

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra pedologie a ochrany půd



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Obsah hliníku a jeho formy v pivu

Diplomová práce

Bc. Jolana Luxemburková

Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Mgr. Filip Polák, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Obsah hliníku a jeho formy v pivu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne datum odevzdání

Poděkování

Velice ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu panu Mgr. Filipovi Polákovi PhD. za čas, ochotu, trpělivost a cenné rady a připomínky při zpracování této práce. Významné díky patří také všem pedagogům za jejich přednášky a cvičení. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině, přátelům a přítelovi, kteří mi byli oporou po dobu celého mého studia.

Obsah hliníku a jeho formy v pivu

Souhrn práce

V předkládané diplomové práci je provedena literární rešerše, kde je popsána historie piva, jeho technologie výroby a suroviny potřebné pro jeho výrobu a chemické složení, včetně hliníku a fosforu. Rovněž jsou diskutovány způsoby, jakými se hliník může dostávat do piva a je rozebrána otázka toxicity hliníku pro lidský organismus, kde je primární toxicita závislá na kyselosti.

V experimentální části jsou stanoveny přítomné organické kyseliny a fosforečnan, dále obsah hliníku a jeho formy v pivu, na který je kladen důraz z důvodu jeho možné migrace z hliníkového obalu do produktu, který je následně konzumován po celé České republice. V práci je diskutováno, zda množství hliníku závisí na technologickém postupu a surovinách použitých při výrobě piva a zda jsou formy hliníku podmíněné pH, obsahem molekul organických kyselin a ortofosforečnanovým aniontem.

Průměrný obsah hliníku v analyzovaných pivech v láhvi byl 83,5 $\mu\text{g/l}$ a průměrný naměřený obsah hliníku v hliníkových plechovkách byl 106 $\mu\text{g/l}$. Ve vzorcích z láhve tedy bylo naměřeno o průměrně o 22,5 $\mu\text{g/l}$ hliníku méně než ve vzorcích z plechovek. Z tohoto jednoznačně vyplývá, že obalový materiál v případě této práce hrál ve finálním naměřeném množství hliníku v jednotlivých vzorcích určitou roli, dá se tedy předpokládat, že nepatrné množství hliníku migruje do nápoje z obalového materiálu.

Bylo potvrzeno, že v důsledku klesajícího pH ve všech případech docházelo k nárůstu volného Al^{3+} v roztoku. Stabilita komplexů hliníku v pivu, je tedy ve velké míře podmíněná pH roztoku.

Ve všech analyzovaných vzorcích byla potvrzena přítomnost následujících organických kyselin: kyselina octová, kyselina mléčná, kyselina pyrohroznová, kyselina, kyselina šťavelová, kyselina jablečná a kyselina alfa – ketoglutarová.

Klíčová slova: hliník, pivo, plechovka, láhev

Aluminium content and its species in beer

Summary

In the submitted diploma thesis, a literature search is carried out, which describes the history of beer, its production technology and the raw materials needed for its production and chemical composition, including aluminum and phosphorus. The ways in which aluminum can enter beer are also discussed and the issue of aluminum toxicity to the human body is discussed, where the primary toxicity is dependent on acidity.

In the experimental part, the present organic acids and phosphate are determined, as well as the content of aluminum and its forms in beer, which is emphasized because of possible migration from the aluminum packaging into the product, which is subsequently consumed throughout the Czech Republic. The thesis discusses whether the amount of aluminum is dependent on the technological process and raw materials used in the production of beer and whether the forms of aluminum are conditioned by pH, the content of organic acid molecules and the orthophosphate anion.

The average aluminum content in the analyzed beers in the bottle was 83.5 µg/l and the average measured aluminum content in aluminum cans was 106 µg/l. In the samples from the bottle, an average of 22.5 µg/l less aluminum was measured than in the samples from the cans. It clearly follows that the packaging material in the case of this work played a certain role in the final measured amount of aluminum in the individual samples, so it can be assumed that a small amount of aluminum migrates into the drinks from the packaging material.

It was confirmed that a network of free Al^{3+} in solution occurred in all cases as a result of decreasing pH. The stability of aluminum complexes in beer is therefore largely conditioned by the pH of the solution.

The presence of the following organic acids was confirmed in all analyzed samples: acetic acid, lactic acid, pyruvic acid, acid, oxalic acid, malic acid and alpha-ketoglutaric acid.

Keywords: aluminium, beer, can, bottle

Obsah

Úvod.....	10
Cíle práce a vědecká hypotéza.....	11
1 Teoretická část.....	12
1.1 Historie piva v ČR	12
1.1.1 Data o výrobě a spotřebě a zajímavosti	13
1.2 Suroviny pro výrobu	14
1.3 Technologie výroby piva.....	15
1.4 Skladování piva	16
1.5 Chemické složení piva.....	17
1.6 Organické kyseliny v pivu	18
1.6.1 Kyselina octová.....	18
1.6.2 Kyselina mléčná.....	19
1.6.3 Kyselina pyrohroznová	19
1.6.4 Kyselina šťavelová.....	20
1.6.5 Kyselina jantarová	21
1.6.6 Kyselina alfa – ketoglutarová	21
1.6.7 Kyselina jablečná	22
1.6.8 Kyselina citronová	22
1.7 Fosfor v pivu	23
1.8 Hliník.....	23
1.8.1 Základní charakteristika hliníku	23
1.8.2 Problematika toxicity	23
1.8.3 Člověk a hliník.....	24
1.8.4 Hliník v pivu	25
1.8.5 Hliníkové plechovky	25
1.8.6 Korozí obalů a možné ovlivnění kvality piva	25
2 Metodika	26
2.2 Iontová chromatografie	26
2.3 Atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem.....	26
2.4 Seznam vzorků	26
2.5 Stanovení pH ve vzorcích piva	27
2.6 Příprava vzorků pro stanovení hliníku pomocí ICP-OES	27
2.7 Stanovení obsahu organických kyselin a fosforečnanu	28
2.8 Stanovení stability komplexů hliníku a vybraných aniontů.....	28

3	Výsledky	30
3.1	pH	30
3.2	Stanovení hliníku	30
3.3	Stanovení organických kyselin a fosforečnanu	31
3.3.1	Fosfor	34
3.3.2	Stanovení stability komplexů hliníku a vybraných aniontů.....	35
4	Diskuze	37
4.1	Obsah hliníku v pivu a významné faktory	37
4.2	Stanovení organických kyselin	40
4.2.1	Stability komplexů hliníku a vybraných aniontů	44
5	Závěr	48
6	Seznam použitých zdrojů	49
7	Seznam příloh	52
8	Seznam použitých symbolů a zkratek	53
9	Samostatné přílohy	54

Úvod

Pivo, komplexní vařený nápoj vyrobený ze sladu, chmele, vody a kvasnic, je konzumováno po celém světě a je všeobecně velmi oblíbeným nápojem. Tato skutečnost je způsobena jeho senzorickými, organoleptickými, nutričními a léčivými vlastnostmi. Uvádí se, že pivo je pátým celosvětově nejvíce konzumovaným nápojem, po čaji, šumivých nápojích, mléce a kávě. Tato skutečnost se dá vysvětlit výše zmíněnými vlastnostmi piva, ale také jeho relativně nízkou cenou, ve srovnání s jinými alkoholickými nápoji. Některé studie prokázaly, že umírněná konzumace nízkostupňového piva s sebou nese různé příznivé dopady na lidské zdraví, včetně nutričního přínosu, antikarcinogenních a antimutagenních účinků, může s sebou nést i kardioprotektivní účinek a v neposlední řadě stimulaci imunitního systému nebo prevenci vzniku demence.

Na druhou stranu, není radno s ničím přehánět, a už vůbec ne s alkoholickými nápoji, včetně piva. Prokázalo se, že nadměrná konzumace piva vede k mnohým zdravotním problémům, jako je indukce alergie, zvýšení plazmatické koncentrace kyseliny močové, nebo indukce mutací a rakoviny.

Pivo bylo tradičně oblíbeným nápojem mnoha kultur i v dávné historii. Nejstarší historické důkazy ukazují, že vaření piva se datuje přibližně od roku 6000 př. n. l. ve starověké Babylonii, kde se tehdy vyrábělo asi 160 druhů piv. Ve starověkém Egyptě, Číně, Římě, Indii a Íránu se průmyslově vyrábělo nejen mnoho piv, ale i produktů podobným pivu z různých zrn. Pivo bylo nejen běžně konzumovaným nápojem, ale bylo tehdy i nedílnou součástí náboženských obřadů. (Sohrabvandi et al. 2012)

Jelikož je pivo takto hojně konzumovaným nápojem po celém světě, je důležité se zamyslet a zhodnotit jeho případné dopady na lidské zdraví. V této diplomové práci je konkrétně zkoumán obsah hliníku a jeho formy ve vzorcích jednotlivých piv a potenciální interakce mezi obalovým materiálem, kterým je plechovka a produktem, kterým je pivo.

Cíle práce a vědecká hypotéza

Cílem diplomové práce je stanovení hliníku a jeho forem v různých druzích piva českého původu a určit, jakému množství tohoto rizikového prvku můžeme být důsledkem konzumace tohoto nápoje potenciálně vystavováni. Součástí diplomové práce bude také stanovení, zda skladování piva ve skle a v plechovkách má vliv na celkový obsah hliníku.

Hypotéza:

Obsah hliníku bude záviset na technologickém postupu a surovinách použitých při výrobě piva. Formy hliníku v pivu budou podmíněné pH, obsahem molekul organických kyselin a fosforečnanového aniontu.

1 Teoretická část

1.1 Historie piva v ČR

Dějiny výroby piva se v našich zemích datují v již dávné historii. Pivovarství patří mezi řemesla, která se na našem území vyvíjela sama, bez cizích vlivů a je jedním z nejtradičnějších tuzemských oborů, který navíc svým způsobem pozitivně ovlivňuje návazné sektory, jako je zemědělství, pivovarské technologie i pohostinství.

Vzniku tradicí spojených s pivovarnictvím a sladovnictvím na našem území vděčíme jak stěhování národů, tak i faktu, že zde byly již v dávných dobách vynikající půdně – klimatické podmínky, které zajišťovaly špičkovou kvalitu surovin (Chládek 2007).

První zmínka o pivě na území dnešní České republiky pochází ze 4. století před naším letopočtem. Předpokládá se, že v té době přišel do Evropy keltský kmen Bójů, který sem přinesl i schopnost vaření piva. Ve 3. století před naším letopočtem přišli na naše území Slované, kteří s sebou přinesli znalost vaření piva z ječmene, pšenice a ova včetně chmelení (Večerníček 2009).

Pivo se v raném středověku vařilo běžně v domácnostech, později s výstavbou klášterů, kde měli vlastní výroby piva, došlo ke značnému zlepšení kvality technologie výroby, která však i přesto byla velmi primitivní. Jako vůbec první zaznamenaný pivovarnický klášter se považuje Benediktýnský klášter, který byl postaven roku 993 v Břevnově, jenž nechal postavit biskup Vojtěch (Večerníček 2009).

Za období středověku probíhal rozvoj měšťanského vaření piva, což poté ve 13. století dalo vzniknout prvním právním normám, vzniklo například „Mílové právo“, které opravňovalo Česká a Moravská královská města vařit pivo na míle od města. Jedny z nejstarších zaznamenaných městských pivovarů je pivovar Teplá, o kterém existuje záznam již z roku 1200, dále Hodonínský pivovar (1228) a Olomoucký pivovar (1250) (Nováková & Richter 2009).

Jelikož byl v tomto období v platnosti monopol měšťanů na vaření piva, začaly v tomto odvětví vznikat mnohé spory. Jedním z těchto sporů byl i zájem šlechty o vaření piva, jelikož bylo pro královská města zdrojem velkých finančních zisků. Šlechta si tedy časem začala vystavovat vlastní pivovary a sladovny, což tehdejší spory ještě přirostřovalo. Dále vzniklo „Právo várečné“, které uděloval král, tehdy pouze měšťanům. Šlechta si proto začala budovat vlastní poddanská města, což ústilo v intenzivní boje mezi šlechtou a královskými městy, jelikož nyní měli várečné právo šlechta, církve, i královští měšťané. Tento spor byl vyřešen až roku 1517 sestavením Svatováclavské smlouvy, která tento monopol zrušila (Večerníček 2009).

Jedním z původních pivovarů fungujících nepřetržitě až do dnešního dne je například pivovar Bohemia Regent, který byl založen roku 1379 mocnou rožmberskou šlechtickou velmocí, čímž se řadí jako jeden z nejstarších střeoevropských pivovarů vařících pivo ve svých původních prostorách. I přes tehdejší relativně primitivní výrobní technologie bylo za dob středověku České pivo velmi kvalitní a ceněné a vyváželo se do mnohých evropských královských dvorů. Jedním z důvodů vysoké kvality byla i přítomnost cechů, které stanovovaly jak kvantitu vaření piva na měšťanský dům, tak i množství sladu, kvalitu piva a sladu, a v neposlední řadě morálku členů. Ve sladovnictví a pivovarnictví mohli, na rozdíl od zahraničí, pracovat pouze vhodně vzdělaní jedinci (Vinopal 2004).

V 16. století se v Čechách vařila zejména piva pšeničná nebo ječná. Všechna tato piva byla svrchně kvašená.

Na konci 18. století do historie pivovarnictví vstupuje sládek František Ondřej Poupě – knihou „Umění vařit“, a později vlastní moderní pivovarskou školu v Evropě, čímž obohatil sladovnictví a pivovarnictví novými zařízeními, díky čemu se tento obor na našem území posunul značně kupředu (Chládek 2007).

V první polovině osmnáctého století vznikl měšťanský pivovar v Plzni – dnešní Prazdroj. Tehdejší technologie byly již pokročilejší, což dávalo vzniku velmi kvalitním pivům. Ten v roce 1842 vyprodukoval první várku vysoce kvalitního spodně kvašeného ležáku zcela originální a dokonalé chuti, díky čemu se stal vzorem pro pivovary po celém světě, které se snažily toto pivo napodobit (Chládek 2007).

Roku 1869 bylo zrušeno „Propinační právo“, zabraňující vzniku nových pivovarů, což zapříčinilo markantní rozkvět pivovarnictví. Za pokrokem stojí i technologický pokrok, například parní stroje, průmyslové chlazení nebo stáčecí linky. V této době se řadily Čechy a Morava do nejvyšší pivovarnické ligy v Evropě. Tato renesance trvala až do druhé světové války, díky které zaniklo 121 pivovarů, 63 % chmelnic bylo zničeno a v pěstování ječmene byly ztráty téměř třicetiprocentní (Chládek 2007).

Během komunismu pivovarnictví spíše stagnovalo, do pivovarnictví v té době nebylo téměř investováno, nicméně zůstala zachována tradiční česká výroba piva.

V současné době Česká republika zažívá velký rozmach regionálních pivovarů různých velikostí i rozmanitosti produkce. V současnosti jsou znovuotevírány tradiční České pivovary, a některé z nich dokonce i v původních prostorách, což České pivovarnictví činí jako naprostý unikát ve světě. Díky výše zmíněné pivovarnické revoluci se Česká republika stala zemí s největším počtem pivovarů na osobu na světě (Chládek 2007).

1.1.1 Data o výrobě a spotřebě a zajímavosti

I když je pivo velmi oblíbeným a rozmanitým alkoholickým nápojem po celém světě, Česká republika v tomto měřítku značně vyniká. Výroba i konzumace piva je zde totiž součástí kultury již po staletí, díky čemu patří po celá léta na celosvětovou špici. Česká piva jsou po celém světě vyhlášena a považována za jedna z nejkvalitnějších. Ne nadarmo proto, od roku 2008, České pivo nese titul Chráněné zeměpisné označení EU a dále usiluje o označení nehmotného dědictví UNESCO (Šámal 2023).

Do roku 2019 měla Česká republika jednoznačně největší spotřebu piva na hlavu, a takto tomu bylo po 27 let, tedy od roku 1993. Na druhém místě ve spotřebě na hlavu v roce 2019 se umístilo Rakousko, a dále Rumunsko. Roční spotřeba na hlavu činila 188,6 litrů piva, což znamená 280 vypitých kusů půllitrů plechového, točného nebo lahvového piva na osobu. Na druhém místě v Evropě se umístilo sousední Rakousko, jehož spotřeba činila 107,8 litrů a těsně za ním Rumunsko, kde činila spotřeba piva na hlavu 100,3 litrů.

V současné době ale můžeme pozorovat značný pokles v konzumaci piva v České republice na osobu. (Gébllová 2022)

Od roku 2019 s příchodem onemocnění Covid – 19 konzumace na obyvatele razantně klesla, díky čemu celková produkce piva a tuzemská spotřeba byla tehdejšími

protiepidemickými opatřeními, omezením gastronomie a turismu značně ovlivněna. Uvádí se, že spotřeba byla od 60. let minulého století vůbec nejnižší (Gébllová 2022).

V roce 2020 činila spotřeba 139,9 litrů piva na hlavu, tedy o šest litrů méně, než uvádí statistika z roku 2019.

Jak ukazují data Českého svazu pivovarů a sladoven, až do roku 2019 produkce piva stoupala. Tehdy dosáhla historického maxima 21,2 milionu hektolitrů. Kvůli Covidu klesla jeho výroba v roce 2021 o dva miliony hektolitrů na číslo 19,6 milionu hektolitrů, z čehož 14,32 milionu hektolitrů bylo vypito domácími spotřebiteli a 5,28 milionu hektolitrů bylo exportováno. (Ed 2022)

V současné době jsou největším odběratelem tuzemských piv země Evropské unie, zejména se jedná o země sousedící s Českou republikou, jako je Slovensko, Německo, Rakousko a Polsko (Ed 2022).

Největší úspěch za rok 2021 mělo pivo lahvové – prodalo se jej 45 procent z celkového výstavu. Markantně vzrostl zájem o pivo v plechu, a to při meziročním srovnání o celých třiatřicet procent. I přes to, že se spotřeba piva stále nedostala na úroveň před vypuknutím pandemie, pivo v plechovce dnes tvoří necelou pětinu celkového prodeje.

