



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU BÍLKOVIN, POLYFENOLŮ A SACHARIDŮ V PIVU

DETERMINATION OF TOTAL PROTEIN, CARBOHYDRATES AND POLYPHENOLS IN BEER

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Blanka Dostálová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2016



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

Zadání diplomové práce

| | | |
|------------------------|--|----------------------------------|
| Číslo diplomové práce: | FCH-DIP0968/2015 | Akademický rok: 2015/2016 |
| Ústav: | Ústav chemie potravin a biotechnologií | |
| Student(ka): | Bc. Blanka Dostálová | |
| Studijní program: | Chemie a technologie potravin (N2901) | |
| Studijní obor: | Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010) | |
| Vedoucí práce | doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D. | |
| Konzultanti: | | |

Název diplomové práce:

Stanovení celkového obsahu bílkovin, polyfenolů a sacharidů v pivu

Zadání diplomové práce:

- 1) zpracování literární rešerše
- 2) analýza vzorků pív pomocí UV-VIS spektrometrie
- 3) statistické zpracování výsledků
- 4) formulace závěru práce

Termín odevzdání diplomové práce: 6.5.2016

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Blanka Dostálová
Student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá analýzami 65 různých piv se zaměřením na nalezení rozdílů mezi českými výčepními pivy, českými ležáky, českými speciálními pivy a zahraničními pivy. U českých piv byly porovnány výsledky analýz mezi skupinou piv nesoucí označení „České pivo“ a mezi skupinou piv bez tohoto označení. V pivech byl stanovován celkový obsah bílkovin, polyfenolů a sacharidů pomocí UV-VIS spektrometrie.

V literární rešerši byla popsána historie vaření piva, charakter a druhy českého piva a byl vysvětlen pojem chráněného zeměpisného označení „České pivo“. V další části rešerše byly vyjmenovány a popsány suroviny pro výrobu piva a technologie výroby piva. V poslední části rešerše byly specifikovány stanovované složky piva a byl popsán princip UV-VIS spektrometrie.

Stanovení celkového obsahu bílkovin bylo provedeno Hartree-Lowryho metodou, která je založena na dvousložkovém činidle. První složkou je činidlo biuretové, druhou složkou je Folin-Ciocalteu činidlo na fenoly. Stanovení polyfenolů bylo provedeno metodou s Folin-Ciocalteu činidlem a celkové sacharidy byly stanoveny spektrofotometricky dle Analyticy EBC s použitím anthronového činidla. Výsledky analýz byly statisticky zpracovány a v závěrečné části práce byly zhodnoceny.

ABSTRACT

This master's thesis deals with the analysis of 65 different beers, with a focus on finding differences between Czech tap ales, lagers Czech, Czech special beers and foreign beers. Czech beers were compared by the results of analysis among beers bearing the indication "Czech beer" and the group without this indication. The total amount of proteins, polyphenols and carbohydrates was determined using UV-VIS spectrometry.

The history of brewing, the nature and types of Czech beers and protected geographical indication "Czech beer" were described. Raw materials for beer production and brewing technology have been listed and described. In the last part of the research, components of beer and the principle of the UV-VIS spectrometry have been specified.

The determination of total protein was performed using Hartree-Lowry method, which is based on two-component reagent. The first component is the biuret agent, the second component is the Folin-Ciocalteu reagent for phenols. Determination of the polyphenols has been carried out by the Folin-Ciocalteu reagent and total carbohydrates were determined spectrophotometrically according to the Analytica EBC using anthron agent. The results were statistically processed and evaluated in the final part.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pivo, bílkoviny, polyfenoly, sacharidy.

KEY WORDS

Beer, proteins, polyphenols, carbohydrates.

DOSTÁLOVÁ, B. *Stanovení celkového obsahu bílkovin, polyfenolů a sacharidů v pivu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 64 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

DECLARATION

I declare that the diploma thesis has been worked out by myself and that all the quotations from the used literary sources are accurate and complete. The content of the diploma thesis is the property of the Faculty of Chemistry of Brno University of Technology and all commercial uses are allowed only if approved by both the supervisor and the dean of the Faculty of Chemistry, BUT.

.....
student's signature

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Pavlovi Divišovi, Ph.D. za cenné rady a pomoc při vypracování diplomové práce.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| ÚVOD | 7 |
| 1. TEORETICKÁ ČÁST | 8 |
| 1.1 Historie piva | 8 |
| 1.1.1 Historie vaření piva v Mezopotámii..... | 8 |
| 1.1.2 Historie vaření piva v Čechách..... | 8 |
| 1.2 Současné české pivo | 12 |
| 1.2.1 Kategorie piv..... | 12 |
| 1.3 Chráněné zeměpisné označení „České pivo“ | 15 |
| 1.4 Suroviny pro výrobu piva | 15 |
| 1.4.1 Slad..... | 16 |
| 1.4.2 Náhražky sladu..... | 17 |
| 1.4.3 Voda..... | 18 |
| 1.4.4 Chmel..... | 19 |
| 1.4.5 Chmelové výrobky..... | 20 |
| 1.4.6 Pivovarské kvasinky | 21 |
| 1.4.7 Pomocné suroviny | 22 |
| 1.5 Technologie výroby piva | 22 |
| 1.5.1 Výroba sladu | 22 |
| 1.5.1.1 Třídění ječmene..... | 22 |
| 1.5.1.2 Máčení ječmene | 22 |
| 1.5.1.3 Klíčení ječmene..... | 23 |
| 1.5.1.4 Hvozďení zeleného sladu | 23 |
| 1.5.1.5 Závěrečné úpravy a skladování sladu | 24 |
| 1.5.1.6 Druhy sladů..... | 25 |
| 1.5.2 Výroba piva..... | 26 |
| 1.5.2.1 Příprava mladiny | 26 |
| 1.5.2.2 Chmelovar..... | 28 |
| 1.5.2.3 Kvašení mladiny a dokvašování piva | 29 |
| 1.5.2.4 Sudování mladého piva..... | 30 |
| 1.5.2.5 Dokvašování a zrání (ležení) piva | 30 |
| 1.5.2.6 Filtrace piva | 31 |
| 1.5.2.7 Pasterace piva..... | 31 |
| 1.5.2.8 Stáčení piva..... | 31 |
| 1.5.3 Chemické složení piva | 32 |
| 1.5.3.1 Bílkoviny | 32 |
| 1.5.3.2 Polyfenoly..... | 33 |
| 1.5.3.3 Sacharidy | 34 |
| 1.5.4 Pivo a zdraví..... | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 1.6 Ultrafialová a viditelná spektrometrie | 36 |
| 1.6.1 Princip metody..... | 36 |
| 1.6.2 Základní vztahy | 36 |
| 1.6.2.1 Transmittance T..... | 36 |
| 1.6.2.2 Absorbance A..... | 37 |
| 1.6.2.3 Lambertův-Beerův zákon..... | 37 |
| 1.6.2.4 Kvantitativní analýza | 37 |
| 1.6.3. Spektrofotometry | 37 |
| 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST..... | 39 |
| 2.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky | 39 |
| 2.1.1 Chemikálie – stanovení celkového obsahu bílkovin | 39 |
| 2.1.2 Chemikálie – stanovení celkového obsahu polyfenolů | 39 |
| 2.1.3 Chemikálie – stanovení celkového obsahu sacharidů | 39 |
| 2.1.4 Použité přístroje a pomůcky | 39 |
| 2.2 Stanovení kvalitativních parametrů piva | 39 |
| 2.2.1 Úprava piva | 39 |
| 2.2.2 Stanovení celkových bílkovin Hartree-Lowryho metodou | 40 |
| 2.2.2.1 Princip | 40 |
| 2.2.2.2 Postup | 40 |
| 2.2.3 Stanovení celkových polyfenolů..... | 40 |
| 2.2.3.1 Princip | 40 |
| 2.2.3.2 Postup | 41 |
| 2.2.4 Stanovení celkových sacharidů..... | 41 |
| 2.2.4.1 Princip | 41 |
| 2.2.4.2 Postup | 41 |
| 2.2.5 Analyzované vzorky pív..... | 42 |
| 3. VÝSLEDKY A DISKUSE..... | 46 |
| 3.1 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu bílkovin | 48 |
| 3.2 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu sacharidů | 50 |
| 3.3 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu polyfenolů | 51 |
| 3.4 Interpretace Tukey (HSD) testů..... | 52 |
| 3.5 Srovnání celkového obsahu sacharidů u skupiny pív používající označení „České pivo“ s pivy, která toto označení nepoužívají | 55 |
| 4. ZÁVĚR | 57 |
| 5. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ | 59 |
| 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ | 63 |
| 7. PŘÍLOHY..... | 64 |

ÚVOD

Výroba piva je tak stará jako dějiny civilizovaného lidstva. Jedná se o slabě alkoholický nápoj, který však v rozumné míře požívání napomáhá udržování lidského zdraví po fyzické i duševní stránce. Vyrábí se kvašením cukernatého chmeleného roztoku, cukr nutný pro kvašení se získává ze škrobnatých surovin. Jako zdroj škrobu se u nás zpravidla používá sladovaný ječmen, dříve se sladovala i pšenice. Pivo je nejprodávanější alkoholický nápoj na světě. Česká republika má světový primát v množství vypitého piva na hlavu za rok (143 litrů za rok 2015).

Kombinace složek umožňuje vznik fyziologicky vyrovnaného roztoku. Zdrojem energetické hodnoty piva jsou především sacharidy a alkohol. Pivo obsahuje více než 30 minerálních a stopových prvků, které pocházejí většinou ze sladu a vody. Kromě draslíku, sodíku a chloridů jsou zde ve fyziologicky využitelném stavu také vápník, fosfor, hořčík a křemík, prvek nezbytný pro růst kostí a zdravou strukturu pokožky. Pivo obsahuje řadu vitamínů, z nichž největší podíl mají vitamíny skupiny B – pyridoxin, thiamin, riboflavin, niacin a kyselina listová. Vitamíny skupiny B jsou důležité pro řadu metabolických procesů (metabolismus sacharidů, lipidů, aminokyselin) a pro správné fungování nervového systému. Polyfenoly obsažené v pivu mají antioxidační účinky a mohou chránit před škodlivým působením volných radikálů, které mají podíl na rozvoji kardiovaskulárních onemocnění a nádorového bujení. Mezi polyfenoly a fenolické látky pocházející ze sladu patří katechin, epikatechin a xanthohumol, který má antikarcinogenní účinky. Hořké chmelové látky podporují sekreci žluče a trávicích šťáv, které pozitivně ovlivňují trávení.

Pivo je možné vnímat nejen jako nápoj vhodný k utišení žízně, ale též jako nápoj, který má nutriční hodnoty s vhodně vyváženým obsahem iontů, minerálních látek, vitamínů a polyfenolů. Příznivé účinky piva na lidský organismus se mohou projevit pouze při jeho střídme konzumaci. Při konzumaci vyšších dávek alkoholu hrozí riziko poškození jater nebo nervového systému a také možný vznik závislosti.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Historie piva

1.1.1 Historie vaření piva v Mezopotámii

Kvašené nápoje pilo lidstvo od nepaměti. Mezopotámie byla v období kolem 6000 let před Kristem osídlena nejstarší lidskou civilizací, Sumery, kteří objevili (pravděpodobně náhodou) výrobu piva. V pekárně vyrobený chléb se rozdrobil do vody, s přidavkem ječného nebo pšeničného sladu nebo nesladovaného ječmene popř. pšenice. Vzniklá kaše se nechala kvasit a po nějaké době se toto „pivo“ vypilo. Někdy se pivo vyrábělo ještě s přísadou zelené hořčice nebo jiných rostlin. Protože chmel nebyl ještě tehdy znám, mohla se hořká chuť piva docílit pražením sladu v popelu. V sumerštině se pivo nazývalo „kaš“ [1].

1.1.2 Historie vaření piva v Čechách

Vaření piva na našem území až do konce devátého století byla zcela běžná domácí práce, kterou mohl vykonávat kdokoliv, kdo měl potřebné suroviny a znalosti. Vaření piva bylo v tehdejší době výlučně ženskou prací. Mělo význam sytící, protože nesloužilo jenom jako nápoj, ale připravovaly se z něj různé pokrmy jako polévky, kaše a omáčky. První zpráva o přípravě piva u nás se váže k Břevnovskému klášteru. Nejstarším písemným dokladem, ve kterém je přímo zmíněno pivovarství na území Čech, je Nadační listina kolegiátní kapituly při kostele svatého Petra a Pavla na Vyšehradě z roku 1088. V této listině je výslovně jmenován pivovar v lokalitě přímo pod Vyšehradem, sládcí a výše daní (desátek), které musejí odvádět z piva vyrobeného z ječmene a pšenice. V roce 1091 byla králem Vratislavem II. vydaná další listina, ve které se ukládá poddaným vyšehradské kapituly platit desátek z pěstování chmele [1,3].



Obr. 1: Břevnovský klášter

Rozvoj pivovarství vedle stávajících klášterních a církevních pivovarů na našem území je spojen s dobou zakládání královských měst, zejména ve dvanáctém a třináctém století. Pro zajištění loajality obyvatel těchto nových měst mělo sloužit i nové privilegium vaření piva, takzvané „**právo várečné**“, které dostali pouze ti, kteří měli uvnitř města svůj dům, tedy měšťané královského města. Právováreční měšťané si mohli ve svém domě vyrábět slad i pivo, skladovat jej i šenkovat [1].

Mezi nejstarší královská města, kde začalo pivovarství, patří Svitavy, Žatec, České Budějovice a Plzeň. K výsadám nově založených královských měst patřilo tzv. „hájemství“ neboli „**mílové právo**“, podle kterého se od hradeb města na vzdálenost jedné míle nesměl vyrábět slad ani vařit nebo čepovat žádné cizí pivo. Porušení tohoto práva se trestalo tvrdě, měšťan přišel o všechna práva měšťana ve svém městě, dostal citelnou pokutu a pivo mu bylo zabaveno [1].

Za vlády krále Ludvíka Jagellonského v roce 1517 zvítězila šlechta nad měšťany takzvanou Svatováclavskou smlouvou, podle které šlechta směla vařit svoje pivo, ale nesměla jej o výročních trzích přivážet do měst k prodeji. Aby bylo zabráněno dalšímu pro stávající pivovarníky nežádoucímu jevu, tj. rozšiřování pivovarů, bylo zavedeno takzvané „**propinační právo**“, které zůstalo podle Svatováclavské smlouvy vyhrazeno pouze třem stavům: panskému, městskému a duchovnímu. Tehdejšího propinačního práva v 16. století využila zejména šlechta budováním panských pivovarů a její poddaní si museli kupovat pouze pivo od „své“ vrchnosti. Zrušením „mílového práva“ a dvorským dekretem byl v roce 1788 povolen dovoz piva do měst odkudkoliv. Tento dekret měl neblahý dopad na řadu měšťanských pivovarů [1].

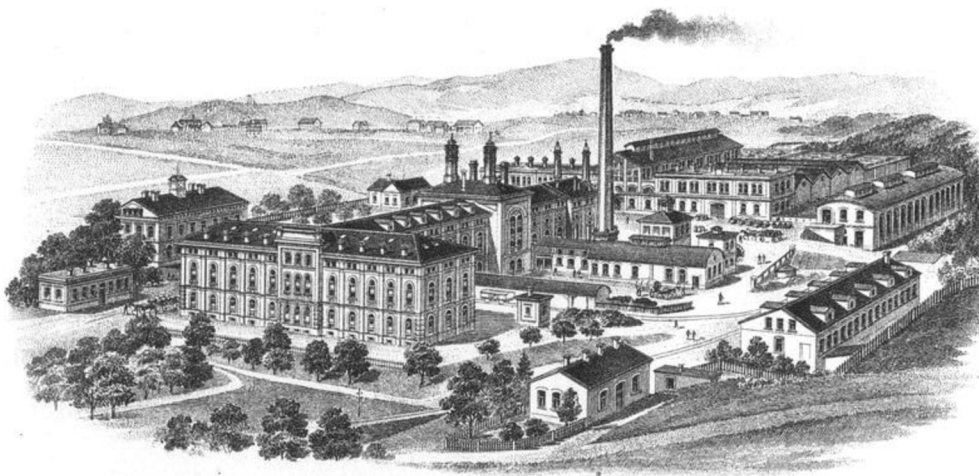
Do konce první poloviny 19. století na našem území převládala výroba svrchně kvašených piv z pšeničného sladu, která se nazývala bílá nebo masitá a vařila se po celý rok. Byla připravována i piva z ječného sladu spodně kvašená, tzv. marcovní (neboli březňáky), připravovaná v chladných obdobích roku. V českých zemích se spodně kvašená piva vyráběla hlavně v zimě, kdy byl dostatek ledu, nutného pro chlazení během kvašení a hlavně ležení. Dále se vyráběla různá místní speciální piva nazývaná salvátor, samec, kozel, ale i nekvalitní piva z odpadů, která dostávala pivovarská chasa a tzv. medicínská piva ochucovaná různými bylinami, kterým se připisovaly léčivé účinky (v 18. století u nás vymizela). Pro speciální piva se používal i oves. Díky reformátorovi českého pivovarství Františku Ondřeji Poupěti (1753-1805), který razil zásadu „pšenice na koláče, oves koňům a ječmen na pivo“, se od konce 18. století v Českém království připravoval slad hlavně z ječmene, snižovala se výroba pšeničných sladů a současně i výroba svrchně kvašených piv a rostla výroba spodně kvašených ležáků. Důvodem k tomu byla vyšší kvalita piva, protože bylo studené, mělo větší obsah rozpuštěného oxidu uhličitého a tím lepší říz a větší trvanlivost [1,3,7].

Velkým mezníkem pro české i světové pivovarství bylo založení Měšťanského pivovaru v Plzni (dnešního Prazdroje) roku 1839. Z Měšťanského pivovaru v Plzni byl zaveden bavorským sládkem Grollem nový typ kvalitního světlého piva, vyrobeného spodním kvašením se zvýšeným dávkování chmelu a neprokvašením celého podílu extraktu [1].



Obr. 2: Měšťanský pivovar v Plzni

Druhá polovina 19. století znamenala dynamický rozvoj českého pivovarství. Na jedné straně se uzavíraly staré nemoderní závody, ale na druhé straně byly stavěny na tehdejší dobu moderní průmyslové pivovary. Tím docházelo k nárůstu průměrné kapacity pivovarů. Nejnovějším strojním zařízením vybavené pivovary si začaly rychle zajišťovat odbyt svého piva, vznikla takzvaná „hektolitrová“ horečka, pivovary začaly snižovat cenu svého piva hostinským a přidávaly jim finanční prostředky na nákup ledu a výčepního zařízení. Byla založena řada na svoji dobu velmi dobře technicky zařízených pivovarů: Akcionářský pivovar v Praze (1869, dnešní Staropramen), První akciový pivovar v Plzni (1869, Gambrinus), pivovar ve Vratislavicích (1872), pivovar v Brně (1872), pivovar ve Velkých Popovicích (1874), Společenský pivovar Prior (1894), První pražský měšťanský pivovar v Praze-Holešovicích (1895), Společenský pivovar pražských sládků a hostinských v Braníku (1898) a Český akciový pivovar Světovar (1910). Pivo se vyváželo do celého světa [1].



