuronové vrstvě ječného zrna a v malém množství se nachází i ve sladu. Přesná funkce LTP2 v pění doposud není známa. LTP1 je také obsažen v aleuronové vrstvě ječného zrna, kde je tvořen především při růstu zrna a na počátku klíčení. LTP1 je hydrofobní protein o velikosti okolo 9,7 kDa, který se nachází převážně v pivní pění a tvoří 1 % celkového obsahu proteinů sladového ječmene [1, 2, 50, 51, 52].

Izolovaný LTP1 podporuje tvorbu pivní pěny, ale jeho stabilizační účinky jsou naopak velmi slabé. Pokud je ale LTP1 kombinován s izolovanou frakcí nízkomolekulárních proteinů (hordeinové či glutelinové fragmenty), případně s proteiny vysokomolekulární frakce (protein Z), jsou jeho stabilizační vlastnosti výrazně posíleny. Při procesu vaření piva je LTP1 ireverzibilně denaturován. Denaturovaný LTP1 má lepší pěnotvorné vlastnosti než nativní LTP1, někteří autoři ale tvrdí, že zvýšená úroveň denaturace LTP1 varem může být pro stabilitu pivní pěny škodlivá, jelikož se snižuje schopnost vázat některé lipidy, které mohou mít pro pěnu destabilizační účinky [2, 50, 51, 53].



Obrázek 11: : Struktura LTP1 [54]

### 2.7.3 Protein Z

Protein Z se řadí mezi ječné albuminové bílkoviny s molekulovou hmotností přibližně 40 kDa, kterému byly jako prvnímu připsány schopnosti ovlivnit stabilitu pивní pěny. Mezi protein Z patří dvě izoformy – protein Z4 a protein Z7, přičemž platí, že většinou je forma Z4 dominantní a tvoří zhruba 80 % celkového proteinu Z v ječmeni a sladu. Obsah proteinu Z ve sladu je okolo 2 % celkového proteinového zastoupení, je taktéž nejhojnějším proteinem v pивu. Bylo zjištěno, že protein Z má nejvyšší hodnotu povrchové viskozity ze všech pивních bílkovin, ale nebylo prokázáno, že by na rozdíl od LTP1 byl nejvíce obsažen v pивní pěně. Protein Z v interakcích s ostatními proteiny, například s LTP1, je pro stabilitu pивní pěny velmi důležitý. Někteří autoři se domnívají, že pokud je z piva protein Z odstraněn alespoň částečně, bude vliv na pěnivost piva malý, ale jen u piva připraveného ze sladu s nízkým proteolytickým rozluštěním. U přelustěných sladů bude efekt naopak výrazný, což může být vysvětleno tím, že některé hydrolyzované hordeiny jsou schopny vyloučit z piva albuminy, tedy i protein Z [1, 2, 52, 55, 56].

### 2.7.4 Bílkoviny vázající lipidy

Bílkoviny vázající lipidy (angl. Lipid binding proteins, LBP) mají schopnost redukovat poškození a destabilizaci pěny způsobené lipidy, mají taktéž schopnost poškozenou pěnu přímo obnovovat. Hlavní zástupce proteinů vázajících lipidy je LTP1, který funguje jako lipidy vázající protein v nativní formě, v denaturované formě se schopnost vázat lipidy oslabuje [1, 2, 53].

Jako LBP jsou dále označovány hordeoindoliny z ječmene a puroindoliny z pšenice, které vykazují silnou hydrofobicitu. V průběhu varného procesu tyto proteiny podléhají aktivitě proteolytických enzymů, tudíž v pивu nezůstávají ve velkém množství a pěnivost piva jimi není dále ovlivňována [1, 2, 57].

### 2.7.5 Hordeiny

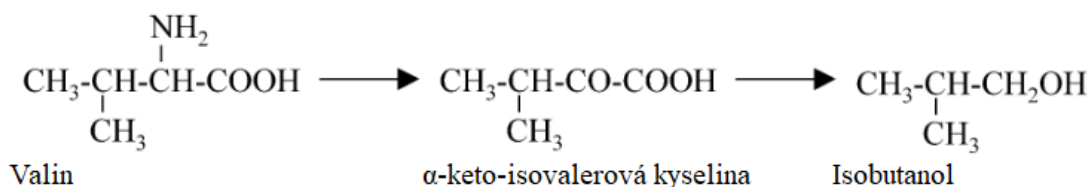
Hordeiny představují hlavní zásobní složku proteinů v ječmeni, tvoří 40–50 % celkových proteinů, jsou tvořeny komplexem polymorfních směr a rozdělují se na skupiny B, C, D, Z a  $\gamma$  na základě elektroforetických mobilit a aminokyselinového složení. B hordeiny tvoří 70–80 % složení hordeinů, skupina C 10–20 %, zbylé frakce tvoří méně než 5 %. Hordeiny patří mezi prolaminy nerozpustné ve vodných roztocích. Aby byly schopny se ve vodě rozpustit, je nutná jejich proteolytická hydrolyza. Hordeiny jsou bílkoviny bohaté na prolin a glutamin, což v pивu může způsobovat při nízkých teplotách zákal [1, 2, 49].

Přímý vliv hordeinů na stabilitu pивní pěny není doposud přesně prozkoumán. Někteří vědci ovšem identifikovali skupinu hordeinů, která by mohla být spojena nebo by přímo mohla kladně ovlivňovat kvalitu pивní pěny. Úspěšná byla identifikace hordeinu o velikosti 23 kDa, který byl 2,7krát více obsažen v pěně než v pивu a měl vhodnou povrchovou aktivitu k tomu, aby kladně podporoval vznik pивní pěny. Mezi další známé hordeiny, které by mohly pozitivně ovlivnit pивní pěnu, patří hordein s  $M_r = 17$  kDa, který byl hojně obsažen v pивní pěně. Tento typ proteinu byl klasifikován jako nový druh hordeinu s označením  $\epsilon$ -1-hordein. Bylo zjištěno, že tento typ hordeinu má částečně homologní sekvence s uvedeným 23 kDa hordeinem [1, 2, 58, 59].

### 2.7.6 Volně vázaný aminový dusík

Volně vázaný aminový dusík (angl. Free amino nitrogen, FAN) je označení pro celkovou sumu aminokyselin, amonných iontů, di- a tripeptidů v mladině – produkty degradace sladových, ječných či pšeničných bílkovin. FAN slouží jako výživa pro pivovarské kvasinky během procesu kvašení. FAN je produktem reakcí kaxboxypeptidázy, která se nachází ve sladech. Substráty jsou peptidy produkované proteázami, které katalyzují hydrolyzu

zásobních bílkovin zrna. Dusík obsažený v mladině slouží kvasinkám k udržení metabolických pochodů – syntézy nových aminokyselin či proteinů. Většina FAN je spotřebována během úvodních 24–36 hodin fermentace, následně růst kvasinek ustává. Koncentrace FAN potřebná pro kvasinky za běžných pivovarnických podmínek je přímo úměrná růstu kvasinek a ovlivňuje ležení piva. FAN je využíván kvasinkami také k tvorbě metabolických produktů, které ovlivňují konečnou chuť piva a jeho stabilitu, tzn. že některé z aminokyselin se v průběhu ležení mění na  $\alpha$ -keto kyseliny, které se dále přeměňují pomocí kvasničných buněk na vyšší alkoholy nebo kyseliny [60, 61].



Obrázek 12: Rovnice vzniku vyšších alkoholů z aminokyselin [62]

Tabulka 3: Rozdělení aminokyselin na základě využitelnosti kvasinkami [63]

Skupina	Aminokyselina
A	Kyselina glutamová Kyselina asparagová Glutamin Serin Threonin Lysin Arginin
B	Valin Methionin Leucin Isoleucin Histidin
C	Glycin Fenylalanin Tyrosin Tryptofan Alanin Amoniak
D	Prolin

V tabulce č. 3 jsou ve skupině A aminokyseliny, které jsou prakticky ihned spotřebovány. Do skupiny B patří aminokyseliny, které jsou vstřebávány postupně v průběhu fermentace, ve skupině C jsou ty, které jsou spotřebovávány až po celkovém odstranění aminokyselin skupiny A. Prolin ze skupiny D je hlavní složkou mladiny, ve které tvoří přibližně jednu třetinu aminokyselinového dusíku, ale pro kvasinky je prakticky nevyužitelný [63].

### 2.7.7 Vliv použité technologie na obsah bílkovin v pivu

V porovnání dvou technologických způsobů výroby piva – High Gravity Brewing, kdy se původní koncentrace mladiny pohybuje od 15–25 hm. % a Low Gravity Brewing (standardní způsob) s původní koncentrací 10–15 % hm. je u HGB pozorován nižší obsah bílkovin a jejich fragmentů, které se podílí na výstavbě pěny. Důvodem nižšího obsahu hydrofobních bílkovin je nižší schopnost extrakce do vysoce koncentrovaných sladín, ale i mladín již při rmutování a chmelovaru. V takto připravených mladinách je koncentrace pěnотvorných bílkovin jen nepatrně vyšší, ale s další úpravou piva na požadovanou původní koncentraci, především ředěním vodou, se obsah bílkovin dále snižuje. Důvodem snížené schopnosti extrakce bílkovin ovlivňujících stabilitu pивní pěny je vyšší teplota, která je příčinou vysrážení bílkovin ve formě polyfenolpolypeptidových komplexů a taktéž vyšší obsah polyfenolů pocházejících z chmele, kterého je při HGB technologii nutno použít více [1].

## 2.8 Metody pro stanovení obsahu bílkovin

### 2.8.1 Kjeldahlova metoda

Kjeldahlizace je analytická metoda pro kvantitativní stanovení dusíku obsaženého v organických sloučeninách. Metoda je běžně používána pro stanovení dusíku v potravinách, nápojích, mase, krmivech, ale i v odpadních vodách a půdních vzorcích. Proces kjeldahlizace se skládá ze 3 částí – digesce, destilace a titrace [64, 65].

Cílem digesce je rozrušení všech organických dusíkových vazeb a převod dusíku do formy amonných iontů  $\text{NH}_4^+$ , které se vážou na síranové anionty  $\text{SO}_4^{2-}$ . Během digesce je zbylý organický materiál zuhelnován, což se projevuje zčernáním vzorku, resp. proměnou vzorku v černě zbarvenou pěnu. Pěna vzniklá digescí se dále rozkládá a mění na čirou kapalinu, kterou je indikován konec reakce. Produktem reakcí zbylých organických složek je oxid uhličitý a voda [64, 65].

Pro účely digesce je nutno vzorek smíchat s kyselinou sírovou, která působí jako oxidační činidlo a s katalyzátorem k urychlení reakce. Mezi nejčastěji používané katalyzátory patří sloučeniny mědi a selenu. Při digesci je nutno analyzovaný vzorek vařit v kyselině sírové při 350–410 °C [64, 65, 66].

Po digesci je digesční baňka napojena na předlohu, do které je jímán alkalický roztok. Alkalický roztok vznikne přidáním hydroxidu sodného do digesční baňky, čímž je zapříčiněna přeměna amonných iontů na amoniak [64, 65].

Do předlohy je nadávkován roztok, do kterého je převeden rozpuštěný plynný amoniak. Jako jímací roztok může být použita kyselina boritá o koncentraci 2–4 %, kyselina sírová nebo kyselina chlorovodíková o známé koncentraci. Ve všech případech je amoniak kvantitativně zachytáván v předloze za současné tvorby solvatovaných amonných iontů [64, 65].

Koncentrace zachycených amonných iontů je stanovena titračně. Pokud je jako jímací roztok při destilaci využita kyselina boritá, pak je při přímé acidobazické titraci použit roztok kyseliny sírové nebo chlorovodíkové s vhodným indikátorem, případně je možno využít potenciometrického stanovení [64, 65].

### 2.8.2 UV-VIS Spektrofotometrie

UV-VIS spektrofotometrie je optická spektrální metoda založena na interakci elektromagnetického záření s analyzovaným vzorkem. Měřena je intenzita světla, které projde analyzovaným vzorkem, resp. schopnost absorpce světla molekulami analyzované látky. Spektrofotometr měří intenzitu absorbovaného světla v ultrafialové oblasti (185–400 nm) nebo ve viditelné oblasti (400–700 nm) [67].



Tabulka 4: Charakteristika ultrafialových, viditelných a blízkých infračervených spekter [68]

$\lambda$ (nm)	Oblast	Barva absorbovaného světla
<380	Ultrafialová	Neviditelná
380–440	Viditelná	Fialová
440–500	Viditelná	Modrá
500–580	Viditelná	Zelená
580–600	Viditelná	Žlutá
600–620	Viditelná	Oranžová
620–750	Viditelná	Červená
750–2000	Blízká IČ	Blízká UV
220–380	Daleká	<220 nm

Transmittance vyjadřuje množství světla určité vlnové délky, které projde vzorkem. Je definována jako podíl intenzity světla, které projde vzorkem, k intenzitě světla, které do vzorku vstupuje. Absorbance určuje množství elektromagnetického záření určité vlnové délky, které bylo roztokem vzorku absorbováno. Absorbance lze definovat jako záporný dekadický logaritmus transmittance [67, 68].

Spektrofotometrie je založena na Lambert-Beerově zákoně, který vyjadřuje přímou úměru mezi absorbancí a koncentrací vzorku. Lambert-Beerův zákon [67]:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c, \quad (7)$$

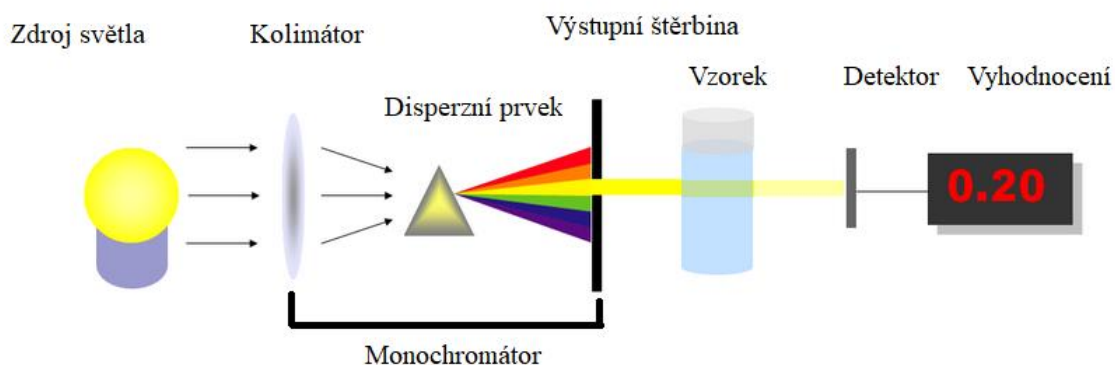
kde A je absorbance [-],

$\varepsilon$  je molární absorpční koeficient [ $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ],

l je tloušťka absorbující vrstvy [cm],

c je koncentrace vzorku [ $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ].