Celkově největší zájem byl již klasicky o piva spodně kvašená se stupňovitostí 11 až 12, tedy ležáky, jehož podíl dosáhl pětadesáti procent, z čehož výčepní činilo téměř jednačtyřicet procent. Celkově vzrostl i zájem o pivní speciály, který se vrátil na předpandemickou úroveň. V dlouhodobějším horizontu mírně roste zájem o spodně kvašená piva se stupňovitostí 11–12. Velký úspěch mají v současné době i pivní mixy – míchané nápoje na bázi piva, které jsou v prodeji ve formě alkoholické, ale i nealkoholické. Právě nealkoholické pivní mixy se v současnosti dostávají do popředí (Ed 2022).

1.2 Suroviny pro výrobu

Pivo je alkoholický nápoj výrazného a kulturního významu již od středověku. Lidé v té době sice měli k dispozici i čistou vodu, ale pivo bylo považováno za její výživnější alternativu.

Nezákladnější suroviny pro výrobu piva ve své nejjednodušší podobě mohou být omezeny na pouze čtyři suroviny. Jsou jimi ječmen, chmel, voda a kvasnice. Globálně se ale používá mnohem více různých surovin. Jako zdroje obilovin nebo sacharidů mohou být používány různé suroviny, jako například čirok, pšenice, žito nebo oves, ale i rýže nebo kukuřice (Dove 2014).

Jednou z hlavních surovin pro výrobu piva je neodmyslitelně voda, která přímo ovlivňuje kvalitu piva. V dnešní době voda, která se bude účastnit procesu výroby piva musí splňovat kritéria na pitnou vodu. V pivovarnictví se dělí používaná voda do tří skupin: (1) varní voda, (2) mycí a sterilační voda a (3) provozní voda. Varní voda, ze které se pivo vaří, nesmí obsahovat chlór, příliš železa, manganu a uhličitánů, aby nedošlo k ovlivnění chuti piva.

Další z nezastupitelných surovin patřících k výrobě piva je chmel, který značně ovlivňuje řadu kvalitativních aspektů. Do piva je přidáván ve formě usušených hlávek samičích rostlin chmele otáčivého (*Humulus Lupulus*) z povolených pěstitelských oblastí. V České republice jsou to Žatecko, Ústecko a Tršicko (Basařová 2010).

Pěstování chmele je v Čechách zaznamenáno již od 11. století. V dávných dobách se používal primárně pro své konzervační schopnosti, později se ukázalo, že jeho pryskyřice dodává pivu jeho signifikantní hořkost a silice aroma. Konzervační schopnosti chmele přináší zejména některé potenciálně antimikrobiální a antioxidační látky ze skupiny polyfenolických sloučenin. (Mrkvička)

Chmel je rovněž zdrojem významných stopových prvků, jako je mangan a zinek, které jsou v lidském těle nezbytné pro mnoho enzymatických pochodů. I přes to, že je mangan přínosný, je potřeba jeho obsah regulovat, jelikož, stejně jako jiné dvojmocné ionty kovů, může narušit chuťové vlastnosti piva (Basařová 2010).

Další surovinou pro výrobu piva je slad. Za slad jsou obecně považována obilná zrna, u nichž došlo k enzymatickým přeměnám endospermu a k vytvoření typických sensoricky aktivních látek. V tuzemské výrobě silně převažuje slad ječný i přes to, že by se teoreticky daly sladovat i jiné druhy obilí, například pšenice. Pro výrobu sladu jsou základními surovinami sladovnický ječmen a voda (Basařová 2010).

Další klíčovou surovinou pro výrobu piva jsou pivovarské kvasinky. Jsou to jednobuněčné organismy, které přeměňují zkvasitelné cukry na ethanol a oxid uhličitý za vzniku esterů, aldehydů, ketonů, alifatických alkoholů a organických kyselin, které se zásadně podílejí na sensorických vlastnostech vznikajícího produktu (Briggs et al. 2004).

Při produkci piva jsou nejčastěji aplikovány spodní pivovarské kvasinky (skupina *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *Uvarum*) a svrchní pivovarské kvasinky (skupina *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *cerevisiae*) (Bendová & Kahler 1981).

Kromě zmíněných základních surovin jsou do piva přidávány i některé pomocné látky, například sladidla, stabilizační přípravky, barvicí prostředky, bílkoviny nebo speciální přípravky zvyšující nebo snižující pěnivost (Basařová 2010).

1.3 Technologie výroby piva

Technologie výroby piva se skládá z následujících tří hlavních úseků: příprava mladiny, kvašení mladiny a dokvašování mladého piva a závěrečných úprav a stáčení hotového produktu do lahví. Prvním úsekem je příprava mladiny, která probíhá ve varně. V České republice silně převažuje vícermutový dekokční postup. Prvním krokem je rozšrotování sladu, poté je, při tzv. vystírání smíchán s vodou. Dále následuje rmutování. V tomto procesu jsou klíčovými enzymatické reakce (Basařová 2010).

Kromě štěpení škrobu je při rmutování důležité i štěpení vysokomolekulárních bílkovin, které jsou stěžejní pro pěnivost piva a plnost jeho chuti a aminokyseliny jsou důležité pro kvašení. Obsah bílkovin je ale regulován, a to z důvodu, že by při jejich vyšším obsahu mohla být snížena trvanlivost piva. Cílem těchto enzymatických reakcí je štěpení a převedení extraktu do roztoku, po čemž jsou vytvořeny vhodné podmínky pro výrobu příslušného typu piva (Basařová 2010).

Šrotování sladu je technologická operace, kde je principem mechanické drcení sladového zrna ve šrotovnicích. Získaný šrot je poté smíchán s vodou. Dalším krokem je rmutování, kdy dochází k enzymatickému zcukřování. Nejdůležitějším pochodem je zde štěpení škrobu na nízkomolekulární cukry, zejména glukosu, maltosu a dextriny (Basařová 2010).

Po této operaci je dalším krokem scezování, kdy je oddělován sladový extrakt od pevného podílu zcukřeného rmutu. Dále následuje vyslazování, kde je několikrát proplachováno usazené mláto. Dochází k dokonalému vyplavení ve vodě rozpustných látek, a tím zvýšení podílu extraktivních látek ve výluhu. Produkty vyslazování a scezování se zcelí a dohromady vytváří produkt, který se nazývá sladina (Basařová 2010).

Dalším krokem je vaření, tj. chmelovar. Probíhá zde řada fyzikálních, chemických a biochemických procesů. Při této operaci dochází při teplotě 98 až 100 stupňů Celsia k převedení hořkých látek chmele do sladiny, sterilaci sladiny, inaktivaci enzymů, koagulaci bílkovin polyfenolovými látkami sladu a chmele. Cílem této operace je i odpaření přebytečné vody, snížení pH a zajištění oxidační reakce. Chmel se ve většině případů přidává třikrát (Basařová 2010).

Dále je potřeba od stávajícího produktu oddělit zbytky chmele, což je prováděno na vířivé kádi.

Poté je mladina zchlazena na 5 až 7 stupňů Celsia. Hlavní složkou této směsi jsou sacharidy s převahou maltosy. Je zde klíčové, aby mladina obsahovala počet extraktivních látek podle druhu stávajícího piva. Vyrábíme – li tedy například desetistupňové pivo, musí mladina obsahovat 10 hmotnostních procent extraktivních látek. Po této operaci následuje kvašení mladiny. Zchlazená přečerpaná mladina je zaočkována přibližně poměrem 0,5 litrů kvasnic na 100 hektolitrů mladiny. Kvašení mladiny je rozděleno na dva úseky, a to na hlavní kvašení a dokvašování (Basařová 2010).

Během hlavního kvašení lze pozorovat několik stádií. Hlavní kvašení trvá 6 až 14 dní, v závislosti na druhu vyráběného piva. Nedlouho po přidání kvasinek je možno pozorovat vznik bílé pěny na povrchu, tzn. zaprašování. Po zhoustnutí pěny je proces ve fázi nejintenzivnějšího kvašení. Na konci hlavního kvašení sedimentují kvasinky na dno kvasné kádě. Je možné je proprat studenou vodou a využít znovu při očkování další várky mladiny. Dalším krokem procesu je dokvašování a zrání mladého piva. Doba dokvašování u běžných piv do koncentrace 10 %, bývá okolo tří týdnů, 12 % dokvašují okolo 70 dnů, jiná piva, například speciály, mohou dokvašovat až několik měsíců (Basařová 2010).

Proces dokvašování je prováděn v ležáckém sklepě, v uzavřených tancích, kde je monitorována teplota, která se pohybuje od jednoho do tří stupňů Celsia. Po uplynulé době dokvašení je pivo zralé, tedy připravené ke konzumaci. Dále je možné provádět některé další terminální operace, jako například filtrace, čiření, pasterizace nebo stabilizace. Konečnou operací je stáčení hotového produktu do zvoleného obalového materiálu. Aby bylo zamezeno ztrátám oxidu uhličitého, fungují stáčečí stroje na izobarickém principu. Dalším kritickým faktorem je styk produktu s kyslíkem. Aby k tomu nedošlo, je pivo stáčeno pod tlakem oxidu uhličitého do obalů přeplněných oxidem uhličitým (Basařová 2010).

1.4 Skladování piva

Na kvalitu a nezávadnost piva má značný vliv několik faktorů při jeho skladování. Mezi tyto faktory patří v první řadě obalový materiál. Na Českém trhu jsou dostupné čtyři základní obalové materiály: püllitrová láhev z hnědého skla, 1,5 litrová hnědá PET láhev, püllitrová hliníková plechovka a padesátilitrový „keg“ sud. Na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně, na

fakultě technologické, byla provedena studie, která prokázala, jak je ovlivněna kvalita piva při dlouhodobém skladování, a dále jaký vliv na kvalitu má obalový materiál, němž je pivo skladováno, po dobu jednoho roku.

Členka výzkumného týmu, Ing. Eva Lorencová Ph. D. uvádí, že nejnižší stabilitu v kvalitě jednoznačně vykazala PET láhev, do níž se dostaly molekuly kyslíku, které následně způsobily chuťové vady. Nejintenzivnější změny byly zaznamenány od šestého měsíce. Markantní změny byly zaznamenány i u skleněné láhve, ale ty byly zaznamenány až po delší době, a to po osmi měsících. Důvodem znehodnocení vzorku byla skutečnost, že korunkové uzávěry dost dobře netěsnily, a tím pádem se dovnitř dostaly molekuly kyslíku. V tomto výzkumu byly vyhodnoceny jako nejlepší materiály pro dlouhodobé skladování piva hliníková plechovka a keg sud (Salek & Lorencová 2020).

Pivo je velmi citlivé na teplotní výkyvy. Veškeré vyšší i nižší teploty jsou pro pivo škodlivé. U teplot nižších hrozí vznik tzv. chladového zákalu. Při vyšších teplotách mohou degradovat sensorické vlastnosti, kvůli vzniku oxidu uhličitého, s čímž souvisí i vyšší pěnivost. Pro pivo jsou ideální suchá, čistá, uzavíratelná místa bez dosahu slunečního a bílého umělého světla, ideálně provzdušněné sklady. Role teploty je klíčová i pro obsah hliníku v pivu, které má plechový obal. Pro pivo je ideální teplota kolem 5 stupňů Celsia, tedy chladničková teplota (Vela et al. 1998).

1.5 Chemické složení piva

Pivo je velmi složitá matrice, ve které bylo detekováno více než 400 různých sloučenin, včetně makromolekul, lipidů, nukleových kyselin a sacharidů. Některé sloučeniny jsou součástí surovin, ze kterých se pivo skládá, jiné jsou výsledkem chemické a biochemické přeměny surovin během sladování, rmutování, varu a fermentace. Všechny tyto složky tvoří charakter piva (Hough et al. 1982).

I když ve skutečnosti je pivo tvořeno v průměru z 90 % vodou a zhruba 6 % ethanolu, podstata tohoto alkoholického nápoje je skutečně skryta ve zbylých 4 %. Ty obsahují přibližně 800 organických sloučenin, které v závislosti od obsahu a poměru určují organoleptické vlastnosti piva (vůni a chuť). Většina má původ buď z použitých surovin, nebo se jedná o vedlejší produkty metabolismu kvašení. Kromě vody jsou v pivu zastoupeny v koncentraci vyšší než 1 g/l nezkvašené sacharidy, ethanol, oxid uhličitý a glycerol (Preedy 2009).

Mezi těkavé produkty ethanolového kvašení patří ethanol, oxid uhličitý, ale i vyšší alkoholy, které se v pivu vyskytují v malém množství. Mezi tyto alkoholy patří propanol, butanol a pentanol. Pivo dále obsahuje acetaldehyd a malé množství sirných sloučenin, dále polyfenoly, včetně flavinoidů, hořké kyseliny, kterými jsou humulon a lupulon (Janson 1996).

Mezi extraktivní látky řadíme nezkvasitelné sacharidy, jako jsou dextriny nebo alfa – glukany, dále glycerol, minerální a dusíkaté látky, třísloviny, barviva a organické kyseliny. Z minerálních látek se v pivu nachází sodné a draselné soli, křemičitany a fosforečnany. Mezi barviva obsažená v pivu patří například melanoidiny a flobafeny. V neposlední řadě je pivo zdrojem vitamínů skupiny B (Janson 1996).

1.6 Organické kyseliny v pivu

Organické kyseliny v pivu pochází z metabolismu pivovarských kvasinek – buď jako intermediáty nebo jako vedlejší produkty. Jsou produkovány spolu s ethanolem, glycerolem a oxidem uhličitým při degradaci maltosy a glukosy. Konkrétní kmen kvasinek se značně podílí na finální hladině těchto kyselin. Organické kyseliny mohou vznikat i katabolismem aminokyselin. Jsou v pivu minoritní složkou, narozdíl od sacharidů. V pivu bylo detekováno velké množství různorodých organických kyselin, které jsou jeho nedílnou součástí. Svou přítomností se podílí na snižování pH, což zajišťuje charakteristickou chuť piva, ale také větší odolnost vůči bakteriální kontaminaci. Koncentrace organických kyselin se při fermentaci může zvyšovat i snižovat (Briggs et al. 2004)

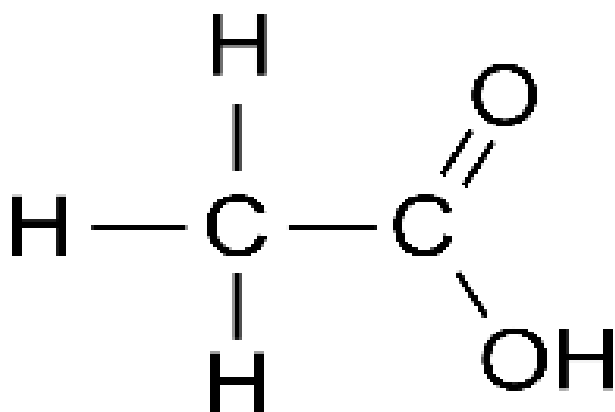
Tyto kyseliny jsou děleny na těkavé a netěkavé organické kyseliny. Mezi těkavé se řadí například kyselina octová a mezi netěkavé se řadí kyselina prohroznová, kyselina alfa – ketoglutarová, kyselina jablečná, kyselina jantarová, kyselina mléčná a kyselina citronová.

Mezi nejdůležitější v pivu stanovené kyseliny patří kyselina mléčná, octová, jantarová, jablečná, citronová, šťavelová, pyrohroznová a alfa – ketoglutarová (Coote & Kirsop 1974).

1.6.1 Kyselina octová

Kyselina octová je jednosytná, těkavá karboxylová kyselina, vzhledem bezbarvá viskózní tekutina ostrého zápachu se silně antimikrobiálními vlastnostmi. Výrazně se podílí na chuti piva, tvoří totiž estery, které pivu propůjčují ovocnou a kyselou chuť. Chuťově přijatelná je v menším množství, tedy 57 až 145 mg/l, je totiž velmi intenzivní, ve srovnání s například kyselinou mléčnou. Při její vyšší koncentraci v pivu může přispívat k nežádoucí chuti, proto musí být její obsah řádně monitorován. Jako prahový obsah je uváděno množství od 71 mg/l do 200 mg/l, závisle na druhu piva (Zhang et al. 2012).

Při kvašení vzniká jako vedlejší produkt, při hydrolýze AcetylCoA, výhradně za anaerobních podmínek. Její nejvyšší koncentrace při výrobě piva je patrná na počátku kvašení, kdy kvasinky přeměňují pyruvát na acetát, potom její koncentrace klesá. Její vyšší koncentrace je znovu patrná v pozdějších fázích kvašení, a také při konečném využití cukru. Její tvorba a konečný obsah závisí na kmeni kvasinek, složení mladiny, podmínkách kvašení a přítomnosti bakterií octového kvašení. Vyšší koncentrace kyseliny octové může indikovat bakteriální kontaminaci a tím pádem výrazné snížení kvality piva. Vzhledem k tomu, že použitý kmen kvasinek má silný vliv na chuť piva, používá se pro výrobu konkrétní značky piva důsledně pouze jeden kmen kvasinek, aby se zachovala konzistence chuti (Zhang et al. 2012).

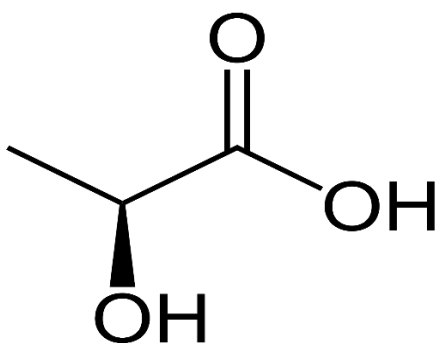


Obrázek č. 1 Chemický vzorec kyseliny octové

1.6.2 Kyselina mléčná

Jedná se o bezbarvou, snadno rozpustnou tekutinu bez zápachu s nakyslou chutí, vytvářející bezbarvé krystaly. Vzniká při fermentaci degradací pyruvátu, na formu D a L, s tím, že většina kvasinek produkuje L – isomer. Přidávkem do piva upravuje jeho pH, zesiluje antioxidační účinek, má antimikrobiální účinek, upravuje jeho chuť a může být použita jako rozpouštědlo.