Obr. 3: Pivovar ve Vratislavicích

Přechod na výrobu piva spodním kvašením si vyžádal vlastní výrobu kvasnic. První pivovar, který si nechal postavit zařízení od firmy Jensen (Dánsko) na pomnožování kvasnic, tzv. propagační stanici, byl schwarzenberský pivovar Protivín v roce 1895 [1].

Pro výrobu spodně kvašených piv bylo nutné zajistit dostatečné množství ledu, aby jej i v horkém období byl dostatek pro chlazení horké mladiny, pro spilku a ležácký sklep. Pro tento proces se používal přírodní led. Jeho těžení ze zmrzlé vodní hladiny, takzvané „ledování“, bylo vítanou příležitostí zejména pro sezónní pracovníky, kteří řezali ledovou vrstvu dlouhou pilou a nařezané kry háky vytahovali na saně nebo na povozy. Přírodní led se v pivovaru skladoval roztlučený na malé kousky v takzvaných lednicích, izolovaných prostorách přilehlých k ležáckému sklepu, kde měla být teplota piva co nejnižší, přibližně kolem bodu mrazu. Konec ledaření udělal vynález Karla von Lindeho – strojní chlazení [1].

Katastrofu českému pivovarství přinesla druhá světová válka. Za 2. světové války byl provoz v řadě sladoven a pivovarů zastaven vzhledem k nedostatku surovin a energie, mnohé byly poškozeny nevhodným využíváním a bombardováním. Byly uzavřeny vysoké i odborné školy, čímž se na pět let přerušila kontinuita výchovy a vzdělávání pivovarských odborníků [3].

Po 2. světové válce řada uzavřených pivovarů již neobnovila svoji činnost. Pivovarský a sladařský průmysl byl postupně v celé Československé republice zestátněn a centrálně řízen. Po válce byly na území České republiky postaveny pouze dva pivovary: Radegast a Most [3].



Obr. 4: Pivovar Radegast v Nošovicích



Obr. 5: Pivovar v Mostu

Po sametové revoluci v roce 1989 nastala privatizace pivovarů, mnohé zanikly, do některých vstoupil zahraniční kapitál. Sladovny a pivovary, které překonaly prvotní potíže a účelně investovaly vydělané prostředky, velmi rychle dohonily úroveň modernizace, které bylo zatím dosaženo v předních zahraničních pivovarských koncernech. Výborná kvalita českých piv vedla u zahraničních výrobců ke snaze o jejich napodobení, ale i zneužívání značek našich piv. Značka Pilsner Urquell, kterou registroval Měšťanský pivovar v Plzni (Prazdroj), nebyla nikdy zneužita či zpochybňována. Daleko složitější a vleklé jsou spory s americkým koncernem o značku Budweiser [3].

1.2 Současné české pivo

Historický vývoj českého pivovarství, kvalita českých surovin, pracovitost a odbornost českých sládků měly za následek, že chuť českého piva je odlišná než v zahraničí. Piva nejlepší světové pověsti jsou česká světlá piva. Na prvním místě se uvádí pivo plzeňské, dále smíchovské a českobudějovické pivo [2,5].

Pivo českého typu se vyznačuje na rozdíl od běžných zahraničních ležáků přítomností neprokvašeného extraktu (tzn. česká piva se konzumují ve stadiu dokvašování), vyšší hořkostí a barvou, vyšším obsahem polyfenolů a hodnotami pH. Naprostá většina českých piv obsahuje neprokvašený extrakt v rozmezí asi 3 - 12 %. Vyšší barva a vyšší obsah polyfenolů jsou důsledkem použití technologického postupu ve varně (tzv. dvourmutového dekokčního postupu), který se v českých pivovarech na rozdíl od zahraničí nejvíce používá. Po technologické stránce má dominantní vliv složení sypání a míra chmelení a jejich sladění s výběrem kvasničného kmene a použitým způsobem kvašení. Neuvážená intenzifikace by mohla s sebou přinést změnu charakteru českého piva, které by se svým složením přiblížilo pivům zahraničním a ztratilo tak svůj výlučný charakter [17,19].

České pivo je proti světlu čiré až jiskrné, pěna na dobře natočeném českém pivu je minimálně 30 milimetrů vysoká a vydrží nejméně 3 minuty, než začne opadat. Čepované (i lahvové) pivo musí mít v létě teplotu přesně 7 °C. V zimě se teplota piva musí pohybovat v rozmezí od 9 do 10 °C [4].

Podle soustavy SI je pojem „stupeň“ vyhrazen obloukové míře, proto se muselo upustit od tradičního používání označení druhů piva. Například desetistupňové nebo dvanáctistupňové pivo znamenalo procento zkvasitelného extraktu v mladině před jejím kvašením. Nově se používá termín „**extrakt v původní mladině**“ (EPM), což je číselně stejné označení, tedy 12 EPM je naše stará „dvanáctka“ [1].

1.2.1 Kategorie piv

- lehká piva, s extraktem v původní mladině do 7,99 %,
- výčepní piva, extrakt v původní mladině v rozsahu 8,00 % až 10,99 %,
- ležáky, extrakt v původní mladině v rozsahu 11,00 % až 12,99 %,
- speciální piva, extrakt v původní mladině v rozsahu nad 13,00 %.

Další kategorie piv, určených pro některou část obyvatelstva, např. řidiče, diabetiky:

- pivo se sníženým obsahem alkoholu do 1,2 % obj., nesmí být konzumováno před řízením vozidla,
- pivo nealkoholické, s obsahem alkoholu do 0,5 % obj., u tohoto piva se předpokládá, že řidič vypije pouze jedno takové pivo,
- pivo se sníženým obsahem cukru (dříve se označovalo jako „dia“ pivo) je určeno pro diabetiky,
- pivo kvasnicové, jedná se o pivo, které bylo filtrované, a do něj se následně přidala část ušlechtilých kvasinek,
- pivo nefiltrované, jedná se o pivo z ležáckého tanku, které nebylo ani pasterované, ani filtrované,
- pivo bylinné, jedná se o pivo vyrobené s přísadou bylinek nebo dřevin, popř. jejich extraktu,
- pivo pšeničné, které obsahuje více než jednu třetinu extraktu z pšeničného sladu.

Dříve, zejména ve středověku, se vařilo ještě tzv. pivo medicínální, u něhož se předpokládaly léčivé účinky (jalovcové, vavřínové, fenyklové rozmarýnové, levandulové, šalvějové, pelyňkové, bedrníkové, višňové) [1].



Obr. 6: Radegast Ryze hořká 12° světlý ležák, Starobrno ležák světlé pivo, 5,0% obj. alkoholu, Staropramen pivo ležák světlý 12°, Pilsner Urquell 12° pivo světlý ležák, Pivo Budweiser Budvar světlý ležák a Gambrinus Premium pivo světlý ležák



Obr. 7: Holba Šerák 13,51% světlé speciální pivo, Perštejn 14% Taxis speciální pivo, Jubiler 16,80° světlé speciální pivo, Master Zlatý 15° speciální pivo, Ostravar strong 14°, Starobrno Reserva 18% pivní speciál



Obr. 8: Birell nealkoholické pivo, Dianello pivo se sníženým obsahem cukru (dia), Bernard 10° kvasnicové pivo, pšeničné nefiltrované pivo Fénix, Ferdinand Sedm kulí polotmavý ležák 13° s příchutí bylin

Český milovník piva je velmi konzervativní. České pivovary vyrábějí především výčepní piva, ležáky a speciální piva. Ty posledně jmenované pro ně představují jen zlomek produkce. Jedinou výjimkou je Pivovar u Fleků, kde se vaří 13% tmavý ležák. Malé a nejmenší pivovary vyrábějí procentně více speciálů než velké pivovary, pro které je ze speciálů nejzajímavější nealkoholické pivo, dia pivo, případně lehké pivo [5].

Pro mladou generaci, která má ráda energetické nealkoholické nápoje, by mohlo být zajímavé např. pivo typu Radler, směs piva a ovocného nápoje, která má příjemnou a osvěžující chuť [5].



Obr. 9: Ovocná piva typu Radler

1.3 Chráněné zeměpisné označení „České pivo“.

„České pivo“ je od října 2008 oficiálním chráněným zeměpisným označením zapsaným u Evropské komise. Zejména velké pivovarské skupiny vaří pivo také licenčně v zahraničí. Mezi podmínkami pro užívání značky je však mimo jiné výroba piva v českých zemích, tudíž licenčně vyráběné pivo tak označeno být nemůže [6].

Podle pivovarského svazu je označení láhve logem „České pivo“ pro spotřebitele garancí kvality. Chráněné označení „České pivo“ používají plzeňské pivovary Prazdroj i Gambrinus, Pivovar Černá Hora či Rodinný pivovar Bernard [6].



Obr. 10: Logo Chráněné zeměpisné označení

1.4 Suroviny pro výrobu piva

Pivo je slabě alkoholický nápoj vyráběný z obilného sladu, vody a chmele. Z uvedených tří základních složek se pivo vyrábí působením mikroorganismů pivovarských kvasinek [8].

1.4.1 Slad

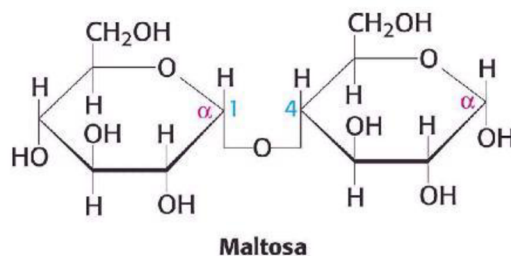
Ječmen patří mezi nejstarší kulturní rostliny. Pro pěstování ječmene jsou vynikající podmínky v České republice zejména v oblasti Hané a v povodí velkých řek, jako jsou Labe, Dyje a Morava. **Ječmen setý** (*Hordeum vulgare* L.) je stěžejní sladařskou surovinou [7].



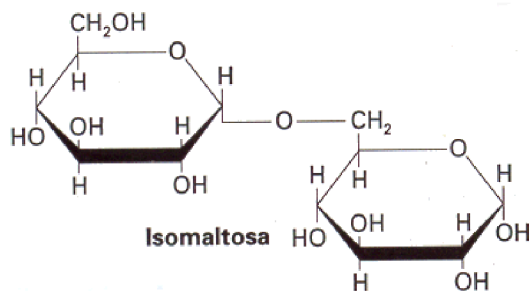
Obr. 11: Ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.)

Nejdůležitější při příjmu ječmene ve sladovně jsou hodnoty obsahu vody, bílkovin, klíčivost, třída ječmene, resp. výsledky třídění, dále aby dodaná partie nebyla napadena škůdci a tvořila ji jedna odrůda ječmene. Je zapotřebí, aby dodávaný ječmen pro výrobu sladu splňoval podmínky zdravotní nezávadnosti a hygieny, nebyl napaden plísnovou kontaminací a neobsahoval nepovolená množství sekundárních metabolitů těchto mikroorganismů, stejně jako zdravotně závadných látek, např. typu chlorovaných derivátů či toxických kovů [7].

Škrob je základní organickou polysacharidivou sloučeninou ječmene. Skládá se z molekuly amylosy (20 – 25 %) a amylopektinu (75 – 80 %). Škrob má v ječmeni funkci rezervního polysacharidu a zásobárny živin pro klíček v době jeho vývinu. Základní disacharidy jsou maltosa a isomaltosa. Nacházejí se v endospermu ve škrobových zrnech, jejichž stěny tvoří neškrobové polysacharidy a proteiny, které jsou během sladování degradovány, a tím je škrob zpřístupněn pro působení komplexu amylytických enzymů, ke kterému dochází v průběhu rmutování při přípravě mladiny [7].



Obr. 12: Maltosa



Obr. 13: Isomaltosa

1.4.2 Náhražky sladu

Pivovary používají vyšší podíly náhražek, aby se snížila cena piva, zlepšila se jeho koloidní stabilita vzhledem k většinou nižší hladině dusíkatých látek v použitých náhražkách a vyrobila se lehčí a světlejší piva. Podle způsobu zpracování se náhražky mohou dělit na **nepřímo zpracovatelné (škrobnaté)** a **přímo zpracovatelné (cukernaté)**. Podle konzistence jsou náhražky sladu pevné nebo kapalné. Ke škrobnatým náhražkám pevné konzistence patří přípravky upravených obilovin jako šrot, vločky, mikrotizované a extrudované výrobky [9].

Rozlišují se tři typy škrobnatých náhražek: nesladované obiloviny, škrobnaté výluhy, sirupy a koncentráty, speciální sladové náhražky [9].

Jako **nesladované obiloviny** se používají ječmen, kukuřice, rýže, pšenice, čirok technický, proso, žito a oves [9].

Škrobnaté výluhy, sirupy a koncentráty se vyrábějí ze škrobnatých surovin, které se během přípravy hydrolyzují na nižší sacharidy, nebo zůstává obsah škrobu zachován. Hydrolyza se provádí enzymaticky, chemická hydrolyza není vhodná vzhledem ke vzniku vedlejších nežádoucích produktů. Zpracovávají se obilné škroby, bramborový škrob se v pivovarství nepoužívá vzhledem k vysoké ceně [9].

Do skupiny **speciálních náhražek** patří naklíčený ječmen a zelený slad [9].



Obr. 14: Ječmen, kukuřice a rýže



Obr. 15: Proso, pšenice a čirok



Obr. 16: Žito, oves a naklíčený ječmen

Zpracování cukernatých náhražek je snadnější než zpracování škrobnatých náhražek. **Cukernaté náhražky** se používají v krystalickém i v tekutém stavu. Mezi cukernaté náhražky patří krystalový cukr, surový cukr, invertní cukr a škrobový cukr [9].



Obr. 17: Krystalový cukr a surový cukr

1.4.3 Voda

Voda se v pivovarství dělí podle účelu použití [9].

Máčecí voda se potřebuje ve sladovnách pro máčení ječmene, voda musí být čistá a teplotou odpovídat způsobu máčení [7].

Varní voda se používá pro přípravu piva jako jedna ze základních surovin. Svými vlastnostmi musí splňovat požadavky na vodu pitnou [9].

Mycí a sterilační voda musí být prostá mikroorganismů, chemických kontaminantů a nesmí zapáchat. Vodu pro výplachy a sterilaci se doporučuje chlorovat [9].

Provozní voda musí odpovídat standardům pro jednotlivé operace a zařízení [9].

Při výrobě piva hraje hodnota obsahu rozpuštěných solí významnou roli v technologickém, především varném postupu, a proto jsou nároky na maximální tvrdost vody limitované. Kromě toho tzv. tvrdost vody (obsah vápenatých a hořečnatých solí) je i charakteristickým znakem pro výrobu určitých druhů piv. Pro typ českého piva jsou vhodné měkké až středně tvrdé vody [7,8].

Tabulka č. 1: Rozdělení vod podle tzv. celkové tvrdosti

| Druh vody | mmol l ⁻¹ |
|---------------|----------------------|
| měkká | do 1,3 |
| středně tvrdá | 1,3-2,5 |
| tvrdá | 2,5-3,8 |
| velmi tvrdá | nad 3,8 |

1.4.4 Chmel

Chmel je nezastupitelnou surovinou dávající pivu typickou hořkost a aroma odlišující je od jiných alkoholických i nealkoholických nápojů. Technologicky nejdůležitějšími složkami chmelových hlávek jsou hořké látky, neboli chmelové pryskyřice, které dávají pivu vlivem zpracování ve varně pivovaru hořkou chuť, dále jsou to silice zajišťující charakteristické aroma a polyfenolové sloučeniny pozitivně ovlivňující plnost chuti piva [8,9].

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus*) je dvoudomá víceletá konopovitá pravotočivá rostlina. V Čechách a na Moravě se začala pěstovat výhradně odrůda poloraný červeňák, jejíž rostliny jsou načervenalé zbarveny. Dlouholetou historii má i známkování chmele, které mělo za cíl chránit kvalitní odrůdy chmele před falšováním a znehodnocováním [9].

Vypěstované odrůdy chmele se rozdělují podle zabarvení chmelové révy na červeňáky a zeleňáky. Typickými představiteli červeňáků jsou odrůdy pěstované v Evropě v Čechách, Německu, Polsku a Slovinsku, k zeleňákům patří odrůdy převážně pěstované v Anglii a v zámoří (v USA a v Austrálii) [9].

Podle délky vegetační doby zrání se odrůdy chmele rozdělují na rané, polorané a pozdní [9]. Podle obsahu chmelových pryskyřic a chmelového aroma (nejdůležitější znaky z obchodního hlediska) se chmelové odrůdy rozdělují na jemné aromatické chmele, vesměs s nižším obsahem chmelových pryskyřic (především α -hořkých kyselin) a s příjemným aroma a na vysokoobsažné hořké chmele vyznačující se vysokým obsahem chmelových pryskyřic a obvykle méně příznivým hrubým aroma. Žatecký poloraný červeňák patří do skupiny jemných aromatických odrůd [9].

Kolem roku 1960 došlo celosvětově k podstatným změnám v požadavcích pivovarského průmyslu na vlastnosti suroviny používané k chmelení piva. Hlávkový chmel se postupně z větší části až úplně začal nahrazovat mletým nebo granulovaným chmelem či chmelovými extrakty [9].

ČR patří mezi největší producenty chmele na světě, zaujímá s 9,5% podílem třetí místo po Německu a USA. Přes 80 % produkce tuzemského chmele je určeno na export [35]. V roce 2012 byl po uplynutí přechodného období sklizen a certifikován první český biochmel. Prvními pěstiteli se stali Zemědělské družstvo Podlesí Ročov, soukromě hospodařící rolník

Václav David (chmelařská oblast Žatecko) a JVR, spol s r. o. (chmelařská oblast Tršicko), kteří sklídili naši tradiční odrůdu – Žatecký poloraný červeňák [35].



Obr. 18: Žatecký poloraný červeňák



Obr. 19: Etiketa pro doložení původu žateckého chmele

1.4.5 Chmelové výrobky

Nízký obsah a využití pivovarsky cenných látek při chmelení sladiny hlávkovým chmelem, jeho nízká chemická stabilita, nehomogenita suroviny, přítomnost dusičnanů, reziduí postřikových látek a obtížná manipulace při balení žoků i jejich skladování vedly v polovině 20. století k dynamickému vývoji a praktickému využití různých chmelových přípravků, které uvedené nedostatky hlávkového chmele snižují. Chmelové přípravky jsou koncentráty hořkých látek, proto je manipulace s nimi jednodušší [9].