Instrumentace UV-VIS spektrofotometrie:



Obrázek 13: Uspořádání spektrofotometru [67]

Jako zdroj světla pro blízkou UV oblast se používají výbojky (deuteriové, vodíkové, xenonové). Pro viditelnou a infračervenou oblast se používají žárovky v podobě žhaveného wolframového vlákna. Pro monochromatické záření mohou být využity rtuťové výbojky a křemenné halogenové lampy [68].

Monochromátor je přístroj, který ze světelného spektra vymezuje jeho část v co možná nejužším rozložení vlnových délek. Skládá se ze vstupní štěrbin, disperzního prvku, zaostřovací soustavy a výstupní štěrbin. Jako disperzní prvek se používá hranol či optická mřížka. Jako monochromátor může být použit filtr, který vymezuje úzkou část monochromatického záření. Filtr může být barevný (s tenkou vrstvou oxidu kovu na skleněné podložce) nebo interferenční (využití mnohonásobné interference záření mezi mezními plochami) [68].

Kyvety pro viditelnou oblast spektra jsou skleněné nebo plastové. Pro UV oblast se využívají křemenné kyvety. Délka kyvety bývá nejčastěji 1 cm. K následné detekci jsou využity fotodiodová pole a fotonásobiče [68].

## 2.9 Metody stanovení hořkých látek

Základní metodou stanovení hořkosti v pivu je metoda podle European Brewery Convention EBC 9.8. Dle této metody je vzorek piva okyselen kyselinou chlorovodíkovou a následně jsou hořké kyseliny extrahovány do isooktanu a stanovovány spektrofotometricky v UV oblasti. Tato metoda je vhodná pro kvantitativní stanovení hořkých látek, jelikož pomocí ní nelze rozlišit jednotlivé isomery ani jejich redukované analogy [69, 70].

Ke stanovení jednotlivých iso- $\alpha$ -hořkých kyselin a jejich redukovaných analogů se využívá HPLC s reverzní fází s UV nebo MS detekcí. K jejich kvantifikaci se následně používají komerční standardy iso-, dihydro-, tetrahydro- a hexahydro-iso- $\alpha$ -kyselin. Další možností stanovení hořkých kyselin jsou metody založené na kapilární elektroforéze s DAD nebo MS detekcí [71].

## 2.10 Metody stanovení fenolických látek

Běžnou metodou stanovení polyfenolických látek v pivu je metoda podle European Brewery Convention EBC 9.11. Dle této metody je odplyněné pivo smícháno s roztokem CMC a EDTA a s roztokem citrátu železito-amonného. Po promíchání je přidán roztok amoniaku s vodou v poměru 1:2 a následně je množství polyfenolů v pivu stanoveno spektrofotometricky [72, 73, 74].

Další metodou stanovení fenolických látek v pivu je metoda Folin-Ciocalteuova. Metoda je založena na redukci Folin-Ciocalteuova činidla, které obsahuje fosfomolybdenan sodný a fosfowolfram sodný. Reakce Folin-Ciocalteuova činidla se provádí v zásaditých podmínkách přidavkem roztoku uhličitanu sodného. Princip metody je založen na redukci  $\text{Mo}^{6+}$  na  $\text{Mo}^{5+}$ , kterou doprovází modré zbarvení. Množství celkových fenolických látek je vyjádřeno jako ekvivalent kyseliny gallové. Měření celkového obsahu fenolických látek touto metodou může být ovlivněno některými redukcujícími nefenolickými sloučeninami, např. proteiny, cukry, vitaminy [73].

Pro stanovení jednotlivých fenolických látek je nutná jejich extrakce, zakoncentrování a následná purifikace. Nejčastěji se extrakce provádí v systému kapalina-kapalina a na pevné fázi. Pro kapalinovou extrakci je jako rozpouštědlo běžně používána horká voda, ethanol, methanol, ethylacetát, méně často acetonitril, chloroform a DMF. Pro maximální výtěžek se extrakce provádí bez přístupu kyslíku a světla. Nejčastěji se provádí opakovaná extrakce podle Soxhleeta. Pro extrakci na pevné fázi jsou využívány náplňové kolony s adsorpčními

materiály. Mezi často používané náplně patří polyamidové materiály, PVPP, modifikovaný silikagel, Sephadex atd [75, 76].

Mezi starší chromatografické metody stanovení fenolických látek v pivu patří papírová chromatografie a chromatografie na tenké vrstvě. Další chromatografickou metodou pro stanovení fenolických látek v pivu je plynová chromatografie, která je kvůli nízké těkavosti fenolických sloučenin omezena na stanovení jednodušších kyselin a nízkomolekulárních flavonoidů. K detekci se využívá hmotnostní spektrometrie s elektronovou ionizací [75, 76].

Nejpoužívanější metodou je vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází. Pro HPLC se využívají optické detektory – detektor s diodovým polem, fluorimetrický detektor. Dalším způsobem detekce pro kapalinovou chromatografii je spojení s hmotnostním detektorem s ionizací za atmosférického tlaku, ionizací elektrosprejem a s chemickou ionizací za atmosférického tlaku. Elektrosprej je vhodný především pro detekci netěkavých polárních sloučenin, např. anthokyanů, chemická ionizace za atmosférického tlaku je vhodná pro isoflavony. Další možností detekce je elektrochemická detekce, kde jsou sloučeniny detekovány na základě jejich oxidovatelnosti. Pro elektrochemickou detekci je využíván voltametrický a coulometrický detektor [75, 76].

Další metodou stanovení fenolických látek je kapilární zónová elektroforéza. Výhodou metody je rychlost a nízké náklady na provedení. Oproti HPLC může být za určitých podmínek dosaženo lepší selektivity [75].

## **2.11 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem**

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je metodou prvkové analýzy, která umožňuje stanovení více než 70 prvků. Princip metody závisí na měření emisních spekter jednotlivých prvků, která vznikají při deexcitaci daného atomu [77, 78].

Jako zdroj excitace je využíváno plazma, která vzniká na indukční cívce. Plazma je ionizovaný plyn, který je elektricky neutrální. Jelikož plazma předává část energie vzorku, je důležité, aby mělo vysokou teplotu, která by byla vhodná k atomizaci a ionizaci daného prvku. Vzhledem k vlastnostem je nejpoužívanějším plynem pro tvorbu plazmatu argon, jelikož je monoatomární, inertní a má vysokou hodnotu ionizační energie. Zároveň nevytváří žádné stabilní sloučeniny s ostatními prvky a jeho emisní spektrum je jednoduché, tudíž nedochází k velkým spektrálním interferencím [77, 78].

Zmlžovač je zařízení, které převede kapalný vzorek do formy aerosolu. Mezi nejčastěji používaný zmlžovač patří zmlžovač pneumatický, pro některé analýzy je možno využít ultrazvukový zmlžovač. Kvalita vzniklého aerosolu je velmi ovlivněna tvarem zmlžovače [77, 78].

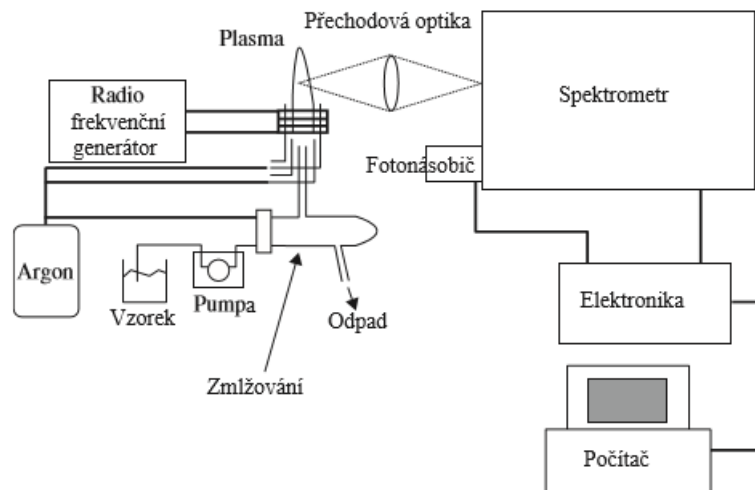
Mlžná komora zajišťuje filtraci kapének vzniklých rozprašovačem. Aby byl zajištěn optimální výkon ICP-OES, je nutno zajistit konzistentní velikost kapének. Velké kapénky přechází do odpadu, příliš malé se samovolně odpařují [77, 78].

Jako excitační prvek slouží hořák. Hořák se skládá ze 3 koncentrických trubic – vnější, vnitřní a injektor. Plyn proudící mezi vnitřní a vnější trubicí je plazmový, mezi vnitřní a injektorem pomocný. Vzorek je do plazmatu dopraven injektorem, který bývá většinou skleněný nebo z keramických materiálů [77].

Emitované záření lze měřit dvěma způsoby – radiální a axiální. Při radiálním měření se měří kolmo k výboji, při axiálním podélně k výboji. Axiální způsob měření může za určitých podmínek zvýšit senzitivitu přístroje [77].

K detekci jsou využívány disperzní systémy, které jsou schopny separovat požadované vlnové délky emitovaného světla. Mezi časté disperzní systémy pro ICP-OES patří monochromátor

Czerny-Turner a polychromátory Echelle a Paschen-Runge. Pro měření signálů je nutný převod vyzářených fotonů na elektrický proud. Nejčastěji jsou používány fotonásobiče, které jsou složeny z katody a několika dynod, které zesilují přijatý signál. Výhodou fotonásobiče je velký rozsah měřitelných vlnových délek. Dále jsou používány CCD a CID detektory. Výhodou těchto detekčních systémů je především rychlost analýzy. Nevýhodou je nutnost chlazení, malá citlivost v UV oblasti a nemožnost pokrytí celého rozsahu vlnových délek [77].



Obrázek 14: Schéma ICP-OES [77]

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem práce bylo stanovit celkový obsah proteinů v pivu na základě UV-VIS spektrofotometrie a zjistit, jakým způsobem obsah proteinů ovlivňuje stabilitu a vlastnosti pивní pěny. Dále byla stanovena hořkost, koncentrace fenolických látek a vybraných makroprvků a stopových prvků. Z naměřených dat byla zjištěna korelace mezi analyzovanými látkami a stabilitou pивní pěny.

## **4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **4.1 Laboratorní vybavení**

#### **4.1.1 Přístroje**

Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem ULTIMA 2 (Horiba Scientific, Japonsko)

UV-VIS Spektrofotometr Helios  $\gamma$  (Thermo Electron Corporation, USA)

Ultrazvuk PS03000A Powersonic (NOTUS – POWERSONIC, Slovensko)

Centrifuga ROTOFIX 32 A (Hettich, Německo)

Analytické váhy Kern AES 200-4C

NIBEM-T, Foam Stability Tester (Pentair Haffmans, Nizozemsko)

Inpack 2000 Flasher (Pentair Haffmans, Nizozemsko)

Inpack 2000 Sampler (Pentair Haffmans, Nizozemsko)

#### **4.1.2 Pomůcky**

Běžné laboratorní sklo

Pipety Finnpiquette (Thermo Fisher Scientific, USA)

Špičky Finntip (Thermo Fisher Scientific, USA)

Plastové zkumavky (10 ml)

Centrifugační zkumavky (50 ml)

Kyvety

Injekční stříkačky

Mikrofiltry s velikostí pórů 0,45  $\mu\text{m}$

#### **4.1.3 Chemikálie**

Isooktan p.a. (Penta, Česká republika)

Folin-Ciocalteu činidlo (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)

Uhličitan sodný bezvodý (Lachner, Česká republika)

Standardní roztoky na prvkovou analýzu (ASTASOL Analytika, Česká republika)

Chlorid sodný p.a. (Penta, Česká republika)

Hydroxid sodný p.a. (Penta, Česká republika)

Vinan sodno-draselný tetrahydrát p. a. (Lachner, Česká republika)

Síran měďnatý pentahydrát p.a. (Lachner, Česká republika)

Hovězí albumin (Serva, Německo)

Kyselina gallová (Sigma-Aldrich, Německo)

Oxid uhličitý potravinářský (Linde Gas a.s., Česká republika)

## 4.2 Specifikace vzorků

Pro analýzy bylo zakoupeno celkem 36 různých vzorků piv. Výčepních piv bylo celkem 16, ležáků 15 a 5 ležáků bylo z minipivovarů. Vzorky byly nakoupeny v obchodních řetězcích či v prodejnách minipivovarů. Před analýzou byly vzorky uchovávané v chladicích boxech při teplotě 4–8 °C bez přístupu přímého slunečního světla.

Tabulka 5: Seznam vzorků výčepních piv

Číslo vzorku	Název	Pivovar	Obsah alkoholu (%)	Šarže vzorku
1	Kanec Extra Chmelená 10°	Zámecký pivovar Břeclav spol. s. r. o.	4,1	15-17
2	Staré Brno	Starobrno a. s.	4	L013481131
3	Platan 10°	Pivovar Protivín a. s.	4	L6270420
4	TAS	Pivovar Černá Hora a. s.	4	L7110520 1103
5	Originál 10	Pivovar Gambrinus	4,3	L5095
6	Litovel Classic	Pivovar Litovel a. s.	4,2	016023
7	Kozel Světlý	Pivovar Velké Popovice	4	L5154
8	Světlé pivo	Rodinný pivovar BERNARD a. s.	3,8	11.08.20-08:01-L:T14
9	Královský originál 10	Královský pivovar Krušovice	4,2	L0116203A0801
10	Rázná 10	Pivovar Radegast	4,1	L6128
11	B:Classic	Pivovar Budějovický Budvar n. p.	4	11:5 27A1
12	Ježek Šenkovní	Pivovar Jihlava, a. s.	4,2	L3140420
13	Svijanská desítka	Pivovar Svijany, a. s.	4	120820\1945
14	Horská 10	Pivovar Holba, a. s.	4,2	015780
15	Zubr Classic	Pivovar Zubr, a. s.	4,1	016208
16	Kamenická 10	Pivovar Kamenice nad Lipou	4,2	17.07.2020

Tabulka 6: Seznam vzorků ležáků z minipivovarů

Číslo vzorku	Název	Pivovar	Obsah alkoholu (%)	Šarže
1	Krahulík	Rodinný pivovar Zichovec	5,1	2 0310 0021
2	Jura	Pivovar Chroust	5	28.08.2020
3	Kamenická 12	Pivovar Kamenice nad Lipou	5,2	26.07.2020
4	Harrach Premium	Minipivovar Jelínkova Vila	5,3	01.08.2020
5	Harrach Original	Minipivovar Jelínkova Vila	5	01.08.2020

Tabulka 7: Seznam vzorků ležáků

Číslo vzorku	Název	Pivovar	Obsah alkoholu (%)	Šarže vzorku
1	Kanec Premium	Zámecký pivovar Břeclav spol. s r. o.	5	32-34
2	Budvar 33	Pivovar Budějovický Budvar n. p.	4,6	09:47/C3
3	Litovel Premium	Pivovar Litovel a. s.	5	015790
4	Rychtář Premium	Pivovar Rychtář, a. s.	5	L3230420
5	Pilsner Urquell	Plzeňský Prazdroj, a. s.	4,4	L2 138
6	Svijanský Rytíř	Pivovar Svijany, a. s.	5	110820\0336
7	Ryze hořká 12	Pivovar Radegast	5,1	L6141/04:34
8	Budvar Original	Pivovar Budějovický Budvar n. p.	5	23.01.2021/B2
9	Patron 12	Pivovar Gambrinus	5,2	L2118
10	Lobkowicz Premium	Pivovar Lobkowicz, a. s.	4,7	L6190320 1539
11	Staropramen Ležák	Pivovar Staropramen, s. r. o.	5	V1740
12	Královský Ležák	Královský pivovar Krušovice	5	L0084203A1346
13	Světlý Ležák	Rodinný pivovar BERNARD a. s.	4,9	14.08.20-13:27-L:T20
14	Světlý Ležák	Pivovar Černá Hora a. s.	4,8	L7150420 0854
15	Zubr Premium	Pivovar Zubr, a. s.	5,1	015830



### **4.3 Úprava vzorků**

Před analýzou proteinů, fenolických látek, hořkých látek a před prvkovou analýzou byla piva odplyněna v ultrazvukové vodní lázni po dobu 25 minut. Pro analýzu makroprvků a stopových prvků byly vzorky piv naředěny deionizovanou vodou na požadovanou koncentraci podle citlivosti detekce a následně přefiltrovány pomocí injekční stříkačky přes mikrofiltr s velikostí pórů 0,45  $\mu\text{m}$ .