Kyselina mléčná je přidávána do rmutů a sladín pro rychlejší kvašení a zrání a intenzivnější štěpení vysokomolekulárních látek, právě kvůli sníženému pH. Kyselina mléčná může ale naznačovat i bakteriální kontaminaci, tedy výrazné snížení kvality piva. V přiměřeném množství pivu dodává ostrou a kyselou chuť. Problémem tedy může být její vliv na finální chuť piva, jelikož se jí při výrobě aplikuje relativně velké množství. Kyselina mléčná je spojována s kyselými pivy, a proto její chuť nemusí být žádoucí například u piv Plzeňského typu. (Briggs et al. 2004)

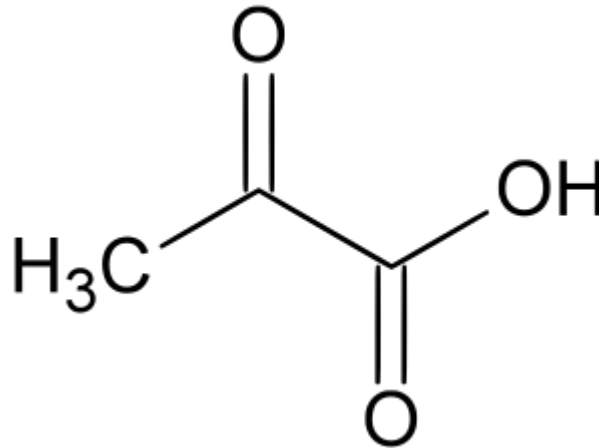


Obr. 2 Chemický vzorec kyseliny mléčné

1.6.3 Kyselina pyrohroznová

Kyselina pyrohroznová je alfa – ketokyselina, která je klíčový substrát i produkt buněčného metabolismu. Je relativně silně kyselá, tím pádem se v buňce vyskytuje v podstatě jen v ionizované podobě – tedy v podobě konjugované báze, pyruvátu. Pyruvát vzniká jako konečný metabolit glykolýzy. Kyselina pyrohroznová je meziproduktem přeměny glukosy na

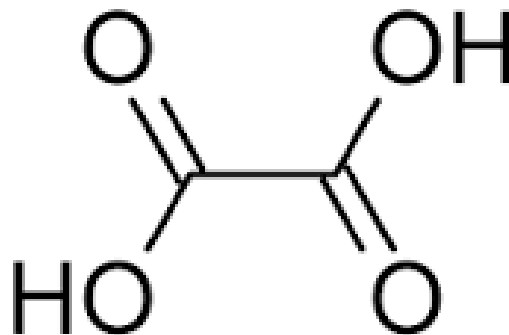
ethanol. Vznik kyseliny pyrohroznové v pivu se přisuzuje degradaci laktátu při raném stádiu fermentace (Briggs et al. 2004).



Obrázek č. 3: Obrázek kyseliny pyrohroznové

1.6.4 Kyselina šťavelová

Jedná se o nejjednodušší dikarboxylovou kyselinu. Je to pevná, bezbarvá krystalická látka dobře rozpustná ve vodě. Narozdíl od výše zmíněných kyselin hraje v pivovarské technologii negativní roli, jelikož má nepříjemnou chuť. Přirozeně se vyskytuje v potravinách rostlinného původu, do piva se dostává při rmutování ze sladu. V pivu její forma šťavelanu vápenatého může tvořit takzvaný oxalátový zákal a může mít vliv i na přepěňování piva. Obsah šťavelanů v pivu koreluje s obsahem šťavelanů ve sladu. V pivu má kyselina šťavelová nepříjemnou svíravou chuť. (Salamon et al. 2012)

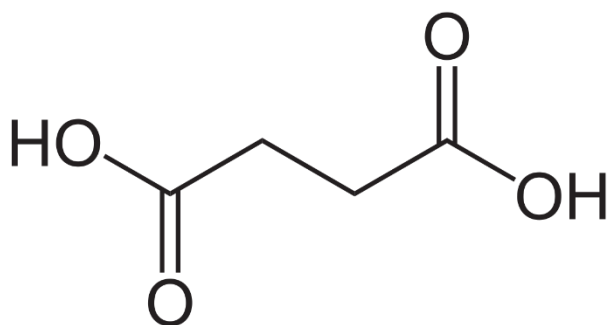


Obrázek č. 4: Chemický vzorec kyseliny šťavelové

1.6.5 Kyselina jantarová

Kyselina jantarová je nasycená dikarboxylová kyselina, je to bílá krystalická, ve vodě dobře rozpustná látka, bez zápachu, kyselé chuti. Přirozeně se vyskytuje ve všech živých organismech a ve zkvasitelných potravinách. Svou přítomností v pivu se významně podílí na jeho organoleptických vlastnostech a propůjčuje mu slaně – hořkou chuť. Kyselina jantarová je přirozenou složkou piva, ale je klíčové její obsah držet na co nejnižší hranici, z důvodu pitelnosti piva. (Tyrell & Fischer 2014)

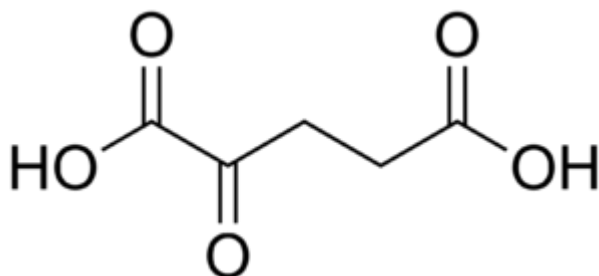
Kyselina jantarová je při výrobě piva produktem redukce oxalacetátu v Citrátovém cyklu a je produktem metabolismu kvasinek, zejména na začátku kvašení. Relativně malé množství kyseliny jantarové obsažené v mladině pochází ze sladu. Její množství v pivu je závislé na složení mladiny a konkrétním kmeni kvasinek, které jsou do piva přidány. (Tyrell & Fischer 2014) V mladině bylo zaznamenáno velmi nízké množství kyseliny jantarové, její značná část se tvoří při fermentaci. (Li & Liu 2015)



Obrázek č.5 Obrázek kyseliny jantarové

1.6.6 Kyselina alfa – ketoglutarová

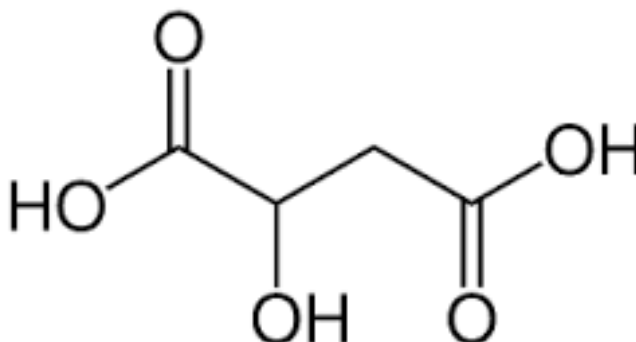
Kyselina 2-oxoglutarová je oxodikarboxylová kyselina, která se skládá z kyseliny glutarové nesoucí oxosubstituent v poloze 2. Jedná se o meziproductový metabolit v Krebsově cyklu, je konjugovanou kyselinou 2-oxoglutarátu. V pivu vzniká jako metabolit Krebsova cyklu. (Montenegro et al. 2011)



Obrázek č. 6: Chemický vzorec kyseliny alfa – ketoglutarové

1.6.7 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná je dikarboxylová kyselina. Je ve formě bílého, dobře rozpustného prášku, silně kyselé chuti. Vyskytuje se v D a L izomerech, které mají stejné vlastnosti s rozdílem, že izomer L se vyskytuje v přírodě, například v ovoci a isomer D je vyráběn synteticky. Při výrobě piva je kyselina jablečná je produktem karboxylace pyruvátu. Nejen, že pivu přispívá k lepší chuti, ale je také používána při potřebě eliminace enzymatického hnědnutí a dále zabraňuje oxidaci polyfenolů chelatací kovových kationtů. (Coote & Kirsop 1974)

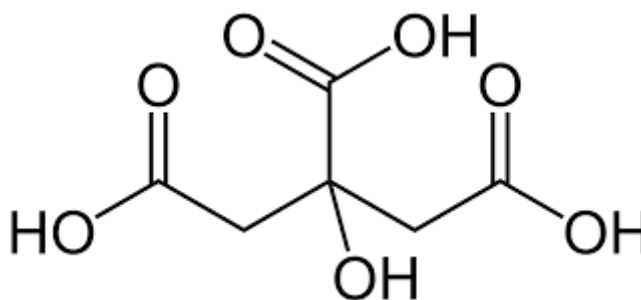


Obrázek č. 7: Chemický vzorec kyseliny jablečné

1.6.8 Kyselina citronová

Kyselina citronová je slabá trikarboxylová kyselina, ve formě bílé krystalické látky, velmi snadno rozpustná ve vodě a ethanolu. Přirozeně se nachází v nejvyšší koncentraci v citrusových plodech, dále v různém ovoci a zelenině. Při výrobě piva vzniká kvašením sacharózy v Krebsově cyklu. Běžně se používá na dochucování cukrovinek a nápojů, je chuťově charakterizována jako sladko – kyselé, tím pádem je v pivu nositelem chuti a vůně.

Je přírodní konzervační látkou, zabraňuje růstu bakterií, kvasinek a plísní. Je také regulátorem kyselosti. Dále může být používána pro eliminaci enzymatického hnědnutí a jako prostředek pro zabraňování oxidaci polyfenolů. (Štefcová & Čepička 2001)



Obrázek č. 8 Chemický vzorec kyseliny citronové

1.7 Fosfor v pivu

Přítomností fosforu jsou silně ovlivněny chuť, barva i kvalita piva, proto je jeho množství monitorováno po celou dobu jeho výrobního procesu. Fosfor je totiž nezbytný pro tvorbu ATP, tvorbu duální fosfolipidové membrány kolem kvasinkové buňky a pufraci pH. Fosforečnany, společně s aminokyselinami ze sladu způsobují přirozenou kyselost sladiny i vystírky. Udržují optimální pH při klíčení, při rmutování, v mladině i v pivu. Během rmutování dochází k uvolňování anorganických fosforečnanů do sladiny, které jsou klíčové pro udržení optimálního pH pro většinu sladových enzymů. Během kvašení jsou fosforečnany využívány pivovarskými kvasinkami pro jejich metabolismus a výživu. Nedostatek fosfátů zapříčiňuje problémy s fermentací a snižuje růst buněk. Fosfor je v pivu obsažen jako produkt rostlinného původu, konkrétně je obsažen v ječmeni ve formě fytinu. Je zde zastoupen spíše v menší míře (Styburski et al. 2018).

1.8 Hliník

1.8.1 Základní charakteristika hliníku

Hliník je třetím z nejrozšířenějších prvkem v přírodě. Je nejhojnějším kovem a je jedním z nejdůležitějších prvků v zemské kůře. Vzhledem se jedná o stříbřitě šedý, kujný, neušlechtilý, velmi lehký kov, který je velmi dobře elektricky vodivý. Vzhledem k jeho silné reaktivitě se v přírodě vyskytují prakticky jen jeho sloučeniny, nejčastěji ve formě nerostů, kterých poskytuje okolo 250. Nejběžnějšími samostatnými minerály na bázi hliníku jsou bauxit, kryolit a korund. Hliník poskytuje i minerály ve formě tetraedrů, oktaedrů a výše koordinovaných polyedrů, z čehož 40 % tvoří aluminosilikáty (Bárta 2012).

Chemické složení hliníku je podmíněno především vlastnostmi roztoku, jako je pH a obsah ligandů schopných s ním interagovat. Je velice stálý vůči vodě a vzduchu, jelikož se snadno pokrývá vrstvičkou oxidačních produktů, kterou je chráněn před korozi. Vrstvička lze zesílit, takzvaným eloxováním. Tato ochrana se ztrácí například amagámováním nebo působením některých roztoků solí kovů, které jsou elektropozitivnější. Primárně se vyskytuje v oxidačním stavu +III za vznik kationtu Al^{3+} z důvodu vyšší ionizační energie. Rovněž je možná existence sloučenin s hliníkem v oxidačním stavu +II nebo +I, tyto sloučeniny jsou ale raritní a omezeny na plynný stav za vysoké teploty. Velice výjimečně možno hliník pozorovat v přírodě i jako elementární kov (Chen et al. 2011).

1.8.2 Problematika toxicity

Hliník je v neutrální oblasti pH považovaný za relativně bezpečný prvek. V případě okyselení prostředí ale dochází ke vzniku jeho mobilních forem, jejichž přítomnost je považována za problém z důvodu jejich toxicity. Tyto toxické účinky mohou být podmíněny některými faktory, například nízkým pH, při němž mohou vznikat různé formy, u kterých byla prokázána jejich toxicita (Ščančar & Milačič 2006).

Pro živé organismy je hliník neurotoxinem, jehož toxické účinky jsou zjevné zejména u pacientů s chronickým selháním ledvin, vzhledem k jeho hromadění v těle. Při studii na laboratorních zvířatech bylo zjištěno, že hliník, kterému byla laboratorní zvířata vystavena, negativně působil na vývoj embrya v prenatálním období, včetně opožděné osifikace embrya, jeho opožděného růstu a malformace. Existují důkazy, že se zvýšený příjem hliníku, vedoucí k chronické intoxikaci jedince, může podílet i na vzniku některých neurologických onemocnění, jako je Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, demence, dializační encefalopatie a neurobehaviorální toxicity (Exley 1998).

1.8.3 Člověk a hliník

V dnešní době je vystavení člověka hliníku nevyhnutelné. Volný kovový kationt hliníku Al_3 (aq) je vysoce biologicky reaktivní. Tato forma biologicky volného hliníku není esenciální, a je ve své podstatě i toxická. I přes to se nachází v celém lidském těle. Akutně toxický je hliník velice zřídka, spíše by se dalo diskutovat o jeho chronické toxicitě, které není věnováno tolik pozornosti, jelikož se dodnes přesně neví, jak je možné tuto chronickou intoxikaci na jedinci diagnostikovat (Exley 2016).

Hliník je v potravě relativně neškodný, je-li jeho koncentrace stopová. S hliníkem se ve stopových množstvích setkáváme v řadě potravin a nápojů, ale vzhledem k jeho zanedbatelném množství pro zdravý lidský organismus takřka nepředstavuje riziko. Lidský organismus nejčastěji vstřebává hliník gastrointestinálním traktem, inhalací a podáváním léčiv. Jeho biologická dostupnost je však nízká a závislá na jeho konkrétní chemické formě. Za potraviny s vysokým obsahem hliníku jsou považovány takové potraviny, které obsahují více než 1 mg hliníku na kilogram. Z těla je vylučován ledvinami, ve formě moči a stolice. Tělem nevyločený hliník je v těle zadržován po dobu několika dní, a následně může být do určité míry vstřebán některými tkáněmi, včetně mozku, kde nadále může setrávat po delší dobu (Exley 2016).

Jeho maximální týdenní příjem v potravě pro zdravé dospělé jedince, je WHO uváděn na 2 mg/kg tělesné váhy týdně. Pro kojence a těhotné ženy se nedoporučuje překračovat hodnotu 0,05 mg/l. Dále je uvedeno, že koncentrace v nápojích vyšší než 1 mg/l může představovat riziko pro citlivější dospělé jedince. Skupina s nejvyšším potenciálem expozice hliníkem na kilogram hmotnosti jsou děti, jelikož konzumují více potravy na kilogram hmotnosti než dospělí. Tolerovaný týdenní příjem je uváděn 1 mg hliníku na kilogram tělesné hmotnosti. Některé Evropské studie uvádí, že průměrný příjem hliníku potravou se pohybuje mezi 1,6 a 13 mg denně. Rozdíl mezi těmito hodnotami je způsoben rozdílnými životními styly a stravovacími návyky uvedených zemí, mírou kontaminace půdy, nebo množstvím zkonsumovaných potravin, které obsahují hliník (Stahl et al. 2011).

Jelikož je pivo v České republice oblíbené v obrovské míře, je tím pádem i pravděpodobné, že je významným zdrojem hliníku pro obyvatele České republiky, kteří mají tento nápoj v oblíbě.

1.8.4 Hliník v pivu

V pivovarství je považován za zdravotně nezávadný, ale spekuluje se, že může mít na svědomí vznik zákalů. Prokázalo se, že pokud je v pivu obsažen blízko maximální přípustné hranici, má negativní vliv na jeho senzorycké vlastnosti a trvanlivost (Stahl et al. 2011).

Do piva se hliník může dostávat ze vstupních surovin (kvasnice, chmel, slad) a přirozených zdrojů vody. Hliník dodává pivu kovovou a hořkou chuť (Ivusic et al. 2006).

1.8.5 Hliníkové plechovky

Hliníkové plechovky jsou hojně využívány jako obalový materiál, z důvodu jejich neprodyšnosti, pevnosti a dobré tepelné vodivosti. Jelikož většina komerčního využití hliníku vyžaduje specifické vlastnosti, které čistý kov nedokáže poskytnout, jsou do hliníku přidávány některé prvky, jako je mangan, hořčík a chrom, které zvyšují jeho pevnost, tvárnost a zvyšují odolnost vůči korozi. Moderní hliníková plechovka je vyrobena jako jednodílná válcová nádoba uzavřená zalemovaným hliníkovým víčkem (Robertson 2005).

Hliníková plechovka je vyrobena přibližně z 99,7 procent z hliníku a je potažena nástříkem, který může obsahovat různé látky, závisle od producenta. Společnosti vyrábějící hliníkové plechovky mají své vlastní specifikace produktu a určují, množství nástříku tak, aby nedocházelo ke korozi. Tyto specifikace jsou určeny podle různých faktorů, například, čím kyselější je balený produkt, tím silnější bude vrstva vnitřního nástříku. Aby docházelo k co nejnižší migraci hliníku do piva, jsou plechovky opatřeny polymerními povlakovými filmy, nejčastěji z epoxidové pryskyřice (Nurlatifah et al. 2021).

1.8.6 Koroze obalů a možné ovlivnění kvality piva

Korozi se rozumí chemická reakce mezi kovem a prostředím. V dnešní době je zpracování hliníkových plechovek na špičkové úrovni, nicméně i přes to se očekává, že se uvolní určité množství hliníku z plechovky do nápoje, i přes aplikovaný povlak plechovky. Hliník je totiž rozpustnější pod vlivem solí a kyselin. Je to způsobeno tím, že pivo, jehož pH je kyselé, v důsledku koncentrace CO₂, má tendenci působit migraci hliníku z obalového materiálu do produktu, narozdíl od produktů, které mají pH neutrální (Ivusic et al. 2006).