Chmelové přípravky vyrobené mechanickou úpravou hlávkového chmele (mletý práškový nebo drcený chmel a různé typy chmelových pelet) se často používají v kombinaci s chmelovými extrakty [9].

Chmelové přípravky vyrobené extrakcí hořkých látek z hlávkového rozemletého chmele dichlormethanem, hexanem, trichlorethylenem nebo methanolem. Z ekologického a hygienického hlediska se dnes používají k extrakci chmele pouze ethanol a oxid uhličitý. Typickým znakem extraktů je velmi nízký převod polárních složek, proto v nich nejsou přítomné dusičnany [9].

Chmelové přípravky vyrobené chemickými úpravami, čímž se vyvolají izomerace α -hořkých i β -hořkých kyselin. Tyto přípravky nevykazují bakteriostatický účinek a obvykle piva s nimi upravená inklinují k přepěňování [9].

Acetylací floroglucinolu byly připraveny **syntetické chmelové preparáty** (syntetické iso- α -hořké látky se strukturou podobnou struktuře hořkých látek chmele). V praxi se tyto

syntetické přípravky neuplatnily, protože jsou drahé a s nimi vyrobená piva vykazovala senzorické odchylky v porovnání s chmelením hlávkovým chmelem a běžnými chmelovými přípravky [9].

V porovnání s klasickým lisovaným hlávkovým chmelem mají chmelové výrobky řadu předností: snížení požadavků na skladovací prostory v závislosti na druhu chmelového přípravku, prodloužení stability chemického složení a tím zvýšení pivovarské hodnoty, snadnější manipulace a možnost automatického dávkování, vyšší přechod hořkých látek do mladiny při chmelovaru, snížení ztrát, možnost odděleného dávkování frakcí chmelových pryskyřic a silic, menší odpad, snížení objemu a znečištění odpadních vod [9].



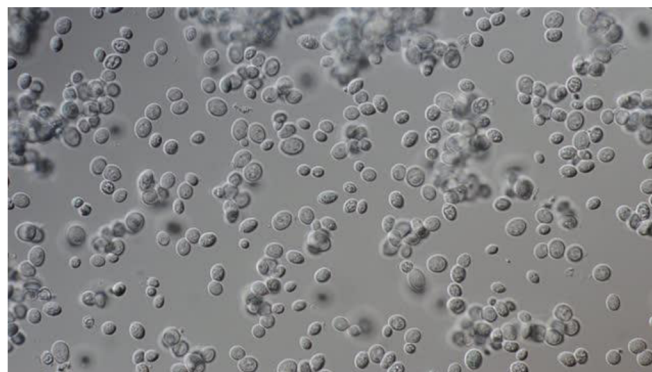
Obr. 19: Chmelové pelety

1.4.6 Pivovarské kvasinky

Průmyslová i domácí výroba piva se opírá o cílené využívání kvasinek, převážně druhu *Saccharomyces cerevisiae* [9].

Spodní pivovarské kvasinky se používají při výrobě piva typu ležáků v teplotním rozmezí 7 až 15 °C se sedimentací kvasnic na dně kvasné nádoby [9].

Svrchní pivovarské kvasinky se používají při výrobě piv s teplotním rozmezím 18 až 22 °C, často s vynášením kvasnic do kvasničné deky [9].



Obr. 20: Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*

1.4.7 Pomocné suroviny

Průmyslově vyráběné enzymové přípravky (α -amylasa, amyloglukosidasa, β -glukanasa) se používají pro úspěšné zpracování vyšších podílů škrobnatých náhražek sladu, ke zlepšení podmínek filtrace, ke zvýšení fyzikálně-chemické stability piva, ale i při výrobě piv se sníženým obsahem sacharidů [9].

Barvicí prostředky se používají k dobarvování tmavých piv, ale i světlých piv připravených s vyšší surogací sacharózou. Pivní kulér se vyrábí zahříváním sacharidů na karamelizační teplotu, obvykle za přídavku alkálií: sody, hydroxidu sodného, amoniaku, uhličitanu amonného nebo karbamidu a sladové barvivo, které se vyrábí z praženého sladu [9].

Pěnovost piva lze snížit s použitím **silikonových preparátů** či zvýšit s použitím **alginátů**, např. propylenglykolalginátu [9].

1.5 Technologie výroby piva

1.5.1 Výroba sladu



Obr. 21: Schéma výroby sladu

1.5.1.1 Třídění ječmene

Ječmen musí být před uskladněním na půdách nebo v sílech zbaven nečistot a přímísenin jako jsou kaménky, písek, kovové částice, cizí zrna, pluchy, úlomky zrn, slámy, klasů a dřeva, tzn. musí být odstraněno vše, co nejsou celá ječná zrna. Ječmen musí být roztříděn podle velikosti zrn [7].

1.5.1.2 Máčení ječmene

Při máčení ječná zrna přijímají vodu. Zrno máčeného ječmene musí vykazovat čistou vůni. Narušená a mrtvá zrna produkují nežádoucí pachy. K uchování latentní formy života ječmene je zapotřebí, aby zrno obsahovalo nejméně 8 - 10 % vody (tzv. konstituční voda).

Pro schopnost klíčení je třeba zrna dodat tzv. vegetační vodu, a to minimálně zvýšit její obsah na 30 %, kdy se zvyšují životní pochody v zrna. Při hodnotě 35 - 38 % vody je fyziologicky vyzrálý ječmen schopen nejrychlejšího naklíčení. Rychlost přijímání vody ječným zrnem je závislá na teplotě vody, velikosti a struktuře zrna. Běžné teploty tradičního máčení se pohybují v rozmezí 10 až 12 °C [7].

1.5.1.3 Klíčení ječmene

Při klíčení se mění vnější vzhled i vnitřní struktura a složení zrna. K optimálnímu klíčení potřebuje zrno dostatečné množství vody, pro světlé slady do 35 - 44 %, pro slady tmavé do 45 - 48 %, přiměřenou teplotu, dostatečný přísun kyslíku a potřebnou dobu. Sladování na humnech je nejstarší postup klíčení. Postupně bylo nahrazováno pneumatickými sladovadly [7].

Potřebnou energii získává zrno dýcháním, kdy „spalovaným“ materiálem jsou sacharidy. Nedostatek kyslíku již při máčení a následně i při klíčení způsobuje zvýšení hladiny ethanolu a zhoršení poměru kyslíku k ethanolu (nemá překročit hodnotu $CO_2/O_2 = 1$). Vyšší hodnota poměru se projeví zpomalením klíčení. Naopak nadbytek kyslíku zvyšuje ztráty prodýcháním [7].

Stadia klíčení ječmene světlého a tmavého sladu:

Mokrý hromada je nastřený ječmen do sladovadla.

Suchá hromada (oschlá hromada) je stadium, kdy se voda zachycená na povrchu zrna vsákne nebo vypaří. Na bazální části se objevují první očka – špičky kořínků – hromada špičkuje nebo prejtuje.

Pukavka je fáze klíčení, kdy zrno potřebuje výrazný přísun vzduchu, zrno silně dýchá, hromada se výrazně potí, musí se častěji předělávat a má vůni okurek. Na konci tohoto stadia vyrůstá druhý kořínek, tj. hromada vidličkuje a přechází do stadia mladé hromady – mladíka.

Stadium mladíka je nejdůležitější část klíčení. Je to období začínajících enzymových přeměn zrna a vytváření proteolytického a cytolytického rozluštění zrna.

Stadium vyrovnané hromady je charakteristické vyrovnanou délkou kořínků, dýchání se zpomaluje a zrno se dološťuje.

Stárnutí hromady je období, ve kterém při klíčení postupně zavadají kořínky, dýchání je silně omezeno, střelka dorostla do 2/3 zrna. V tomto stadiu již se slad nedokrápí.

Stará zavadlá hromada je konečné stadium klíčení ječmene při výrobě světlého sladu, při kterém se získá tzv. **zelený slad**, který se přemístí na sušení do hvozdu.

Při výrobě **tmavého bavorského sladu** má ječmen vyšší stupeň domočení (48 - 50 %) a používají se vyšší teploty klíčení za účelem zajištění vyššího rozluštění [7].

1.5.1.4 Hvozdění zeleného sladu

Cílem hvozdění je snížit z důvodu skladovatelnosti obsah vody na hodnoty 3 - 4 % u světlých sladů a 1,5 - 2 % u tmavých sladů, zastavit vegetační procesy, redukovat část enzymových aktivit a vytvořit chuťové, barevné a oxidačně-redukční látky v míře odpovídající typu sladu [7].

Hvozdění zeleného sladu je realizováno na tzv. hvozdu, kde vrstvou zeleného sladu prochází vzduch s příslušnou teplotou pro danou fázi sušení. Hvozdění ale není jen sušení

sladu. Od pouhého sušení se liší dlouhou počáteční fází, při které se používá nadbytek poměrně chladného vzduchu, a v této počáteční fázi ještě dobíhají fyziologické a biochemické procesy v zeleném sladu. V druhé fázi se pak pomocí slabšího proudu teplého vzduchu ve sladu tvoří sensoricky aktivní a oxido-redukční látky typů melanoidinů z Maillardovy reakce a z karamelizace cukernatých sloučenin [7].

Po hvozdění se mění charakter endospermu. Pokud je slad dobře rozluštěn, pak je zrno křehké [7].

1.5.1.5 Závěrečné úpravy a skladování sladu

Ochlazení sladu

Slad po ukončení sušení a hvozdění má vysokou teplotu až 80 °C. Musí se co nejrychleji ochladit, aby nepokračovala inaktivace enzymů a zvyšování barvy sladu. V odkličovacím zařízení se následně teplota sníží na přibližně 35 °C a v závěru úprav na 20 - 25 °C. Slad se chladí vzduchem [7].

Odkličování sladu

Odklíčení (oddělení sladového květu od sladu) je nutné, protože klíčky jsou hydroskopické, rychle vlhnou a slad by byl obtížně skladovatelný a hlavně by přítomnost klíčků zhoršovala analytické i sensorické vlastnosti sladu a následně i piva. Odkličování sladu je nutné provádět co nejdříve po odhvozdění sladu, protože zvlhlé kořínky se od sladu špatně oddělují. Pro odkličování se používají bubnová lištová či perut'ová, šneková a pneumatická odkličovadla [7].

Čištění a leštění sladu (tzv. polírování)

Slad se před expedicí ke zpracování čistí, případně leští, což se nazývá polírování. Účelem je zbavit slad zbytků sladového květu, prachu, rozdrčených zrn, případně oddělit slabší sladová zrna a dodat sladu pěkný vzhled a lesk. Touto úpravou se také zvyšuje výtěžek, hektolitrová hmotnost a slad získá čistší chuť [7].

Sladový květ

Sladový květ je název pro suché kořínky a střelku usušeného sladu. Běžně je podíl sladového květu u světlých sladů 3 - 5 %, u tmavých až 5,5 %. Hlavní složkou jsou dusíkaté látky, z nichž až polovina je rozpustná ve vodě, a extrakt bezdusíkatých, hlavně cukernatých látek, jejichž podíly kolísají. Sladový květ je používanou surovinou v přípravě směsí krmiv, především pro krávy a telata, tak v odvětvích fermentačního a farmaceutického průmyslu [7].



Obr. 22: Sladový květ

Skladování sladu

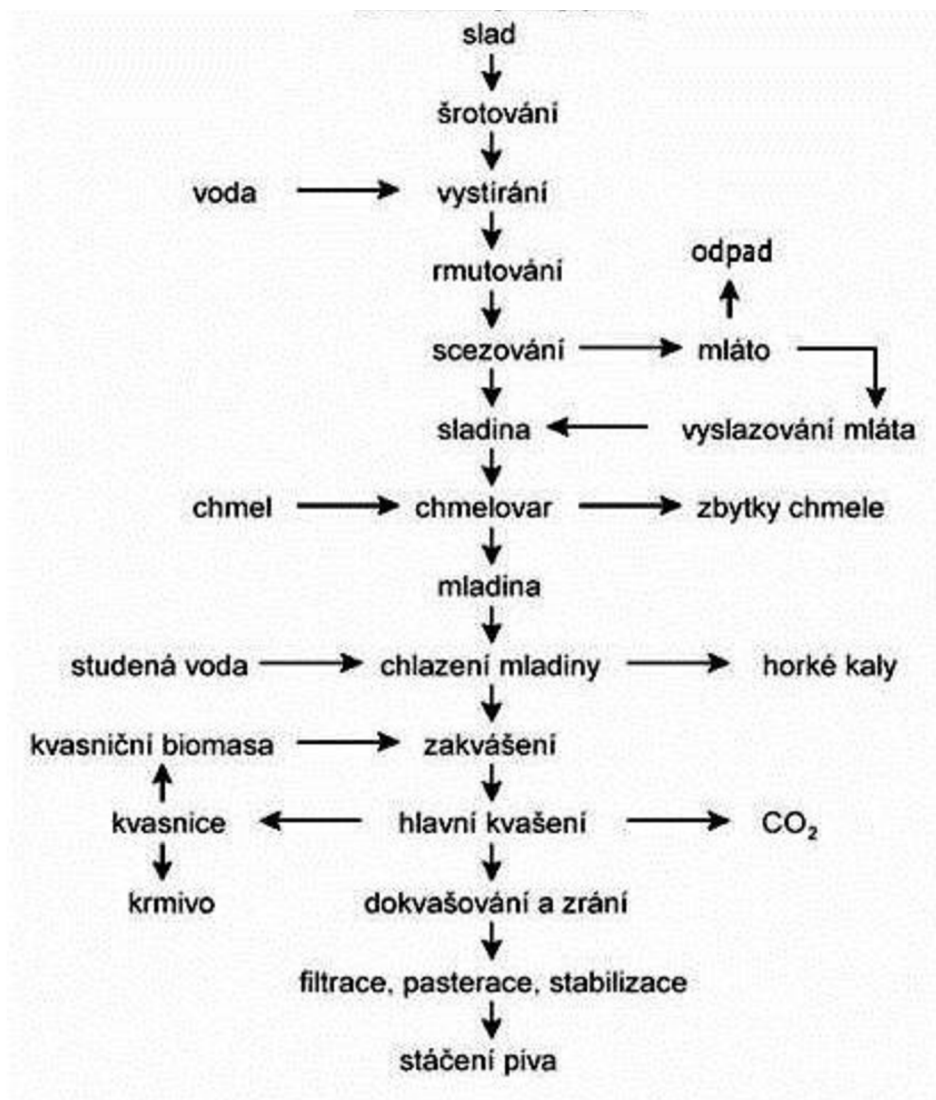
Čerstvě odhvozděný slad se nezpracovává, nýbrž se nechá odležet. Výjimku tvoří slady, které se v pivovaru melou za vlhka či se zvlhčováním (tzv. kondicionováním). K uskladnění sladu slouží půdy, dřevěné nebo ocelové skříně a v dnešních moderních sladovnách výhradně v silech [7].

1.5.1.6 Druhy sladů

Celosvětově se vyrábějí především **světlé slady plzeňského typu** pro světlá piva a **tmavé slady mnichovského typu (bavorské slady)** pro piva tmavá. Další typy speciálních sladů slouží pro zvýraznění určitých kvalitativních a specifických vlastností základních typů světlých a tmavých piv. Mezi speciální slady patří karamelové slady, barvicí slady, nakuřované slady, melanoidinové slady, diastatické slady, proteolytické slady (kyselé slady), slady zvyšující redoxní kapacitu piva [9].

Pro výrobu piva se používají převážně slady z jarních ječmenů. Slady z ozimých ječmenů mohou způsobovat technologické problémy. Dnes se použití ozimých ječmenů objevuje jako alternativa a doplněk potřeby sladu při nízké sklizni jarního ječmene [9].

1.5.2 Výroba piva



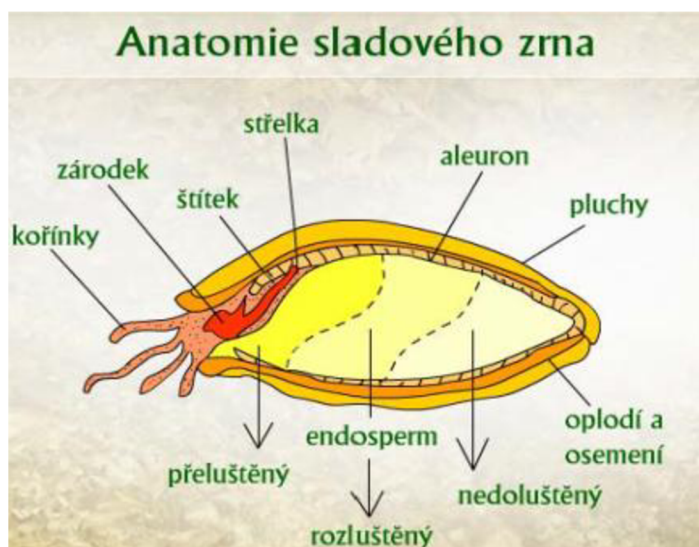
Obr. 23: Schéma výroby piva

1.5.2.1 Příprava mladiny

Mladina se připravuje ve varně pivovaru ze sladu, vody a chmele či chmelových přípravků [9].

Šrotování sladu

Mletí sladu (šrotování) je mechanický proces, který má rozdrčením zrna zpřístupnit endosperm pro fyzikálně-chemické a enzymové reakce ve varně při výrobě mladiny a přitom zachovat celistvost pluch (obalových částí sladového zrna). Po rozemletí sladu nesmí šrot obsahovat žádná celá zrna [9].



Obr. 24: Postup rozluštění klíčícího zrna ječmene

Vystírání a zapařování sladu

Cílem **vystírání** je dobře smíchat sladový šrot s nálevem varní vody. Převedení tuhých částí sladového šrotu do roztoku pouhým smícháním s vodou je velmi omezené, protože slad obsahuje jen malý podíl ve vodě rozpustných látek. Rozpustné jsou především cukry, sacharosa. Pro světlá piva se volí větší nálev, aby se získal řidší rmut, ve kterém se při rmutování urychlují enzymové reakce, podporuje se činnost amylyolytických enzymů a tím i rychlejší zcukření sladiny. Pro tmavá piva se naopak volí menší množství nálevu. Hustý rmut zachovává delší dobu působnost proteolytických enzymů. Důležitá je teplota vody použité na vystírku [9].

Studené vystírání s teplotou vody pod 20 °C se doporučovalo pro zpracování velmi špatně rozluštěných sladů (především proteolyticky) s předpokladem delší doby uvolňování dusíkatých látek a zvýšené acidity rmutu [9].