## 4.4 Postupy stanovení jednotlivých charakteristik

### 4.4.1 Stanovení obsahu proteinů Hartree–Lowryho metodou

Pro stanovení proteinů Hartree–Lowryho metodou byly připraveny 2 pracovní roztoky. Roztok 1 byl připraven smícháním 50 ml 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  v  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  NaOH s 0,5% roztokem  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  v 1% vinanu sodno-draselném. Roztok 2 byl připraven zředěním Folin-Ciocalteu činidla s destilovanou vodou v poměru 1:2.

Kalibrační roztok byl připraven z hovězího albuminu v koncentračním rozmezí  $0,015 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1} - 0,15 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Pro vlastní stanovení bylo 50  $\mu\text{l}$  vzorku piva pipetováno do zkumavky a doplněno fyziologickým roztokem na 3 ml. Následně bylo k roztoku přidáno 5 ml roztoku 1, nechalo se 10 minut odstát při laboratorní teplotě a bylo přidáno 0,5 ml roztoku 2. Roztok vzorku byl promíchán, opět ponechán v klidu při laboratorní teplotě 10 minut a následně byla měřena absorbance proti slepému vzorku při 650 nm. Absorbance vzorků byla následně přepočítána na obsah proteinů v pivu.

### 4.4.2 Stanovení celkových fenolických látek

Pro stanovení obsahu celkových fenolických látek byly připraveny 2 roztoky. Roztok 1 byl připraven zředěním Folin-Ciocalteu činidla s deionizovanou vodou v poměru 1:9. Roztok 2 byl 7,5% roztok  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Kalibrační roztok byl připraven z roztoku kyseliny gallové v koncentračním rozmezí  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1} - 0,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Při vlastním stanovení byl napipetován 1 ml roztoku 1 a 1 ml roztoku deionizované vody se 100  $\mu\text{l}$  vzorku piva do zkumavky. Obsah zkumavky byl následně důkladně promíchán a ponechán při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Následně byl přidán 1 ml roztoku 2 a roztok byl umístěn na 30 minut do temna. Absorbance byla měřena při 765 nm proti slepému vzorku. Průměrná hodnota absorbance vzorků byla následně přepočítána a vyjádřena jako ekvivalent obsahu kyseliny gallové v pivu.

### 4.4.3 Stanovení hořkosti

Při stanovení bylo napipetováno 10 ml vzorku piva do centrifugační zkumavky, byl přidán 1 ml  $3 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  HCl a 20 ml isooktanu. Uzavřená zkumavka byla protřepávána po dobu 15 minut a následně byla centrifugována při 5 000 rpm po dobu 5 minut. Supernatant byl odpipetován a jeho absorbance byla měřena při 275 nm proti čistému isooktanu.

### 4.4.4 Prvková analýza

Vzorky piva určené k analýze stopových prvků (Ba, Fe, Mn) byly ředěny deionizovanou vodou v poměru 1:1, následně byly filtrovány pomocí injekční stříkačky přes mikrofiltr. Vzorky určené k analýze makroprvků (Ca, Mg) byly ředěny deionizovanou vodou v poměru 1:24. Prvková analýza byla provedena pomocí přístroje ULTIMA 2 (Horiba Scientific).

Tabulka 8: Parametry přístroje

Výkon generátoru	1350 W pro stopové prvky; 1300 W pro makroprvky
Rychlost otáček čerpadla	16 ot/min
Průtok plazmového plynu	13,4 l/min
Průtok pomocného plynu	0,2 l/min
Průtok stínícího plynu	0,2 l/min pro stopové prvky; 0,6 l/min pro makroprvky
Zmlžovač	Pneumatický dle Meinharda
Tlak ve zmlžovači	2,97 bar
Mlžná komora	Cyklonová
Spektrum vlnové délky	160–800 nm
Detektor	Fotonásobič
Uspořádání hlavice	Radiální
Rozlišení	4–6 pm

Tabulka 9: Použité vlnové délky pro detekci jednotlivých prvků

Prvek	$\lambda$ [nm]
Ba	230,424
Fe	259,940
Mn	257,610
Ca	393,366/422,673
Mg	285,213



Obrázek 15: Přístroj ICP-OES Ultima 2

#### 4.4.5 Stanovení stability pивní pěny

Stabilita pивní pěny byla měřena metodou NIBEM pomocí přístroje NIBEM-T. Vzorky piva v plechovkách byly ze spodní strany perforovány pomocí jehly zařízení Inpack Sampler 2000, do vzorků ve skleněných lahvích a PET lahvích byla jehla zavedena přes uzávěr. Jako hnací plyn byl použit potravinářský oxid uhličitý. Vzorky piva byly rozpěňovány pomocí zařízení Inpack 2000 Flasher do kalibrované nádoby. Měření bylo čas propadu pěny o 10, 20 a 30 mm.



Obrázek 16: Příklad přístroje na měření stability pивní pěny NIBEM-T (zleva NIBEM-T, Inpack 2000 Sampler, Inpack 2000 Flasher)

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

V experimentální části bakalářské práce byla nejprve stanovena stabilita pивní pěny metodou NIBEM, následně byly studovány zbývající charakteristiky (obsah hořkých látek, fenolických látek, proteinů a prvková analýza). Vzorčky byly připraveny podle postupu, který je uveden v kapitole 4.3. Rozdíly byly posuzovány na základě P hodnoty na hladině významnosti 0,05 a Pearsonovým korelačním koeficientem.

### 5.1 Stanovení stability pивní pěny

Stabilita pивní pěny byla měřena metodou NIBEM podle postupu uvedeného v kapitole 4.4.5. V tabulce 10 jsou uvedena minima, maxima a průměrné hodnoty stability pивní pěny u výčepních pив, ležáků a ležáckých pив z minipivovarů.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty stability pивní pěny metodou NIBEM

×	×	NIBEM 10 [s]	NIBEM 20 [s]	NIBEM 30 [s]
Výčepní piva	Min	56,00	114,00	177,00
	Max	97,00	186,00	270,00
	Průměr	74,56 <sub>a</sub>	151,94 <sub>a</sub>	225,75 <sub>a</sub>
Ležáky	Min	66,00	138,00	211,00
	Max	99,00	201,00	287,00
	Průměr	79,53 <sub>a</sub>	160,27 <sub>a</sub>	236,47 <sub>a</sub>
Minipivovary	Min	63,00	130,00	198,00
	Max	107,00	205,00	297,00
	Průměr	82,60 <sub>a</sub>	164,60 <sub>a</sub>	243,60 <sub>a</sub>

a, b, c – indexy rozdělení podle Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %

Tabulka 11: Analýza rozptylu pro hodnoty NIBEM

×	NIBEM 10	NIBEM 20	NIBEM 30
F	1,2579	1,0362	1,1964
P	0,2975	0,3661	0,3150

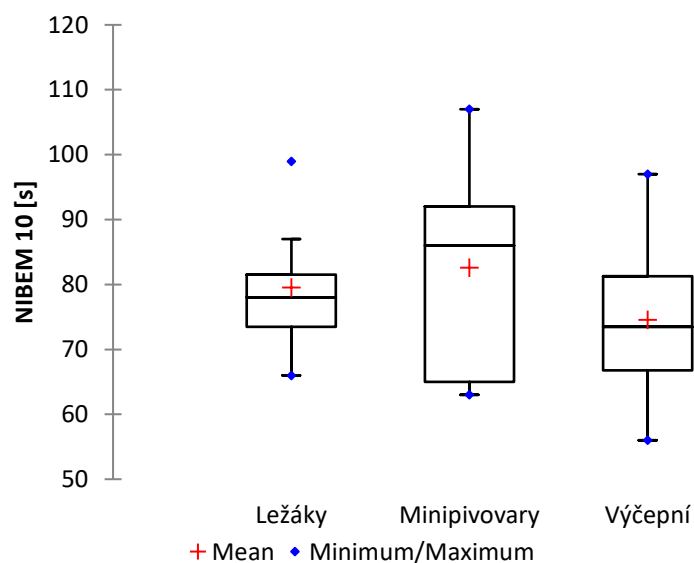
U všech 36 vzorků byla metodou NIBEM stanovena stabilita pивní pěny pro propad pěny o 10, 20 a 30 mm. Rozdíl maximální a minimální hodnoty u parametru NIBEM 10 pro výčepní piva je 41 s, pro parametr NIBEM 2 70 s, pro parametr NIBEM 30 je rozdíl 93 s. Rozdíl maximálních a minimálních hodnot u stejných parametrů pro ležácká piva je 33 s, 63 s a 76 s. U pив ležáckého typu z minipivovarů byly rozdíly maximálních a minimálních hodnot ve stabilitě pивní pěny 44 s, 75 s a 99 s. Bylo provedeno obecné zhodnocení stability pěny u pив ze skupin ležáků, výčepních pив a ležáckých pив z minipivovarů. Díky značnému rozptylu výsledků není možno říci, zda některá ze studovaných skupin pив obecně vykazuje vyšší stabilitu pěny. Tento fakt je podpořen analýzou rozptylu, kdy nebyla vyvrácena základní hypotéza, že mezi vzorky ze tří testovaných skupin pив není rozdíl ve stabilitě pивní pěny (tabulka 10).

Z tabulky 10 je patrné, že piva s nejstabilnější pěnou analyzovaná v této bakalářské práci byla piva ležáckého typu z minipivovarů, následovaly ležáky a nejméně stabilní pěnu měla piva výčepní. Z příložených boxových grafů (Obrázek 17–19) je zřejmé, že největší rozptyl dat byl u výčepních pив, nejmenší byl u ležáků.

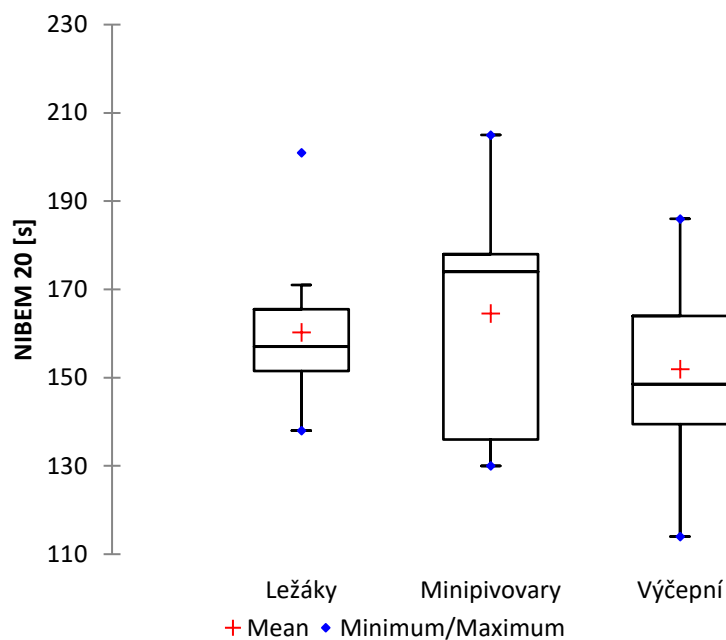
Evans a kol., kteří studovali stabilitu pивní pěny u různých typů pив, určili stabilitu pивní pěny metodou NIBEM 30 na 211–359 s, kde průměrná hodnota byla 284 s. Neugrodda a kol. sledovali stabilitu pивní pěny pomocí přístroje NIBEM-TPH u 45 vzorků pив (6 z nich bylo pivo plzeňského typu, 36 ležáků, 3 nealkoholická piva plzeňského typu). Stabilita pивní pěny byla určena na 124–326 s, s průměrnou hodnotou 247 s. V publikaci C. E. Wallina byla stabilita pивní pěny metodou NIBEM stanovena u 9 pив různých druhů pив na 170–294,5 s. Marques a kol. stanovili stabilitu pивní pěny u různých druhů řemeslných pив na 181–300 s. V práci Kordialik-Bogazka a Antczak byla stabilita pивní pěny metodou NIBEM stanovena na 249–267 s. Naměřené výsledky stability pивní pěny tedy jsou srovnatelné se zahraniční literaturou. Vysoká variabilita stability pивní pěny, která je zřejmá jak z výsledků této bakalářské práce, ale i z výsledků ze zahraničních zdrojů je pravděpodobně způsobena použitím rozlišných surovin pro přípravu pивa a jinou technologií jeho přípravy [79, 80, 81, 82, 83].

Výsledky měření stability pивní pěny byly podrobeny Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %. Při parametrech NIBEM 10, NIBEM 20 a NIBEM 30 neodhalil test žádné odlišnosti ve stabilitě pивní pěny u žádného typu analyzovaných pив, tudíž byly všechny hodnoty jednotlivých parametrů zařazeny do skupiny A.