Další studie prokázala, že migrace hliníku z plechového obalu je závislá na teplotě a délce skladování, tedy čím vyšší teplota skladování (v tomto případě pokojová teplota), a čím delší doba skladování (v tomto případě 5 měsíců), tím více hliníku bylo detekováno ve vzorcích. I přes to, že byl hliník ve vzorcích přítomný, nejednalo se o alarmující hodnoty (Vela et al. 1998).

Dalším faktorem ovlivňujícím případnou migraci hliníku z plechovek do piva je typ a kvalita plechovky, typ a tloušťka ochranného povlaku plechovky, pH piva, délka kontaktu mezi plechovkou a pivem. I přes potenciální migraci hliníku do piva bylo prokázáno, že hliník v takto stopovém množství neohrožuje lidské zdraví, nicméně může mít negativní dopad na stabilitu chuti (Ivusic et al. 2006).

2 Metodika

2.2 Iontová chromatografie

Chromatografie zahrnuje několik fyzikálních metod umožňujících analýzu či separaci směsí za pomoci mobilní a stacionární fáze. Látky rozpustné v mobilní fázi (nejčastěji kapalina nebo plyn) prochází stacionární fází (většinou pevná látka) různou rychlostí, která určuje takzvaný retenční čas. Ten je mnohdy tak specifický, že slouží jako parametr umožňující identifikaci analytu (Klouda 2003).

Iontová chromatografie je analytická metoda, pomocí níž je možné zjistit koncentrace některých aniontů nebo kationtů. V praxi běžně využívána pro stanovení a kvantifikaci organických kyselin v potravinách a nápojích. Stacionární fází je v tomto případě iontovýměnná pryskyřice a mobilní fáze například roztok hydroxidu draselného, který žene analyt před sebou. Tato metoda je rychlá, má relativně nízkou mez detekce a velmi dobrou reprodukovatelnost výsledků. Dalším pozitivem je v tomto případě nekomplikovaná příprava vzorků (De Backer & Nagels 1994).

2.3 Atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem

Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) je analytická metoda, kterou je možné stanovit až 80 % prvků periodické soustavy i na velmi nízké úrovni. Metoda je založena na registrování fotonů vzniklých během excitace valenčních elektronů a jejich přechodu z vyšší energetické hladiny na nižší energetické hladiny. Při této metodě je měřeno záření emitované atomy nebo ionty (potenciálně molekulami), které se dostávají z jejich excitovaném stavu, a vzniká následkem jejich deexcitace (Černohorský 1997).

2.4 Seznam vzorků

Celkem bylo za účelem stanovení vlivu obalového materiálu na obsah hliníku v pivu zvoleno 30 vzorků komerčně dostupných piv, ze kterých jen jeden vzorek byl dovezen ze Sarajeva. Z těchto 30 vzorků bylo 15 bylo skladováno v hliníkových plechovkách a 15 vzorků ve skleněné láhvi. Přehled a označení vybraných vzorků piva zobrazuje tabulka 1.

Naprostá většina analyzovaných vzorků byly světlé ležáky (23 vzorků), dále byla analyzována světlá výčepní piva (2 vzorky), dále 1 vzorek černého piva a 1 vzorek kvasnicového ležáku. Z craftových piv byl analyzován 1 vzorek Summer Ale, 1 vzorek Double IPA a 1 vzorek kyseláče.

Tab.1 Přehled analyzovaných vzorků piva

Lahvové	Druh piva	Plechovkové	Druh piva
+1	Světlý ležák	+1	Světlý ležák
+2	Světlý ležák	+2	Světlý ležák
+3	Světlý ležák	+3	Světlý ležák
+4	Světlý ležák	+4	Světlý ležák
5	Světlý ležák	5	Světlý ležák
6	Světlý ležák	6	Světlý ležák
7	Světlý ležák	7	Světlý ležák
8	Světlý ležák	8	Světlý ležák
9	Světlý ležák	9	Světlý ležák
10	Světlý ležák	10	Světlý ležák
11	Světlý ležák	11	Světlý ležák
12	Kvasnicový ležák	12	Světlý ležák
13	Černé	13	Světlé výčepní
14	Double IPA	14	Světlé výčepní
15	Summer Ale	15	Kyseláč

+ = vzorky od stejného výrobce, které byly analyzovány z láhve i z plechovky

2.5 Stanovení pH ve vzorcích piva

K měření byl použit pH metr WTW, typ pH 7110 a skleněná pH elektroda WTW Sentix. Pro nejvyšší přesnost byla před měřením pH ve vzorcích elektroda zkalibrována pomocí kalibračních roztoků, o přesně definovaném pH 4,01 a pH 7. Poté byly změřeny hodnoty pH samotných vzorků.

2.6 Příprava vzorků pro stanovení hliníku pomocí ICP-OES

Před analýzou prvkového složení bylo do zkumavek pipetováno 7 ml vzorku piva a přidáno 0,5 ml roztoku 1,0 mol/l HNO₃. Kyselina dusičná byla přidána z důvodu obavy, že by koncentrace hliníku byly ve vzorcích příliš nízké pro detekci. Vzorky byly následně filtrovány pomocí stříkačky přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45 μm (PA, VWR), aby se zbavily případných pevných částic. Díky tomuto stylu úpravy vzorku byly získány vzorky s výsledným 1,07násobným ředěním, což umožnilo detekci i relativně malých koncentrací hliníku o jehož detekci šlo především. Pro stanovení prvkového složení byl použit ICP-OES spektrometr ICAP 7000 (Thermo). Měření probíhala dle standardního postupu za využití multiprvkového referenčního materiálu obsahujícího až 20 prvků (CPAchem) s počáteční koncentrací 1000 mg/l v matrici 5 % HNO₃.

2.7 Stanovení obsahu organických kyselin a fosforečnanu

Za účelem stanovení organických kyselin bylo 0,5 ml neupraveného vzorku piva pipetováním přeneseno do plastových zkumavek o objemu 10 ml a následně smícháno s 9,5 ml deionizované vody. Tímto bylo dosaženo 20násobné ředění vzorku. Opět jako při úpravě vzorků pomocí metody ICP-OES, byly vzorky za účelem odstranění pevných částic přefiltrovány přes membránový filtr.

Za účelem stanovení složení a koncentrace organických kyselin a aniontu PO_4^{3-} byla použita iontová chromatografie IC-1600 (Thermo, původně Dionex) s gradientem hydroxidu draselného (KOH), který sloužil jako mobilní fáze. Koncentrační rozsah pro mobilní fázi se pohyboval od 1,0 mmol/l do 32,35 mmol/l KOH s pravidelným přírůstkem během 57 minut. Tato délka a koncentrační rozsah gradientu umožnila vznik jasně definovaných zón s typickým retenčním časem, charakteristickým pro daný analyt na chromatografické koloně Dionex AS11-HC (IonPacTM). Získané chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí programu Chromleon 6.80.

Za účelem kalibrace iontové chromatografie byly využity roztoky organických kyselin se známým složením a počáteční koncentrací 1000 mg/l (Inorganic ventures), které byly naředěny do kalibrační řady s koncentracemi 0,1; 1; 5; 10 a 40 mg/l.

Pro kalibraci bylo použito celkem 14 organických kyselin (mléčná, octová, propionová, mravenčí, máselná, pyrohroznová, adipová, jablečná, jantarová, vinná, alfa-ketoglutarová, šťavelová, fumarová, citronová) a KH_2PO_4 (Sigma aldrich) pro stanovení aniontu PO_4^{3-} .

2.8 Stanovení stability komplexů hliníku a vybraných aniontů

Za účelem stanovení stability komplexu s hliníkem byly vybrány organické kyseliny, které se podle literatury v pivu vyskytují nejběžněji, dosahují relevantních koncentrací a potenciálně mohou interagovat s hliníkem. Konkrétně se jednalo o kyselinu octovou, mléčnou, jablečnou, jantarovou a citronovou, které se v pivu podle literatury vyskytují v největší míře.

Jelikož obsah jantaranu v pivech nebylo možné spolehlivě stanovit důsledkem stáří kolony, výběr tohoto analytu by založen jen na základě literatury, podle které se koncentrační rozmezí v pivech může pohybovat v rozsahu 5-145 mg/l (Klopper et al. 1986, Saison et al. 2008, Bach et al. 2009). Dalším zájmovým aniontem a potenciálním ligandem, který je možné v pivu očekávat a je schopný reagovat s hliníkem je ortofosforečnanový aniont (PO_4^{3-}), který se do piva dostává ze sladu.

Stabilita komplexů byla hodnocena v modelových systémech, jejichž složení zobrazuje tabulka 2. Pro jejich přípravu byly použity roztoky s analytickou čistotou a koncentrací 50 mmol/l hexahydrátu chloridu hlinitého (Al), dihydrogen fosforečnanu draselného (P), kyseliny octové (OCT), kyseliny mléčné (MLČ), kyseliny jablečné (JAB), kyseliny jantarové (JAN) a kyseliny citrónové (CIT).

Každá směs byla připravena pipetováním 5 ml roztoku ligandu s počáteční koncentrací 50 mmol/l do kádinky a byla doplněna deionizovanou vodou do požadovaného objemu 50 ml. Tímto vznikla požadovaná směs analytů s výslednou koncentrací každé složky 5 mmol/l. Na

přípravu roztoků byly použity stejné chemikálie jako během přípravy standardů pro iontovou chromatografii.

Tab.2. Složení modelových roztoků

Směs 1	MLČ + OCT + CIT + Al
Směs 2	JAB + JAN + CIT + Al
Směs 3	P + MLČ + OCT + CIT + Al
Směs 4	P + JAB + JAN + CIT + Al

Poté bylo u každé připravené směsi upraveno pH aby odpovídalo *a*; nejvyšší (4,85), *b*; nejnižší (3,27) zaznamenané hodnotě ve vzorcích anebo *c*; hodnotě pH žaludku (1,6). Tímto vznikly 3 varianty každé směsi, celkově tedy 12 roztoků. Pro úpravu pH do požadované hodnoty byly použity roztoky kyseliny chlorovodíkové s koncentrací 1 mol/l nebo roztok KOH s koncentrací 5 mol/l. Kyselina i hydroxid byly přidávány jen v desítkách mikrolitrů a celkově k tomu bylo použito méně než 75 μ l roztoku, díky čemuž je vzniklé ředění roztoku možné zanedbat. Měření probíhalo pro každou hodnotu pH jednou. Po dosažení chemické rovnováhy u každé směsi byly vzorky ponechány na rotační třepačce do následujícího dne, kdy bylo pipetováním odebráno 0,5 ml směsi a smícháno s 4,5 ml deionizované vody, čímž bylo dosaženo 10násobného zředění. Následná analýza pomocí IC-6000 stanovila obsah měřitelného Al^{3+} ve vzorku.

Analýza volného Al^{3+} ve směsi byla zprostředkována na chromatografické koloně Dionex CS5A (IonPacTM) za pomoci interakce s dihydroxybenzen 3,5 disulfonovou kyselinou (TIRON) v roztoku octanu amonného a demineralizované vody ($6 \cdot 10^{-4}$ mol/l TIRON v 1 mol/l octanu amonném). Jako mobilní fáze byl použit 0,75 mol/l roztok HCl. Přefiltrováním roztoku TIRONU před použitím podtlakové filtrace přes CRONUS FILTER NYLON s velikostí pórů 0,2 μ m došlo k zbavení pevných částic a nečistot.

Pro účely kalibrace přístroje byl použit standard hliníku (ROTI®STAR, CarlRoth) v matrici 2 % HNO_3 s počáteční koncentrací 1000 mg/l, který by naředěn na koncentrace 1, 5, 10 a 40mg/l.

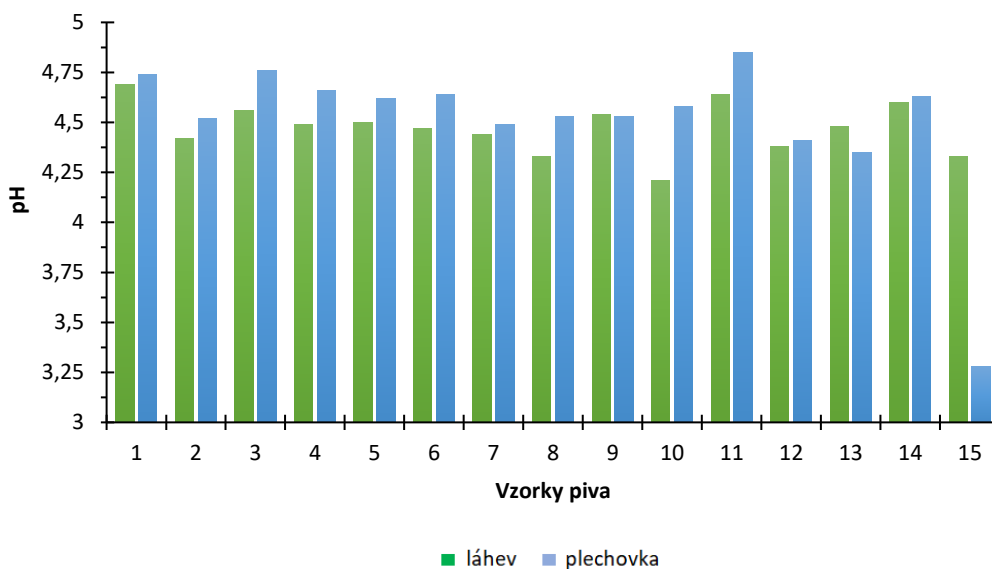
Měření Al^{3+} probíhalo v UV oblasti s vlnovou délkou 310 nm, která umožňuje detekci reakčních komplexů hliníku, které reagují za vzniku hliník-TIRON-ového komplexu se specifickým záchytem UV záření v zmíněné oblasti. Získané chromatogramy byly následně po změření vyhodnoceny pomocí programu Chromeleon.

3 Výsledky

3.1 pH

Celkem bylo analyzováno 30 piv dostupných na Českém trhu. Naměřené hodnoty pH podrobně uvádí Graf 1. Průměrné naměřené pH piv v láhvi bylo $4,47 \pm 0,12$ a průměrné naměřené pH v plechovce činilo $4,51 \pm 0,35$. Hodnoty pH piv, která byla zakoupena ve láhvích i v plechovkách byly velice podobné, až na značnou odchylku u kyseláče, která se však dala očekávat. Nejvyšší hodnota pH byla naměřena 4,85 (11) ve vzorku světlého ležáku v plechovce. Nejnižší hodnota pH byla podle očekávání naměřena 3,28 (15); v kyseláči.

V této práci byla analyzována i 4 piva od stejného výrobce v různých obalových materiálech (vzorky 1 až 4). Průměrné pH těchto vzorků ze skleněné láhve činilo $4,54 \pm 0,15$ a v průměrné pH naměřené u vzorků z plechovek činilo $4,68 \pm 0,09$.



Graf 1: Hodnoty pH vzorků piva

3.2 Stanovení hliníku

Hliník byl stanoven ve všech analyzovaných vzorcích ve velmi nízkém množství. V žádném vzorku nebyla pozorována koncentrace vyšší než 1 mg/kg. Naměřené hodnoty hliníku ve vzorcích piv jsou uvedeny v grafu č. 2.

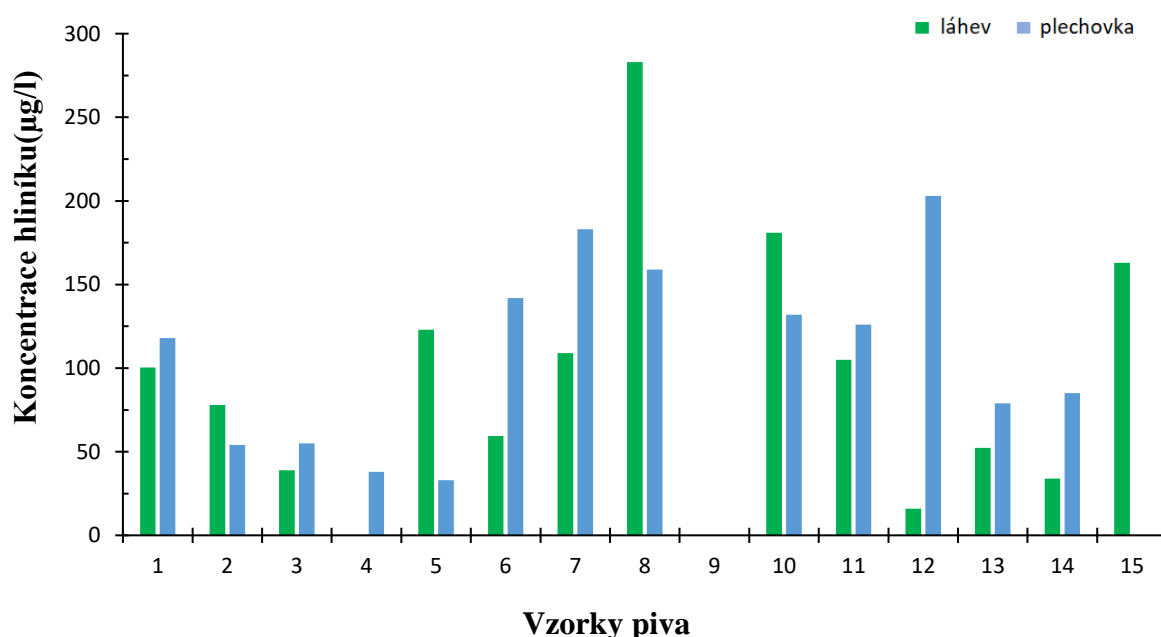
Průměrný obsah hliníku v analyzovaných pivech v láhvi byl 83,5 $\mu\text{g/l}$ a průměrný naměřený obsah hliníku v hliníkových plechovkách byl 105 $\mu\text{g/l}$. Ve vzorcích z láhve tedy bylo naměřeno o průměrně o 22,5 $\mu\text{g/l}$ hliníku méně než ve vzorcích z plechovek.