Teplé vystírání s teplotou vody 35 až 38 °C je postup vhodný pro dobře rozluštěné slady s dekokčním postupem rmutování, typický při výrobě českých piv. Při této teplotě rozemleté části sladového zrna změknou a částečně se rozpustí. Teplota vystírky se zvýší na 50 až 52 °C **zapařováním**, tj. přidáním vody o teplotě přibližně 80 °C. Objem vody na vystírku a zapáčku odpovídá celkovému objemu vypočteného nálevu [9].

Horké vystírání s teplotou vody 50 až 62 °C je postup vhodný pro přelustěné slady [9].

Rmutování

Nejvýznamnějším procesem **rmutování** je štěpení škrobu na zkvasitelné sacharidy působením amylyolytických enzymů. Štěpení škrobu probíhá ve třech stupních [9].

Bobtnání a zmazovatění je fyzikálně-chemický děj, který je závislý na rychlosti a teplotě zahřívání a na druhu ječmene použitého k výrobě sladu [9].

Ztekucení škrobu je enzymový děj, kterým se postupně zkracují řetězce molekul amylosy a amylopektinu, až dojde ke **zcukření**, kdy jsou v roztoku přítomné již jen štěpné produkty škrobu, nedávající barevnou reakci s jodovým roztokem [9].

Postupy rmutování se dělí na dekokční a infuzní. **Dekokční postupy** se realizují s postupným vyhříváním jednoho až tří podílů rmutu (postupy jednormutové, dvourmutové a třirmutové) na technologicky důležité teploty a povařováním těchto podílů. V českých pivovarech jsou nejčastěji používány dvourmutové postupy. **Infuzní postupy** zajišťují rozpouštění a štěpení extraktu sladu dlouhodobým účinkem sladových enzymů bez mechanického a tepelného působení povařování rmutů [9].

Scezování sladiny a vyslazování mláta

Na rozdíl od rmutování, kde převládají enzymové reakce, je scezování proces fyzikálně-chemický a je časově velmi náročný. Je to filtrace, při které se nejdříve oddělí **předek** (roztok obsahující extraktivní látky sladu) od zbytků sladového šrotu neboli **mláta**. Sladové mláto se skládá z pluch, endospermu a látek koagulovaných při rmutování. Nemá obsahovat celá zrna. Mláto se v mokřém stavu okamžitě používá v zemědělství do krmných směsí pro dobytek nebo se k dalšímu využití suší [9].

Následuje vyluhování extraktu zachyceného v mlátě horkou vodou (teplota vody se udržuje v rozmezí 75 až 78 °C) – **vyslazování**. Získané vodní výluhy jsou **výstřelky**. Tekutina zbylá v mlátě se nazývá **patoky**. Patoky se přidávají do vystírky další várky. Cílem scezování je získat čistou sladinu a maximum extraktu, který do procesu přinesly suroviny [9].

1.5.2.2 Chmelovar

Při vaření sladiny s chmelem probíhá řada fyzikálních, chemických a biochemických reakcí za spolupůsobení vlivu mechanického pohybu. Proces je velmi variabilní vzhledem k používané široké škále surovin, technologického zařízení i různých obměn technologického postupu, jejichž cílem je zajistit kvalitní pivo [9].

Chmelení

Obohacení mladiny o hořké chmelové látky **dávkováním lisovaného chmele** se v poslední době velmi omezilo a **převážně jsou používány chmelové přípravky**, které umožňují jednodušší manipulaci a lepší využití technologicky důležitých chmelových složek, což přináší snížení nákladů. Nověji se z chmele vedle extraktů hořkých látek připravují i extrakty chmelových polyfenolů [9].

Chmelové bláto

Chmelové bláto se odděluje po dovaření mladiny při zpracování hlávkového chmele pomocí cízu (v pivovarské varně válcová nádoba s děrovaným dnem používaná k oddělení chmelových hlávek od mladiny), monžiku (používá se k přepravě mláta z varny na jiné místo, obvykle pomocí tlakové páry) nebo náplavkového filtru. Chmelové bláto se nejčastěji vyváží do odpadů [9].

Chlazení mladiny a odlučování kalů

Vyrobená mladina ve varně pivovaru se musí před zakvašením ochladit na zákvasnou teplotu. Z mladiny se vylučují hrubé a jemné kaly a mladina se sytí kyslíkem. Doprovodným jevem chlazení je zmenšení objemu a s tím spojené mírné zvýšení extraktu mladiny [9].

Při postupném ochlazování mladiny na zákvasnou teplotu pokračuje přirozené čiření mladiny. V oblasti vyšších teplot se vylučují z roztoku nejdříve hrubé neboli horké kaly. Po ochlazení mladiny pod teplotu 60 až 40 °C vypadávají z roztoku jemné kaly, zvané chladové. Oddělování hrubých kalů horké mladiny křemelinovou filtrací je nejdokonalejší způsob odstraňování hrubých kalů. Vznik jemných kalů je vratný, při zahřátí se opět rozpouštějí. Velikost částic jemných kalů je 0,5 až 1 μm a obtížně se z mladiny odstraňují. Jemné kaly se z kvasných nádob odstraňují v tradičním kvašení sbíráním pokrývek (dek). Lepší odloučení jemných kalů je jejich odstranění v zákvasných kádích. Ve velkoobjemových kvasných cylindrokónických tancích, kde nelze sbírat deky, je nutné před zakvašením mladiny velice pečlivě snížit obsah jemných kalů [9].

Způsoby dochlazení mladiny na zákvasnou teplotu se dělí na starší, dnes málo používané postupy v otevřených systémech a na postupy v uzavřených zařízeních. Uzavřené systémy jsou z hlediska zachování biologické čistoty výhodnější, s menším rizikem kontaminace. Na druhé straně vyžadují dodatečné dosycení mladiny vzdušným kyslíkem pro zdárný průběh kvasného procesu [9].

1.5.2.3 Kvašení mladiny a dokvašování piva

Fermentace mladiny za vzniku piva probíhá ve dvou stupních. První stupeň se nazývá hlavní kvašení. V druhé fázi fermentace probíhá dokvašování a ležení piva [9].

Cílem hlavního kvašení je neúplné zkvašení cukernatých látek extraktu mladiny pivovarskými kvasinkami za tvorby ethanolu, oxidu uhličitého a vedlejších metabolitů se současným pomnožením kvasničného zákvasu. Důležitým regulačním prvkem kvašení je teplota. Pro spodní kvašení se uplatňuje studené vedení v rozsahu teplot 5 až 9 °C. Při svrchním kvašení se teploty pohybují mezi 15 až 22 °C. Kmen kvasinek se volí podle požadavků na charakteristické vlastnosti vyráběného piva [9].

Během kvašení postupně klesá hladina sacharidů a mění se jejich poměr v kvasícím médiu. Nejdříve a nejrychleji je zkvašována glukosa a vlastně i sacharosa, která vchází do kvasničné buňky již jako monosacharidy glukosa a fruktosa. Teprve po poklesu hladiny glukosy na určitou úroveň dochází ke zkvašování hlavního pivovarského cukru, maltosy [9].

Technologické postupy pro hlavní kvašení

Stacionární hlavní kvašení probíhá v kvasných nádobách umístěných v chlazených prostorách zvaných spilka. Pro hlavní kvašení stacionárním postupem se používají otevřené a uzavřené kvasné nádoby [9].

Technologická stádia hlavního spodního kvašení

Doba hlavního kvašení tradičním stacionárním postupem je 7 až 12 dnů, v závislosti na koncentraci původní mladiny, teplotě kvašení a použitém kvasničném kmenu. Obvykle doba ve dnech odpovídá hodnotě původního extraktu mladiny [9].

- 1. Zaprašování** je tvorba pěny na hladině po zakvašení mladiny vyvolaná vznikajícím oxidem uhličitým. V tomto období mírně klesá hodnota extraktu a pH, mírně stoupá teplota.

2. **Nízké až vysoké bílé kroužky** jsou typické bílé růžice pěny na povrchu kvasící mladiny. Je to období maximálního vývinu oxidu uhličitého, pH klesá a teplota stoupá.
3. **Vysoké hnědé kroužky** se tvoří v období třetího až pátého dne kvašení. Kroužky pěny se hnědě zbarvují kaly vynášenými z kvasícího média. Hodnota pH dále klesá, teplota vzrůstá na maximum, na kterém se udržuje asi 2 dny a následně se musí začít včas chladit s poklesem teploty asi 1 °C za den.
4. **Propadání deky** je fáze hlavního kvašení, ve které probíhá v maximální míře aglutinace a sedimentace kvasnic. Hodnota extraktu se již snižuje pozvolna. Kroužky propadají a na hladině zůstává asi 2 až 3 cm tlustá tmavá vrstva pěny, zvaná deka, která se musí včas sebrat, protože látky v ní obsažené by po rozptýlení v kvasícím médiu nepříznivě ovlivňovaly především hořkost mladého i hotového piva. Sbírání deky se provádí opakovaně den před sudováním a ve dnu sudování. V kvasných dekách jsou obsaženy převážně polyfenoly, hořké látky, polysacharidy, výšemolekulární dusíkaté látky a mrtvé kvasinkové buňky [9].

1.5.2.4 Sudování mladého piva

Po skončení hlavního kvašení a sebrání deky se mladé pivo suduje obvykle samospádem do sběrných nádrží a odtud se čerpá do ležáckých nádob. Tato operace se musí provést s minimálním provzdušením a se zamezením ztrát oxidu uhličitého. Teplota sudovaného piva se pohybuje v hodnotách blízkých zákvasné teplotě, tj. okolo 5 až 6 °C. Sudované pivo s velkým množstvím kvasničných buněk se nazývá **zelené** a způsobuje intenzivní nástup dokvašování, mladé pivo s malým množstvím buněk se nazývá **propadlé** a počátek dokvašování je velmi pomalý, často se musí pivo přikroužkovat [9].

1.5.2.5 Dokvašování a zrání (ležení) piva

Dokvašování a zrání piva při tradičním postupu probíhá v ležáckých nádobách v podzemních sklepích nebo v izolovaných nádobách (cylindrokónické tanky) umístěných na volném prostranství nebo v tzv. odlehčených budovách. Specifické je zrání a stažení svrchně kvašených piv v lahvích [9].

Dokvašování a zrání piva probíhá při nízké teplotě a mírném přetlaku a nejdůležitějšími reakcemi jsou pozvolné zkvašování zbylého extraktu zajišťující sycení piva oxidem uhličitým, zrání chutě a vůně piva způsobené změnou složení koloidních a těkavých látek a přirozené čiření vylučováním vysokomolekulárních (polyfenolových a dusíkatých) látek z roztoku. Během dokvašování a zrání klesá obsah oxidu siřičitého a thiolů. Sirné sloučeniny se mohou i při nízkém obsahu projevit senzorickým zhoršením piva. Při sledování dokvašování a zrání piva je důležitým ukazatelem obsah dimethylsulfidu (DMS). Složení piva se optimalizuje a pivo získává přirozenou koloidní stabilitu [9].

Při tradiční technologii je obvykle doba dokvašování u 10% výčepních piv 21 dnů, u 12% ležáků až 70 dnů [9].

1.5.2.6 Filtrace piva

Podstatnou část filtračního procesu tvoří scezování na scezovací nádobě nebo filtrace sladiny ve sladivých filtrech a získávání čirého piva po dokvašování, popř. stabilizační filtraci. Mladina se filtruje málo, více se filtrace používá při zahušťování kvasnic a zpětné separaci piva z nich [9].

Při filtraci dokvašeného piva se mají odstranit kalící látky a má se docílit požadované čirosti a zvýšení biologické a koloidní trvanlivosti. Čirost a vysoká stabilita výrobku jsou základní vlastnosti požadované spotřebiteli při zachování ostatních znaků kvality piva. Filtrace nesmí snižovat pěnivost piva, dodávat do piva kyslík, ionty kovů katalyzující oxidační reakce při skladování, ani další sloučeniny, které by negativně ovlivnily chemické složení a organoleptické vlastnosti piva [9].

Do poloviny 19. století se většinou vystavovalo pivo nefiltrované, což omezovalo jeho transport na větší vzdálenosti. Ve druhé polovině 19. století se začal používat filtr na filtrační hmotu. Filtrační hmota se připravovala z odtučněných a vyčištěných bavlněných odpadů a pro zvýšení filtračního účinku se přidávalo 0,5 až 0,2 % azbestu. Po druhé světové válce se začala uplatňovat **naplavovací filtrace** piva pomocí speciálních sypkých materiálů přírodního původu, především křemeliny a perlitu. V posledních letech se začíná v pivovarství ve větší míře uplatňovat **membránová technika**. Při tomto způsobu filtrace je možné přesně vymezit velikost pórů, takže se mohou specificky odstranit látky o určité velikosti molekul. Membránová technika je ekonomicky nákladná, nicméně výhodná z ekologického hlediska, protože odpadají problémy s likvidací filtračního materiálu, jak je tomu u doposud nejpoužívanějšího sypkého filtračního materiálu, křemeliny [9].

1.5.2.7 Pasterace piva

Cílem tepelné úpravy piva, **pasterace**, je zajištění jeho biologické trvanlivosti (stability). Pasterace je **tepelná inaktivace mikroorganismů**, které mohou kazit pivo. Tím se liší od **sterilace**, což je tepelná inaktivace všech mikroorganismů. V pivovarství se udává tepelná odolnost mikroorganismů při referenční teplotě 60 °C, protože při této teplotě se nejčastěji pivo pasteruje v tunelovém pasteru [9].

1.5.2.8 Stáčení piva

Stáčení piva je náročné, protože nesmí docházet ke ztrátám oxidu uhličitého ani dalších těkavých buketních látek a současně se musí zamezit přístupu kyslíku, který nepříznivě ovlivňuje jeho senzoryckou a koloidní stabilitu [9].

Výčepní obal, dřevěný sud, byl nejprve ležáckou nádobou a pivo se čepovalo přímo z ležáckých sudů. Po druhé světové válce se dřevěné sudy nahrazovaly hliníkovými s upraveným vnitřním povrchem. Později se uplatňovaly sudy z korozivzdorné oceli a především došlo ke změně tvaru a způsobu plnění a čepování sudů. Dnes se používají KEG sudy většinou o objemu 30 až 50 l. Stáčení do lahví se plně rozšířilo již před koncem 19. století, kdy také vznikly první automatické stroje na výrobu pivních lahví [9].

Od druhé poloviny 20. století se dynamicky změnilы podmínky konzumace piva i v tradičních pivovarských zemích střední Evropy. Spotřeba piva se přesunula z restauračních

zařízení a typických pivovarských hospod i do domácností a postupně rostl podíl konzumovaného piva v lahvích a plechovkách na úkor piva sudového. Plastové láhve našly v pivovarství širší uplatnění až po rozšíření ve stáčírnách nealkoholických nápojů a pitných i minerálních vod a náročném vývoji vhodného složení plastu nebo vícevrstvé stěny láhve [9].



Obr. 25: Sud KEG 50 l, pivo Radegast 12° ryze hořké 0,5 l sklo, pivo Starobrno Medium plech a pivo Krušovice 12° maxi 1,44 l PET

1.5.3 Chemické složení piva

Pivo je dispersní soustavou různých sloučenin. Navíc jde o koloidní roztok různých makromolekul – bílkovin, nukleových kyselin, sacharidů a lipidů. Všechna piva však obsahují většinu stejných sloučenin, někdy v kolísajícím množství. Voda tvoří asi 95 % objemu piva. CO₂ je vázán chemickou vazbou jako kyselina uhličitá. Obsah CO₂ v pivu se pohybuje v rozmezí 0,3 – 0,45 %. Průměrný obsah ethanolu je 3,5 – 4,5 %. Vyrábí se i piva nízkostupňová s obsahem ethanolu 0,5 – 1,2 % nebo nealkoholická do 0,5 % ethanolu. V závislosti na extraktu původní mladiny a stupni prokvašení obsahuje pivo asi 2 až 6 % extraktivních látek. Hlavní součástí extraktu jsou sacharidy (dextriny, mono- a oligosacharidy, maltosa, maltotriosa, pentosa). Sacharidy tvoří 80 – 85 % extraktu. Asi 6 až 9 % extraktu tvoří dusíkaté látky, nejčastěji to jsou aminokyseliny. V pivu jsou mimo jiné dále polyfenolové látky (cca 100 až 180 mg/l), hořké látky z chmele (cca 15 až 40 mg/l), barviva (melanoidiny), glycerol, lipidy, heterocyklické látky a vitaminy [9,10,34].

1.5.3.1 Bílkoviny

Mezi kvalitativní a kvantitativní znaky charakterizující pivo patří bohatá, hustá a dlouhotrvající pěna, která je i jedním z prvních vjemů vnímaných spotřebitelem. K faktorům pozitivně ovlivňujícím tvorbu a stabilitu pivní pěny patří především bílkoviny, resp. bílkoviny s hydrofobním charakterem [11].

Pivo obsahuje 3 - 5 g/l čistých bílkovin, přičemž 85 % z těchto bílkovin pochází ze sladu a 15 % z pivovarských kvasinek. Aminokyselinový profil zahrnuje téměř všechny esenciální aminokyseliny a obsah aminokyselin se pohybuje v mezích 300 - 500 mg/l [12].

Dusíkaté látky jsou uloženy především v aleuronové vrstvě. Dusíkaté látky v zrně lze rozdělit na **proteidy** – bílkoviny složené (glykoproteidy, fosfoproteidy, nukleoproteidy), **proteiny** – bílkoviny jednoduché (albuminy, globuliny, prolaminy a gluteliny) a **nebílkovinné dusíkaté látky** (aminokyseliny, aminy a amidy). Jednoduché bílkoviny (proteiny) se dělí podle funkčních vlastností na **bílkoviny protoplasmatické – strukturální** (albuminy a globuliny) a **bílkoviny zásobní** (prolaminy a gluteliny). Jednoduché bílkoviny představují asi 92 % z celkového množství bílkovin ječmene [13].

Štěpné produkty bílkovin se dělí na vysokomolekulární a nízkomolekulární štěpné produkty. **Vysokomolekulární štěpné produkty** se skládají ze štěpných produktů proteinů – jsou označovány podle toho, z kterých jsou složeny (albumosy, globulosy) – a komplexu původních peptonů. **Nízkomolekulární štěpné produkty** se skládají z nejmenších stavebních kamenů bílkovin, aminokyselin, a z peptidů vzniklých polymerizací [13].

Nejpozději při chmelovaru se vysráží téměř všechny vysokomolekulární proteiny. V mladině zůstanou většinou rozpustné štěpné produkty bílkovin, které jsou nezbytné pro pomnožení kvasnic a rychlé prokvašení. Pozitivně se vysokomolekulární proteiny projeví v pěnivosti a plnosti piva, negativně na tvorbě zákalu. Nízkomolekulární produkty štěpení jsou nezbytné pro výživu kvasinek. Vysokomolekulární bílkoviny dále vypadávají, jsou adsorbovány na povrchu kvasnic, nebo jsou vynášeny pomocí bublinek CO₂ do kvasné deky. Kvasnice nejen spotřebovávají bílkoviny, nýbrž také vytváří během kvašení a sedimentace aminokyseliny a nižší peptidy [13].