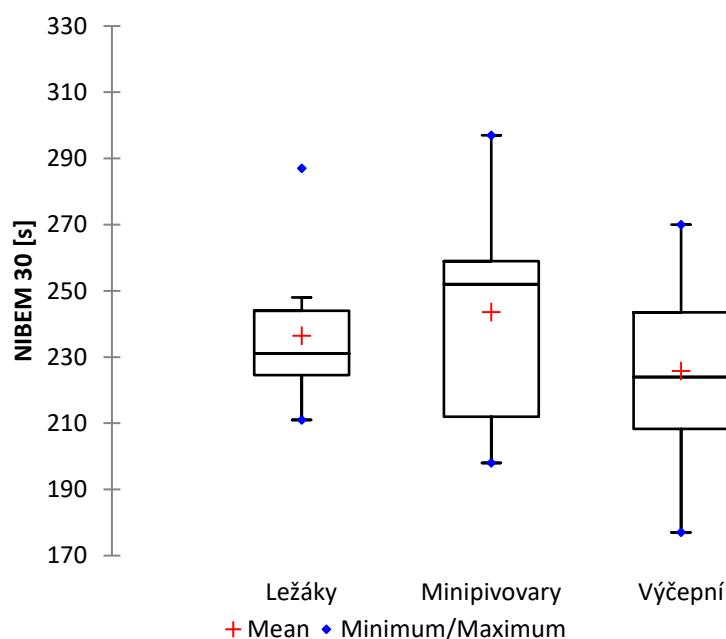
Mezi hodnotami NIBEM 10, NIBEM 20 a NIBEM 30 byla nalezena velmi silná pozitivní korelace (korelační koeficient  $> 0,95$ ), Z hodnot korelačních koeficientů vyplývá, že rychlost propadu pěny byla u každého vzorku téměř úplně konstantní.



Obrázek 17: Boxový graf parametru NIBEM 10



Obrázek 18: Boxový graf parametru NIBEM 20



Obrázek 19: Boxový graf parametru NIBEM 30

## 5.2 Stanovení celkových proteinů a jejich vliv na stabilitu pивní pěny

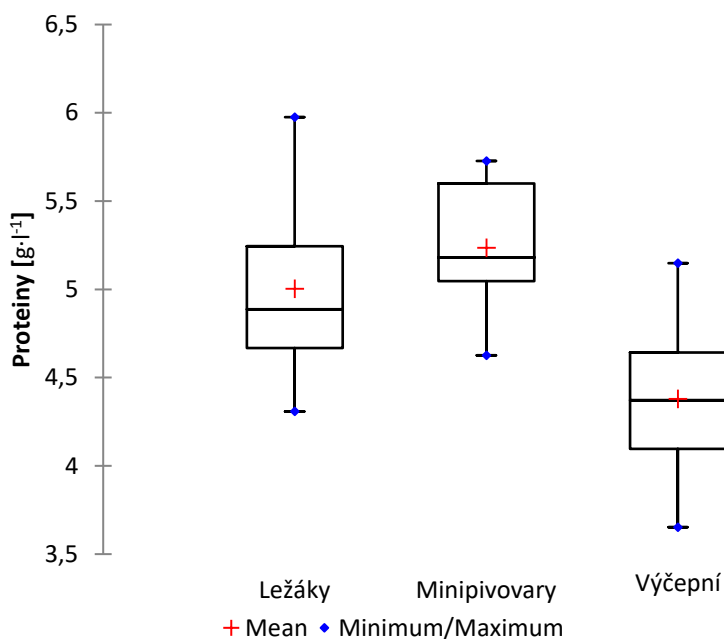
Bílkoviny představují jednu z hlavních komponent ovlivňující stabilitu pивní pěny. Pro stabilní pивní pěnu jsou důležité především bílkoviny s hydrofobní strukturou, která dopomáhá přechodu bílkovin z piva do pěny. Bílkoviny, které kladně ovlivňují stabilitu pивní pěny byly rozděleny do dvou skupin podle molekulové hmotnosti (2.7.1). Obsah dusíkatých látek obsažených ve sladovnickém ječmeni závisí na agroekologických podmínkách pěstování a jeho odrůdě. Sladovnický ječmen obsahuje 10–12 % proteinů, ze kterých je asi třetina extrahována do piva při rmutování. Interakce proteinů v pивní pěně byly popsány v kapitole 2.3.2, [62, 86].

V tabulce 12 jsou uvedeny stanovené minimální, maximální a průměrné hodnoty obsahu bílkovin v analyzovaných vzorcích

Tabulka 12: Naměřené hodnoty obsahu bílkovin

×	×	Obsah proteinů [g·l <sup>-1</sup> ]
Výčepní piva	Min	3,6526
	Max	5,1480
	Průměr	4,3792 <sub>b</sub>
Ležáky	Min	4,3081
	Max	5,9753
	Průměr	5,0034 <sub>a</sub>
Minipivovary	Min	4,6262
	Max	5,7271
	Průměr	5,2359 <sub>a</sub>

a, b, c – indexy rozdělení podle Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %



Obrázek 20: Boxový graf pro obsah proteinů v pivech

Z tabulky 12 je patrné, že nejvyšší obsah celkových bílkovin byl stanoven u piv z minipivovarů (5,2359 g·l<sup>-1</sup>) a nejmenší průměrný obsah měla piva výčepní (4,3792 g·l<sup>-1</sup>). Průměrný obsah bílkovin u komerčních ležáků byl 5,0034 g·l<sup>-1</sup>. Pomocí analýzy rozptylu byla nalezena statisticky významná odlišnost (P=0,00035) v obsahu proteinů v různých vzorcích piv v rámci jednotlivých analyzovaných skupin. Ležáky byly pomocí Tukeyho testu zařazeny do stejné skupiny jako ležácká piva z minipivovarů, výčepní piva tvořila samostatnou skupinu. Rozdíl obsahu bílkovin mezi výčepními pivy a ležáky je 12,47 %, rozdíl mezi výčepními pivy a ležáky z minipivovarů je 16,36 %, rozdíl obsahu bílkovin v ležácích a ležácích z minipivovarů je 4,44 %. Obsah bílkovin v pivech závisí především na druhu a na množství sladu použitého při výrobě. Tabulka 11 potvrzuje, že při výrobě výčepních piv je použito méně sladu než při výrobě piv ležáckých. Dle Angera a kol. je celkový obsah bílkovin v pivu 2–5,5 g·l<sup>-1</sup>. Neugrodda a kol. stanovili obsah proteinů v pivu Kjeldahlovou metodou na



4,98–8,06 g·l<sup>-1</sup>, s průměrnou hodnotou 6,55 g·l<sup>-1</sup>. Výsledky, které uvádí Anger jsou srovnatelné s výsledky uvedenými v tabulce 11, obsahy proteinů stanovené Neugroddou a kol. se liší. Pai a kol., kteří se zabývali stanovením proteinů Lowryho metodou, určili obsah proteinů v pivu v rozmezí 2,04–5,41 g·l<sup>-1</sup>, což jsou výsledky srovnatelné s obsahy proteinů, které jsou uvedeny v tabulce 11 [80, 86, 87].

Mezi celkovým obsahem bílkovin a stabilitou pивní pěny měřenou metodou NIBEM byla nalezena slabá pozitivní korelace. Korelační koeficient pro obsah bílkovin a hodnotu NIBEM 10 je 0,378, pro obsah bílkovin a NIBEM 20 0,384, pro obsah bílkovin a NIBEM 30 byl nalezen korelační koeficient 0,3985. Zjištěné korelační koeficienty potvrzují, že celkový obsah bílkovin kladně ovlivňuje stabilitu pивní pěny. Studií vztahu mezi celkovým obsahem proteinů a jejich vlivem na stabilitu pивní pěny se zabývá poměrně málo prací. Většina z nich se zaměřuje na výzkum specifických proteinů (především protein Z a LTP1, případně LBP. Někteří autoři stanovovali obsah celkových bílkovin pomocí jiných metod, než která byla použita v této práci. Jednou z těchto metod je kolorimetrická metoda stanovení proteinů podle Bradford Coomassie Blue, která efektivně měří jen bílkoviny s molekulární hmotností vyšší než 5 000. Další používanou metodou je tzv. PRM (pyrogallol red-molybdate assay), která by měla být ve stanovení nízkomolekulární frakce proteinů efektivnější než metoda podle Bradfordové. Evans a kol. ve své práci uvádí, že LTP1 je přímým důkazem porovnání těchto dvou metod [57, 80].

Neugrodda a kol. ve své práci korelovali celkový obsah bílkovin a jejich vysokomolekulární frakce s parametrem NIBEM 30. Na rozdíl od výsledků z této bakalářské práce nebyla nalezena žádná významná pozitivní ani negativní korelace [80].

Stanovením proteinů metodami podle Bradfordové a metodou PRM se ve své práci zabýval Evans a kol., kteří stanovili negativní korelaci mezi obsahem proteinů a metodou NIBEM (-0,10, resp. -0,15). Mezi obsahem proteinu Z a LTP1 naopak jejich práce vykazuje pozitivní korelace (0,23, resp. 0,14), což potvrzuje kladný účinek proteinu Z a LTP1 na stabilitu pивní pěny [88].

Z výše uvedeného vyplývá, že obsah bílkovin jako izolovaný parametr nemá zcela zásadní vliv na stabilitu pивní pěny.

### **5.3 Stanovení celkových fenolických látek a jejich vliv na stabilitu pивní pěny**

V pivu bylo doposud identifikováno okolo 70 látek fenolické povahy. Látky fenolické povahy v pivu pochází především ze sladu a chmele. Fenolické látky jsou odpovědné za charakteristickou chuť piva a jeho koloidní stabilitu související s tvorbou zákalů. Fenolické látky jsou taktéž schopny negativně ovlivnit délku skladování piva tvorbou nežádoucího zákalu, který je tvořen bílkovino-polyfenolovými komplexy [73].

V tabulce 13 jsou uvedeny stanovené minimální, maximální a průměrné hodnoty obsahu fenolických látek v analyzovaných vzorcích

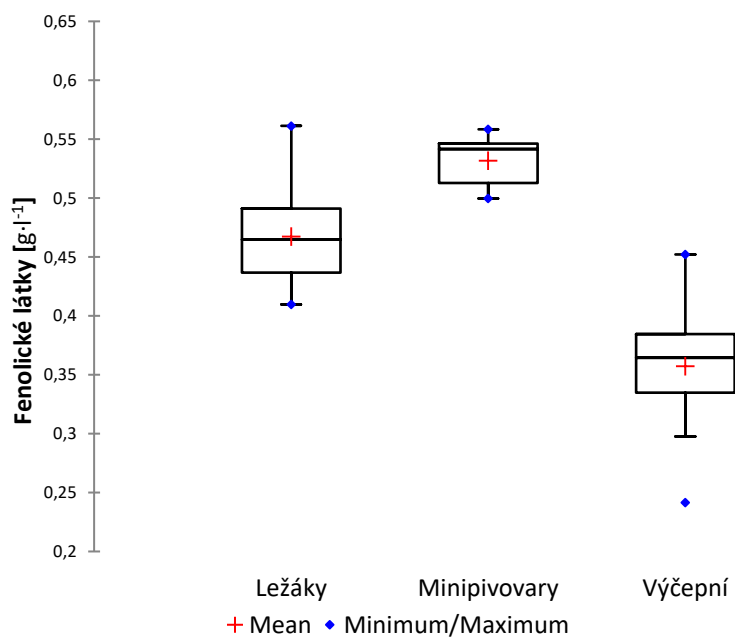
Tabulka 13: Naměřené hodnoty obsahu celkových fenolických látek

×	×	Obsah fenolických látek [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]
Výčepní piva	Min	241,4803
	Max	452,1203
	Průměr	357,3631 <sub>c</sub>
Ležáky	Min	409,7147
	Max	561,2953
	Průměr	467,3349 <sub>b</sub>
Minipivovary	Min	499,6145
	Max	558,3655
	Průměr	531,7502 <sub>a</sub>

a, b, c – indexy rozdělení podle Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %

Nejvyšší průměrná koncentrace celkových fenolických látek byla pozorována u ležáckých piv z minipivovarů ( $531,7502 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), nejmenší koncentrace byla naměřena u výčepních piv ( $357,3631 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), u ležáckých piv byl průměrný obsah celkových fenolických látek stanoven na  $467,3349 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Rozdíly jsou způsobeny především v odlišné technologii a jiným dávkováním vstupních surovin. Pro výrobu výčepních piv s nižším extraktem je třeba méně sladu a většinou se používá menší množství chmelových produktů než u piv ležáckého typu. Analýzou rozptylu bylo definováno, že v koncentraci celkových fenolických látek existují statisticky významné rozdíly mezi pivy výčepními, ležáckými a ležáckými z minipivovarů ( $P < 0,0001$ ). Tukeyho test poté rozdělil vzorky do tří odlišných skupin. Toto rozdělení lze pozorovat na boxovém grafu (obrázek 21), kdy koncentrace celkových fenolických látek u výčepních piv je zřetelně nižší. Rozdíl mezi ležáckými pivy a pivy z minipivovarů již nebyl tak markantní, stále však statisticky významný.

Lze tedy potvrdit, že dávkování vstupních surovin je zásadní pro finální koncentraci celkových fenolických látek v pivo. Zvýšená koncentrace fenolických látek u ležáckých piv z minipivovarů taktéž poukazuje na snahu minipivovarů zařadit do skupiny ležáckých piv produkty s obecně vyšším extraktem a vyšším chmelením (což je potvrzno v kapitole 4.4) než velké mainstreamové pivovary. Obsah fenolických látek ve výsledném pivo taktéž souvisí s jeho úpravou pomocí stabilizace (stabilizační a křemelinový filtr). Piva, která projdou stabilizačním procesem, mají menší obsah fenolických látek. Piva jsou stabilizována především kvůli zvýšení jejich koloidní stability, která souvisí s tvorbou nežádoucích bílkovino-polyfenolických komplexů, které mohou ve výsledném produktu způsobit zákal [84].



Obrázek 21: Boxový graf obsahu celkových fenolických látek v pivech

Habschied a kol. ve své práci stanovili celkový obsah fenolických látek Folin-Ciocalteuvou metodou na  $464,34\text{--}855,45\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , nejvyšší koncentrace celkového obsahu fenolických látek u světlého piva plzeňského typu byla v jejich práci stanovena na  $579\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , vyšších hodnot dosahovala tmavá či černá piva. Jelikož je metoda s Folin-Ciocalteuvým činidlem velmi citlivá i na ostatní redukující nefenolické složky v pivu, např. cukry, dá se předpokládat, že u tmavých či černých piv budou naměřené výsledky celkového obsahu polyfenolů Folin-Ciocalteuvou metodou vyšší než u piv světlých. Měření totiž může být ovlivněno složkami, které se nacházejí ve větším množství právě u tmavých a barvicích sladů v důsledku Maillardových reakcí [89].

Výsledky stanovení celkových fenolických látek prezentované v práci Pai a kol. u převážně indických světlých ležáků, se pohybují v rozmezí  $160\text{--}620\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Granato a kol., kteří ve své práci stanovovali obsah celkových látek fenolické povahy u pivního stylu Brown Ale a u brazilských ležáků, udávají výsledky v rozmezí  $119,96\text{--}525,93\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Marques a kol. stanovili ve své práci obsah celkových fenolických látek u pivních stylů American classic Pilsner, APA, Brown Poter a Irish Red Ale Folin-Ciocalteuvou metodou v rozmezí  $448,57\text{--}531,30\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . V porovnání s touto bakalářskou prací jsou tedy výše uvedené výsledky v souladu [82, 86, 90].