Nejvyšší naměřená koncentrace hliníku byla 283 $\mu\text{g/l}$ (8) v jednom z láhvoých světlých ležáků, zatímco nejnižší hodnota byla 16 $\mu\text{g/l}$ (12) v láhvoém kvasnicovém ležáku. U dvou vzorků (4,9) se nepodařilo změřit přesnou koncentraci hliníku, jelikož se pohybovaly pod limitem detekce použité analytické metody, který v případě ICP-OES je 0,0386 mg/l. Nakolik bylo během měření možné potvrdit signál typicky asociovaný s hliníkem, byla těmto vzorkům

přidělena koncentrace odpovídající polovině limitu detekce, tedy 0,0193 mg/l, čili 19,3 µg/l. Koncentrace hliníku u ostatních láhvoových typů (kvasnicový ležák, černé, Double IPA a Summer Ale) byly na nižší úrovni, než tomu bylo u ležáků.

Nejvyšší koncentrace hliníku ve vzorcích z hliníkových plechovek byla 203 µg/l (12) a nejnižší koncentrace činila 33 µg/l (5). Oba tyto vzorky byly světlé ležáky. U světlých výčepních se koncentrace hliníku pohybovala v obou případech pod průměrem (13,14). Další analyzovanou kategorií byl kyseláč (15), kde byla detekována koncentrace hliníku nad průměrem.

U analýzy piv od stejného výrobce v různých obalových materiálech se koncentrace hliníku u vzorků z plechovek opět pohybovala na mírně vyšší průměrné hodnotě než u vzorků z láhve. Průměrná koncentrace hliníku u vzorků z láhve činila 59,2 µg/l a u vzorků z plechovky 66,3 µg/l.



Graf 2: Koncentrace hliníku v jednotlivých vzorcích piva (absence dat je u podlimitních vzorků)

3.3 Stanovení organických kyselin a fosforečnanu

V této práci bylo identifikováno 7 aniontů organických kyselin: octan, mléčnan, pyrohroznan, šřavelan, jablečnan, fumaran a citran. Přehled koncentrací aniontů stanovených v láhvoovém pivu detailně zobrazuje tabulka č. 3. a přehled koncentrací aniontů plechovkových piv stanovuje tabulka 4. Na obrázku č. 7 je vyobrazen příklad jednoho z chromatogramů, konkrétně vzorku č.3 v láhvi. Identifikace organických kyselin byla provedena na základě shody retenčních časů s roztoky standardů a obsahy jednotlivých analytů byly přiděleny na základě kalibrační křivky pro každý analyt zvlášť prostřednictvím programu Chromeleon. Identifikace se soustředila především na ty organické kyseliny, které jsou uváděny v literatuře v souvislosti s pivem nejčastěji.

Druhým nejzastoupenějším aniontem v analyzovaných vzorcích byl octan. Jeho koncentrace se pohybovala od 6,34 mg/l až 810 mg/l, přičemž jak minimum, tak maximum bylo pozorováno v craftových pivech. Nejnižší hodnota byla naměřena u vzorku Summer Ale (15) v láhvi a nejvyšší hodnota naměřena ve vzorku kyseláče z plechovky (15). Průměrná koncentrace octanu byla 52,8 mg/l.

Mléčnan, který je spolu s octanem považován v pivovarství za technologicky nejvýznamnější, byl stanoven v poměrně širokém rozmezí, v rozsahu koncentrací 8,25 mg/l až 119 mg/l, obě tyto hodnoty byly detekované ve vzorcích z láhve. Koncentrace mléčnanu byly v poměrně širokém rozmezí. Nejnižší hodnota byla detekována u jednoho ze světlých ležáků (15) a nejvyšší hodnota u vzorku Double IPA (11). Průměrná koncentrace činila 72,6 mg/l.

Dalším přítomným aniontem byl pyrohroznan. Jeho množství se pohybovalo od 6,21 mg/l, což bylo detekováno u jednoho ze světlých ležáků ve skleněné láhvi, do 59,9 mg/l, změřených ve vzorku Summer Ale. Průměrná hodnota pyrohroznanu ve vzorcích byla 19,4 mg/l.

V nejnižších koncentracích z vybraných kyselin byl ve vzorcích oxalát. Jeho hodnoty se pohybovaly od 1,06 mg/l do 10,5 mg/l. Nejnižší hodnota byla stanovena v jednom ze světlých ležáků ve skleněné láhvi a nejvyšší hodnota pocházela z jednoho ze světlých výčepních piv z plechovky. Průměrná změřená hodnota oxalátu činí 3,60 mg/l.

Dalším analyzovaným aniontem byl jablečnan. Jeho hodnoty se pohybovaly od 8,25 mg/l do 439 mg/kg. Jeho nejnižší množství bylo detekováno u černého láhвовého piva a nejvyšší množství u jednoho ze světlých ležáků z plechovky. Průměrná koncentrace jablečnanu činila 39,1 mg/l.

Druhým nejméně zastoupeným aniontem detekovaným v této práci je fumarát, jehož obsah se v měřených vzorcích pohyboval od 1,65 mg/l do 15,0 mg/l. Nejnižší hodnota byla stanovena v jednom ze světlých ležáků ze skleněné láhve a nejvyšší hodnota byla změřena u jednoho ze světlých výčepních piv. Průměrná hodnota pyruvátu ve vzorcích byla 5,55 mg/l.

Posledním analyzovaným aniontem byl citrát. Z vybraných aniontů byl prokázán jako třetí nejčetnější aniont obsažený ve vzorcích. Jeho koncentrace v jednotlivých vzorcích významně nekolísaly, dalo by se říci, že se pohybovaly v podobných koncentracích, kromě jedné výjimky, kterou byl opět kyseláč plechovce, u kterého byla naměřena koncentrace citrátu 383 mg/kg. Nejnižší změřenou koncentrací byla hodnota 24,8 mg/kg, která byla naměřena u jednoho ze světlých ležáků v láhvi. Průměrná naměřená koncentrace citrátu byla 47,3 mg/l.

Tab 3.: *Koncentrace organických kyselin ve vzorcích láhivového piva (mg/l)*

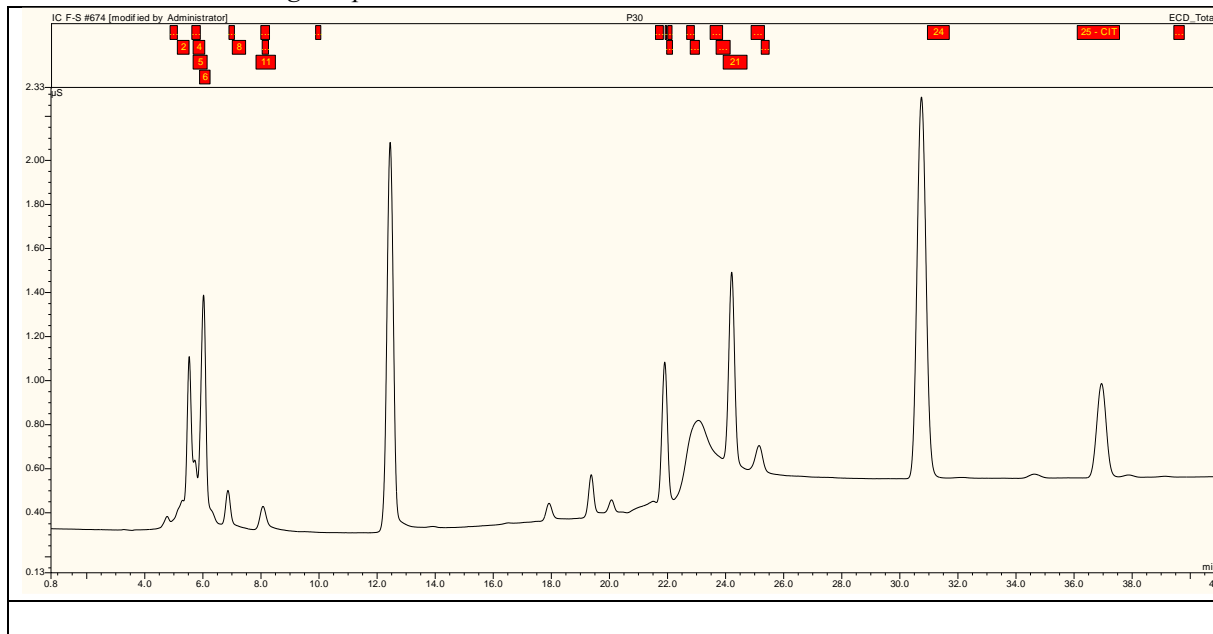
Vzorek	OCT	MLČ	PYR	ŠŤV	JAB	FUM	CIT
1	8,38	89,1	18,5	1,88	30,2	2,91	36,7
2	20,6	78,2	13,9	1,70	23,2	2,64	34,9
3	35,0	8,25	13,7	3,60	21,6	5,57	36,5
4	12,9	11,4	12,4	3,00	18,5	4,64	33,1
5	20,5	14,0	13,1	1,33	21,5	2,06	32,2
6	22,6	57,7	24,3	1,81	23,2	2,80	39,1
7	26,9	71,2	13,1	8,77	14,6	13,6	31,0
8	15,0	28,9	18,6	3,21	21,1	4,97	29,0
9	23,8	33,1	20,2	2,14	11,2	3,32	60,6
10	13,6	30,0	17,1	1,06	25,3	1,65	30,4
11	18,0	82,1	6,21	5,59	15,7	8,48	24,8
12	20,8	17,9	20,8	2,30	27,1	3,56	36,6
13	23,7	34,9	19,8	2,20	8,25	3,41	28,7
14	21,2	119	20,4	3,72	55,5	5,76	62,6
15	6,34	15,67	59,9	8,12	40,8	12,6	40,4

Tab 4.: *Množství organických kyselin ve vzorcích plechovkového piva (mg/l)*

Vzorek	OCT	MLČ	PYR	ŠŤV	JAB	FUM	CIT
1	120	90,9	21,0	2,22	71,7	3,36	35,2
2	25,4	99,1	17,6	1,82	24,6	2,81	48,0
3	34,7	9,07	10,7	4,28	22,1	6,62	38,0
4	10,9	16,1	17,0	3,48	16,9	5,28	36,0
5	25,8	27,1	19,8	2,03	16,5	3,14	41,4
6	18,9	77,8	14,2	1,97	21,7	3,05	35,9
7	23,6	29,0	20,8	3,70	15,9	5,72	36,0
8	17,9	89,2	18,4	10,5	23,1	16	32,5
9	20,7	12,9	15,9	4,40	23,5	6,81	38,9
10	14,7	67,9	12,3	2,11	23,5	3,27	31,0
11	20,1	45,5	13,9	1,67	14,5	2,58	34,9
12	17,2	20,6	18,6	5,10	439	7,9	36,7
13	16,6	62,1	28,3	2,02	30,7	3,17	39,5
14	120	29,9	16,7	6,06	19,4	9,38	24,9
15	*810	*	44,2	6,06	51,5	9,38	383

*u vzorku kyseláče (15) došlo ke koeluci octanu a mléčnanu a nebylo možné udat je samostatně

Obrázek č. 9: Chromatogram piva, konkrétně vzorku 3 v láhvi



3.3.1 Fosfor

Kromě stanovení organických kyselin byl iontovou chromatografií stanoven v pivu i obsah ortofosforečnanového aniontu. Jednotlivé koncentrace ve vzorcích lahvového a plechovkového piva jsou znázorněny v tabulce č.5.

Fosforečnan byl přítomný ve všech vzorcích, v širokém rozmezí, od koncentrace 59,6 mg/l (10), která byla stanovena v jednom ze světlých výčepních piv ve skleněné láhvi, do 235 mg/l (11), která byla stanovena ve vzorku lahvového piva Double IPA. Průměrný obsah fosforečnanu v láhvoých i plechovkových pivech byl stanoven na 117 mg/l. V láhvoém pivu byla průměrná koncentrace fosforečnanu 116 mg/l a v plechovkovém pivu 118 mg/l, ve vzorcích piv z plechovky bylo tedy naměřeno průměrně o 2,2 mg/l fosforečnanu více.

Kromě organických kyselin se na poklesu pH piva během fermentace mírně podílí fosforečnan. (53) Tvoří totiž přirozenou kyselost vystírky a sladiny a v mladině je během fermentace využívá pivovarskými kvasinkami v jejich metabolismu. Většina fosforečnanu obsaženého v pivu pochází ze sladu. (Briggs et al. 2004)

Tab. 5.: Množství fosforečnanu ve vzorcích piva (mg/l)

Lahvové		Plechovkové	
1	113	1	156
2	91,5	2	130
3	130	3	120
4	78,0	4	110
5	132	5	116
6	108	6	116
7	111	7	110
8	123	8	129
9	80,0	9	137
10	91,0	10	59,7
11	235	11	162
12	97,3	12	88,0
13	103	13	101
14	107	14	123
15	137	15	111

3.4 Stanovení stability komplexů hliníku a vybraných aniontů

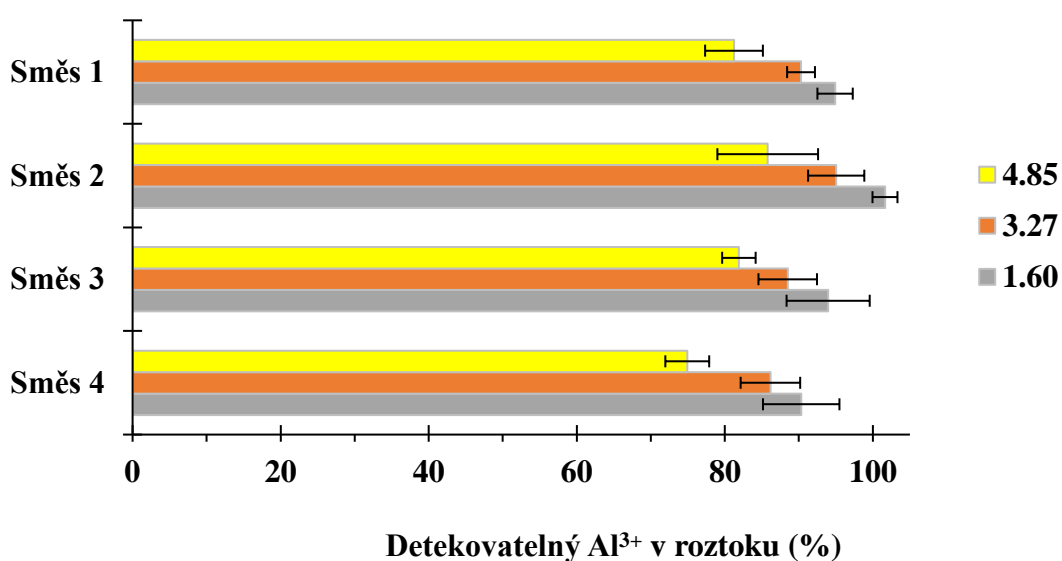
V tomto měření bylo analyzováno, v jaké koncentraci a procentuálním zastoupení byl přítomen volný Al^{3+} v roztocích o různých pH. Příslušné hodnoty jsou znázorněny v grafu č.3. V grafu je možné pozorovat koncentraci volného Al^{3+} v roztoku v procentech. První směs se skládala z kyseliny mléčné, kyseliny octové, kyseliny citronové a hexahydrátu chloridu hlinitého. V této směsi můžeme pozorovat při nejnižším pH, v tomto případě pH 1,6 nejvyšší obsah volného hliníku, tedy 94,9 %. Při pH 3,27 bylo množství volného hliníku ve směsi 1 nižší, v tomto případě 90,3 %. Při nejvyšším pH (4,85), bylo množství volného hliníku nejnižší, tedy 81,2 %.

Druhá směs se skládala z kyseliny jablečné, kyseliny jantarové, kyseliny citronové a hexahydrátu chloridu hlinitého. V případě druhé směsi se tento trend opakoval. Opět bylo nejvyšší množství hliníku pozorovatelné při nejnižším pH (1,6), v tomto případě bylo procentické zastoupení volného hliníku vyšší, než bylo možné pozorovat u směsi 1. Ve směsi 2 bylo při pH 1,6 zaznamenáno množství hliníku 116 %. Při pH 3,27 množství volného hliníku mírně kleslo na hodnotu 95,0 %, ale tato hodnota byla vyšší, než byla zaznamenána hodnota při stejném pH u směsi 1. Při nejvyšším pH (4,85), byla procentuální hodnota hliníku opět nejnižší, v tomto případě 85,8 %. I tato hodnota mírně vzrostla oproti hodnotě při stejném pH ve směsi

Třetí směs se skládala ze stejných komponent jako směs 1, jen v ní byl obsažen na rozdíl od směsi 1 a 2 i dihydrogenfosforečnan draselný. V tomto případě zde můžeme pozorovat stejný trend jako u směsi 1 a 2, opět bylo zaznamenáno nejvyšší množství procentuální zastoupení volného hliníku při pH 1,6 (95,0 %), o něco nižší množství volného hliníku bylo přítomné při

pH 3,27 (88,5 %) a nejnižší množství volného hliníku bylo opět zaznamenáno při pH 4,85 (81,9 %). V případě směsi 3 je možné pozorovat při všech pH pokles volného hliníku v roztoku v porovnání se směsí 2. Množství volného hliníku v roztoku u směsi 3 je srovnatelné s množstvími volného hliníku naměřenými ve směsi 1.

Směs 4 měla stejné složení jako směs 2, ale byl zde navíc obsažen i dihydrogen fosforečnan draselný, stejně jako ve směsi 3. Mezi číselnými údaji ve směsi 4 je možné pozorovat opět stejný trend v obsahu volného hliníku u jednotlivých pH. I v tomto případě bylo zaznamenáno nejvyšší množství volného hliníku při pH 1,6 (90,3 %), při pH 3,27 bylo zaznamenáno nižší množství volného hliníku (86,2 %) a při pH 4,85 byl v tomto případě naměřen nejnižší obsah hliníku, tedy 74,9 %.