1.5.3.2 Polyfenoly

Polyfenolové látky se dostávají do piva z ječmene, resp. sladu, chmele a chmelových výrobků jako přírodní složky, které dalekosáhle ovlivňují jeho sensorické vlastnosti i celkovou trvanlivost. Přírodní polyfenoly jsou látky, které se obecně vyskytují v kůře, listech, kořenech a plodech rostlin. Polyfenoly jakožto přirozené antioxidanty vyskytující se v potravě mohou snižovat pravděpodobnost výskytu některých civilizačních chorob konzumentů. Byla prokázána odrůdová závislost antioxidační aktivity sladovnického ječmene [14,15,19].

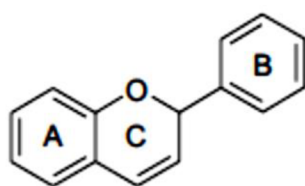
Nejvíce zastoupenou skupinu polyfenolových složek piva představují flavonoidy. Polyfenoly se obvykle rozdělují do čtyř podskupin na chalkony, flavanoidy, flavonoly a anthokyanidiny. Z chmele se dostávají do piva navíc prenylované flavonoidy s prenylovým substituentem na kruhu A. Více než 80 % z nich tvoří xanthohumol, který přechází do piva v isomerované formě jako isoxanthohumol. Polyfenolové složky přecházejí v průběhu pivovarského procesu do piva buď v nepozměněné, ale ještě častěji v pozměněné formě. Situace se stává navíc složitější tím, že důležitý zdroj polyfenolů piva, chmel, se v současné době stále více zpracovává ve formě chmelových výrobků (extraktů, pelet, hydrogenovaných a isomerovaných preparátů), při jejichž výrobě dochází ke změnám složení polyfenolových látek [18].

Polyfenoly mají v technologii a kvalitě piva pozitivní i negativní význam. Neoxidované polyfenoly svými přirozenými antioxidačními vlastnostmi oddalují stárnutí piva a tvorbu nebiologických zákalů. Antioxidační vlastnosti polyfenolů velmi závisejí na prostředí a nejsou tak významné jako antioxidační vlastnosti oxidu siřičitého produkovaného pivovarskými kvasinkami při kvašení. Pokud se nedocílí dostatečné hladiny oxidu siřičitého jako

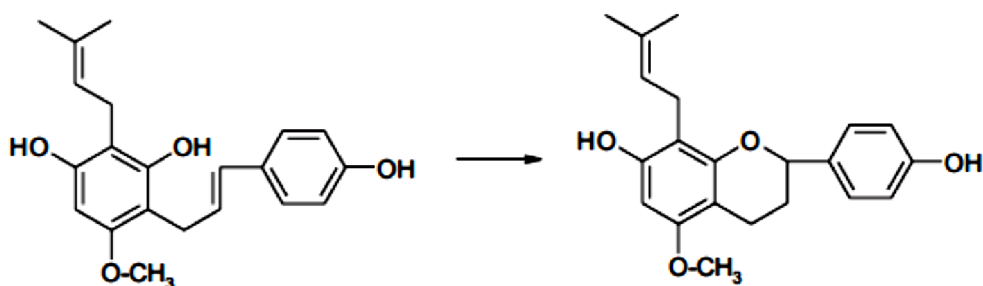
přirozeného antioxidantu piva, je přítomnost polyfenolů s redukčním účinkem velmi žádoucí. Sladové polyfenoly přicházejí do procesu dříve než chmelové a podléhají více oxidačním změnám. K dalším pozitivním vlastnostem připisovaným polyfenolovým látkám patří schopnost asociovat s polypeptidy a vylučovat kaly během chlazení mladiny. Kromě toho polyfenoly přispívají k plnosti chuti piva, podporují vlastnost piva zvanou pitelnost [9].

Negativní význam polyfenolů byl popisován dříve než jejich význam pozitivní. Oxidované a kondenzované formy polyfenolů zvyšují barvu sladiny, mladiny i piva, zhoršují jeho chuťové vlastnosti a přispívají ke tvorbě nebiologických zákalů v stočeném pivu [9].

Sladové polyfenoly jsou podstatně méně rozpustné než chmelové, přesto hlavní podíl polyfenolových sloučenin v pivu pochází ze sladu [9].



Obr. 26: Flavan



Obr. 27: Izomerace xanthohumolu při chmelovaru

1.5.3.3 Sacharidy

Celkový obsah sacharidů v pivu se pohybuje okolo 28 g/l. Sacharidy představují hlavní energetickou složku piva (asi 60 %) a to jak snadno využitelnými cukry, tak i hůře resorbovatelnými dextry [12].

1.5.4 Pivo a zdraví

Pivo je obecně uznáváno jako nápoj významný jak pro utišení žízně, tak pro výživnou a dietetickou hodnotu. Pivo díky svému složení a způsobu výroby zásobuje lidské tělo životně důležitými látkami a zlepšuje celkový metabolismus. Tím se uklidňuje nejen trávicí systém, ale zlepšují se funkce jak hormonálního, tak i nervového systému. To se odráží v našem chování a jednání. Pivo je z hlediska vitaminů vitaminovým koktejlem. Obsahuje všechny vitaminy skupiny B – pyridoxin, riboflavin, kobalamin, kyselinu pantothenovou (vitamin B5), kyselinu folovou (listovou, vitamin B11), thiamin a biotin (vitamin H), niacin, přičemž

nejdůležitější jsou vitaminy B2 (riboflavin) a B6 (pyridoxin). Vitaminy skupiny B vydatně přispívají k ochraně naší nervové soustavy i ke zvládnání stresových situací [8,16].

Mírné požívání piva může být skutečně pro lidský organismus nesmírně hodnotné, protože obsahuje to, co tělo potřebuje: vodu, bílkoviny, sacharidy, vitaminy, minerály a stopové prvky. Obsahuje také alkohol. Proto je vždy potřebné zdůraznit mírné požívání piva, to znamená takovou denní dávku, která umožňuje jeho pozitivní vlivy. Alkohol má při rozumné konzumaci uklidňující vliv na psychiku, snižuje stres, podporuje krevní oběh, snižuje krevní tlak. Rozumná konzumace piva příznivě podporuje vylučování látek odváděných močí a trávením. Pivo je přirozený iontový nápoj k doplnění tekutin a minerálů při jejich velkých ztrátách. Pijeme-li pivo v rozumném množství, jeho pozitivní vlivy na lidský organismus převažují nad negativními [16].

Alkohol v malých dávkách omezuje vznik ischemické choroby srdeční, snižuje úmrtnost na infarkt myokardu a cévní mozkové příhody. Tento efekt se ve velké míře připisuje zvýšení hladiny „hodného“ HDL (High Density Lipoproteins) cholesterolu. Současně pitím malého množství alkoholu dochází ke snižování koncentrace „zlého“ LDL (Low Density Lipoproteins) cholesterolu, který se ukládá v cévách a je příčinou aterosklerózy. Alkohol tak zlepšuje poměr HDL/LDL. Snižuje riziko vzniku aterosklerózy a blokuje srážení krve [16].

Důležitou vlastností piva ze zdravotního hlediska je jeho antioxidační schopnost. Antioxidanty likvidují volné radikály, a tak zabraňují jejich škodlivému působení v organismu (iniciování rakoviny a kardiovaskulárních chorob). Čím je antioxidační kapacita vyšší, tím je pivo prospěšnější. Antioxidanty se do piva dostávají ze sladu a z chmele. Důležitou skupinu představují polyfenoly. Polyfenolům jsou přisuzovány účinky antioxidační, antimutagenní, antikarcinogenní, antimikrobiální, antitrombotické, antiflogistické, imunomodulační, dále regulují krevní tlak a krevní glukosu. Jedním z nejběžnějších antioxidantů v pivu je kyselina ferulová. Z chmele pocházejí flavonoly (např. kvercetin), flavonoidy (patří sem hlavně flavan-3-oly, tj. katechin a epikatechin) a chalkony (nejdůležitější je xanthohumol, který má antikarcinogenní účinky). Během chmelovaru se xanthohumol mění na isoxanthohumol, který má vysoký antikarcinogenní potenciál. Tento efekt vykazují i některé α - a β -hořké kyseliny, např. kolupulon a humulon [16].

Pivo je nápoj obsahující přirozeně vzniklý oxid uhličitý. Ten prokrvuje ústní sliznici, zvyšuje tvorbu slin, povzbuzuje produkci kyseliny chlorovodíkové v žaludku a podporuje vylučování látek odváděných močí ledvinami [16].

Pivo obsahuje více než 30 minerálů a stopových prvků, které pocházejí většinou ze sladu. Velmi důležitý je obsah křemíku. Křemík má vliv na zdravé kosti, je známé jeho působení proti ateroskleróze a osteoartritidě. V pivu se křemík vyskytuje ve formě kyseliny křemičité. Obecně se má za to, že křemík v pivu vytěsňuje z lidských tkání hliník, čímž redukuje jeho dlouhodobé škodlivé působení na lidský organismus [16].

1.6 Ultrafialová a viditelná spektrometrie

1.6.1 Princip metody

Podstatou vzniku absorpčních spekter v ultrafialové a viditelné oblasti (200 až 800 nm) jsou elektronové přechody, tj. absorpce záření odpovídající přechodům molekul ze základního do prvního excitovaného stavu. Obor ultrafialového a viditelného záření bývá nazýván oblastí elektronových spekter. Energetické přechody mezi elektronovými stavy v molekule jsou mnohem náročnější na energii než přechody mezi stavy vibračními a tyto stavy jsou zase náročnější než přechody mezi rotačními hladinami. Proto absorpce záření o energii dostatečné k přechodu mezi elektronickými hladinami znamená současně excitaci vibračních a rotačních hladin. Absorpční spektrum v ultrafialové a viditelné oblasti není souborem několika ostrých linií v důsledku elektronických přechodů, ale souborem pásů daných (v rámci jednoho elektronického přechodu) řadou vibračních a rotačních přechodů [20].

| Absorbované záření (nm) | Barva absorbovaného záření | Barva doplňková (barva roztoku) |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 400 – 435 | fialová | žlutozelená |
| 435 – 480 | modrá | žlutá |
| 480 – 490 | zelenomodrá | oranžová |
| 490 – 500 | modrozelená | červenooranžová |
| 500 – 560 | zelená | purpurová |
| 560 – 580 | zelenožlutá | fialová |
| 580 – 595 | žlutooranžová | modrá |
| 595 – 610 | červenooranžová | zelenomodrá |
| 610 – 760 | červená | modrozelená |

Obr. 28: Viditelné a doplňkové barvy v rozsahu 400 až 760 nm

1.6.2 Základní vztahy

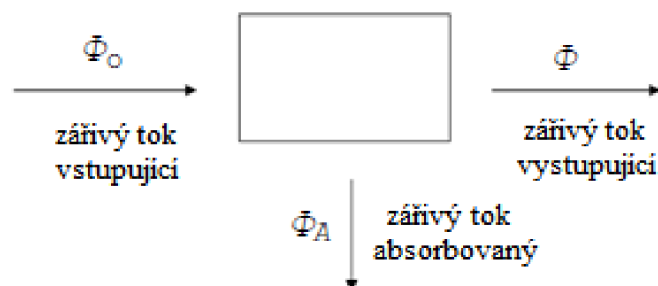
Pokud na kyvetu obsahující roztok vzorku dopadá zářivý tok Φ_o , prošlý zářivý tok Φ je ochuzen o odražené, rozptýlené a absorbované záření [21].

1.6.2.1 Transmittance T

Všechny absorpční metody v oboru optických spekter jsou založeny na měření propustnosti čili transmittance monochromatického záření sledovanou soustavou částic. Transmittance T je definována poměrem zářivého toku vycházejícího z absorbujícího prostředí Φ k zářivému toku původnímu Φ_o .

Většinou se uvádí v procentech. Je-li absorpce záření nulová, transmittance je jednotková (100 %). Při měření propustnosti musí být měřené systémy čiré, aby se odstranily ztráty rozptylem na heterogenních suspendovaných částicích. Krajiní hodnoty transmittance jsou

$T(1;0)$. Transmitancí se nejčastěji vyjadřují absorpční hodnoty barevných a interferenčních filtrů a rozpouštědel [21, 22, 23].



Obr. 29: Absorpce při průchodu záření kyvetou se vzorkem

1.6.2.2 Absorbance A

Absorbance (starším názvem extinkce) je záporný dekadický logaritmus transmitance. Je-li absorpce záření nulová, je nulová i absorbance. S rostoucí absorpcí záření roste absorbance. Blíží-li se transmitance nule, blíží se absorbance nekonečnu. Krajní hodnoty absorbance jsou $A(0;\infty)$ [21].

1.6.2.3 Lambertův-Beerův zákon

Transmitance (absorbance) vzorku se mění s vlnovou délkou záření a závisí i na počtu absorbujících částic v dráze paprsku, tedy na koncentraci částic a na tloušťce vrstvy, kterou paprsek prochází. Závislost $T(A)$ na vlnové délce při konstantní koncentraci látky a tloušťce vrstvy představuje absorpční spektrum látky, které je charakteristické pro tuto látku. Pro zjištění koncentrace je důležitý vztah mezi ní a tloušťkou vrstvy a hodnotou absorbance (transmitance) měřené při určité vlnové délce. Tento vztah matematicky popisuje Lambertův-Beerův zákon [22]:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l.$$

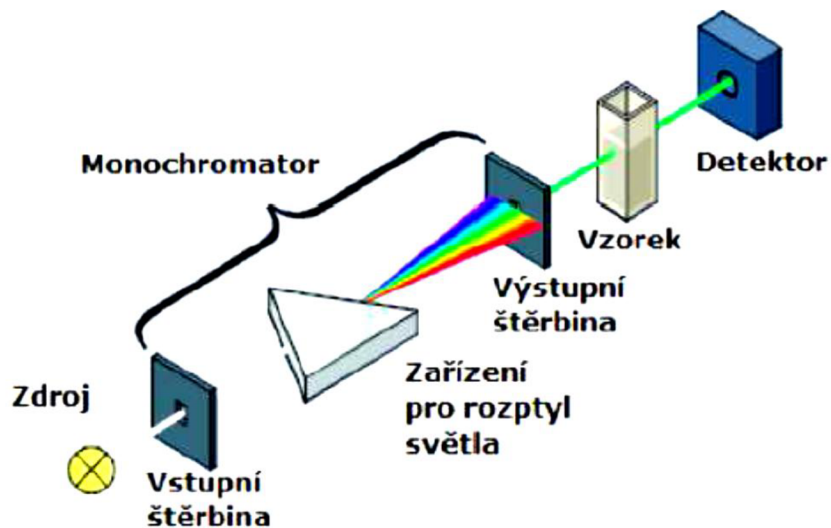
1.6.2.4 Kvantitativní analýza

Měření absorbance se hojně využívá k určení koncentrace sloučenin s chromofory. Pracuje se obvykle metodou kalibrační křivky [21].

1.6.3. Spektrofotometry

Fotometrie spočívá v objektivním měření prošlého zářivého toku. K měření se používají buď jednodušší fotometry (k vymezení intervalu vlnových délek používají barevné filtry) nebo spektrofotometry, které obsahují monochromátor. Přístroje jsou jedno- nebo dvoupraprskové. Ve spektrofotometrech se jako zdroje záření používají pro viditelnou oblast světla wolframová a halogenová žárovka, pro ultrafialovou oblast deuteriová lampa. Monochromátor zpravidla využívá konstrukci Czerny-Turnerovu. Vzorek je umístěn v kyvetě.

Skleněná kyveta je použitelná pro viditelnou oblast (propouští vlnové délky 350 – 2000 nm), křemenná pro ultrafialovou oblast. Kyveta musí být udržována v dokonalé čistotě a je nutno zabránit otiskům prstů, které by způsobily rozptyl světla a chyby v měření. Jako detektory záření se používají fotonásobiče, polovodičové fotoelektrické články, diodová pole a detektory CCD (charge-coupled device: zařízení se zdvojeným nábojem) [21].



Obr. 30: Znázornění optické dráhy jednopaprskového UV-Vis spektrofometru



Obr. 31: Jednopaprskový spektrofotometr UNICAM Helios γ

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

2.1.1 Chemikálie – stanovení celkového obsahu bílkovin

Albumin Bovine Fraction V, Serva (Německo).
Folin-Ciocalteu činidlo, Sigma-Aldrich (Švýcarsko).
Hydroxid sodný, Penta (ČR).
Síran měďnatý pentahydrát, Sigma-Aldrich (Německo).
Uhličitan sodný, Lachema, (ČR).
Vinan sodno-draselný, Lachema (ČR).

2.1.2 Chemikálie – stanovení celkového obsahu polyfenolů

Kyselina gallová, Sigma-Aldrich (Německo).
Folin-Ciocalteu činidlo, Sigma-Aldrich (Švýcarsko).
Uhličitan sodný, Lachema, (ČR).

2.1.3 Chemikálie – stanovení celkového obsahu sacharidů

D-glukosa, Lachema (ČR).
Anthron, Sigma-Aldrich (USA).
Kyselina sírová, Penta (ČR).

2.1.4 Použité přístroje a pomůcky

Analytické váhy BBL 32, rozlišení 0,1 mg, max. zatížení 120 g, velikost misky 80 mm (BOECO Německo).
Předvážky EK - 600H (A&D Company Japonsko).
Jednopaprskový spektrofotometr UNICAM Helios γ , rozsah vlnové délky 190 – 1100 nm, štěrbina 2 nm (Thermo Spectronic Anglie).
Laboratorní míchačka Vortex V1 plus (BOECO Německo).
Mikropipety Rainin Pipet-Lite XLS o objemech 100 μ l – 1000 μ l a 500 μ l – 5000 μ l.
Mikropipeta Finnpiette 50 μ l jednobáňová s fixním objemem.
Vodní lázeň Memmert WNE 14 (Wisconsin Oven Distributors, LLC. USA).
Chladnička kombinovaná Electrolux ERB 3445.

2.2 Stanovení kvalitativních parametrů piva

2.2.1 Úprava piva

Všechny vzorky piv byly sonifikovány po dobu 20 min za účelem odstranění oxidu uhličitého. Piva byla naředěna podle citlivosti příslušné metody.