Mezi obsahem celkových fenolických látek a stabilitou pivní pěny stanovenou pomocí metody NIBEM byla vypočítána pozitivní korelace. Korelační koeficient pro NIBEM 10 a obsah fenolických látek byl stanoven na 0,31; korelační koeficient pro NIBEM 20 a obsah celkových látek fenolické povahy je 0,32; korelační koeficient pro NIBEM 30 a obsah celkových fenolických látek byl stanoven na 0,34. Hodnoty korelačního koeficientu potvrzují pozitivní vliv obsahu fenolických látek na stabilitu pivní pěny. Dle Bamfortha by mohly mít polyfenoly v pivní pění podobnou úlohu jako hořké kyseliny, tj. vytváření křížových vazeb s bílkoviny, což by vedlo ke zlepšení stability pivní pěny. Lewis a Lewis ve své práci uvádí, že obsah fenolických látek velmi dobře koreluje se stabilitou pivní pěny stanovenou metodou Normalized Half Life. Analýze podrobili celkem 30 amerických piv, která rozčlenili do čtyř kategorií podle obsahu alkoholu a složení vstupních surovin na: nealkoholická piva, piva s vysokým podílem sladových náhražek, se středním nebo nízkým podílem sladových

náhražek a piva vyrobená výhradně ze sladu. Pozitivní korelaci obsahu fenolických látek a stabilitou pивní pěny stanovenou metodou NIBEM uvádí taktéž Neugrodda, který se věnoval výzkumu 45 piv, z nichž 6 byla piva plzeňského typu, 36 ležáky a 3 piva byla nealkoholická plzeňského typu. Naopak Kordialik-Bogacka a kol. uvádí, že korelace mezi stabilitou pивní pěny měřenou metodou NIBEM a celkovým obsahem fenolických látek je negativní. To stejné potvrzuje Evans a kol., kteří měřili stabilitu pивní pěny u 34 piv převážně australské produkce různých pивních stylů, ale taktéž u vzorků různých pивních stylů z Německa, České republiky, USA, Japonska, Belgie, Číny a z Jižní Koreje pomocí metody Rudin head retention value. Metod pro měření stability pивní pěny je velké množství, vzájemně se od sebe odlišují, tudíž není snadné porovnat výsledky s jinou literaturou [16, 57, 83, 91].

Z výše uvedeného vyplývá, podobně jako tomu bylo i u proteinů, že celkový obsah fenolických látek jako izolovaný parametr nemá zcela zásadní vliv na stabilitu pивní pěny.

#### 5.4 Stanovení hořkosti piv

Hořké chmelové kyseliny mají původ v chmelu. Jsou zodpovědné především za charakteristickou hořkou chuť piva. Úloha hořkých kyselin a jejich interakce v pивní pěně byla popsána v kapitole 2.3.2.

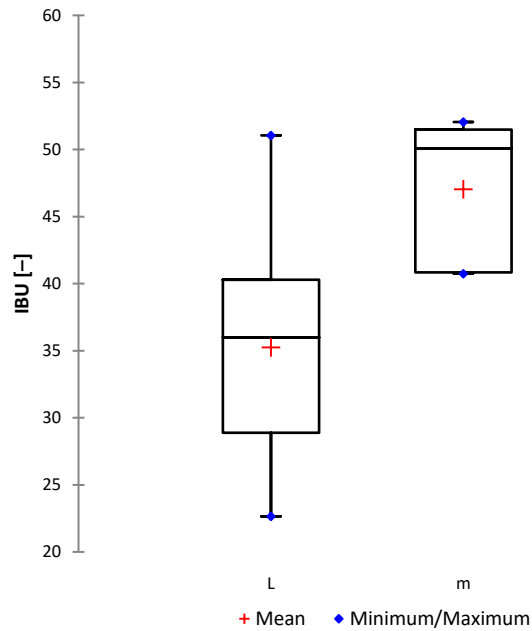
Výsledky stanovení hořkosti, definovanou jako IBU (mezinárodní jednotka hořkosti) jsou prezentovány v tabulce 14 a na obrázku 22.

Tabulka 14: Naměřené hodnoty hořkosti

×	×	IBU
Výčepní piva	Min	22,48
	Max	42,05 <sub>c</sub>
	Průměr	29,61
Ležáky	Min	22,65
	Max	51,05
	Průměr	35,27 <sub>b</sub>
Minipivovary	Min	40,75
	Max	52,05
	Průměr	47,04 <sub>a</sub>

a, b, c – indexy rozdělení podle Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %

Nejvyšší průměrná hořkost byla stanovena u ležáckých piv z minipivovarů (47 IBU), nejnižší byla naměřena u výčepních piv (30 IBU). U ležáckých piv byla průměrná hořkost stanovena na 35 IBU. Na základě analýzy rozptylu byl potvrzen statisticky významný rozdíl v hořkosti mezi skupinami piv ležáckých, výčepních a piv ležáckého typu z minipivovarů. Pomocí Tukeyho testu s intervalem spolehlivosti 95 % byly analyzované vzorky piv rozděleny z hlediska hořkosti do tří skupin. Všechny tři skupiny se tedy z hlediska obsahu hořkých chmelových látek liší. Nejmenší rozsah hořkosti byl u piv výčepních (viz obrázek 22), u kterých byla ale patrná odlehlá hodnota. Vysokou jednotku hořkosti (42 IBU) vykazovalo výčepní pivo z minipivovaru (vzorek 16 – Kamenická 10), nejvyšší hořkost u komerčního piva byla 35 IBU (vzorek 1 – Kanec Extra chmelený). U komerčních ležáckých piv je z grafu taktéž patrná vysoká variabilita naměřených dat. Z grafu vyplývá, že u ležáckých piv z minipivovarů byly naměřené hodnoty obsahu hořkých kyselin průměrně vyšší než u zbylých skupin vzorků. U ležáckých piv z minipivovarů je taktéž možno pozorovat nejnižší variabilitu stanovených dat.



Obrázek 22: Boxový graf hořkosti stanovené v pivech

Mezi obsahem hořkých látek a stabilitou pivní pěny stanovenou pomocí metody NIBEM byla nalezena pozitivní korelace (0,46 pro NIBEM 10, 0,45 pro NIBEM 20 a 0,46 pro NIBEM 30). Z vypočítaného korelačního koeficientu je zřejmé, že obsah hořkých látek má významný vliv na stabilitu pivní pěny. Při porovnání korelačních koeficientů z kapitol o proteinech a celkových fenolických látkách je zjevné, že hořkost jako izolovaný parametr má vliv na stabilitu pěny významnější.

Rozdíly v obsahu hořkých chmelových látek jsou způsobeny především jinou technologií výroby analyzovaných piv a rozdílným dávkováním chmelových produktů při jejich přípravě. Dle literatury jsou evropská piva plzeňského typu standardně chmelena na hořkost v rozmezí 17–30 IBU. Vyšší obsah hořkých kyselin u ležáckých piv z minipivovarů poukazuje stejně jako vyšší koncentrace celkových fenolických látek na snahu o vytvoření zajímavějších chuťových charakteristik než u piv z mainstreamových pivovarů [85].

Evans a kol., kteří se ve své práci zabývali studiem hořkých látek u 34 vzorků různých pivních stylů, uvádí IBU v rozmezí 10–47. Piva analyzovaná v této práci vykazovala vyšší hodnoty obsahu hořkých kyselin. Rozdíl ve výsledcích v této práci a zahraniční studie je dán především analýzou piv odlišných pivních stylů. Neugrodda a kol., kteří analyzovali celkem 45 různých piv, ze kterých byla většina ležáckého typu, stanovili obsah hořkých kyselin v rozmezí 14–41 IBU. Neugrodda a kol. dále uvádí pozitivní korelaci (0,33) mezi obsahem hořkých kyselin a stabilitou pivní pěny [80, 88].

Granato a kol., kteří zkoumali řemeslná americká piva různých pivních stylů, uvádějí obsah hořkých látek v rozmezí 22–41 IBU. Obsah hořkých látek stanovených u piv v této práci se může lišit zejména kvůli použití jiných odrůd chmele charakteristických pro různé pivní styly [90].

Lewis a Lewis ve své práci uvádí vysokou korelaci mezi obsahem hořkých látek a stabilitou pivní pěny měřenou metodou NHL (Normalized Half Life). Uvádí, že korelace stability pivní pěny a obsahu hořkých látek je stejně vysoká jako korelace obsahu polyfenolů a stability pivní pěny (korelační koeficient = 0,62) [91].

Evans a kol. ve své práci uvádí pozitivní korelaci mezi obsahem hořkých látek a stabilitou pивní pěny stanovenou metodou NIBEM (0,16). Dále uvádí, že hydrogenované hořké kyseliny vedou k lepší stabilizaci pивní pěny než hořké kyseliny, které prošly izomerizací.

Habschied a kol. ve své práci analyzovali vzorky ležáků, pив plzeňského typu, pив tmavých a pив černých původem z Německa, České republiky a Chorvatska. Obsahy hořkých látek se pohybovaly v rozmezí 13–30 IBU. Naměřené obsahy hořkých látek u světlých pив byly vyšší než obsahy hořkých látek v tmavých pivech [89].

## 5.5 Prvková analýza pив

Kationty kovů jsou schopny tvořit s hořkými kyselinami křížové vazby vedoucí ke stabilizaci pивní pěny. Přítomnost některých kovových kationtů může vést až k tzv. gushingu (přepěňování pивa). Některé kovové kationty obsažené v pивu mohou nepříznivě ovlivňovat chuť pивa či jeho koloidní stabilitu. Kovové kationty se do pивa dostávají především ze sladu, chmele a z vody použité pro přípravu pивa.

Prvkovou analýzou bylo stanovováno celkem 5 prvků (3 mikroprvky, 2 makroprvky). Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 15: Výsledky prvkové analýzy

×	[mg·l <sup>-1</sup> ]	Ba	Fe	Mn	Ca	Mg
Výčepní pивa	Min	0,019	0,040	0,011	44,235	134,037
	Max	0,057	0,122	0,179	259,295	211,542
	Průměr	0,031 <sub>b</sub>	0,060 <sub>a</sub>	0,064 <sub>a</sub>	111,174 <sub>a</sub>	166,725 <sub>b</sub>
Ležáky	Min	0,027	0,041	0,042	39,421	117,466
	Max	0,049	0,081	0,139	160,024	150,510
	Průměr	0,039 <sub>a</sub>	0,055 <sub>a</sub>	0,083 <sub>a</sub>	73,892 <sub>a</sub>	136,175 <sub>c</sub>
Minipivovary	Min	0,028	0,042	0,071	68,875	185,926
	Max	0,037	0,050	0,116	103,394	247,168
	Průměr	0,033 <sub>a,b</sub>	0,045 <sub>a</sub>	0,095 <sub>a</sub>	85,046 <sub>a</sub>	218,928 <sub>a</sub>

a, b, c – indexy rozdělení podle Tukeyho testu na intervalu spolehlivosti 95 %

Obsah vápníku v pivech byl stanoven v rozmezí 73,892–111,174 mg·l<sup>-1</sup>. Vápník byl v nejmenším množství stanoven u ležáckých pив, v největším zastoupení byl u pив výčepních. Nejvyšší koncentrace vápníku byla stanovena u vzorku výčepního pивa č. 7 (259,295 mg·l<sup>-1</sup>).

Koncentrace hořčíku se v analyzovaných vzorcích pohybovaly v rozmezí 136,175–218,928 mg·l<sup>-1</sup>. Nejvyšší koncentrace hořčíku byly stanoveny u ležáckých pив z minipivovarů, nejmenší koncentrace hořčíku byly stanoveny u ležáckých pив.

Nejméně zastoupeným detekovaným prvkem bylo u všech analyzovaných vzorků baryum, jehož obsah v pivech byl 0,031–0,039 mg·l<sup>-1</sup>. Baryum bylo nejvíce zastoupeno u ležáckých pив, nejmenší obsah barya byl detekován u pив výčepních. Obsah barya vykazoval slabou pozitivní korelaci s obsahem obsažených bílkovin (0,365). Pro obsah barya ve vzorcích byla pomocí analýzy rozptylu nalezena statisticky významná odlišnost (P=0,0185).

Koncentrace železa se pohybovala v rozmezí 0,045–0,060 mg·l<sup>-1</sup>. Železo bylo nejméně zastoupeno u ležáckých pив z minipivovarů, nejvíce u pив výčepních. Nejvyšší koncentrace železa byla stanovena u vzorku výčepního pивa č. 12 (0,122 mg·l<sup>-1</sup>). Obsah železnatých a železitých iontů dle literatury může pozitivně ovlivňovat stabilitu pивní pěny, ale z důvodu

negativního vlivu na chuť a koloidní stabilitu piva je jejich vysoká koncentrace nežádoucí. Dle literatury by neměla koncentrace železa v pivu přesáhnout  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Po přesáhnutí této koncentrace je pravděpodobné, že taniny extrahované z chmelových produktů vytvoří vazby s ionty železa, což může způsobit nežádoucí „kovovou“ příchut' piva. Vyšší koncentrace železa v pivu taktéž může vést k tvorbě oxidačních produktů, které mohou být prekurzory pro rychlejší stárnutí piva a rychlejší oxidaci fenolických látek, jejímž následkem je tvorba zákalu [92].

Obsah železa vykazoval velmi slabou negativní korelaci se stabilitou pивní pěny měřenou metodou NIBEM pro každý její parametr ( $-0,119$  pro NIBEM 10,  $-0,097$  pro NIBEM 20 a  $-0,088$  pro NIBEM 30).

Lewis a Lewis ve své práci uvádí pozitivní korelaci ( $0,45$ ) mezi obsahem železa v pivu a stabilitou pěny měřenou pomocí metody NHL (Normalized Half Life) [91].