Graf 3: koncentrace volného Al^{3+} (%) v jednotlivých směsích při různém pH

4 Diskuze

4.1 Obsah hliníku v pivu a významné faktory

Do piva se hliník může dostávat ze vstupních surovin, jako jsou kvasnice, chmel a slad a dále z přirozených zdrojů vody. Určité množství hliníku se může do piva dostat i migrací z obalového materiálu, v tomto případě z hliníkové plechovky. Množství hliníku, které do piva migruje z obalového materiálu se ale pohybuje ve velmi nízkých objemech a zpravidla nemá žádný vliv na zdraví konzumenta.

Množství hliníku v pivu z dostupné literatury je uváděno v různých hodnotách a v širokých rozmezích. Hodnoty zaznamenané v amerických pivech se pohybují od 0,1 až 1240 $\mu\text{g/l}$. (Briggs et al. 2004), v českých a portugalských do 550 $\mu\text{g/l}$ (Kellner et al. 1984, Veríssimo & Gomes 2008) a v německých dokonce v rozmezí 400 $\mu\text{g/l}$ až 4200 $\mu\text{g/l}$ (Stahl et al. 2011). Přehledněji porovnává zaznamenané koncentrace hliníku s literaturou Tab 6.

Tab 6.: Porovnání pozorovaných obsahů hliníku v pivu s literaturou ($\mu\text{g/l}$)

Koncentrace hliníku ($\mu\text{g/l}$)	Země původu	Autor
16–283	Česká republika	Luxemburková 2022
x–500	Česká republika	(Kellner et al. 1984)
0,1–1240	USA	(Briggs et al. 2004)
400–4200	Německo	(Stahl et al. 2011)
x–550	Portugalsko	(Veríssimo & Gomes 2008)

x = stopové množství

Z údajů v grafu 2 vyplývá, že průměrné naměřené koncentrace hliníku v láhvích byly nižší průměrně o 22,5 $\mu\text{g/l}$ hliníku než průměry naměřených hodnot v plechovkách, kdy obsah v láhvoém pivu byl 83,5 $\mu\text{g/l}$ a průměrný obsah ve vzorcích z plechovek činil 106 $\mu\text{g/l}$. Naměřené koncentrace hliníku ve všech vzorcích byly však relativně nízké v porovnání s maximálním týdenním příjmem hliníku podle WHO (1997), který uvádí jako bezpečný 2 mg Al na kilogram tělesné váhy, čímž pádem by musel člověk vážící 80 kg vypít necelých 218 litrů denně s nejvyšší naměřenou koncentrací hliníku, aby tuto dávku překročil.

Piva spadají mezi slabě kyselé nápoje, s hodnotou pH mezi 4 a 5, což znamená, že mají nízkou korozivní agresivitu. Koncentrace hliníku je tedy závislá na pH produktu a na délce skladování. Díky tomu byl u piv po uplynutí expirační doby naměřen vyšší obsah hliníku než u piv ve skleněné láhvi. I přes to tyto vzorky obsahovaly méně než 1 mg hliníku na litr (Seruga et al. 1994). Pokud je hliník v pivu obsažen ve vyšším množství, je mu přiřazována kovová příchut' (Ivusic et al. 2006).

Závislost množství hliníku na teplotě byla prokázána ve vzorcích piva skladovaného v ledničce, na rozdíl od piva skladovaného při pokojové teplotě, tedy 22 °C. (Fukushima et al. 1990, Ivusic et al. 2006). U vzorků piv uchovávaných v chladničce bylo zaznamenáno

průměrné množství 108 µg/l, zatímco u stejných piv uchovávaných při pokojové teplotě tato piva dosahovala skoro čtyř- anebo pěti-násobek zaznamenané hodnoty. Množství hliníku naměřené v pivech skladovaných při pokojové teplotě dosahovalo mezi 414 µg/l a 546 µg/l. Vyšší hodnoty byly přiřazeny korozi kovového obalu pivem, která může být omezena právě skladováním při teplotě 5 °C. U chlazeného piva je migrace iontů hliníku z obalu značně pomalejší než u piva při pokojové teplotě. (Vela et al. 1998) Pro minimalizaci migrace hliníku v plechovkových pivech se tedy doporučuje pivo skladovat v chladu.

Obsah hliníku v plechovkovém pivu je závislý na následujících faktorech: typ a kvalita plechovek, typ a tloušťka ochranného povlaku plechovky, pH piva, délka kontaktu mezi plechovkou a pivem, tepelné ošetření, skladovací teplota a přítomnost jakýchkoli korozivně agresivních látek (Ivusic et al. 2006).

Z toho důvodu bylo také v rámci této práce provedeno srovnání obsahu hliníku mezi vzorky piva (a) ze skleněné lahve a (b) hliníkové plechovce. Číselné údaje pro tyto vzorky uvádí Tab. 7, kde u tří ze čtyř případů vykazovaly vzorky z hliníkových plechovek mírně vyšší obsah hliníku. V prvním vzorku byla naměřena koncentrace hliníku ze skleněné láhve o 18 µg/l nižší v porovnání se stejným vzorkem z plechovky (118 µg/l). Ve druhém vzorku byla naopak zaznamenána opačná situace, tedy ve skleněné láhvi byla naměřena koncentrace hliníku 78,0 µg/l a v plechovce 54,0 µg/l. V tomto jediném případě v rámci této analýzy byla detekována vyšší koncentrace hliníku ve vzorku z láhve, která převyšovala vzorek z plechovky o 28 µg/l. Ve třetím vzorku byla zaznamenána koncentrace hliníku ve vzorku z láhve 39,0 µg/l, a v plechovce o něco vyšší hodnota 55,0 µg/l. V posledním vzorku se v lahvovém pivu nepodařilo změřit přesnou koncentraci hliníku, jelikož se pohybovala pod limitem kvantifikace. Nakolik byl však signál pro hliník detektorem ICP-OES identifikován, byla mu přiřazena hodnota odpovídající polovině detekčního limitu přístroje. Ve vzorku z plechovky bylo stanoveno 38,0 µg/l.

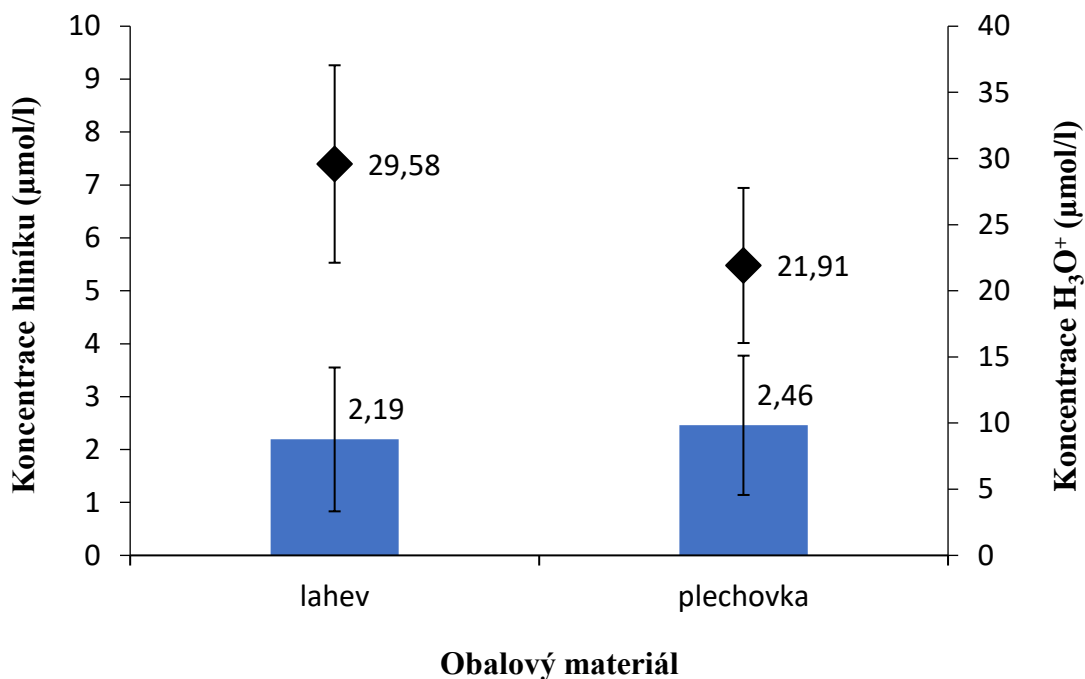
Tab 7.: Koncentrace hliníku (µg/l) a jejich pH od stejného výrobce v různém obalu

Číslo vzorku	Lahvové pivo (µg/l)	Plechovkové pivo (µg/l)	pH láhvé pivo	pH plechovkové pivo
1	100	118	4,69	4,74
2	78,0	54,0	4,42	4,56
3	39,0	55,0	4,49	4,66
4	19,3*	38,0	4,56	4,76

* = stanovená hodnota byla nižší než limit kvantifikace

Ze stejné tabulky je rovněž možné si všimnout, že hodnoty pH byly naměřeny u všech vzorků v hliníkových plechovkách mírně vyšší, než u vzorků ze skleněných láhví. Toto by potenciálně může indikovat projev migrace hliníku do piva. Pokles koncentrace H_3O^+ v pivu a tedy nárůst pH je následkem chemické reakce s elementárním Al^0 za vzniku mobilních forem hliníku (Sullivan Jr. & Singley 1968). Z Grafu 4 je tento rozdíl mezi vzorky sice lépe patrný, ale v pro nízký počet vzorků není rozdíl v obsahu hliníku mezi pivem v láhvi a hliníkové

plechovce podle Studentova t-testu statisticky významný ($p = 0,39$). Na druhé straně u výsledků pH vyjádřených v ekvivalentu H_3O^+ naznačuje hodnota $p = 0,08$, že pozorování nemusí být náhodné, protože se velmi blíží číslu 0,05. Potvrzení nebo vyvrácení by si však vyžádalo zvýšit počet porovnávaných vzorků.



Graf 4: rozdíl mezi koncentrací hliníku a H_3O^+ ve vzorcích piva od stejného výrobce

I když mezi sebou bylo celkem srovnáváno 15 vzorků piva z láhve a 15 z hliníkové plechovky, průměrný obsah hliníku se mezi pivy příliš nelišil a činil pouhých $22,5 \mu\text{g/l}$. Tím pádem se obsah hliníku v láhvoém pivu ($83,5 \mu\text{g/l}$) nejeví příliš odlišný oproti pivu v plechovkách ($112 \mu\text{g/l}$). Toto bylo způsobeno značným kolísáním hodnot, které se u láhvoého piva pohybuje na úrovni až $\pm 72,5 \mu\text{g/l}$, zatímco u piva v plechovkách bylo nižší, jen $59,5 \mu\text{g/l}$. Z toho důvodu byl vypočítán medián hodnot, který není zatížen velkým rozptylem dat jako v případě průměru, protože vypočet rozděluje data tak, aby polovina hodnot byla menší a polovina větší než medián. Díky tomu obsah hliníku v láhvoém pivu dosahuje spíše $59,4 \mu\text{g/l}$ ($\pm 40,1 \mu\text{g/l}$), zatímco u piva v hliníkové plechovce pozorujeme až $118 \mu\text{g/l}$ ($45,0 \mu\text{g/l}$), čímž je vliv obalového materiálu již patrnější. I když nebylo testováno dostatek vzorků, aby se projevila statistická významnost obalového materiálu, pozorování v diplomové práci nevybočují od dosavadních pozorování.

4.2 Stanovení organických kyselin

Množství octanu obsaženého v pivech závisí na konkrétním typu analyzovaného piva. U anglických piv bylo detekováno od 12 mg/l do 156 mg/l octanu (Whitning 1974), zatímco v novější čínské studii jsou uváděny podobné hodnoty, a to 57-145 mg/l octanu (Zhang et al. 2012). Velmi podobné rozmezí octanu uvádí i studie, kde byla analyzována česká piva, a to od 20 mg/l do 150 mg/l (Basařová 2010). Další podobné koncentrační rozmezí výše uvedeným údajům uvádí studie prováděná na italských pivech, kde byl pozorován koncentrační rozsah octanu mezi 28 mg/l a 159 mg/l (Montanari et al. 1999) a v portugalských pivech, kde byl zjištěn koncentrační rozsah octanu mezi 6,67 mg/l a 66,6 mg/l (Erny et al. 2009).

Za okolností, že by nebyl analyzován jeden vzorek kyseláče (č. 15 v plechovce), koncentrace octanu v této práci se velmi podobaly výše zmíněným studiím. Rozsah octanu v našich vzorcích by pak činil 6,34–120 mg/l. Porovnání s literaturou shrnuje Tab 8.

Kyseláče jsou charakteristické vyšším obsahem kyseliny octové, běžně až 800 mg/l (Dysvik et al. 2020), podobná koncentrace (810 mg/l) byla naměřena i v této práci. Koncentrace octanu v kyseláčích mohou potenciálně dosahovat i hodnot do 2340 mg/l, což už je opravdu vysoká hodnota (Klopper et al. 1986). Chuťový práh je uváděn v rozmezí, od 175 mg/l (Briggs et al. 2004) do 600 mg/l (Štefěcová & Čepička 2001). Většina kyseliny octové nalezené v pivu pochází z fermentace kvasinek. Její obsah může indikovat však i mikrobiální kontaminaci piva. Její vznik ovlivňuje hlavně pivovarský proces kvašení (Zhang et al. 2012).

Tab 8.: Srovnání koncentračních rozsahů octanu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
6,34–810	Česká republika	Luxemburková 2022
6,86–66,7	Portugalsko	(Erny et al. 2009)
20–150	Česká republika	(Basařová 2010)
28–159	Itálie	(Montanari et al. 1999)
12–156	Velká Británie	(Whitning 1974)
57–145	Čína	(Zhang et al. 2012)

Dalším studovaným aniontem v této práci byl mléčnan. Hodnoty naměřené v literatuře v ležácích plzeňského typu z Nizozemí dosahovaly hodnot od 10 do 284 mg/l (Klopper et al. 1986), v britských pivech byly zaznamenány hodnoty mléčnanu od 44 mg/l do 276 mg/l (Coote & Kirsop 1974, Whitning 1974). Nejvyšší hodnoty byly naměřeny v norských pivech plzeňského typu, a to v rozmezí 100 – 450 mg/l (Engan 1974). Obsah mléčnanu naměřený v této práci je s těmito hodnotami srovnatelný a příliš se neodchyluje. Relativně blízké hodnoty jsou uváděny ve studii prováděných na italských pivech, kde byly zaznamenány koncentrace mléčnanu od 99 mg/l do 186 mg/l (Montanari et al. 1999) a dále na portugalských pivech, kde bylo detekováno mezi 8,38 mg/l až 83,8 mg/l mléčnanu (Erny et al. 2009). Porovnání s literaturou shrnuje Tab. 9.

Tab 9.: Srovnání koncentračních rozsahů mléčnanu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
8,25–119	Česká republika	Luxemburková 2022
8,38–83,8	Portugalsko	(Erny et al. 2009)
48–233	Velká Británie	(Whitning 1974)
99–186	Itálie	(Montanari et al. 1999)
10–284	Nizozemí	(Klopper et al. 1986)
44–276	(Evropská piva)	(Coote & Kirsop 1974)
100–450	Norsko	(Engan 1974)

Kyselina mléčná je přidávána do rmutů a sladů pro rychlejší kvašení a zrání a intenzivnější štěpení vysokomolekulárních látek. Rozdíly v koncentraci kyseliny mléčné v jednotlivých studiích mohou být způsobeny i rozdílným přidaným množstvím kyseliny mléčné do jednotlivých sladů (Whitning 1974). Prahové množství je uváděno mezi 380 mg/l (Narziss & Back 2009) a 400 mg/l. (Briggs et al. 2004)

Dalším aniontem stanoveným v této práci je pyruvát. Ve studii, kde byla analyzována evropská piva, bylo uvedeno množství pyruvátu od 10 mg/l do 80 mg/l (Coote & Kirsop 1974). Studie prováděná na nizozemských pivech uvádí změřené hodnoty mezi 1 a 127 mg/l s tím, že svrchně kvašená piva vykazují větší rozdíly v obsahu, než piva plzeňského typu, u kterých se rozmezí kyseliny pohybuje od 19 mg/l do 95 mg/l (Klopper et al. 1986). Z této studie je zřejmé, že se průměrně vyskytovaly vyšší hladiny ve svrchně kvašených pivech (Ale), než v analyzovaných ležácích. Takto tomu bylo i v této práci, nejvyšší hodnota byla naměřena právě ve vzorku Summer Ale. Průměrná koncentrace u svrchně kvašených piv v této studii činila 59 mg/l a hodnota vzorku Summer Ale v této práci činí 59,9 mg/l.

Novější studie od roku 2011 uvádí užší číselný rozsah měřený na méně vzorcích, a to mezi 13,2 mg/l a 39,6 mg/l (Montenegro et al. 2011). Nejbližší koncentrační rozsah uvádí studie portugalských piv, kde bylo zde naměřeno mezi 5 a 50 mg/l pyruvátu (Erny et al. 2009). Porovnání s literaturou shrnuje Tab 10.

Pyruvát je meziproduktem přeměny glukosy na ethanol. Jeho tvorbu lze považovat za marker růstu kvasinek, jelikož nejvyšší koncentrace je dosažena právě před dosažením maxima růstové fáze, poté je absorbován a zpětně přeměněn na octan (Montenegro et al. 2011). Chuťový práh pyruvátu je uváděn 300 mg/l (Briggs et al. 2004).

Tab 10.: Srovnání koncentračních rozsahů pyruvátu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
6,21–59,9	Česká republika	Luxemburková 2022
5–50	Portugalsko	(Erny et al. 2009)
13,2–39,6	Portugalsko	(Montenegro et al. 2011)
19–95	Nizozemí	(Klopper et al. 1986)
10–80	(Evropská piva)	(Coote & Kirsop 1974)

Dalším aniontem detekovaným v pivech, která byla analyzována v této práci je šťavelan. Studie prováděná na českých pivech uvádí jeho změřené koncentrace mezi 4 mg/l a 32 mg/l (Havlová 1997). V novější studii byla analyzována polská piva, kde se změřená koncentrace šťavelanu pohybovala mezi 1,8-30,3 mg/l (Salamon et al. 2012). Další studie analyzovala německé ležáky a stanovila koncentrace šťavelanu od 9,9 mg/l do 22,8 mg/l (Briggs et al. 2004). Novější studie, ve které byly rovněž analyzována německá piva, uvádí koncentrační hodnoty šťavelanu dokonce v užším rozmezí, a to od 13 do 17,8 mg/l (Siener et al. 2017). V jiných studiích bylo zmíněno, že přítomnost kyseliny šťavelové v analyzovaných vzorcích nebyla zaznamenána (Coote & Kirsop 1974), nebo byla detekována pouze v mladině (Enebo et al. 1955).