2.2.2 Stanovení celkových bílkovin Hartree-Lowryho metodou

2.2.2.1 Princip

Původní fotometrická Lowryho metoda z roku 1951 patří k nejcitovanějším stanovením v biochemii. Činidlo má dvě složky: první je biuretové činidlo, druhou složkou je Folin-Ciocalteu činidlo na fenoly. Jsou to polykyseliny fosfomolybdenové a fosfowolframové, které se redukuje tyrosinovými (ale i tryptofanem a cysteinem) zbytky proteinů a barví se modře. Výsledky jsou závislé na aminokyselinovém složení. Presentovanou modifikaci vypracoval Hartree v roce 1972. Verze využívá tři činidla, z nichž první dvě jsou pro biuretové stanovení, tj. chelataci Cu^{2+} iontů imidovými skupinami polypeptidů v silně alkalickém prostředí. Dochází k tvorbě daleko intenzivnějšího zbarvení (zvýšená citlivost) a stanovení je lineární v širším rozsahu koncentrací ($\lambda_{\text{max}} = 745 - 750 \text{ nm}$). Zbarvení však není v čase stabilní. Metoda je citlivá na změny v pH, pH reakční směsi by mělo být drženo v mezích 10 – 10,5. Činidla jsou stabilnější a metoda méně pracná. Lowryho metoda je citlivá na nízké koncentrace proteinu (2 – 100 μg). Pro kalibraci jsou nutné standardy (BSA, OVA). Její nevýhoda je úzký interval pH reakční směsi, ve kterém je použitelná. Použití malých objemů vzorku (relativně vůči objemu reakční směsi) umožňuje tuto nevýhodu odstranit [24, 25, 26, 27, 28].

2.2.2.2 Postup

Příprava roztoků:

Roztok 1: 50 ml 2% Na_2CO_3 v 0,1 mol/l NaOH + 2 ml 0,5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ v 1% vinanu sodno-draselném.

Roztok 2: zředí se 1 objem Folin-Ciocalteu činidla 2 objemy vody.

Do zkumavky bylo pipetováno 50 μl vzorku piva a doplněno fyziologickým roztokem na 3 ml. Pak bylo přidáno 5 ml roztoku 1 a po 10 minutovém stání při laboratorní teplotě bylo přidáno 0,5 ml roztoku 2. Po důkladném promíchání a dalším 10 minutovém stání byla změřena absorbance při 650 nm proti slepému vzorku (bez vzorku piva). Jako kalibrační roztok byl použit hovězí albumin v koncentračním rozmezí 0,015 mg/ml – 0,15 mg/ml [29].

2.2.3 Stanovení celkových polyfenolů

2.2.3.1 Princip

Základem Folin-Ciocalteuovy metody je oxidace fenolů molybdato-wolframovým reagentem, při níž se tvoří barevný produkt s absorbcí $\lambda_{\text{max}} 745 - 750 \text{ nm}$. Je založena na redukci fosfowolframatofosfomolybdatového komplexu, pravděpodobného složení $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{4-}/(\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}) + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{HCl}$. Folin-Ciocalteuova reakce je nespecifická pro fenolové látky a reagent může být redukován i mnoha nefenolovými sloučeninami (vitaminem C, ionty Cu^+ aj.). Fenolové sloučeniny reagují jen v alkalickém prostředí okolo pH 10 [30].

2.2.3.2 Postup

Příprava roztoků:

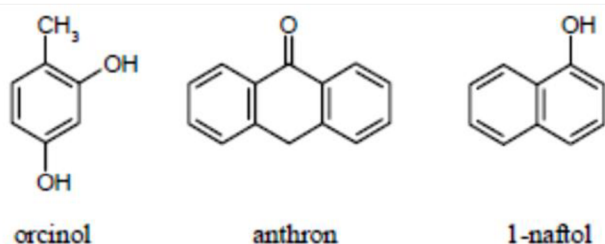
Nasycený roztok uhličitanu sodného: 21,8 g Na_2CO_3 /100 ml při 20 °C.

K 1 ml Folin-Ciocalteu činidla zředěnému vodou v poměru 1 : 9 byl přidán 1 ml vody a 50 μl vzorku piva. Po promíchání a 5 minutách stání bylo přidáno 1,5 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Po opětovném promíchání a 15 minutách stání byla změřena absorbance při 750 nm. Jako kalibrační roztok byla použita kyselina gallová v koncentračním rozmezí 0,2 mg/ml – 1,0 mg/ml [31].

2.2.4 Stanovení celkových sacharidů

2.2.4.1 Princip

Jsou to metody založené na vzniku a reakcích derivátů furanu. Dehydratací cukrů v prostředí minerálních kyselin vznikají deriváty furfuralu. Furfural a podobné sloučeniny kondenzují s fenoly, aromatickými aminy nebo polycyklickými sloučeninami za vzniku barevných produktů. Nejčastěji používaná činidla jsou orcinol, anthron a 1-naftol. Tato stanovení jsou málo selektivní (využívá se kombinace s PC, TLC, HPLC), málo robustní (vliv doby a rychlosti ohřevu), ale dosti citlivé (možno stanovit μg množství cukru) [32].



Obr. 32: Orcinol, anthron a 1-naftol

| Činidlo | Doba reakce, teplota | Cukry | Zbarvení |
|--|----------------------|------------------|-----------------------|
| orcinol / HCl nebo H_2SO_4 | 30-45 min, 100°C | pentosy > hexosy | zelené (p), hnědé (h) |
| anthron / H_2SO_4 | 10-15 min, 90-100°C | všechny | modrozelené |
| 1-naftol / H_2SO_4 | 3 min, 100°C | všechny | purpurové |

Obr. 33: Přehled reakcí derivátů furanu

2.2.4.2 Postup

Příprava roztoků:

85% (V/V) kyselina sírová

Anthronové činidlo: 1,00 g anthronu se rozpustí v kyselině sírové 85% (V/V) a objem se doplní do 1 l kyselinou.

Standardní roztok D-glukózy (40 mg/l).

2 ml vzorku piva bylo pipetováno do odměrné baňky na 500 ml a zředěno vodou. Do uzavřené zkumavky byly pipetovány 3 ml zředěného vzorku piva. Zkumavky a anthronové činidlo byly ochlazeny na teplotu 2 až 4 °C. Do zkumavky se vzorkem piva bylo přidáno 10 ml vychlazeného anthronového činidla a za chlazení důkladně promícháno. Po promíchání byla zkumavka umístěna ihned do vodní lázně při $95 \pm 0,5$ °C a byla tam nechána přesně 20 minut. Pak byla rychle zchlazena na 20 ± 1 °C. Absorbance byla změřena při 625 nm v 10 mm kyvetě proti slepému roztoku. U slepého roztoku byly pipetovány 3 ml vody do uzavřené zkumavky a u kalibračního roztoku byly pipetovány do uzavřené zkumavky 3 ml D-glukózy o koncentraci 40 mg/l. Další postup byl stejný jako u vzorku piva [33].

2.2.5 Analyzované vzorky pív

Bylo analyzováno 65 pív, které byly rozděleny do čtyř skupin – výčepní piva (desítka), ležáky (dvanáctky), speciální piva a zahraniční piva. Všechna piva byla lahvová a byla zakoupena v běžné obchodní síti nebo v pivotékách.

Tabulka č. 2: Seznam výčepních pív

| Číslo vzorku | Název | EPM | Obj. % alkoholu | Výrobce | Označení |
|--------------|-----------------------------------|-------|-----------------|-------------------------------------|--------------|
| 7. | Bulač | 10° | 4,2 % | Slezský pivovar Havířov-Město | |
| 8. | Krušovice 10 | 10,2° | 4,2 % | Pivovar Krušovice | „České pivo“ |
| 9. | Svijanská Desítka | 10° | 4,0 % | Pivovar Svijany | |
| 10. | Holba Šerák | 11° | 4,7 % | Pivovar Holba Hanušovice | |
| 11. | Pražáčka | 9,7° | 4,0 % | Tradiční pivovar v Rakovníku | „České pivo“ |
| 24. | Opat Bitter | 10° | 4,0 % | Pivovar Broumov | |
| 25. | Chotěboř Original | 10° | 4,1 % | Pivovar Chotěboř | |
| 26. | Delegát | 10° | 4,0 % | Zámecký pivovar Břeclav | |
| 27. | Čechmistrovský Grunt | 10° | 4,0 % | Pivovar Vyškov | |
| 28. | Zámecká desítka | 10° | 4,2 % | Zámecký pivovar Bratčice | |
| 29. | Bohemia Regent super výčepní | 11° | 4,6 % | Pivovar Bohemia Regent Třeboň | |
| 59. | Gambrinus Originál 10° | 10° | 4,2 % | Pivovar Rohozec Malý Rohozec | „České pivo“ |
| 60. | Samson Světlé výčepní 10° | 10° | 4,0 % | Pivovar Protivín | „České pivo“ |
| 61. | Podskalák | 10° | 4,0 % | Budějovický Budvar České Budějovice | |
| 62. | Platan 10% | 10° | 4,0 % | Pivovar Ferdinand Benešov | |
| 63. | Budějovický Budvar Světlé výčepní | 10° | 4,0 % | Tradiční pivovar v Rakovníku | „České pivo“ |
| 64. | Ferdinand Výčepní světlé 10% | 10° | 4,2 % | Pivovar Rohozec Malý Rohozec | |
| 65. | Bakalář | 10° | 4,0 % | Pivovar Protivín | „České pivo“ |

Tabulka č. 3: Seznam ležáků

| Číslo vzorku | Název | EPM | Obj. % alkoholu | Výrobce | Označení |
|--------------|-------------------------------------|-------|-----------------|--|--------------|
| 5. | Štajgr | 12° | 5,0 % | Slezský pivovar Havířov-Město | |
| 12. | Bernard Sváteční ležák s kvasnicemi | 9,7° | 4,0 % | Tradiční pivovar v Rakovníku | „České pivo“ |
| 13. | Radegast Ryze Hořká 12 | 12° | 5,0 % | Rodinný pivovar Bernard | „České pivo“ |
| 14. | Budweiser Budvar světlý ležák | 12° | 5,1 % | Pivovar Radegast Nošovice | „České pivo“ |
| 15. | Ferdinand Ležák světlý premium 12% | 11,9° | 5,0 % | Budějovický Budvar České Budějovice | |
| 16. | Pilsner Urquell | 11,6° | 4,4 % | Pivovar Plzeňský Prazdroj Plzeň | „České pivo“ |
| 17. | Gambrinus Premium | 11,8° | 5,0 % | Pivovar Gambrinus Plzeň | „České pivo“ |
| 36. | Vévoda | 11° | 4,5 % | Pivovar Vysoký Chlumeč | |
| 37. | Krakonoš 12° světlý | 12° | 5,1 % | Pivovar Krakonoš Trutnov-Horní Předměstí | |
| 38. | Rychtář Premium | 12° | 5,0 % | Pivovar Rychtář Hlinsko v Čechách | |
| 39. | Černohorský Ležák | 12° | 4,8 % | Pivovar Černá Hora | „České pivo“ |
| 40. | Krušovice 12 | 12,2° | 5,0 % | Pivovar Krušovice | „České pivo“ |
| 41. | Kanec | 12° | 5,0 % | Zámecký pivovar Břeclav | |
| 42. | Lobkowicz Premium Ležák | 12,2° | 4,7 % | Pivovar Protivín | |
| 43. | Záviš 12° | 12,4° | 5,2 % | Měšťanský pivovar v Poličce | „České pivo“ |

Tabulka č. 4: Seznam speciálních piv

| Číslo vzorku | Název | EPM | Obj. % alkoholu | Výrobce | Označení |
|--------------|--------------------------------|-------|-----------------|--|--------------|
| 1. | Pivín | 14° | 6,0 % | Zámecký pivovar Břeclav | |
| 2. | Comenius | 14° | 6,0 % | Pivovar Uherský Brod | |
| 3. | Hupcuk ALE | 11° | 5,0 % | Slezský pivovar Havířov-Město | |
| 4. | Permon Angry Beer IPA | 20° | 8,0 % | Pivovar Permon Sokolov | |
| 6. | Jihlavský Grand | 18° | 8,0 % | Pivovar Jihlava | |
| 30. | Mazák 15° India Pale Lager | 15,5° | 6,0 % | Pivovar Mazák Dolní Bojanovice | |
| 31. | Konrad 14° | 14° | 6,0 % | Pivovar Konrad Liberec-Vratislavice n.N. | |
| 32. | Třináctka 13% | 13° | 6,0 % | Pivovar Rohozec Malý Rohozec | |
| 33. | Valdštejn | 16° | 7,0 % | Pivovar Nová paka | |
| 34. | Generál 14° | 14° | 6,0 % | Pivovar Vyškov | |
| 35. | Chodovar Zámecký ležák Speciál | 13° | 5,1 % | Rodinný pivovar Chodovar Chodová Planá | „České pivo“ |
| 52. | Bastard | 14° | 6,1 % | Pivovar Herold Březnice u Příbrami | |
| 53. | Herold Bohemia Bronze Lager | 14° | 5,8 % | Pivovar Herold Březnice u Příbrami | |
| 54. | Nomád - Pelikán 16° IPA | 16° | 7,5 % | Létající pivovar Nomád Děčín | |
| 55. | Flying Cloud India Pale Ale | 14° | 5,5 % | Pivovar Vysoký Chlumeč | |
| 56. | Ferdinand d'Este | 15° | 6,5 % | Pivovar Ferdinand Benešov | |
| 57. | Bogan | 13° | 5,5 % | Postřižinský pivovar Nymburk | |
| 58. | Kocour Haka NZ Lager | 15° | 5,6 % | Pivovar Kocour Varnsdorf | |

Tabulka č. 5: Seznam zahraničních piv

| Číslo vzorku | Název | EPM | Obj. % alkoholu | Výrobce | Země původu |
|--------------|------------------------------|-------|-----------------|---|----------------|
| 18. | Cieszyńskie Double IPA | 18° | 8,0 % | Pivovar Browar Zamkowy Cieszyn | Polsko |
| 19. | Emelisse American Pale Ale | | 3,5 % | Pivovar Brouwerij Emelisse Kamperland | Holandsko |
| 20. | Flying Dog K-9 Winter Ale | | 7,4 % | Pivovar Flying Dog Maryland | USA |
| 21. | Wychwood - Dr Thirsty's No.4 | | 4,1 % | Pivovar Wychwood Witney | Velká Británie |
| 22. | Kasteel Hoppy | | 6,5 % | Pivovar Van Honebrouck Emelgem | Belgie |
| 23. | Fullers London Pride 12° | | 4,7 % | Pivovar Griffin, Londýn | Velká Británie |
| 44. | Bornem Triple | | 9,0 % | Pivovar Brouwerij Van Steenberge Ertvelde | Belgie |
| 45. | Pauwel Kwak | | 8,4 % | Pivovar Boostels Buggenhout | Belgie |
| 46. | Augustijn Blond | 16° | 7,0 % | Pivovar Brouwerij Van Steenberge Ertvelde | Belgie |
| 47. | DirtWolf Double IPA | | 8,7 % | Pivovar Victory Downingtown | USA |
| 48. | Anno 1050 | 13° | 5,5 % | Klášteří pivovar Weltenburger Regensburg | Německo |
| 49. | Spaten Oktoberfestbier | 13,7° | 5,9 % | Pivovar Spaten-Franziskaner-Bräu Mnichov | Německo |
| 50. | Monchoshof Kellerbier | 12° | 5,4 % | Pivovar Kulmbacher Brauerei AG Kulmbach | Německo |
| 51. | Fullers IPA | 13,3° | 5,3 % | Pivovar Griffin, Londýn | Velká Británie |

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

Stanovení základních analytických parametrů piva je důležitou součástí posouzení jeho kvality. Práce byla zaměřena na analýzu kvantitativních parametrů piva – celkového obsahu bílkovin a celkového obsahu sacharidů a kvalitativního parametru piva – celkových polyfenolů. Mezi českými pivy byly analyzovány výčepní piva (10°), ležáky (12°) a vícestupňová speciální piva. U českých výčepních piv a ležáků bylo provedeno srovnání v obsahu celkových sacharidů mezi pivy, která používají označení „České pivo“ a mezi pivy, která toto označení nepoužívají. U českých speciálních piv a zahraničních piv byla provedena pro celkové bílkoviny a celkové sacharidy analýza rozptylů – Tukeyův test. U všech analyzovaných piv byla provedena průzkumová analýza celkových bílkovin a celkových sacharidů krabicovým grafem.