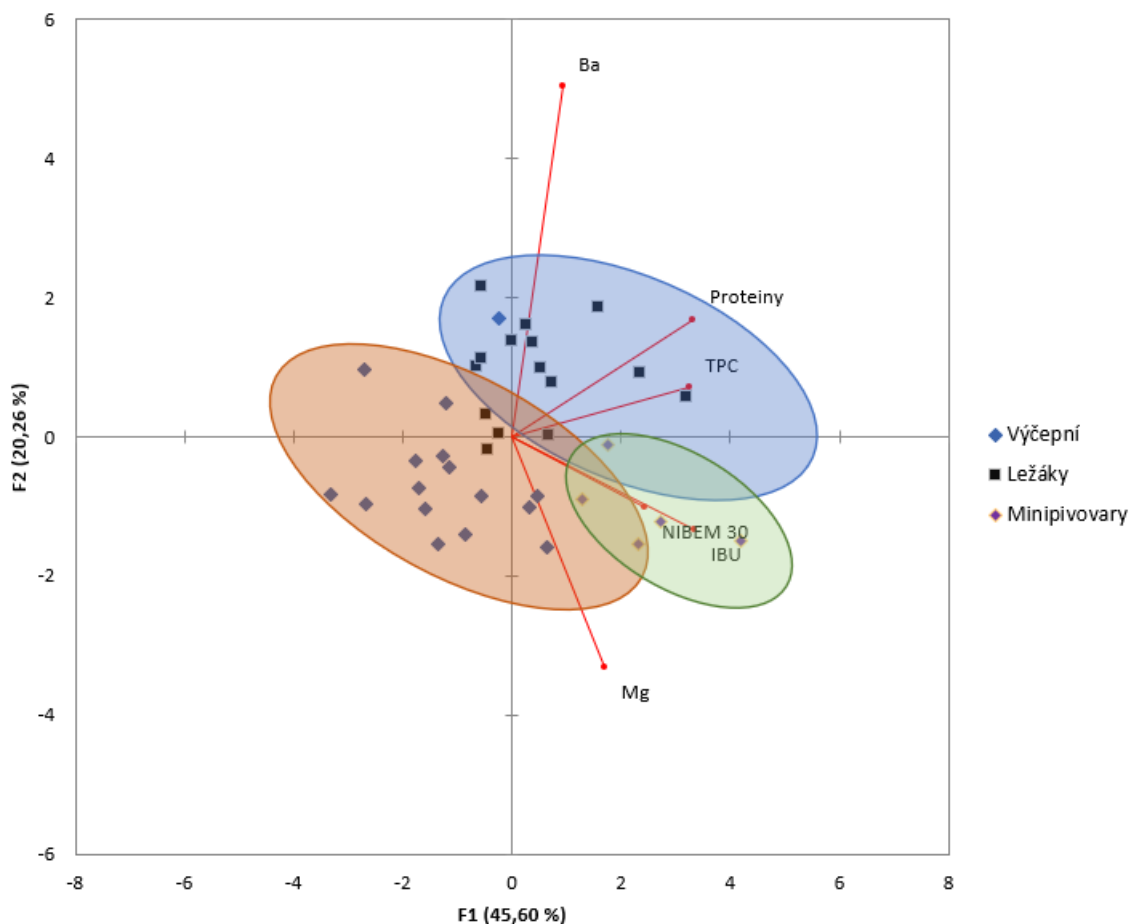
Koncentrace manganu se ve vzorcích piv pohybovala v rozmezí  $0,064\text{--}0,095 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Mangan byl nejvíce zastoupen u ležáckých piv z minipivovarů, nejméně u piv výčepních. Nejvyšší obsah manganu byl stanoven u vzorku výčepního piva č. 12.

Obsah manganu vykazoval slabou pozitivní korelaci se stabilitou pивní pěny stanovenou metodou NIBEM ( $0,21\text{--}0,24$ ). Obsah manganu taktéž velmi pozitivně koreloval s obsahem bílkovin ( $0,56$ ), obsahem celkových fenolických látek ( $0,57$ ) a s obsahem hořkých látek ( $0,36$ ). Mangan je stejně jako železo obsažen v chmelových produktech. I když je železo v chmelových produktech zastoupeno více než mangan, extrakce manganu do výsledného piva je jednodušší, tudíž se v pivu objevuje ve větších koncentracích, což je potvrzeno i velmi slabou pozitivní korelací obsahu železa a celkových fenolických látek ( $0,005$ ) [93].

Porter a Bamforth uvádí, že mangan, stejně jako železo, způsobuje předčasné stárnutí piva a stejně jako železo je schopen vytvářet produkty schopné oxidovat polyfenolické sloučeniny [93].

## 5.6 Vícerozměrná analýza dat

Stanovená data byla podrobena vícerozměrné analýze na základě metody analýzy hlavních komponent (PCA), díky které bylo možno pozorovat odlišnosti analyzovaných vzorků v závislosti na jejich charakteristikách. Výsledky jsou prezentované ve formě grafu s hlavními komponentami F1 a F2. Výsledky byly prezentovány do obrázku 23.



Obrázek 23: Výsledky analýzy hlavních komponent

Z grafu je patrné, že došlo k téměř úplnému rozdělení pozorování (vzorků piv) do 3 klastrů, které korespondují se skupinou, do které vzorky patřily. Ležácká piva z minipivovarů byla vyprojektována do grafu s pozitivním skóre pro komponentu F1 a se záporným skóre pro komponentu F2. Z grafu je patrné, že všechna piva z minipivovarů jsou soustředěována do oblasti okolo osy pro IBU, což přesně odpovídá stanoveným datům, jelikož hodnoty IBU u piv z minipivovarů byly vždy nejvyšší. Projekce vzorků z minipivovarů byla charakteristická negativním skóre pro komponentu F2, se kterou je specificky spojený parametr koncentrace hořčíku.

Ležácká piva mají pozitivní skóre pro komponentu F2 a převážně pozitivní skóre pro F1. Lze pozorovat jejich korelace s obsahem proteinů. V klastru ležáckých piv se nachází 2 vzorky piv výčepních (vzorek č. 3 a vzorek č. 9). U vzorku výčepního piva č. 3 byl pozorován vysoký obsah proteinů (5,148 g/l), u vzorku č. 9 byl obsah proteinů taktéž poměrně vysoký (4,73 g/l).

Výčepní piva byla charakteristická nízkým obsahem analyzovaných látek, čemuž přesně odpovídá i umístění klastru v PCA diagramu. Klastr výčepních piv má převážně záporné skóre pro komponentu F1 i pro komponentu F2. V klastru výčepních piv jsou umístěny 2 vzorky piv ležáckých. Jedná se o vzorek č. 1 a vzorek č.2, což jsou o vzorky s nižším stanoveným obsah proteinů a nízkým obsah celkových fenolických látek.

Univariální hodnocení piv z hlediska stability pěny (parametr NIBEM) neprokázalo statisticky významný rozdíl mezi pivy z testovaných skupin. Na základě vícerozměrné analýzy však tento parametr (NIBEM 30) dopomohl k relativně úspěšnému rozdělení dle typu.



## **5.7 Vliv skupinových parametrů na stabilitu pивní pěny**

Naměřená data byla také podrobena skupinové analýze stanovovaných parametrů k ověření jejich vlivu na stabilitu pивní pěny. Zkoumány byly sumy hlavních analyzovaných parametrů k případné eliminaci vlivu izolovaných parametrů na stabilitu pивní pěny.

Analýza skupinových parametrů potvrdila, že bílkoviny a látky fenolické povahy jako izolované parametry nemají zásadní vliv na stabilitu pивní pěny. Suma bílkovin a fenolických látek vykazovala slabší pozitivní korelaci se stabilitou pивní pěny měřenou metodou NIBEM (korelační koeficient  $> 0,40$ ). Suma bílkovin a hořkosti, stejně jako suma fenolických látek a hořkosti a suma bílkovin, fenolických látek a hořkosti vykazovala vždy nejvyšší vliv na stabilitu pивní pěny (korelační koeficient  $> 0,46$ ). Analýzou skupinových parametrů bylo stejně jako v kapitole 4.4.3 potvrzeno, že hořkost jako izolovaný parametr má na stabilitu pивní pěny největší vliv.

## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo ověřit, zda a jakým způsobem ovlivňují bílkoviny, hořké chmelové látky, fenolické látky a vybrané makroprvky a stopové prvky stabilitu a vlastnosti pивní pěny u českých výčepních piv, ležáků z průmyslových pivovarů a ležáků z minipivovarů.

Stabilita pивní pěny byla měřena metodou NIBEM. Piva, která v této bakalářské práci vykazovala nejvyšší průměrnou stabilitu pивní pěny, byla ležácká piva z minipivovarů, nejnižší průměrná stabilita pивní pěny byla nalezena u piv výčepních. Mezi NIBEM 10, NIBEM 20 a NIBEM 30 byla nalezena velmi silná pozitivní korelace ( $> 0,95$ ). Z toho vyplývá, že rychlost propadu pěny byla u každého vzorku téměř úplně konstantní.

Proteiny se do piva dostávají ze sladu a z pivovarského hlediska se dají považovat za nejdůležitější látky ječmene, jelikož utváří výsledný sensorický profil piva. Některé z nich mají i významný vliv na stabilitu pивní pěny. Obsah proteinů ve vzorcích byl nejnižší u výčepních piv. Naopak nejvyšší koncentrace proteinů byla stanovena v ležáckých pivech z minipivovarů. Korelační koeficient mezi obsahem proteinů v pivech a stabilitou pивní pěny byl statisticky určen na 0,40. Z korelačního koeficientu mezi obsahem celkových proteinů a stabilitou pивní pěny bylo potvrzeno, že proteiny jako izolovaný parametr nevykazují zcela zásadní vliv na stabilitu pивní pěny.

Fenolické látky vykazují antioxidační aktivitu, ve vysokých koncentracích však mohou způsobovat zákaly, které negativně působí na sensorickou kvalitu piva. Kromě toho mají potenciál pozitivně ovlivňovat stabilitu pивní pěny díky vytváření křížových vazeb mezi proteiny ovlivňujícími pěnivost a polymerizovanými polyfenoly. Nejvyšší koncentrace celkových fenolických látek byla stanovena v ležáckých pivech z minipivovarů, nejmenší obsah fenolických látek vykazovala piva výčepní. Korelační koeficient mezi obsahem celkových fenolických látek a stabilitou pивní pěny měřenou metodou NIBEM byl určen na 0,34. U celkových fenolických látek (stejně jako u proteinů) platí, že jako izolovaný parametr nemají na stabilitu pивní pěny zcela zásadní vliv.

Chmelové hořké látky mají původ v chmelu. Nepodílí se však jen na sensorice piva. Spolu s proteiny výrazně napomáhají ke zlepšení stability pивní pěny. Nejvyšší průměrná hořkost byla stanovena u ležáckých piv z minipivovarů, nejnižší byla naměřena u piv výčepních. Na základě analýzy rozptylu byl potvrzen statisticky významný rozdíl v hořkosti mezi skupinami piv ležáckých, výčepních a piv ležáckého typu z minipivovarů. Všechny tři skupiny se tedy z hlediska obsahu hořkých chmelových látek odlišovaly. Rozdíly v obsahu hořkých chmelových látek jsou pravděpodobně způsobeny jinou technologií výroby analyzovaných piv a rozdílným dávkováním chmelových produktů. Vyšší hořkost (IBU) u ležáckých piv z minipivovarů poukazuje stejně jako vyšší obsah celkových fenolických látek na snahu o vytvoření zajímavějších chuťových charakteristik než u piv z mainstreamových pivovarů.

Mezi hořkostí a stabilitou pивní pěny byla nalezena pozitivní korelace (korelační koeficient = 0,46). Z porovnání korelačních koeficientů pro proteiny, celkové fenolické látky a hořkost je zřejmé, že hořkost jako izolovaný parametr má na stabilitu nejnvýznamnější vliv.

Kationty kovů se do piva dostávají především ze sladu, chmele a z varní vody. Mohou tvořit s hořkými látkami křížové vazby a stabilizovat tak pивní pěnu. Přítomnost některých kovových kationtů může vést až k přepěňování piva. Některé z nich mohou také nepříznivě ovlivňovat chuť piva nebo jeho koloidní stabilitu. Prvkovou analýzou bylo v pivech stanoveno celkem 5 prvků: Mg, Ca, Ba, Fe, Mn. Analyzované prvky jako izolovaný parametr neměly statistický význam na stabilitu pивní pěny.

Z naměřených výsledků vyplývá, že proteiny, fenolické látky ani vybrané prvky nemají jako izolovaný parametr podstatný vliv na stabilitu pивní pěny. Naopak hořkost jako izolovaný parametr může být použita k hodnocení stability pивní pěny. Problematika stability pивní pěny by mohla být dále zaměřena na kvalitativní stanovení proteinů, fenolických látek a hořkých kyselin v pивu a posouzení vlivu jednotlivých sloučenin na pивní pěnu.

## SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ČÍŽKOVÁ, Hana, Pavel DOSTÁLEK, Jaromír FIALA a Irena KOLOUCHOVÁ. Význam bílkovin z hlediska pěnivosti a stability pěny piva. *Chemické listy* [online]. 2006, 100(7), 478-485 [cit. 2020-04-05]. Dostupné z: [www.chemickelisty.cz/docs/full/2006\\_07\\_478-485.pdf](http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2006_07_478-485.pdf)
- [2] EVANS, D. Evan a Charles W. BAMFORTH. Beer foam: achieving a suitable head. *Beer*. Elsevier, 2009, 2009, , 1-60. DOI: 10.1016/B978-0-12-669201-3.00001-4. ISBN 9780126692013. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780126692013000014>
- [3] Co je co v povrchové a koloidní chemii [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2005 [cit. 2020-04-05]. Dostupné z: [http://147.33.74.135/knihy/uid\\_es-001/](http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/)
- [4] RONTELTAP, A. D. Beer foam physics. Wageningen University & Research, Netherlands, 1989. Disertace. Agricultural University. Vedoucí práce Prof. Dr. A. Prins
- [5] Bamforth, Charles. (2004). The Relative Significance of Physics and Chemistry for Beer Foam Excellence: Theory and Practice. *Journal of the Institute of Brewing*. 110. 10.1002/j.2050-0416.2004.tb00620.x.
- [6] LYNCH, D.M. a C.W. BAMFORTH. Measurement and Characterization of Bubble Nucleation in Beer. *Journal of Food Science*. 2002, 67(7), 2696-2701. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08801.x. ISSN 0022-1147. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08801.x>
- [7] ELLIS, A. L. a A. LAZIDIS. Foams for Food Applications. *Polymers for Food Applications*. Cham: Springer International Publishing, 2018, 2018-08-10, , 271-327. DOI: 10.1007/978-3-319-94625-2\_11. ISBN 978-3-319-94624-5. Dostupné také z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-94625-2\\_11](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-94625-2_11)
- [8] Fennema OR (1996) Food chemistry. M. Dekker, New York
- [9] ČEPIČKA, Jaroslav. Vliv chmelových látek na pěnivost piva. In: *Chmelařství* [online]. 2000 [cit. xx]. Dostupné z: [http://www.beers.cz/chmelar/2000/ch11\\_20c.html](http://www.beers.cz/chmelar/2000/ch11_20c.html)
- [10] Asano, K., Hashimoto, A.: Rep. Res. Lab. Kirin Brewery Ltd., 19, 1976, s. 9
- [11] Simpson, W. J., Hughes. Stabilization of foams by hop derived bitter acids. *Cerevisiae Biotechnology*. 1994, 19, 39-44
- [12] CARROLL, T.C.N. The effect of dissolved nitrogen gas on beer foam and palate [online]. 1979, 16(3), 116-119 [cit. 2020-04-05]
- [13] BAMFORTH, C. W. Perceptions of Beer Foam. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2000, 106(4), 229-238 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1002/j.20500416.2000.tb00062.x. ISSN 00469750.
- [14] SMYTH, J. E., M. A. O'MAHONY a C. W. BAMFORTH. The impact of appearance of beer on its perception. *J. Inst. Brew*, 2002, 108, 37-42.
- [15] ROZA, J. R., C. E. WALLIN a C. W. BAMFORTH. A comparison between instrumental 44 measurement of head retention/lacing and perceived foam quality. *Master Brew. Ass.*, 2006, 43, 173-176.
- [16] Bamforth, C. W. (1999) Bringing matters to a head: The status of research on beer foam. *European Brewing Convention Monograph, XXVII, Amsterdam*, 10–23.