Výsledky v této práci jsou nižší než výsledky zaznamenané v zahraničních studiích, což nepředstavuje problém, ale spíše výhodu. Kyselina šťavelová totiž ve vyšších koncentracích nehraje v pivovarské technologii pozitivní roli, nejen kvůli své drsné chuti, ale i kvůli potenciálnímu vzniku oxalátového zákalu nebo přepěňování piva. Kyselina šťavelová je navíc potenciálně toxická, je tedy žádoucí udržovat její koncentraci na nízké úrovni. Rozdíly v koncentracích v této práci a v zahraničních studiích mohou být způsobeny použitím jiných surovin pro výrobu pív, tedy místo sladovnického ječmene, který byl použit u všech vzorků v této práci, mohly být analyzovány i některé vzorky, které byly vyrobeny z pšenice. Průměrné množství šťavelanu v pšenici je totiž vyšší než ve sladovnickém ječmeni (Briggs et al. 2004). Množství šťavelanu v pivu je závislé na množství šťavelanu ve sladu (Havlová 1997). Porovnání s literaturou shrnuje Tab 11.

Tab 11.: Srovnání koncentračních rozsahů šťavelanu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
1,06–10,5	Česká republika	Luxemburková 2022
4–32	Česká republika	(Havlová 1997)
1,8–30,3	Polsko	(Salamon et al. 2012)
13–17,8	Německo	(Siener et al. 2017)
9,9–22,8	Německo	(Briggs et al. 2004)

Dalším aniontem, který byl detekován v pivech analyzovaných v této práci byl jablečnan. Studie prováděná na britských pivech uvádí rozsah koncentrací jablečnanu mezi 14 až 95 mg/l

(Coote & Kirsop 1974). Studie provedená ve stejný rok, rovněž na britských pivech uvádí koncentraci mezi 78 a 105 mg/l (Whitning 1974). Studie, kde byla analyzována norská piva uvádí širší koncentrační rozmezí jablečnanu, a to mezi 50 mg/l až 100 mg/l (Engan 1974). Další studie, kde byla analyzována nizozemská piva, uvádí množství detekovaného jablečnanu mezi 24 a 136 mg/l (Klopper et al. 1986). Užší zaznamenané koncentrační rozmezí jablečnanu uvádí studie, kde byla analyzována italská piva, tam se jeho koncentrace pohybovala mezi 40 a 93 mg/l (Montanari et al. 1999). Z novějších studií uvádí koncentrační rozsah jablečnanu zaznamenaných v portugalských pivech mezi 6,86 a 68,8 mg/l (Erny et al. 2009). Nejnižší zaznamenané hodnoty v pivu pochází z analýzy britských piv, v rozmezí mezi 30 až 50 mg/l (Briggs et al. 2004).

V této práci jsou naměřené koncentrace kyseliny jablečné v širším rozmezí, než je v normě. Kdyby v této práci nebyla naměřena takto vysoká hodnota jablečnanu ve vzorku č. 12 v plechovce, rozmezí vzorků by činilo 8,25 mg/l až 71,67 mg/l. Takto naměřené hodnoty už by byly srovnatelné s výsledky výše zmíněných zahraničních studií. Jablečnan nevzniká jako sekundární metabolit při kvašení, je složkou původní (Briggs et al. 2004). Porovnání s literaturou shrnuje Tab 12.

Tab 12.: Srovnání koncentračních rozsahů jablečnanu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
8,25–439	Česká republika	Luxemburková 2022
14–95	Velká Británie	(Coote & Kirsop 1974)
6,86–68,6	Portugalsko	(Erny et al. 2009)
50–100	Norsko	(Engan 1974)
24–136	Nizozemí	(Klopper et al. 1986)
40–93	Itálie	(Montanari et al. 1999)
78–105	Velká Británie	(Whitning 1974)
30–50	Velká Británie	(Briggs et al. 2004)

Posledním detekovaným aniontem v pivech, který byl analyzován v této práci byl citronan. Ve studii prováděné na britských pivech byla stanovena v ležácích a svrchně kvašených pivech koncentrace od 56 do 158 mg/l (Coote & Kirsop 1974). Ve stejném roce byla prováděna studie na norských pivech, která vykazovala značně vyšší koncentrační obsah, a to od 125 až 225 mg/l (Engan 1974). Jiné studie, kde byla rovněž analyzována britská piva uvádí koncentrace mezi 100 a 150 mg/l (Briggs et al. 2004). Výsledky podobné výše zmíněné studii byly zaznamenány i v nizozemských pivech, a to od 107 do 211 mg/l (Klopper et al. 1986). Novější studie provedená na italských pivech uvádí koncentraci mezi 99 a 131 mg/l (Montanari et al. 1999). Studie, ve které byla analyzována portugalská piva uvádí rozsah mezi 10,1 a 104 mg/l (Erny et al. 2009).

Výsledky, které byly nejbližší této práci byly zaznamenané ve studii, kde byla analyzována švédská piva. Koncentrace zde činila 88 až 90 mg/l (Enebo et al. 1955) a dále 100 až 150 mg/l (Briggs et al. 2004). Vzorek s kyseláčem (č. 15 v plechovce) byl opět výjimkou, kde byla naměřena markantně vyšší koncentrace citrátu (383 mg/l) než ve zbylých vzorcích.

Pokud by nebyl analyzován vzorek s kyseláčem, výsledné naměřené koncentrace by činily 24,8 až 62,6 mg/l, což jsou nižší výsledky, než uvádí autoři výše zmíněných zahraničních studiích. Porovnání s literaturou shrnuje Tab 13.

Tab 13.: Srovnání koncentračních rozsahů citrátu (mg/l) s literaturou

Koncentrační rozsah (mg/l)	Země původu	Zdroj
24,8–383	Česká republika	Luxemburková 2022
10,1–104	Portugalsko	(Erny et al. 2009)
56,0–158	Velká Británie	(Coote & Kirsop 1974)
99–131	Itálie	(Montanari et al. 1999)
125–225	Norsko	(Engan 1974)
107–211	Nizozemí	(Klopper et al. 1986)
88,0–90,0	Švédsko	(Enebo et al. 1955)
100–150	Velká Británie	(Briggs et al. 2004)

4.2.1 Stability komplexů hliníku a vybraných aniontů

Z výsledků v grafu 3 je možné si povšimnout, že v důsledku klesajícího pH dochází ve všech směsích, bez ohledu na jejich složení, ke změně obsahu detekovatelného Al^{3+} . Z tohoto trendu je proto patrné, že stabilita komplexů hliníku v pivu, například v žaludku simulovaného při pH 1,60; bude ve velké míře podmíněná pH roztoku.

Aby bylo možné pozorované trendy lépe vysvětlit byl využit program Visual MINTEQ 3.1., který je na základě matematického modelování definovaných podmínek schopen vytvořit virtuální roztok. Toto modelování dokáže nejen vypočítat obsah volného Al^{3+} pro jednotlivé směsi při odlišném pH, ale současně předpovídá, v jakých formách se bude hliník při odlišném pH vyskytovat a jaký bude jejich obsah. Porovnáním reálně stanovených koncentrací Al^{3+} s MINTEQ předpokládaným množstvím v Tab 14. je možné vidět, že údaje při pH hodnotách 4,85 a 3,27 se značně liší od modelové předpovědi. S určitými odlišnostmi od teoretického výpočtu je možno počítat, jelikož jr program založen na ideálních podmínkách, které se liší od těch reálných. Odchylka na průměrné úrovni 81 % je však daleko vyšší, než by bylo možné vysvětlit jen matematickou chybou modelu a naznačuje ve skutečnosti nedostatek zvolené metody.

Tab 14.: porovnání obsahu Al^{3+} změřeného při různém pH v porovnání s MINTEQ-em

	Obsah detekovatelného Al^{3+} (%)		
	Změřený Obsah	Odchylka měření	Modelový odhad
Směs	pH roztoku 4,85		
(1) mlč+oct+cit	81,2	3,90	0,21
(2) jab+jan+cit	85,8	6,80	0,19
(3) P^{3-}+mlč+oct+cit	81,9	2,26	0,10
(4) P^{3-}+jab+jan+cit	74,9	2,96	0,10
	pH roztoku 3,27		
(1) mlč+oct+cit	90,3	1,88	10,3
(2) jab+jan+cit	95,0	3,80	11,3
(3) P^{3-}+mlč+oct+cit	88,5	3,95	6,63
(4) P^{3-}+jab+jan+cit	86,2	4,02	6,94
	pH roztoku 1,60		
(1) mlč+oct+cit	94,9	2,39	98,7
(2) jab+jan+cit	102	1,69	98,9
(3) P^{3-}+mlč+oct+cit	94,0	5,61	98,3
(4) P^{3-}+jab+jan+cit	90,3	5,16	98,5

$P^{3-} = PO_4^{3-}$, mlč = mléčnan, oct = octan, cit = citronan, jab = jablečnan, jan = jantaran

Tento předpoklad potvrzuje i experimentální pozorování v práci (Drábek et al. 2015), kdy nebyly zaznamenány změny v obsahu Al^{3+} v roztoku s kyselinou jablečnou. Na základě toho je možné očekávat zkreslení pozorování zejména ve směsích 2 a 4, kde kyselina jablečná figuruje. Autoři totiž předpokládají, že vznikající komplex Al -jablečnan⁺ není možné odlišit během UV detekce od volných Al^{3+} , a proto nedochází k změně koncentrace Al^{3+} během měření jako by tomu bylo u komplexů s jinými organickými kyselinami. Dle odhadů autorů je přitom schopnost jablečnanu interagovat s ionty Al^{3+} poměrně značná, protože i při pH 2,08 teoreticky předpovídali navázání 22,4 % hliníku na jablečnan.

Rozdíly v případě kyseliny citronové je možno teoreticky přičíst vlivu mobilní fáze, kteou v tomto případě představovala HCl. Ta má za následek, že vzniklé komplexy hliníku s organickými kyselinami nebo PO_4^{3-} aniontem v gradientu HCl budou mít tendenci podléhat chelataci TIRONem ve větším rozsahu následkem zvýšené koncentrace konkurenčních kationtů. To vede k umělému navýšení signál o Al^{3+} , který byl původně vázán v komplexu a do roztoku byl vytěsňen z vazebných míst působením H_3O^+ kationtů.

Tento předpoklad je v dobré shodě s posledním pozorováním koncentrace Al^{3+} v různých směsích při pH žaludku (1,60), kdy se koncentrace experimentálně pozorovaného Al^{3+} odlišovala od modelové hodnoty v průměru jen o 3,42 %, bez ohledu na složení směsi. K tomuto opět dochází následkem vysoké konkurence H_3O^+ o dostupná vazebná místa při pH 1,60 ještě před analýzou, díky čemuž působení mobilní fáze nedokáže vytěsnit žádný další hliník z vazebných míst. Jelikož je hliník v tomto případě analyzován v kyselém prostředí, vyskytuje se v roztoku dominantně jako hexahydrát $[Al(H_2O)_6]^{3+}$, neboli Al^{3+} (Jansen et al. 2003).

Toto tvrzení podporuje i MINTEQ modelování v Tab 15., kde je možné vidět změny v zastoupení komplexů hliníku jaké by se vyskytovaly ve směsích 1 a 3.

Tab 15.: změny složení komplexů hliníku v závislosti od pH roztoku

	Zastoupení Al-komplexů v systému (%)		
	Směs 1: mlč+oct+cit		
	pH 4,85	pH 3,27	pH 1,60
Al-cit	97,6	87,6	1,04
Al-mlč	0,86	1,84	0,25
Al-oct	1,32	0,24	0,01
	Směs 3: P+mlč+oct+cit		
	pH 4,85	pH 3,27	pH 1,60
Al-cit	94,9	81,6	1,03
Al-mlč	0,38	1,17	0,25
Al-oct	0,61	0,15	0,01
Al-P ³⁻	3,98	10,5	0,41

P³⁻ = PO₄³⁻, mlč = mléčnan, oct = octan, cit = citronan

Modelové výsledky jsou v tomto případě v dobré shodě s prací (Drábek et al. 2015), kdy důsledkem pH 1,84 až 99,1 % všeho hliníku vystupovalo v podobě Al³⁺ i v přítomnosti vyšší koncentrace citrátu a nedocházelo ke vzniku komplexů.

Způsob, jakým budou anionty organických kyselin nebo PO₄³⁻ s hliníkem reagovat bude proto záležet na schopnosti těchto molekul si zachovat záporný náboj i v podmínkách nízkého pH, tedy vysoké koncentrace H₃O⁺. To je možné odvodit z hodnoty disociační konstanty kyseliny (pK_a), která určuje míru, jakou molekuly odevzdávají H⁺, čímž se dostávají do disociovaného stavu. Ten je charakteristický vznikem záporného náboje na molekule, který posléze umožňuje reakci s kationty. Při hodnotách pK_a platí pravidlo, kde nižší číslo znamená silnější schopnost odevzdávat H⁺. Když nastane v roztoku stav, kdy pH = pK_a znamená to, že množství disociovaných funkčních skupin je rovné počtu skupin nesoucích H⁺ a ztrácí schopnost reagovat. V případě karboxylové skupiny v organických kyselinách je -COO⁻ nahrazen za -COOH. (Miessler et al. 2014). Toto je důležité, protože díky schopnosti karboxylové (-COOH) skupiny, organické kyseliny jsou schopny tvořit stabilní vazby s hliníkem (Hue et al. 1986).

Když porovnáme disociační konstanty v Tab 16. je rozpoznatelné, se kterými anionty bude hliník v pivu potenciálně silně tvořit komplexy, a se kterými naopak ne. Předpoklady pro stabilní vázání bude určitě mít šťavelan, jablečnan a v nadbytku i citrát, a to nejen pro nízké hodnoty disociačních konstant, ale rovněž díky vyššímu počtu karboxylových skupin v řetězci, u kterých byl pozorován vznik komplexů i při pH < 2,0. (Drábek et al. 2015)

Mléčnan a octan budou reagovat v pivu jen v omezené míře, spíše za vyššího pH. To je možno pozorovat i v Tab 15., kde k interakci v systému 1 a 3 teoreticky dochází díky úbytku Al-cit komplexů.

Tab 16.: hodnoty disociačních konstant kyselin pro vybrané molekuly

Disociační konstanta kyseliny (pK _a)			
Kyselina	pK _{a1}	pK _{a2}	pK _{a3}
k. fosforečná	2,14	7,20	12,37
k. octová	4,76		
k. mléčná	3,86		
k. pyrohroznová	2,50		
k. šťavelová	1,25	4,14	
k. fumarová	3,03	4,44	
k. jantarová	4,20	5,60	
k. jablečná	3,40	5,20	
k. citronová	3,13	4,76	6,39

Efektivita fumarátu vázat hliník je diskutabilní, protože tento aniont není na rozdíl od jablečnanu, citrátu nebo šťavelanu znám svou dobrou interakcí s hliníkem, bez ohledu na dvě -COOH skupiny v molekule a poměrně nízkou hodnotu pK_a. (McColl & Pohlman 1986).

Vliv disociace kyselin je zjevný z Tab 15., kde pokles pH roztoku má za následek snížení obsahu hliníku vázaného na citran ve směsi 1 z 97,6 % při pH 4,85 na pouhých 1,04 %, při pH žaludku. To se děje důsledkem vysoké konkurence H₃O⁺ a Al³⁺ o vazebná místa. Pokles pH na 3,27 zapříčiňuje pokles komplexu Al-citran⁰ z předešlých 95,7 % na 62,1 % a díky navázání H⁺, neboli protonaci na jednu z karboxylových skupin vzniká komplex AlH-citran⁺ (25,5 %). Projev protonace na molekule kyseliny citronové podporuje vznik jiných komplexů, například s mléčnanem, díky vyšší dostupnosti hliníku, který byl vázán původně na kyselině citronové.

S ohledem na skutečné koncentrace hliníku a aniontů ve zkoumaných pivech, výskyt samostatného Al³⁺ je velmi nepravděpodobný a všechen bude vázán. Po vstupu do žaludku však tento hliník může být důsledkem bohatého prostředí H₃O⁺ z komplexu odštěpen a mobilizován jako Al³⁺. Se stoupajícím obsahem kyseliny šťavelové, jablečné nebo citronové v pivech bude jeho obsah však potenciálně klesat i za pH pod hodnotou pK_a, když budou kyseliny v poměru k hliníku aspoň dvojnásobně vyšším. Díky tomu bude šťavelan i v oblasti pH kolem 1,35 vázat 98,8 %; citran při pH 2,13 až 96,9 % a jablečnan při pH 2,18 až 99,4 % dostupného Al³⁺. (Drábek et al. 2015)

5 Závěr

Cílem této práce bylo stanovení hliníku a jeho forem v různých vzorcích piva českého původu a sledování migrace hliníku z obalového materiálu do nápoje. Celkem bylo analyzováno 30 piv zakoupených v běžných obchodních řetězcích. Z těchto 30 vzorků bylo 15 bylo skladováno v hliníkových plechovkách a 15 vzorků ve skleněné láhvi.

Většina analyzovaných vzorků byly světlé ležáky (23 vzorků), dále byla analyzována světlá výčepní piva (2 vzorky), 1 vzorek černého piva, 1 vzorek kvasnicového ležáku, craftová piva, z nichž byl 1 vzorek Summer Ale, 1 vzorek Double IPA a 1 kyseláč.

Koncentrace hliníku byla stanovena pomocí ICP–OES. Průměrný obsah hliníku v analyzovaných pivech ve skleněné láhvi byl 83,5 $\mu\text{g/l}$ a průměrný naměřený obsah hliníku v hliníkových plechovkách byl 106 $\mu\text{g/l}$.