Tabulka č. 6: Celkový obsah bílkovin, polyfenolů a sacharidů v analyzovaných výčepních pivech

| Číslo vzorku | Název | Celkové bílkoviny (g/l) | Celkové polyfenoly (g/l) | Celkové sacharidy (g/l) |
|--------------|-----------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 7. | Bulač | 5,07 | 0,4976 | 38,35 |
| 8. | Krušovice 10 | 5,09 | 0,4798 | 26,62 |
| 9. | Svijanská Desítka | 4,70 | 0,4347 | 27,86 |
| 10. | Holba Šerák | 5,03 | 0,4371 | 29,34 |
| 11. | Pražáčka | 4,79 | 0,3548 | 26,17 |
| 24. | Opat Bitter | 4,83 | 0,3837 | 36,00 |
| 25. | Chotěboř Original | 5,82 | 0,5789 | 30,02 |
| 26. | Delegát | 4,57 | 0,4371 | 32,09 |
| 27. | Cechmistrovský Grunt | 4,74 | 0,4635 | 17,27 |
| 28. | Zámecká desítka | 4,72 | 0,5069 | 28,46 |
| 29. | Bohemia Regent super výčepní | 5,02 | 0,4687 | 26,54 |
| 59. | Gambrinus Originál 10° | 4,24 | * | 27,94 |
| 60. | Samson Světlé výčepní 10° | 4,22 | * | 28,77 |
| 61. | Podskalák | 3,58 | * | 24,44 |
| 62. | Platan 10% | 4,91 | * | 33,60 |
| 63. | Budějovický Budvar Světlé výčepní | 3,95 | * | 26,79 |
| 64. | Ferdinand Výčepní světlé 10% | 5,00 | * | 24,33 |
| 65. | Bakalář | 3,83 | * | 28,05 |

Tabulka č. 7: Celkový obsah bílkovin, polyfenolů a sacharidů v analyzovaných ležácích

| Číslo vzorku | Název | Celkové bílkoviny (g/l) | Celkové polyfenoly (g/l) | Celkové sacharidy (g/l) |
|--------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 5. | Štajgr | 6,07 | 0,6267 | 40,00 |
| 12. | Bernard Sváteční ležák s kvasnicemi | 5,98 | 0,8295 | 34,08 |
| 13. | Radegast Ryze Hořká 12 | 5,85 | 0,7720 | 30,71 |
| 14. | Budweiser Budvar světlý ležák | 4,80 | 0,6657 | 27,81 |
| 15. | Ferdinand Ležák světlý premium 12% | 6,52 | 0,7006 | 29,66 |
| 16. | Pilsner Urquell | 6,03 | 0,7203 | 40,29 |
| 17. | Gambrinus Premium | 5,66 | 0,7812 | 33,25 |
| 36. | Vévoda | 5,26 | * | 30,32 |
| 37. | Krakonoš 12° světlý | 5,03 | * | 31,21 |
| 38. | Rychtář Premium | 5,33 | * | 27,29 |
| 39. | Černohorský Ležák | 5,14 | * | 31,89 |
| 40. | Krušovice 12 | 5,56 | * | 30,98 |
| 41. | Kanec | 4,48 | * | 40,41 |
| 42. | Lobkowicz Premium Ležák | 5,50 | * | 40,32 |
| 43. | Záviš 12° | 4,21 | * | 32,61 |

Tabulka č. 8: Celkový obsah bílkovin, polyfenolů a sacharidů v analyzovaných speciálních pivech

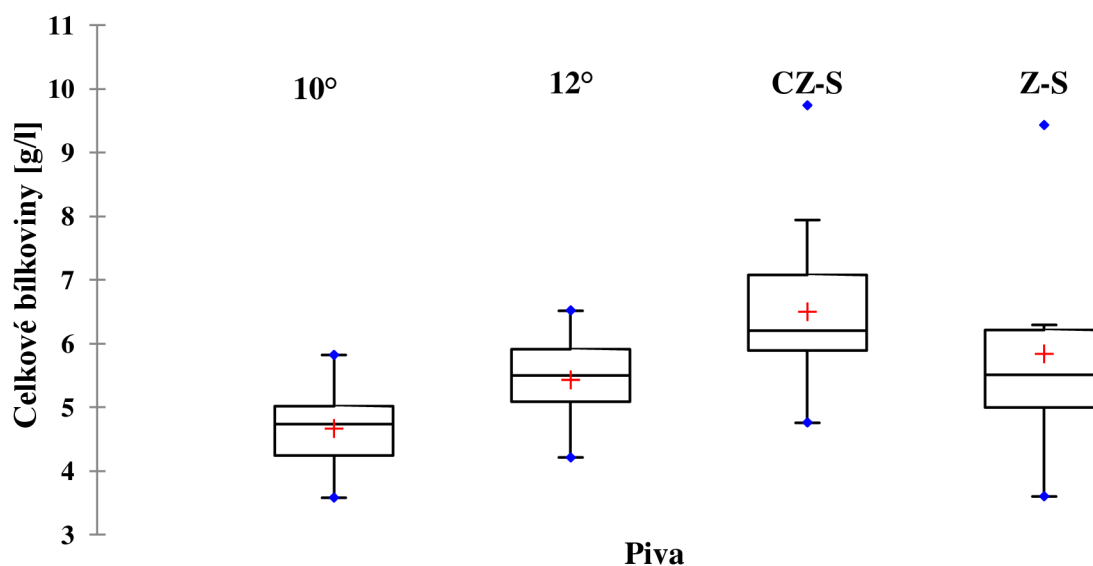
| Číslo vzorku | Název | Celkové bílkoviny (g/l) | Celkové polyfenoly (g/l) | Celkové sacharidy (g/l) |
|--------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 1. | Pivín | 5,02 | 0,5382 | 34,24 |
| 2. | Comenius | 6,21 | 0,6523 | 46,00 |
| 3. | Hupcuk ALE | 4,39 | 0,4895 | 23,37 |
| 4. | Permon Angry Beer IPA | 9,54 | 1,0665 | 67,68 |
| 6. | Jihlavský Grand | 9,74 | 0,8223 | 64,62 |
| 30. | Mazák 15° India Pale Lager | 6,70 | 0,7006 | 48,54 |
| 31. | Konrad 14° | 6,20 | 0,5670 | 35,24 |
| 32. | Třináctka 13% | 5,82 | 0,6416 | 32,50 |
| 33. | Valdštejn | 4,76 | 0,5139 | 35,79 |
| 34. | Generál 14° | 6,42 | 0,7173 | 40,48 |
| 35. | Chodovar Zámecký ležák Speciál | 6,03 | 0,6349 | 39,52 |
| 52. | Bastard | 6,03 | * | 46,55 |
| 53. | Herold Bohemia Bronze Lager | 5,97 | * | 47,51 |
| 54. | Nomád - Pelikán 16° IPA | 7,94 | * | 44,64 |
| 55. | Flying Cloud India Pale Ale | 6,91 | * | 45,62 |
| 56. | Ferdinand d'Este | 7,26 | * | 33,60 |
| 57. | Bogan | 5,60 | * | 34,42 |
| 58. | Kocour Haka NZ Lager | 7,25 | * | 39,94 |

U vzorků piv označených * byla analýza celkových polyfenolů provedena v rámci bakalářské práce Tobiáše Nguyena (2016).

Tabulka č. 9: Celkový obsah bílkovin a sacharidů v analyzovaných zahraničních pivech

| Číslo vzorku | Název | Celkové bílkoviny (g/l) | Celkové sacharidy (g/l) |
|--------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 18. | Cieszyńskie Double IPA | 8,42 | 41,13 |
| 19. | Emelisse American Pale Ale | 3,64 | 26,93 |
| 20. | Flying Dog K-9 Winter Ale | 9,43 | 51,68 |
| 21. | Wychwood - Dr Thirsty's No.4 | 3,72 | 28,28 |
| 22. | Kasteel Hoppy | 4,93 | 17,39 |
| 23. | Fullers London Pride 12° | 5,51 | 32,14 |
| 44. | Bornem Triple | 3,60 | 42,69 |
| 45. | Pauwel Kwak | 8,16 | 53,58 |
| 46. | Augustijn Blond | 5,97 | 38,72 |
| 47. | DirtWolf Double IPA | 6,29 | 34,83 |
| 48. | Anno 1050 | 5,51 | 38,99 |
| 49. | Spaten Oktoberfestbier | 5,83 | 33,75 |
| 50. | Monchoshof Kellerbier | 5,21 | 30,34 |
| 51. | Fullers IPA | 5,49 | 28,90 |

Graf č. 1: Krabicový graf celkového obsahu bílkovin ve výčepních pivech, v ležácích, ve speciálních pivech a v zahraničních pivech



3.1 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu bílkovin

Hodnota mediánu výčepních piv (10°) je 4,74, dolního kvartilu 4,24 a horního kvartilu 5,02. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 3,58 – 5,82. Ve výběru se nacházejí odlehlé hodnoty na obou koncích vousů a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v pravé části krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Hodnota mediánu ležáků (12°) je 5,50, dolního kvartilu 5,09 a horního kvartilu 5,92. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 4,21 – 6,52. Ve výběru se nacházejí odlehlé

hodnoty na obou koncích vousů a žádné extrémní hodnoty. Medián leží ve středu krabice a zároveň levý vous je delší než pravý.

Hodnota mediánu speciálních piv je 6,20, dolního kvartilu 5,90 a horního kvartilu 7,08. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 4,76 – 7,94. Ve výběru se nachází odlehlá hodnota na konci levého vousu, odlehlá hodnota 9,74 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v levé části krabice a zároveň levý vous je nepatrně delší než pravý.

Hodnota mediánu zahraničních piv je 5,51, dolního kvartilu 5,00 a horního kvartilu 6,21. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 3,60 – 6,29. Ve výběru se nachází odlehlá hodnota na konci levého vousu, odlehlá hodnota 9,43 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v levé části krabice a zároveň levý vous je výrazně delší než pravý.

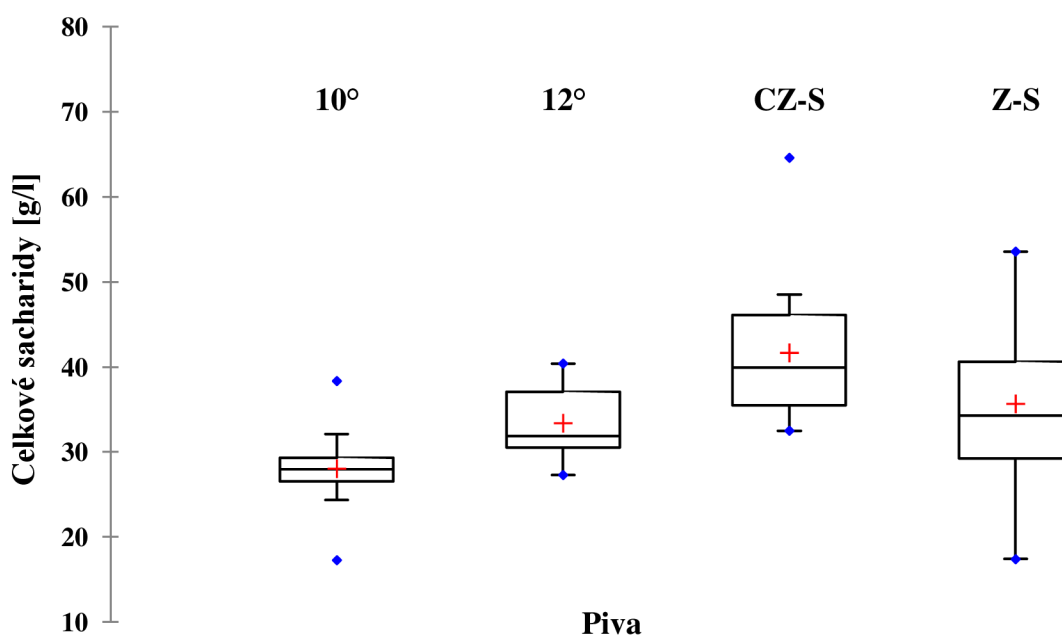
Bílkoviny v pivu pochází z ječmene a z něj vyrobeného sladu. Při výrobě vícešupňových piv se používá větší množství sladu, a proto tato piva obsahují více bílkovin než piva výčepní. Na krabicovém grafu je vidět vzrůstající hodnoty bílkovin od výčepních piv přes ležáky až ke speciálním pivům. Zahraniční speciální piva, která jsou vyrobená jiným způsobem než česká piva a z jiných surovin, mají nižší množství bílkovin než české speciální piva.

Stanovení celkových bílkovin může být zatíženo chybou, protože k tomu přispívají volné aminokyseliny, které jsou obsaženy v pivu. V největším množství je v pivu obsažen prolin. V českých pivech se nejvíce vyskytuje devět aminokyselin, které patří do tří výrazných chuťových skupin. Hořké aminokyseliny jsou isoleucin, leucin, lysin, fenylalanin a histidin, hořkosladké aminokyseliny jsou valin a prolin a slané umami aminokyseliny jsou kyselina glutamová a asparagová [36].

Koncentrace celkových bílkovin může být mírně zkreslená biuretovou reakcí, při které reagují kromě aminokyselin i deriváty aminokyselin, dipeptidy a jiné organické sloučeniny. Silnou reaktivitu v biuretové reakci mají aminokyseliny histidin, asparagin, threonin a serin [37]. Biuretovou reakci obecně poskytují látky obsahující v molekule alespoň dvě peptidové vazby (-CO-NH-) nebo dvě skupiny -CO-NH₂. Reakce tedy není specifická pouze pro bílkoviny. V alkalickém prostředí v přítomnosti měďnatých solí dávají bílkoviny fialové zbarvení, vhodné k fotometrickému stanovení. V průběhu reakce se vytvářejí komplexní sloučeniny Cu²⁺ s ionty peptidových vazeb. Ke stanovení celkových bílkovin v pivu bývá použita Lowryho metoda, která je mnohem citlivější než biuretová metoda, je však závislá na aminokyselinovém složení, zejména na aromatických aminokyselinách tyrosinu a tryptofanu.

V průměrném složení dvanáctišupňového světlého českého ležáku je uváděno 4,3 g/l bílkovin (2007) [2]. Pay a kol. [39] stanovil u 15 vzorků piv indických světlých ležáků obsahy bílkovin v rozmezí 2,04 – 5,41 g/l. Koncentrace bílkovin 15 piv českých světlých ležáků (12°), které jsou uvedené v Tabulce č. 7, se pohybují v rozmezí 4,21 – 6,07 g/l. České ležáky obsahují více bílkovin než zahraniční ležáky, což je dáno jinou technologií výroby piva a použitím jiných surovin.

Graf č. 2: Krabicový graf celkového obsahu sacharidů ve výčepních pivech, v ležácích, ve speciálních pivech a v zahraničních pivech



3.2 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu sacharidů

Hodnota mediánu výčepních piv (10°) je 27,94, dolního kvartilu 26,54 a horního kvartilu 29,34. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 24,33 – 32,09. Ve výběru se nacházejí odlehlé hodnoty 17,27 a 38,35 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží ve středu krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Hodnota mediánu ležáků (12°) je 31,89, dolního kvartilu 30,52 a horního kvartilu 37,04. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 27,29 – 40,41. Ve výběru se nacházejí odlehlé hodnoty na obou koncích vousů a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v levé části krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Hodnota mediánu speciálních piv je 39,94, dolního kvartilu 35,52 a horního kvartilu 46,09. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 32,50 – 48,54. Ve výběru se nachází odlehlá hodnota na konci levého vousu, odlehlá hodnota 64,62 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v levé části krabice a zároveň levý vous je nepatrně delší než pravý.

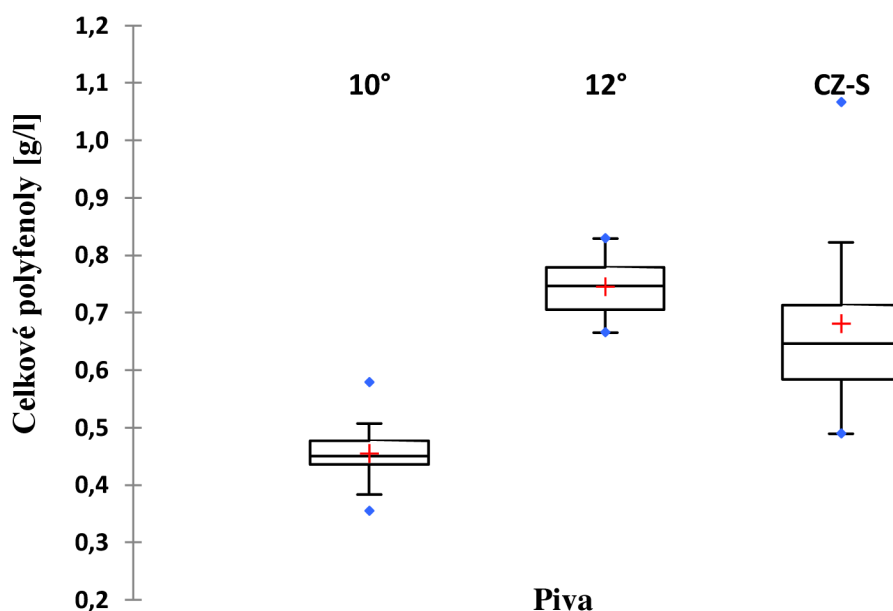
Hodnota mediánu zahraničních piv je 34,29, dolního kvartilu 29,26 a horního kvartilu 40,60. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 17,39 – 53,58. Ve výběru se nacházejí odlehlé hodnoty na obou koncích vousů a žádné extrémní hodnoty. Medián leží v levé části krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Pivo se vyrábí z ječmene, který je bohatý na sacharidy. Sacharidy jsou hlavním zdrojem energie v pivu a jsou velmi důležitým parametrem z nutričního hlediska. Mezi hlavní sacharidy, které jsou přítomné v pivu, patří glukosa, maltosa, maltotriosa, dextriny a arabinosylany. Zkvasitelné cukry přispívají ke sladkosti piva. Velká podobnost krabicového grafu celkového obsahu sacharidů s krabicovým grafem celkového obsahu bílkovin svědčí o

vlivu ječmene, což je vstupní surovina. Čím více ječmene je přidáno do výroby piva, tím je pivo vícestupňové a obsahuje více sacharidů.

Stanovením celkového obsahu sacharidů v pivu se zabývá poměrně málo studií. V průměrném složení dvanáctistupňového světlého českého ležáku je uváděno 30 g/l sacharidů [2]. Pay a kol. uvádí pro 15 vzorků piv indických světlých ležáků koncentraci sacharidů v rozmezí 16,3 – 92,1 g/l [39]. Jurková a kol. u 15 vzorků piv ležáků stanovili obsahy sacharidů v rozmezí 28,5 – 43,5 g/l [38]. Obsahy sacharidů 15 piv českých světlých ležáků (12°), které jsou uvedené v Tabulce č. 7, se pohybují v rozmezí 27,29 – 40,41 g/l. Naměřené koncentrace sacharidů v této diplomové práci jsou podobné s koncentracemi sacharidů uváděných Jurkovou a kol. [38], které byly změřeny metodou enzymatického štěpení a vysoce účinnou kapalinovou chromatografií s refraktometrickou detekcí.

Graf č. 3: Krabicový graf celkového obsahu polyfenolů ve výčepních pivech, v ležácích a ve speciálních pivech



3.3 Interpretace krabicového grafu celkového obsahu polyfenolů

Hodnota mediánu výčepních piv (10°) je 0,4503, dolního kvartilu 0,4353 a horního kvartilu 0,4770. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 0,3837 – 0,5069. Ve výběru se nacházejí odlehle hodnoty 0,3548 a 0,5789 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží ve středu krabice a zároveň levý vous je delší než pravý.

Hodnota mediánu ležáků (12°) je 0,7462, dolního kvartilu 0,7055 a horního kvartilu 0,7789. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 0,6657 – 0,8295. Ve výběru se nacházejí odlehle hodnoty na obou koncích vousů a žádné extrémní hodnoty. Medián leží ve středu krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Hodnota mediánu speciálních piv je 0,6470, dolního kvartilu 0,5840 a horního kvartilu 0,7131. Rozsah nevybočujících hodnot je v rozmezí 0,4895 – 0,8223. Ve výběru se nachází odlehlá hodnota na konci levého vousu, odlehlá hodnota 1,0665 a žádné extrémní hodnoty. Medián leží ve středu krabice a zároveň levý vous je nepatrně kratší než pravý.

Polyfenoly v pivu pocházejí ze sladu a z chmele. Polyfenolové sloučeniny mají vliv na antioxidační aktivitu a senzoryckou stabilitu piva.

Na krabicovém grafu jsou vidět vzrůstající koncentrace polyfenolů od výčepní piva po ležáky. Koncentrace polyfenolů v případě speciálních piv jsou nižší než u 12° ležáků, což může být ovlivněno současným trendem nabídky více hořkých, či-li více chmelených nejprodávanějších piv 12° ležáků.