- [17] ŠAVEL, Jan a Adam BROŽ. Measurement of beer foaming power. *Kvasny Prumysl.* 2006, **52**(10), 314-318. DOI: 10.18832/kp2006026. ISSN 00235830. Dostupné také z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2006026.html>
- [18] Klopper, W. J.: Foam stability and foam kling. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv., 14th, Salzburg, 1973, 363-371.
- [19] Klopper, W. J., Vermeire, H. A.: Zur Bestimmung der Schaumhaltbarkeit des Bieres. Neue Methoden und Erkenntnisse. *Brauwissenschaft* 30, 1977, 276-278.
- [20] Wackerbauer, K., Greif, H.: Schaummessungen mit dem Nibem-Foam-StabilityTester. *Brauwissenschaft* 33, 1980, 123-126.
- [21] Savel, J., Basarova, G.: Eine neue Methode zur Bestimmung der Schaumhaltbarkeit von Bier. *Monatschr. Brauwiss.* 44, 1991, 372-376.
- [22] DALE, Christopher a Adam WEST. Measurement of beer foaming power. *Chemical Engineering Journal*. 1999, **72**(1), 314-318. DOI: 10.1016/S1385-8947(98)00141-7. ISSN 13858947. Dostupné také z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2006026.html>
- [23] Schermbach, R.: Bestimmung der Schaumhaltbarkeit mit der Lichtschranke. *Brauwissenschaft* 33, 1980, 193-195.
- [24] Wilson, P. J., Mundy, A. P.: An improved method for measuring beer foam collapse. *J. Inst. Brew.* 90, 1984, 385-388.
- [25] Lunkenheimer, K., Malysa, K.: A simple automated method of quantitative characterization of foam behaviour. *Polym. Int.* 52, 2003, 536-541.
- [26] Rosendal, I., Rasmussen, J.N.: Experiences with the foam stability analyzer, system Carlsberg. *Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 19, 1982, 153-160
- [27] Hallgren, L., Rosendal, I., Rasmussen, J.A.: Experiences with a new foam stability analyzer, system Carlsberg., *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 49, 1991, 78-86.
- [28] Anger, H. M., Glar, L., Scholz, M.: A new process for foam stability measurement. Foam-tester from Lg-automatic (Denmark). *Brauwelt. Int.* 20, 2002, 146-150.
- [29] Hung, J.K.S., Wallin, C.E., Bamforth, C. W.: Evaluation of an automated procedure for measuring beer foam stability. *Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 42, 2005, 178-183.
- [30] Mulroney, A.R., Wenn, R.V., Oortwyn, J., Williamson, R. R.: The measurement of beer foam using a new laser-based video device. *Proc. Eur. Brew. Congr.*, 26th, Maastricht, 1997, příspěvek 73, 615-622.
- [31] Haugsted, C., Pedersen, M.B., Ersal, K.: An opto-electrical foam assay system. *Monatschrift Brauwiss.* 43, 1990, 336-339.
- [32] Jorge, K., Nothaft, A., Trugo, L.C.: Concept of a foam analysis system using machine vision technologies. *Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 40, 2003, 108-110.
- [33] Roberts, R. T.: *J. Inst. Brew.*, 82, 1976, s. 282
- [34] Lusk, L. T., Goldstein, H. and Ryder, D. (1995) Independent role of beer proteins, melanoidins and polysaccharides in foam formation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 93-103.
- [35] Ronteltap, A. D., Hollemans, M., Bisperink, C. G. J. and Prins, A. (1991) Beer foam physics. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly*, 28, 25-32.

- [36] Evans, D. E., Sheehan, M. C. and Stewart, D. C. (1999c) The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part II: The influence of malt foam-positive proteins and non-starch polysaccharides on beer foam quality. *Journal of the Institute of Brewing*, 105, 171–177.
- [37] Archibald, H. W., Weiner, J. P. and Taylor, L. (1988) Observations on factors affecting beer foam characteristics. *The Brewer*, 74, 349–362.
- [38] Hughes, P. S. and Simpson, W. J. (1995) Interactions between hop bitter acids and metal cations assessed by ultra-violet spectrophotometry. *Cerevisiae Biotechnology*, 20, 35–39.
- [39] Roberts, R. T., Keeney, P. J. and Wainwright, T. (1978) The effects of lipids and related materials on beer foam. *Journal of the Institute of Brewing*, 84, 9–12.
- [40] Slack, P. T. and Bamforth, C. W. (1983) The fractionation of polypeptides from barley and beer by hydrophobic interaction chromatography: The influence of their hydrophobicity on foam stability. *Journal of the Institute of Brewing*, 89, 397–401.
- [41] Simpson, W. J. and Hughes, P. S. (1994) Stabilization of foams by hop derived bitter acids. Chemical interactions in beer foam. *Cerevisiae Biotechnology*, 19, 39–44.
- [42] Wilde, P. J., Husband, F. A., Cooper, D., Ridout, M. J., Muller, R. E. and Mills, E. N. C. (2003) Destabilisation of beer foam by lipids: structural and interfacial effects. *Journal American Society of Brewing Chemists*, 61, 196–202.
- [43] COOPER, D. J., F. A. HUSBAND, E. N. C. MILLS a P. J. WILDE. Role of Beer Lipid-Binding Proteins in Preventing Lipid Destabilization of Foam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, **50**(26), 7645-7650. DOI: 10.1021/jf0203996. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0203996>
- [44] Fischer, S. and Sommer, K. (1999) Cling of beer foam to different surfaces. *Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Cannes*, 27, 183–189.
- [45] Bamforth, C. W. and Kanauchi, M. (2003) Interactions between polypeptides derived from barley and other beer components in model foam systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1045–1050. Lynch and Bamforth 2002
- [46] Prokeš, J.– Helánová, A.: Výsledky průzkumu jakosti ječmene sklizně 2008 v České republice podle odrůd a regionů. *Kvasny Prum.* 55, 2009, č. 2, s. 37–41.
- [47] CZUCHAJOWSKA, Z., A. KLAMCZYNSKI, B. PASZCZYNSKA a B.-K. BAIK. Structure and Functionality of Barley Starches: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. *Cereal Chemistry Journal*. 1998, **75**(5), 747-754. DOI: 10.1094/CCHEM.1998.75.5.747. ISSN 0009-0352. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1094/CCHEM.1998.75.5.747>
- [48] PROKEŠ, J. Technological importance of nitrogenic compounds in barley and malt. *Kvasny Prumysl.* 2000, **46**(10), 277-279. DOI: 10.18832/kp2000023. ISSN 00235830. Dostupné také z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2000023.html>
- [49] GUPTA, Mahesh, Nissreen ABU-GHANNAM a Eimear GALLAGHAR. Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010, **9**(3), 318-328. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x. ISSN 15414337. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2010.00112.x>

- [50] Sorensen, S. B., Bech, L. M., Muldberg, M., Beenfeldt, T. and Breddam, K. (1993) Barley lipid transfer protein 1 is involved in beer foam formation. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly*, 30, 135–145.
- [51] Lusk, L. T., Goldstein, H. and Ryder, D. (1995) Independent role of beer proteins, melanoidins and polysaccharides in foam formation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 93–103.
- [52] Evans, D. E. and Hejgaard, J. (1999) The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part I. The effect of germination and kilning on the level of protein Z4, protein Z7 and LTP1. *Journal of the Institute of Brewing*, 105, 159–169.
- [53] van Nierop, S. N. E., Evans, D. E., Axcell, B. C., Cantrell, I. C. and Rautenbach, M. (2004) The impact of different wort boiling temperatures on the beer foam stabilizing properties of lipid transfer protein 1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3120–3129.
- [54] SALMINEN, Tiina A., Kristina BLOMQVIST a Johan EDQVIST. Lipid transfer proteins: classification, nomenclature, structure, and function. *Planta*. 2016, **244**(5), 971-997. DOI: 10.1007/s00425-016-2585-4. ISSN 0032-0935. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00425-016-2585-4>
- [55] Kaersgaard, P. and Hejgaard, J. (1979) Antigenic beer macromolecules, an experimental survey of purification methods. *Journal of the Institute of Brewing*, 85, 103–111.
- [56] Bamforth, C. W. (2004a) The relative significance of physics and chemistry for beer foam excellence: Theory and practice. *Journal of the Institute of Brewing*, 110, 259–266.
- [57] Evans, David EVAN & Sheehan, M.C. (2002). Don't be fobbed off: The substance of beer foam - A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 60. 47-57.
- [58] Sheehan, M. C. and Skerritt, J. H. (1997) Identification and characterisation of beer polypeptides derived from barley hordeins. *Journal of the Institute of Brewing*, 103, 297–306.
- [59] Vaag, P., Bech, M. L., Cameron-Mills, V. and Svendsen, I. (1999) Characterization of a beer protein originating from barley. *Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Cannes*, 27, 157–166.
- [60] <https://beerandbrewing.com/dictionary/o1j9KOtQ4v/> [online]. [cit. 2020-05-05].
- [61] HILL, Annie a Graham STEWART. Free Amino Nitrogen in Brewing. *Fermentation*. 2019, **5**(1). DOI: 10.3390/fermentation5010022. ISSN 2311-5637. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2311-5637/5/1/22>
- [62] CORTACERO-RAMÍREZ, Sonia, Miguel HERNÁNIZ-BERMÚDEZ DE CASTRO, Antonio SEGURA-CARRETERO, Carmen CRUCES-BLANCO a Alberto FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ. Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2003, **22**(7), 440-455. DOI: 10.1016/S0165-9936(03)00704-0. ISSN 01659936.
- [63] JONES, Margaret a J. S. PIERCE. ABSORPTION OF AMINO ACIDS FROM WORT BY YEASTS. *Journal of the Institute of Brewing*. 1964, **70**(4), 307-315. DOI: 10.1002/j.2050-0416.1964.tb01996.x. ISSN 00469750.
- [64] *Kjeldahl Analysis: Reagents for Nitrogen Analysis* [online]. [cit. 2020-06-12]. Dostupné z: <https://www.itwreagents.com/rest-of-world/en/sa-kjeldahl-analysis--reagents-for-nitrogen-analysis>

- [65] *ANALYSIS OF PROTEINS* [online]. [cit. 2020-06-12]. Dostupné z: <https://people.umass.edu/~mcclemen/581Proteins.html>
- [66] ASUERO a Sławomir WYBRANIEC. The Titration in the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination: Base or Acid as Titrant? *Journal of Chemical Education*. 2012, **90**(2), 191-197. DOI: 10.1021/ed200863p. ISSN 0021-9584. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ed200863p>
- [67] *Spectrophotometry* [online]. [cit. 2020-07-08]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Kinetics/Reaction\\_Rates/Experimental\\_Determination\\_of\\_Kinetics/Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/Reaction_Rates/Experimental_Determination_of_Kinetics/Spectrophotometry)
- [68] *[Absorpční spektrofotometrie]* [online]. [cit. 2020-07-08]. Dostupné z: [http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD\\_DS4/hypertext/AJBDN.htm](http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/AJBDN.htm)
- [69] *VYUŽITÍ CHEMICKY MODIFIKOVANÝCH HOŘKÝCH LÁTEK V PIVOVARSTVÍ* [online]. 2009 [cit. 2020-07-07]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009\\_09\\_721-728.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_09_721-728.pdf)
- [70] *Analytica EBC | Beer | 9.8 - Bitterness of Beer (IM)* [online]. 2018 [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://brewup.eu/ebc-analytica/beer/bitterness-of-beer-im/9.8>
- [71] GARCÍA-VILLALBA, Rocío, Sonia CORTACERO-RAMÍREZ, Antonio SEGURACARRETERO, José Antonio MARTÍN-LAGOS CONTRERAS a Alberto FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ. Analysis of Hop Acids and Their Oxidized Derivatives and Iso- $\alpha$ -acids in Beer by Capillary Electrophoresis–Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(15), 5400-5409. DOI: 10.1021/jf060207x. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf060207x>
- [72] DVOŘÁKOVÁ, M., P. HULÍN, M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK. Determination of polyphenols in beer by an effective method based on solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with diode-array detection. *Czech Journal of Food Sciences*. Elsevier, 2008, 2014, **25**(4), 182-188. DOI: 10.17221/690-CJFS. ISBN 9780124047389. ISSN 12121800. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124047389000295>
- [73] JURIĆ, Anita, Nevena ČORIĆ, Andrea ODAK, Zoran HERCEG a Marina TIŠMA. Analysis of total polyphenols, bitterness and haze in pale and dark lager beers produced under different mashing and boiling conditions. *Journal of the Institute of Brewing*. Elsevier, 2015, 2014, **121**(4), 541-547. DOI: 10.1002/jib.254. ISBN 9780124047389. ISSN 00469750. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jib.254>
- [74] FERNÁNDEZ DE CÓRDOVA, M.L. a A. Ruiz MEDINA. Analytical Methods for Determination of Polyphenols in Beer. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*. Elsevier, 2014, 2014, , 289-299. DOI: 10.1016/B978-0-12-404738-9.00029-5. ISBN 9780124047389. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124047389000295>
- [75] DVOŘÁKOVÁ, Markéta, Pavel DOSTÁLEK a Petr HULÍN. Analytical Methods for Determination of Polyphenols in Sweet Wort, Wort and Beer: An Overview of Analytical Methodology. *Kvasny Prumysl*. 2006, **52**(4), 111-114. DOI: 10.18832/kp2006010. ISSN 00235830. Dostupné také z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2006010.html>