Nejvyšší naměřená koncentrace hliníku byla 283 $\mu\text{g/l}$. Tato hodnota byla naměřena v jednom ze světlých ležáků v láhvi. Nejnižší naměřená hodnota byla 16,0 $\mu\text{g/l}$, která byla naměřena v kvasnicovém ležáku v láhvi. U tří vzorků se nepodařilo změřit přesnou koncentraci hliníku, jelikož se koncentrace pohybovaly pod limitem detekce použité analytické metody.

Pivo je řazeno mezi mírně kyselé nápoje se slabou korozivní agresivitou a v kombinaci s kvalitním obalovým materiálem a správnými skladovacími podmínkami by tedy mělo docházet k velmi zanedbatelné migraci hliníku. Standartně se pohybuje mezi pH 4-5, a není důvod se obávat migrace hliníku z obalu do produktu při správném skladování ve velké míře. Hliníkový obal by ale nemusel být vhodným obalovým materiálem pro potraviny s nižším pH.

Dále bylo provedena analýza stability komplexů hliníku, která jednoznačně prokázala, že s klesajícím pH roste množství volného hliníku v roztoku a tato hypotéza byla potvrzena i z výsledků programu Visual Minteq, ze kterého bylo rovněž zjištěno, že hliník má schopnost vytvářet komplexy s ortofosforečnanovým aniontem a organickými kyselinami.

V této práci byly srovnány i čtyři vzorky od stejného výrobce v rozdílných obalových materiálech, tedy (1) skleněná láhev a (2) hliníková plechovka. Ve třech ze čtyř vzorků byl patrný lehký nárůst koncentrace hliníku ve vzorcích z hliníkových plechovek, i přes vyšší pH u vzorků z hliníkových plechovek. I když se nepovedlo potvrdit rozdíl mezi těmito vzorky na statistické významnosti ($p > 0,05$), analýza hodnot pH naznačuje možnou chemickou reakci mezi hliníkovým obalem a pivem ($p = 0,08$), potvrzení této hypotézy by však opět vyžadovalo vyšší počet vzorků. V této práci bylo však prokázáno, že piva v hliníkové plechovce vykazovala mírně vyšší množství hliníku.

Koncentrace změřené ve všech vzorcích piv byly velmi nízké v porovnání s maximálním denním příjmem hliníku dle expertů z WHO, kteří uvádí jako maximum 2 mg hliníku na kilogram tělesné hmotnosti týdně. Příjem hliníku z piv balených v hliníkových plechovkách je pro zdravého dospělého jedince zanedbatelný a nepředstavuje riziko překročení denního příjmu hliníku.

Obsah hliníku závisí na technologickém postupu a surovinách použitých při výrobě piva a jeho skladování, zatímco formy hliníku v pivu jsou podmíněny jeho obsahem, pH piva, a především obsahem molekul organických kyselin a fosforečnanového aniontu.

6 Seznam použitých zdrojů

- Bach, B., E. Meudec, J. P. Lepoutre, T. Rossignol, B. Blondin, S. Dequin, C. Camarasa. 2009. "New insights into γ -aminobutyric acid catabolism: Evidence for γ -hydroxybutyric acid and polyhydroxybutyrate synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*." *Appl Environ Microbiol* 75(13): 4231-4239.
- Bárta, M. 2012. "Chemické prvky kolem nás." 112.
- Basařová, G. 2010. "Pivovarství." 179.
- Bendová, O., M. Kahler. 1981. "Pivovarské kvasinky." Praha : SNTL – Nakladatelství technické literatury: 272.
- Briggs, D. E., C. A. Boulton, P. A. Brookes, R. Stevens. 2004. "Brewing Science and Practice." Woodhead publishing in Food Science and Technology.
- Černohorský, T. 1997. "Atomová spektroskopie." 218.
- Chen, Z., C.-Y. Huang, M. Zhao, W. Yan, C.-W. Chien, M. Chen, S. Lin. 2011. "Characteristics and possible origin of native aluminum in cold seep sediments from the northeastern South China Sea."
- Chládek, L. 2007. "Pivovarnictví." Grada Publishing: 208.
- Coote, N., B. H. Kirsop. 1974. "The Content of Some Organic Acids In Beer And other Fermented Media." *Journal of the Institute of Brewing* 80(5): 474-483.
- De Backer, B. L., L. J. Nagels. 1994. "Potentiometric detection of organic acids in ion-exclusion chromatography using different types of liquid-membrane electrodes." *Analytica Chimica Acta* 290(3): 259-267.
- Dove, L. 2014. "Did Medieval People Drink Beer Instead of Water?"
- Drábek, O., I. K. Kiplagat, M. Komárek, V. Tejnecký, L. Borůvka. 2015. "Study of interactions between relevant organic acids and aluminium in model solutions using HPLC and IC." *Soil and Water Research* 10(3): 172-180.
- Dysvik, A., L. La Rosa Sabina, G. De Rouck, E. Rukke, B. Westereng, T. Wicklund. 2020. "Microbial Dynamics in Traditional and Modern Sour Beer Production." *Applied and Environmental Microbiology* 86(14): e00566-00520.
- Ekonomický deník. (2022, 23.4.2022). "Spotřeba piva se loni propadla na historicky pátou nejnižší úroveň od roku 1950. Exportu se daří." from <https://ekonomickydenik.cz/spotreba-piva-se-loni-propadla-na-historicky-patou-nejnizsi-uroven-od-roku-1950-exportu-se-dari/>.
- Enebo, L., G. Blomgren, E. Johnsson. 1955. "Low Molecular Non-Volatile Organic Acids in Wort And Beer." *Journal of the Institute of Brewing* 61(5): 408-411.
- Engan, S. 1974. "Organoleptic Threshold Values of Some Organic Acids in Beer." *Journal of the Institute of Brewing* 80(2): 162-163.
- Erny, G., J. Rodrigues, A. Gil, A. Barros, V. Esteves. 2009. "Analysis of Non-Aromatic Organic Acids in Beer by CE and Direct Detection Mode with Diode Array Detection." *Chromatographia* 70(11): 1737-1742.
- Exley, C. 1998. "Does antiperspirant use increase the risk of aluminium-related disease, including Alzheimer's disease?" *Molecular Medicine Today* 4(3): 107-109.
- Exley, C. 2016. "The toxicity of aluminium in humans." *Morphologie* 100(329): 51-55.
- Fukushima, M., T. Kobayashi, E. Takeyama, Y. Ayakawa. 1990. "Dissolution of Aluminum in Commercial Canned Beer." *Journal of Food Science and Technology-mysore* 37: 682-686.

- Géblová, A. 2022. "Z piva se stává luxus. Namísto hojnosti hrozí nebývalé zdražování." Finmag.
- Havlová, Š. 1997. "Stanovení kyseliny šťavelové ve sladu a pivu " Kvasný průmysl: 37,38.
- Hough, J. S., D. E. Briggs, R. Stevens , T. W. Young. 1982. Chemical and Physical Properties of Beer. Malting and Brewing Science: Volume II Hopped Wort and Beer. J. S. Hough, D. E. Briggs, R. Stevens and T. W. Young. Boston, MA, Springer US: 776-838.
- Hue, N. V., G. R. Craddock , F. Adams. 1986. "Effect of Organic Acids on Aluminum Toxicity in Subsoils." Soil Science Society of America Journal 50(1): 28-34.
- Ivusic, F., M. Soldo, Z. Nemet, L. Gracin , V. Mari. 2006. "Aluminium and Aroma Compound Concentration in Beer During Storage at Different Temperatures." 499 - 505.
- Jansen, B., K. Nierop , J. Verstraten. 2003. "Mobility of Fe(II), Fe(III) and Al in acidic forest soils mediated by dissolved organic matter: influence of solution pH and metal/organic carbon ratios." Geoderma 113: 323-340.
- Janson, L. 1996. "Brew chem 101." The Basics of Home Brewing Chemistry.
- Kellner, V., P. Čejka , F. Frantík. 1984. "Chování toxických kovů v pivovarském procesu." Kvasný průmysl: 121-124.
- Klopper, W. J., S. Angelino, B. Tuning , H. A. Vermeire. 1986. "ORGANIC ACIDS AND GLYCEROL IN BEER. ." Journal of the Institute of Brewing, 92(3): 225-228.
- Klouda, P. 2003. "Moderí analytické metody."
- Li, G. , F. Liu. 2015. "Changes in Organic Acids during Beer Fermentation." Journal of the American Society of Brewing Chemists 73(3): 275-279.
- McColl, J. G. , A. A. Pohlman. 1986. "Soluble organic acids and their chelating influence on Al and other metal dissolution from forest soils." Water, Air, and Soil Pollution 31(3): 917-927.
- Miessler, G. L., J. P. Fisher , D. A. Tarr. 2014. Inorganic chemistry, Pearson.
- Montanari, L., G. Perretti, F. Natella, A. Guidi , P. Fantozzi. 1999. "Organic and Phenolic Acids in Beer." LWT - Food Science and Technology 32(8): 535-539.
- Montenegro, P., I. M. Valente, L. M. Gonçalves, J. A. Rodrigues , A. A. Barros. 2011. "Single determination of α -ketoglutaric acid and pyruvic acid in beer by HPLC with UV detection." Anal. Methods.
- TopHop. "Historie pěstování chmele." Retrieved 15.3., 2023, from <http://www.hop.cz/home.php?pg=about&page=historie&lg=cz>.
- Narziss, L. , W. Back. 2009. "Die Bierbrauerei Band 2: Technologie der Würzebereitung." Wiley-VCH.
- Nováková, J. , F. Richter. 2009. "Pivo jako křen: domácí vaření piva a vše o pivu. ." Radioservis a.s.: 131.
- Nurlatifah, Nakata , Haruhiko. 2021. "Monitoring of polymer type and plastic additives in coating film of beer cans from 16 countries." Scientific Reports 11(1): 22115.
- Preedy, V. R. 2009. "Beer in Health and Disease Prevention." Elsevier: 1128.
- Robertson, G. L. 2005. "Food Packaging: Principles and Practice, Second Edition."
- Saison, D., D. Schutter, B. Uyttenhove, F. Delvaux , F. R. Delvaux. 2008. "Contribution of staling compounds to the aged flavour of lager beer by studying their flavour thresholds." Elsevier.
- Salamon, A., E. Baca, K. Baranowski , D. Michałowska. 2012. "The evaluation of anti-nutritive components in beer on the example of oxalic acid."

- Salek, R. , E. Lorencová. 2020. "Jak nejlépe skladovat pivo? Poradí vědci z UTB." Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- Šámal, F. 2023. "Česká pivní kultura si rozhodně zaslouží být na seznamu dědictví UNESCO." Český svaz pivovarů a sladoven.
- Ščančar, J. , R. Milačič. 2006. "Aluminium speciation in environmental samples: a review." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386(4): 999-1012.
- Seruga, M., J. Grgić , M. Mandić. 1994. "Aluminium content of soft drinks from aluminium cans." *Z Lebensm Unters Forsch* 198(4): 313-316.
- Siener, R., A. Seidler, S. Voss , A. Hesse. 2017. "Oxalate content of beverages." *Journal of Food Composition and Analysis*.
- Sohrabvandi, S., A. Mortazavian , K. Rezaei. 2012. "Health-Related Aspects of Beer: A Review." *International Journal of Food Properties* 15(2): 350-373.
- Stahl, T., H. Taschan , H. Brunn. 2011. "Aluminium content of selected foods and food products." *Environmental Sciences Europe* 23(1): 37.
- Štefěcová, K. , J. Čepička. 2001. "Průběh změn hlavních organických kyselin v průběhu vinifikace." 47(9): 246-249.
- Styburski, D., K. Janda, I. Baranowska-Bosiacka, A. Łukomska, K. Dec, M. Goschorska, B. Michalkiewicz, P. Ziętek , I. Gutowska. 2018. "Beer as a potential source of macroelements in a diet: the analysis of calcium, chlorine, potassium, and phosphorus content in a popular low-alcoholic drink." *European Food Research and Technology* 244(10): 1853-1860.
- Sullivan Jr., J. H. , J. E. Singley. 1968. "Reactions of metal ions in dilute aqueous solution: Hydrolysis of aluminum." *Journal AWWA* 60(11): 1280-1287.
- Tyrell, T. , F. Fischer. 2014. "Influencing the organic acid profile of beer by application of adsorbent materials." *Journal of the Institute of Brewing* 120(4): 459-466.
- Večerníček, J. 2009. *Dějiny piva*.
- Vela, M. M., R. B. Toma, W. Reiboldt , A. Pierri. 1998. "Detection of aluminum residue in fresh and stored canned beer." *Food Chemistry* 63(2): 235-239.
- Veríssimo, M. , M. T. Gomes. 2008. "Aluminium migration into beverages: Are dented cans safe?" *Science of The Total Environment* 405(1): 385-388.
- Vinopal, J. 2004. "Beer Patriotism in the Czech Society." Praha: CVVM.
- Whitning, G. 1974. "Organic Acid Metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages - a review." University of Bristol, Long Ashton Research Station, Bristol 82: 84 - 92.
- WHO. 1997. *Aluminium-Environmental Health Criteria* 194.
- Zhang, Y., S. Jia , W. Zhang. 2012. "Predicting acetic acid content in the final beer using neural networks and support vector machine." *Journal of the Institute of Brewing* 118(4): 361-367.

7 Seznam příloh

Seznam obrázků

Obrázek 1 Vzorec kyseliny octové.....	18
Obrázek 2 Vzorec kyseliny mléčné.....	19
Obrázek 3 Vzorec kyseliny pyrohroznové.....	19
Obrázek 4 Vzorec kyseliny šťavelové.....	19
Obrázek 5 Vzorec kyseliny jantarové.....	20
Obrázek 6 Vzorec kyseliny alfa-ketoglutarové.....	20
Obrázek 7 Vzorec kyseliny jablečné.....	21
Obrázek 8 Vzorec kyseliny citronové.....	21
Obrázek 9 Chromatogram, konkrétně vzorku č. 3 v lahvi.....	36

Seznam tabulek

Tabulka 1 Přehled analyzovaných vzorků piva	26
Tabulka 2 Složení modelových roztoků.....	28
Tabulka 3 Koncentrace organických kyselin ve vzorcích láhvočných piv (mg/l)	32
Tabulka 4 Koncentrace organických kyselin ve vzorcích z plechovky (mg/l).....	32
Tabulka 5 Množství fosforu ve vzorcích piva (mg/l).....	34
Tabulka 6 porovnání pozorovaných obsahů hliníku v pivu s literaturou	36
Tabulka 7 Koncentrace hliníku a pH vzorků od stejného výrobce v různém obalu.....	37
Tabulka 8 Srovnání koncentračních rozsahů octanu (mg/l)	39
Tabulka 9 Srovnání koncentračních rozsahů mléčnanu (mg/l)	40
Tabulka 10 Srovnání koncentračních rozsahů pyruvátu (mg/l)	41
Tabulka 11 Srovnání koncentračních rozsahů šťavelanu (mg/l).....	41
Tabulka 12 Srovnání koncentračních rozsahů jablečnanu (mg/l).....	42
Tabulka 13 Srovnání koncentračních rozsahů citrátu (mg/l).....	43
Tabulka 14 Porovnání obsahu Al^{3+} změřeného při různém pH v porovnání s MINTEQ-em.....	46
Tabulka 15 Změny složení komplexů hliníku v závislosti od pH roztoku.....	47
Tabulka 16 Hodnoty disociačních konstant kyselin pro vybrané molekuly.....	48

Seznam grafů:

Graf 1 Hodnoty pH vzorků piva.....	31
Graf 2 Koncentrace hliníku v jednotlivých vzorcích piva.....	32
Graf 3 Koncentrace volného Al^{3+} (%) v jednotlivých směsích při různém pH.....	37
Graf 4: Rozdíl mezi koncentrací hliníku a H_3O^+ ve vzorcích piva od stejného výrobce.....	40

8 Seznam použitých symbolů a zkratek

UNESCO – Organizace OSN pro vzdělání, vědu a kulturu
EU – Evropská unie
PET – Polyethylentereftalát
AcetylCoA – Acetylkoenzym A
ATP – Adenosintrifosfát
WHO – Světová zdravotnická organizace
ICP – OES – Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem
IPA – India Pale Ale
OCT – kyselina octová
oct – octan
MLČ – kyselina mléčná
mlč – mléčnan
JAB – kyselina jablečná
jab – jablečnan
JAN – kyselina jantarová
jan – jantaran
CIT – kyselina citronová
cit – citran
Al – hexahydrát chloridu draselného
P – dihydrogen fosforečnan draselný
P³⁻ – fosforečnanový aniont PO₄³⁻
TIRON – dihydroxybenzen 3,5 disulfonová kyselina
UV – ultrafialové záření
PYR – kyselina pyrohroznová
ŠTV – kyselina šťavelová
FUM – kyselina fumarová
pK_a – disociační konstanta kyseliny

9 Samostatné přílohy

Koncentrace hliníku v pivech láhvi

Číslo vzorku	Druh piva	Koncentrace hliníku (µg/l)
1*	Světlý ležák	100
2*	Světlý ležák	78,0
3*	Světlý ležák	39,0
4*	Světlý ležák	19,3
5	Světlý ležák	123
6	Světlý ležák	59,4
7	Světlý ležák	109
8	Světlý ležák	283
9	Světlý ležák	19,3
10	Světlý ležák	181
11	Světlý ležák	105
12	Kvasnicový ležák	16,0
13	Černé	52,3
14	Double IPA	34,0
15	Summer Ale	34,0

Koncentrace hliníku v pivech v plechovce

Číslo vzorku	Druh piva	Koncentrace hliníku (µg/l)
1*	Světlý ležák	118
2*	Světlý ležák	54,0
3*	Světlý ležák	55,0
4*	Světlý ležák	38,0
5	Světlý ležák	33,0
6	Světlý ležák	142
7	Světlý ležák	183
8	Světlý ležák	159
9	Světlý ležák	19,3
10	Světlý ležák	132
11	Světlý ležák	126
12	Světlý ležák	203
13	Světlé výčepní	79,0
14	Světlé výčepní	85,0
15	Kyseláč	163

* vzorky piva od stejného výrobce v odlišném obalu

19,3 µg/l je hodnota poloviny detekčního limitu ICP-OES bylo použita pro vzorky, kde nebylo možné kvantifikovat obsah hliníku, ale signál přítomnost hliníku ve vzorku nasvědčoval