- [76] ROBBINS, Rebecca J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, **51**(10), 2866-2887. DOI: 10.1021/jf026182t. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf026182t>
- [77] Inductively coupled plasma spectrometry and its applications. 2. ed. Editor Steve J Hill. Oxford: Blackwell, c2007, xviii, 427 s. Analytical chemistry. ISBN 978-1-4051-3594-8.
- [78] BOSS, Charles B. a Kenneth J. FREDEEN. Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Second Edition. The Perkin-Elmer Corporation, 1997.
- [79] EVANS, D.E., M. OBERDIECK, K.S. REDD a R. NEWMAN. Comparison of the Rudin and NIBEM Methods for Measuring Foam Stability with a Manual Pour Method to Identify Beer Characteristics That Deliver Consumers Stable Beer Foam. *Cerevisia*. 2013, **38**(2). DOI: 10.1016/j.cervis.2013.09.010. ISSN 13737163. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1373716313000905>
- [80] NEUGRODDA, Christoph, Martina GASTL, Thomas BECKER a R. NEWMAN. Comparison of Foam Analysis Methods and the Impact of Beer Components on Foam Stability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2018, **73**(2), 170-178. DOI: 10.1094/ASBCJ-2015-0129-01a. ISSN 0361-0470. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1094/ASBCJ-2015-0129-01a>
- [81] WALLIN, C. E., M. B. DIPIETRO, R. W. SCHWARZ a C. W. BAMFORTH. A Comparison of Three Methods for the Assessment of Foam Stability of Beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 2010, **116**(1), 78-80. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2010.tb00401.x. ISSN 00469750. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00401.x>
- [82] Marques, D.R., Cassis, M.A., Quelhas, J.O.F., Bertozzi, J., Visentainer, J.V., Oliveira, C.C., Monteiro, A.R.G., Cara, C., Cara, C., Brewer, N., Brewer, N., 2017. Characterization of craft beers and their bioactive compounds. *Chem. Eng. Trans.* **57**, 1747e1752. <https://doi.org/10.3303/CET1757292>.
- [83] Kordialik-Bogacka, E., & Antczak, N. (2011). Prediction of beer foam stability from malt components. *Czech Journal of Food Sciences*, **29**(No. 3), 243–249. doi:10.17221/225/2010-cjfs
- [84] Siebert, K. J., Carrasco, A., & Lynn, P. Y. (1996). *Formation of Protein–Polyphenol Haze in Beverages*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**(8), 1997–2005. doi:10.1021/jf950716r
- [85] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [86] PAI, Tapasya V., Siddhi Y. SAWANT, Arindam A. GHATAK, Palak A. CHATURVEDI, Arpita M. GUPTE a Neetin S. DESAI. Characterization of Indian beers: chemical composition and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, **52**(3), 1414-1423. DOI: 10.1007/s13197-013-1152-2. ISSN 0022-1155. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-013-1152-2>
- [87] Anger, H.-M., Schildbach, S., Harms, D., & Pankoke, K. (n.d.). Analysis and Quality Control. *Handbook of Brewing*, 437–475. doi:10.1002/9783527623488.ch17
- [88] Evans, D. E., Surrel, A., Sheehy, M., Stewart, D. C., & Robinson, L. H. (2008). Comparison of Foam Quality and the Influence of Hop  $\alpha$ -Acids and Proteins Using Five

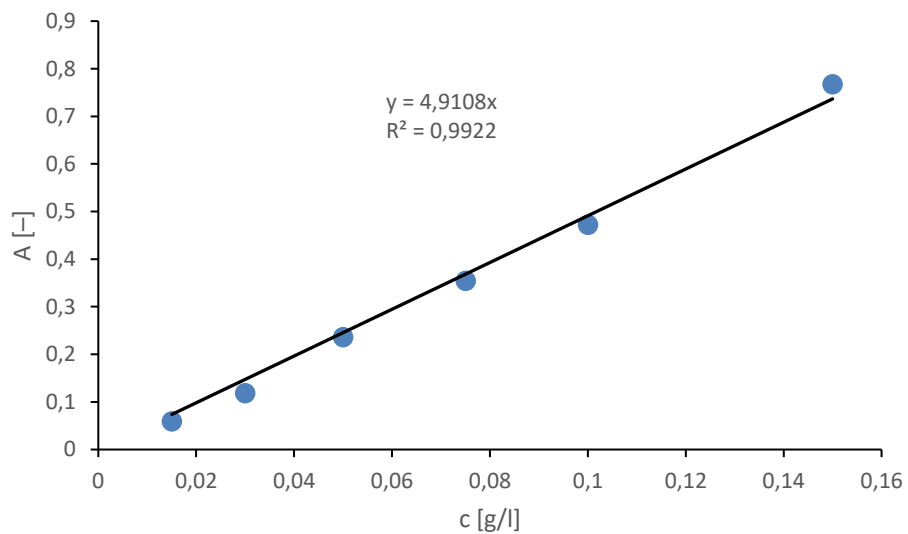
- Foam Analysis Methods. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 66(1), 1–10. doi:10.1094/asbcj-2007-1129-01
- [89] Habschied, K., Lončarić, A., & Mastanjević, K. (2020). *Screening of Polyphenols and Antioxidative Activity in Industrial Beers*. *Foods*, 9(2), 238. doi:10.3390/foods9020238
- [90] Granato, D., Branco, G. F., Faria, J. de A. F., & Cruz, A. G. (2010). *Characterization of Brazilian lager and brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 563–571. doi:10.1002/jsfa.4222
- [91] Lewis M.J., Lewis A.S. (2003): Correlation of beer foam with other beer properties. *Technical Quarterly, Master Brewers Association of America*, 40: 114–124.
- [92] *Iron* [online]. © 2020 [cit. 2020-07-23]. Dostupné z: <https://beerandbrewing.com/dictionary/z0QfFWKntf/>
- [93] Porter, J. R., & Bamforth, C. W. (2016). *Manganese in Brewing Raw Materials, Disposition during the Brewing Process, and Impact on the Flavor Instability of Beer*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 74(2), 87–90. doi:10.1094/asbcj-2016-2638-01

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

APA	American Pale Ale
CCD	Zařízení s vázanými náboji
CID	Charge injection device
CMC	Karboxymethylcelulóza
DAD	Detektor diodového pole
DMF	Dimethylformamid
EBC	European Brewery Convention
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
FAN	Volně vázaný aminový dusík
HGB	Vysokokoncentrované mladiny (High gravity brewing)
HMW	Vysokomolekulární frakce bílkovin
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IBU	Mezinárodní jednotka hořkosti
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
LBP	Bílkoviny vázající proteiny
LMW	Nízkomolekulární frakce bílkovin
LTP	Intracelulární přenašeč lipidů
MS	Hmotnostní spektrometrie
NHL	Normalized half life
PCA	Analýza hlavních komponent
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
TPC	Obsah celkových fenolických látek
UV	Ultrafialové záření
VIS	Viditelné záření

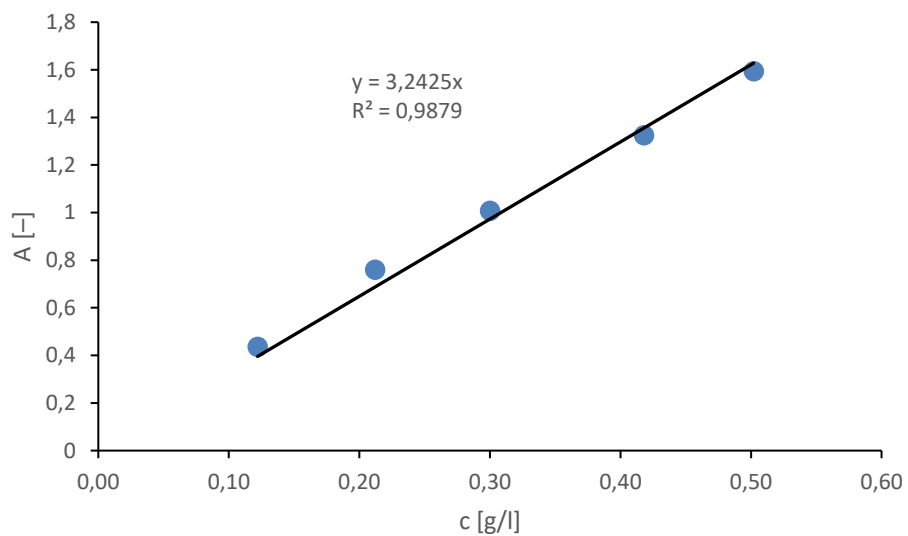
## PŘÍLOHY

### Příloha 1: Kalibrační křivka bílkovin



Obrázek 24: Kalibrační křivka bílkovin

### Příloha 2: Kalibrační křivka kyseliny gallové



Obrázek 25: Kalibrační křivka kyseliny gallové

Tabulka 16: Naměřená data pro výčepní piva

× Číslo vzorku	Hořkost		Proteiny		× A [-]	Fenolické látky c [g/l]	NIBEM			Mg [mg/l]	Ca [mg/l]	Mn [mg/l]	Fe [mg/l]	Ba [mg/l]
	A [-]	IBU	A [-]	c [g/l]			NIBEM 10 [s]	NIBEM 20 [s]	NIBEM 30 [s]					
1	0,699	34,95	0,348	4,429	1,204	0,371	81	163	245	140,840	44,235	0,053	0,063	0,019
2	0,521	26,05	0,331	4,206	0,838	0,258	56	114	177	134,037	116,124	0,011	0,043	0,020
3	0,636	31,78	0,405	5,148	0,783	0,241	82	169	245	180,179	71,062	0,061	0,070	0,057
4	0,494	24,70	0,344	4,372	1,194	0,368	72	147	215	178,256	156,500	0,092	0,061	0,025
5	0,558	27,90	0,351	4,461	1,141	0,352	71	146	228	172,338	205,195	0,040	0,043	0,032
6	0,563	28,15	0,322	4,092	1,199	0,370	65	140	209	158,557	77,937	0,089	0,083	0,031
7	0,551	27,53	0,315	4,003	0,965	0,298	76	154	229	191,308	259,295	0,045	0,043	0,035
8	0,688	34,40	0,363	4,614	1,400	0,432	70	145	220	150,666	101,128	0,077	0,580	0,023
9	0,554	27,68	0,372	4,728	1,111	0,343	65	131	204	171,168	140,816	0,038	0,054	0,039
10	0,646	32,28	0,341	4,340	1,023	0,315	83	167	243	153,030	92,883	0,031	0,044	0,020
11	0,450	22,48	0,288	3,665	1,107	0,341	66	136	202	141,160	51,999	0,062	0,041	0,043
12	0,656	32,78	0,387	4,919	1,435	0,443	75	159	229	211,542	106,362	0,179	0,122	0,032
13	0,570	28,50	0,391	4,970	1,241	0,383	97	186	270	197,637	131,650	0,106	0,077	0,030
14	0,462	23,10	0,287	3,653	1,169	0,361	67	138	206	157,806	81,200	0,033	0,050	0,025
15	0,590	29,48	0,322	4,098	1,266	0,390	75	150	220	167,695	83,962	0,057	0,068	0,034
16	0,841	42,05	0,344	4,372	1,466	0,452	92	186	270	161,385	58,438	0,055	0,040	0,023
Průměr	0,592	29,61	0,344	4,379	1,159	0,357	74,563	151,938	225,750	166,725	111,174	0,064	0,093	0,031
Odchylka	0,096	4,82	0,033	0,418	0,187	0,058	10,235	18,700	24,040	20,837	55,751	0,038	0,128	0,010

Tabulka 17: Naměřená data pro ležáky

× Číslo vzorku	Hořkost		Proteiny		Fenolické látky		NIBEM			Mg	Ca	Mn	Fe	Ba
	A [-]	IBU	A [-]	c [g/l]	A [-]	c [g/l]	NIBEM 10 [s]	NIBEM 20 [s]	NIBEM 30 [s]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
1	0,554	27,70	0,351	4,467	1,426	0,440	98	192	275	117,466	39,421	0,042	0,061	0,027
2	0,793	39,63	0,384	4,887	1,471	0,454	80	157	229	142,238	43,914	0,083	0,044	0,042
3	0,759	37,93	0,339	4,308	1,406	0,434	71	142	211	127,011	56,384	0,087	0,081	0,041
4	0,873	43,63	0,470	5,975	1,691	0,522	83	166	241	150,510	66,109	0,139	0,061	0,038
5	0,820	40,98	0,351	4,467	1,329	0,410	78	154	226	139,162	53,248	0,084	0,041	0,034
6	1,021	51,05	0,457	5,810	1,674	0,516	99	201	287	137,545	81,637	0,105	0,062	0,038
7	0,828	41,40	0,401	5,104	1,379	0,425	87	171	248	134,317	87,298	0,047	0,048	0,031
8	0,514	25,70	0,382	4,855	1,433	0,442	69	145	216	134,200	42,625	0,097	0,046	0,049
9	0,602	30,08	0,368	4,684	1,375	0,424	79	158	235	142,370	57,698	0,070	0,044	0,034
10	0,773	38,63	0,423	5,384	1,820	0,561	74	150	223	143,841	57,428	0,066	0,062	0,047
11	0,453	22,65	0,439	5,581	1,531	0,472	78	155	231	144,195	160,024	0,080	0,043	0,041
12	0,695	34,75	0,395	5,021	1,507	0,465	73	153	234	130,378	96,631	0,070	0,046	0,042
13	0,720	36,00	0,380	4,836	1,591	0,491	80	165	247	145,065	98,816	0,096	0,051	0,040
14	0,543	27,13	0,395	5,021	1,594	0,492	78	157	230	132,164	111,561	0,103	0,074	0,040
15	0,635	31,75	0,366	4,652	1,507	0,465	66	138	214	122,166	55,593	0,077	0,059	0,038
Průměr	0,705	35,27	0,393	5,003	1,515	0,467	79,53	160,27	236,47	136,175	73,892	0,083	0,055	0,039
Odchylka	0,150	7,49	0,038	0,478	0,132	0,041	9,08	16,64	20,50	8,873	31,561	0,023	0,012	0,005

Tabulka 18: Naměřená data pro ležácká piva z minipivovarů

× Číslo vzorku	Hořkost		Proteiny		Fenolické látky		NIBEM			Mg	Ca	Mn	Fe	Ba
	A [-]	IBU	A [-]	c [g/l]	A [-]	c [g/l]	NIBEM 10 [s]	NIBEM 20 [s]	NIBEM 30 [s]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
1	1,030	51,48	0,450	5,727	1,757	0,542	65	130	198	244,930	102,896	0,116	0,049	0,031
2	0,817	40,85	0,397	5,046	1,771	0,546	63	136	212	198,713	68,875	0,078	0,050	0,028
3	1,041	52,05	0,364	4,626	1,663	0,513	92	178	259	217,902	72,534	0,071	0,042	0,033
4	1,002	50,08	0,440	5,600	1,811	0,558	107	205	297	247,168	103,394	0,109	0,043	0,035
5	0,815	40,75	0,407	5,180	1,620	0,500	86	174	252	185,926	77,530	0,103	0,043	0,037
Průměr	0,941	47,04	0,411	5,236	1,724	0,532	82,60	164,60	243,60	212,427	80,583	0,095	0,045	0,033
Odchylka	0,103	5,14	0,031	0,396	0,071	0,022	16,67	27,98	35,32	23,061	13,523	0,018	0,003	0,003