V průměrném složení dvanáctistupňového světlého českého ležáku je uváděno 0,185 g/l polyfenolů (2007) [2]. Pay a kol u 15 vzorků piv indických světlých ležáků stanovil koncentraci polyfenolů v rozmezí 0,160 – 0,620 g/l [39]. Piazzon a kol. stanovil u 5 vzorků piv zahraničních ležáků koncentraci polyfenolů 0,452 g/l [40]. Obruča a kol. u 7 vzorků českých piv bez udání stupňovitosti stanovil koncentraci polyfenolů v rozmezí 0,156 – 0,201 g/l [41]. Olšovská a kol. dlouhodobě analyzovali vzorky piv českých ležáků a stanovili koncentraci polyfenolů v letech 1999, 2002, 2007 a 2012, který se pohyboval v rozmezí 0,133 – 0,179 g/l [42]. Koncentrace celkových polyfenolů 15 piv českých světlých ležáků (12°), které jsou uvedené v Tabulce č. 8, se pohybují v rozmezí 0,4895 – 1,0665 g/l. Jednou z charakteristických vlastností českých piv je vyšší koncentrace polyfenolů než u zahraničních piv, což výsledky jednoznačně potvrzují.

3.4 Interpretace Tukey (HSD) testů

Tukey test je vícenásobný srovnávací test a provádí se na základě analýzy rozptylu (ANOVA). Účelem Tukey (HSD) testu je zjistit, které skupiny se liší.

Tukey test rozdělil na základě celkového obsahu bílkovin 18 speciálních piv do 10 skupin. Hodnoty pro toto rozdělení jsou uvedeny v Tabulce č. 8. V tomto rozdělení lze vidět 5 skupin podle stupňovitosti piv. Ve skupině A jsou nejsilnější 18° a 20° piva. Ve skupině B je jedno 16° pivo. Skupina C a D je zastoupena 15,5° a 15° pivy. Ve skupině E, F, G, H a I jsou 14° piva spolu s 13°. V poslední skupině J je nejslabší 11° pivo.

Tukey test rozdělil na základě celkového obsahu bílkovin 14 zahraničních piv do 8 skupin. Hodnoty pro toto rozdělení jsou uvedeny v Tabulce č. 9. Ve skupině nejsilnějších piv jsou více chmelená piva označená strong ALE, IPA 18° a triple ALE. Ve skupině nejslabších piv H jsou piva typu ALE, které svou stupňovostí patří mezi výčepní piva.

Tukey test rozdělil na základě celkového obsahu sacharidů 18 speciálních piv do 12 skupin. Hodnoty pro toto rozdělení jsou uvedeny v Tabulce č. 8. Ve skupině A a B jsou opět nejsilnější 18° a 20° piva a ve skupině L je nejslabší 11° pivo. Mezi těmito dvěma skupinami jsou ostatní piva se stupňovostí 13° – 16°.

Tukey test rozdělil na základě celkového obsahu sacharidů 14 zahraničních piv do 12 skupin. Hodnoty pro toto rozdělení jsou uvedeny v Tabulce č. 9. Piva jsou podle stupňovitosti rozdělena nerovnoměrně. Podobnosti u těchto piv se nepodařilo zjistit, každé pivo je typově

jiné. Důvodem může být skutečnost, že piva jsou vyráběná různými technologiemi z různých surovin v různých evropských státech a USA.

Tabulka č. 10: Tukey (HSD) test celkového obsahu bílkovin ve speciálních pivech

| Category | LS means | Standard error | Groups |
|----------|----------|----------------|--------|
| 6. | 9,740 | 0,078 | A |
| 4. | 9,542 | 0,078 | A |
| 54. | 7,941 | 0,078 | B |
| 56. | 7,262 | 0,078 | C |
| 58. | 7,247 | 0,078 | C |
| 55. | 6,910 | 0,078 | C D |
| 30. | 6,704 | 0,078 | D E |
| 34. | 6,417 | 0,078 | E F |
| 2. | 6,207 | 0,078 | F G |
| 31. | 6,202 | 0,078 | F G |
| 52. | 6,026 | 0,078 | F G |
| 35. | 6,026 | 0,078 | F G |
| 53. | 5,973 | 0,078 | G H |
| 32. | 5,816 | 0,078 | G H |
| 57. | 5,601 | 0,078 | H |
| 1. | 5,008 | 0,095 | I |
| 33. | 4,761 | 0,078 | I J |
| 3. | 4,385 | 0,078 | J |

Tabulka č. 11: Tukey (HSD) test celkového obsahu sacharidů ve speciálních pivech

| Category | LS means | Standard error | Groups |
|----------|----------|----------------|--------|
| 4. | 67,678 | 0,210 | A |
| 6. | 64,616 | 0,210 | B |
| 30. | 48,542 | 0,210 | C |
| 53. | 47,514 | 0,210 | C D |
| 52. | 46,546 | 0,210 | D E |
| 2. | 46,003 | 0,210 | E |
| 55. | 45,624 | 0,210 | E F |
| 54. | 44,637 | 0,210 | F |
| 34. | 40,479 | 0,210 | G |
| 58. | 39,944 | 0,210 | G |
| 35. | 39,521 | 0,210 | G |
| 33. | 35,792 | 0,210 | H |
| 31. | 35,243 | 0,210 | H I |
| 57. | 34,423 | 0,210 | I J |
| 1. | 33,977 | 0,257 | J |
| 56. | 33,604 | 0,210 | J K |
| 32. | 32,499 | 0,210 | K |
| 3. | 23,365 | 0,210 | L |

Tabulka č. 12: Tukey (HSD) test celkového obsahu bílkovin v zahraničních pivech

| Category | LS means | Standard error | Groups |
|----------|----------|----------------|--------|
| 20. | 9,435 | 0,050 | A |
| 18. | 8,400 | 0,062 | B |
| 45. | 8,160 | 0,050 | B |
| 47. | 6,290 | 0,050 | C |
| 46. | 5,972 | 0,050 | D |
| 49. | 5,826 | 0,050 | D |
| 23. | 5,514 | 0,050 | E |
| 48. | 5,513 | 0,050 | E |
| 51. | 5,489 | 0,050 | E |
| 50. | 5,211 | 0,050 | F |
| 22. | 4,932 | 0,050 | G |
| 21. | 3,716 | 0,050 | H |
| 19. | 3,643 | 0,050 | H |
| 44. | 3,604 | 0,050 | H |

Tabulka č. 13: Tukey (HSD) test celkového obsahu sacharidů v zahraničních pivech

| Category | LS means | Standard error | Groups |
|----------|----------|----------------|--------|
| 45. | 53,584 | 0,159 | A |
| 20. | 51,675 | 0,159 | B |
| 44. | 42,693 | 0,159 | C |
| 18. | 41,085 | 0,195 | D |
| 48. | 38,988 | 0,159 | E |
| 46. | 38,719 | 0,159 | E |
| 47. | 34,828 | 0,159 | F |
| 49. | 33,751 | 0,159 | G |
| 23. | 32,143 | 0,159 | H |
| 50. | 30,344 | 0,159 | I |
| 51. | 28,904 | 0,159 | J |
| 21. | 28,281 | 0,159 | J |
| 19. | 26,931 | 0,159 | K |
| 22. | 17,390 | 0,159 | L |

3.5 Srovnání celkového obsahu sacharidů u skupiny piv používající označení „České pivo“ s pivy, která toto označení nepoužívají

Tabulka č. 14: Srovnání celkového obsahu sacharidů ve výčepních pivech (10°), které používají označení „České pivo“ a mezi pivy, které toto označení nepoužívají

| Číslo vzorku | Název piva s označením „České pivo“ | Celkové sacharidy (g/l) | Číslo vzorku | Název piva bez označení | Celkové sacharidy (g/l) |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|
| 8. | Krušovice 10 | 26,62 | 7. | Bulač | 38,35 |
| 11. | Pražacka | 26,17 | 9. | Svijanská Desítka | 27,86 |
| 59. | Gambrinus Originál 10° | 27,94 | 10. | Holba Šerák | 29,34 |
| 60. | Samson Světlé výčepní 10° | 28,77 | 24. | Opat Bitter | 36,00 |
| 63. | Budějovický Budvar Světlé výčepní | 26,79 | 25. | Chotěboř Original | 30,02 |
| 65. | Bakalář | 28,05 | 26. | Delegát | 32,09 |
| Směrodatná odchylka: | | 0,9205 | 27. | Cechmistrovský Grunt | 17,27 |
| Rozptyl: | | 0,8473 | 28. | Zámecká desítka | 28,46 |
| | | | 29. | Bohemia Regent super výčepní | 26,54 |
| | | | 61. | Podskalák | 24,44 |
| | | | 62. | Platan 10% | 33,60 |
| | | | 64. | Ferdinand Výčepní světlé 10% | 24,33 |
| | | | Směrodatná odchylka: | | 5,4476 |
| | | | Rozptyl: | | 29,6764 |

Tabulka č. 15: Srovnání celkového obsahu sacharidů v ležácích (12°), které používají označení „České pivo“ a mezi pivy, které toto označení nepoužívají

| Číslo vzorku | Název piva s označením „České pivo“ | Celkové sacharidy (g/l) | Číslo vzorku | Název piva bez označení | Celkové sacharidy (g/l) |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 12. | Bernard Sváteční ležák s kvasnicemi | 34,08 | 5. | Štajgr | 40,00 |
| 13. | Radegast Ryze Hořká 12 | 30,71 | 15. | Ferdinand Ležák světlý | 29,66 |
| 14. | Budweiser Budvar světlý ležák | 27,81 | 36. | Vévoda | 30,32 |
| 16. | Pilsner Urquell | 40,29 | 37. | Krakonoš 12° světlý | 31,21 |
| 17. | Gambrinus Premium | 33,25 | 38. | Rychtář Premium | 27,29 |
| 39. | Černohorský Ležák | 31,89 | 41. | Kanec | 40,41 |
| 40. | Krušovice 12 | 30,98 | 42. | Lobkowicz Premium Ležák | 40,32 |
| 43. | Záviš 12° | 32,61 | | | |
| Směrodatná odchylka: | | 3,3784 | Směrodatná odchylka: | | 5,3720 |
| Rozptyl: | | 11,4137 | Rozptyl: | | 28,8582 |

Srovnáním celkového obsahu sacharidů ve výčepních pivech (10°), které používají označení „České pivo“ byla zjištěna směrodatná odchylka i rozptyl menší než 1. U piv, která toto označení nepoužívají, byla zjištěna směrodatná odchylka větší než 5 a rozptyl blízký se k hodnotě 30.

Srovnáním celkového obsahu sacharidů v ležácích (12°), které používají označení „České pivo“ byla zjištěna směrodatná odchylka větší než 3 a rozptyl větší než 10. U piv, která toto označení nepoužívají, byla zjištěna směrodatná odchylka větší než 5 a rozptyl blízký se k hodnotě 30.

Rozdíly mezi pivy, které používají označení „České pivo“ a pivy, které toto označení nepoužívají, byly statisticky nevýznamné. Z výsledků lze usuzovat, že piva, které používají označení „České pivo“, dodržují přesnou proceduru výroby piva a předepsané suroviny. V tomto případě lze předpokládat menší rozptyl koncentrací stanovovaných látek ve vzorcích piv. U skupiny piv, které označení „České pivo“ nepoužívají se dá předpokládat odklonění od předepsané technologie a s tím související výkyv koncentrací stanovovaných látek.

Charakteristické vlastnosti piva, které smí nést označení České pivo, stanovuje specifikace Českého piva zveřejněná v Úředním věstníku EU 2008/C-16/05. V ní je uvedeno, jakými technologickými postupy vzniká. Dále jsou specifikovány suroviny, které musí být k výrobě piva použity, jako jsou ječný slad, chmel, voda odpovídající kvality a druh používaných kvasinek, které zaručují technologii tzv. spodního kvašení. Součástí specifikace je také zeměpisná charakteristika místa, kde je možné české pivo vyprodukovat [43].

4. ZÁVĚR

Chemické složení piva se významně mění v závislosti na složení mladiny, stupni prokvašení a kvalitě výchozích surovin. Jedním ze základních charakteristických znaků piva českého typu je přítomnost neprokvašeného extraktu (tj. česká piva se konzumují ve stadiu dokvašování). Naprostá většina českých piv obsahuje neprokvašený extrakt v rozmezí asi 3 – 12 %. Na druhé straně drtivá většina piv zahraničních je prokvašena úplně nebo téměř úplně (pod 1 %). Dále mají česká piva vyšší barvu, o něco vyšší pH a obsahují více hořkých látek. Naše piva mají také více celkových polyfenolů. Vyšší barva a vyšší obsah polyfenolů jsou důsledkem použití technologického postupu ve varně (tzv. dvourmutového dekokčního postupu), který se v českých pivovarech na rozdíl od zahraničí nejvíce používá. Celková metoda výroby (pečlivě vybírané suroviny, sladování a příprava piva v tradiční oblasti v České republice) dává vzniknout specifickému a jedinečnému produktu s vysokou reputací. Pivu dominuje slad a chmel, je přijatelná slabá příchut' pasterizace, kvasnic či esterů, cizí vůně či příchutě nejsou přípustné. Nižší míra prokvašení znamená nižší obsah alkoholu. Zejména tyto vlastnosti lze považovat za ideální z hlediska schopnosti piva pobízet k dalšímu napití. Úspěch českého piva pramení ze skutečnosti, že vyhovuje velmi dobře lidské fyziologii. Vyšší obsah polyfenolů v českých pivech je velmi významným prvkem, který naše piva odlišuje od piv zahraničních,

Databáze Ministerstva zemědělství evidovala k 13. 10. 2015 čtyři výrobce biopiv. Registrováni jsou Pivovar Holba a. s., Bohemia Regent a. s. a Žatecký pivovar spol. s r. o. a Rodinný pivovar Bernard a.s. Celková spotřeba piva v litrech zahrnuje piva stolní, výčepní, ležáky, víceprocentní - speciální piva, portry. Do spotřeby je započítáno pivo světlé i tmavé, lahvové, sudové a v plechovkách. Neustále vzrůstá spotřeba ležáků. Roste rovněž spotřeba ostatních piv (nízkoalkoholických, speciálů a ochucených piv), naopak klesá spotřeba výčepních piv. I přes nárůst minipivovarů v roce 2014 zůstává výroba piva co do objemu konstantní. Celkový počet minipivovarů přesáhl počet 250.

Cílem této diplomové práce byla detailní charakterizace českých piv z hlediska obsahu celkových sacharidů a bílkovin. V rámci doplňujících analýz byla také u vybraných druhů piv stanovena celková koncentrace polyfenolů. V současné době v literatuře informace o obsahu sacharidů a bílkovin v různých typech piv chybí, případně jsou nejednotné a roztržité. Stanovení celkového obsahu bílkovin byla provedeno často používanou dvousložkovou Hartree-Lowryho metodou s biuretovým činidlem a Folin- Ciocalteu činidlem, kalibračním standardem byl hovězí sérový albumin. Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů byla zvolena běžná metoda rovněž s Folin- Ciocalteu činidlem. Jako kalibrační standard byla použita kyselina gallová. Obsah celkových sacharidů byl stanoven dle Analyticy-EBC s anthronovým činidlem a standardním roztokem glukosy.

Analyzované vzorky piv byly rozděleny do 4 skupin: výčepní piva (10°), ležáky (12°), speciální vícestupňová piva a zahraniční piva. Provedenými analýzami se potvrdilo, že se vzrůstající stupňovitostí piv vzrůstají hodnoty stanovovaných parametrů. Celkové obsahy bílkovin, sacharidů a polyfenolů byly znázorněny krabicovými grafy. Krabicové grafy jsou ve srovnání s prostými spojnicovými grafy pro uživatele mimořádně užitečné tím, že každý bod grafu - každá "krabice" vypovídá o tvaru rozdělení, poloze a variabilitě. Konkrétně je v každém bodu grafu zobrazena minimální a maximální hodnota, medián (prostřední hodnota),

horní a dolní kvartil. Pomáhá odhalit vybočující a extrémní hodnoty v datovém souboru. Hodnoty mediánů celkového obsahu bílkovin v pořadí výčepní piva, ležáky, speciální piva a zahraniční piva byly 4,74; 5,50; 6,20 a 5,51 g/l. Hodnoty mediánů celkového obsahu sacharidů v pořadí výčepní piva, ležáky, speciální piva a zahraniční piva byly 27,94; 31,89, 39,94 a 34,29 g/l. Hodnoty mediánů celkového obsahu polyfenolů v pořadí výčepní piva, ležáky a speciální piva byly 0,4503; 0,7462 a 0,6470 g/l. Medián obsahu polyfenolů ležáků (12°) byl větší než u speciálních vícešupňových piv, což by mohlo souviset s trendem větší hořkosti u ležáků, které se vyrábějí v daleko větším objemu než speciální piva. Zahraniční piva měla ve všech stanoveních nižší obsahy sledovaných látek než podobně šupňovitá česká piva (české speciální piva). Rozdíl je pravděpodobně dán jiným technologickým postupem výroby a použitím jiných surovin.

Srovnání celkového obsahu sacharidů a bílkovin ve výčepních pivech (10°) a ležácích (12°), které používají označení „České pivo“ a mezi pivy, které toto označení nepoužívají ukázalo, že výčepní piva s chráněným označením obsahují poměrně srovnatelné koncentrace celkových sacharidů a bílkovin, neboť technologie výroby těchto piv je přesně daná. Piva vařená jiným technologickým postupem a z jiných vstupních surovin pak vykazují větší rozptyl koncentrací celkových sacharidů a bílkovin. Celkově však lze konstatovat, že rozdíl v koncentraci celkových sacharidů a bílkovin v pivech s označením České pivo byl statisticky nevýznamný v porovnání s pivy vyrobenými v ČR, ale nenesoucími ochranou známku České pivo.

Češi považují české pivo za národní nápoj a část kulturního dědictví. Informace získané v rámci této diplomové práce tak snad umožní hlubší pohled na tento tradiční produkt potravinářského průmyslu.

5. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] CHLÁDEK, L. *Pivovarnictví*. Praha: Grada Publishing, 2007. 208 s. ISBN 978-80-247-1616-9.
- [2] EMMEROVÁ, M. a kolektiv. *Pivo a zdraví*. Plzeň: NAVA – Nakladatelská a vydavatelská agentura, 2007. 108 s. ISBN 978-80-7211-253-1.
- [3] BASAŘOVÁ, G. Historie českého pivovarnictví. *Potravinářská revue – odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*, 2004, č. 2, s. 76-80.
- [4] ZÝBRT, V. *Velká kniha piva*. Olomouc: Rubico, 2005. 288 s. ISBN 80-7346-054-8.
- [5] České pivo – historie a současnost [online]. [cit. 2016-01-28]. Dostupné z: <http://www.pratelepiva.cz/svet-piva/.../historie-a-soucasnost/>
- [6] Označení České pivo využívají už tři čtvrtiny trhu - Aktuálně.cz [online]. [cit. 2016-01-28]. Dostupné z: <http://zpravy.aktualne.cz/.../ceska.../oznaceni-ceske-pivo.../r...>
- [7] BASAŘOVÁ, G., PSOTA, V., ŠAVEL, J., BASAŘ, P., PAULŮ, R., KOSAŘ, K., DOSTÁLEK, P., BASAŘOVÁ, P., KELLNER, V., MIKULÍKOVÁ, R., ČEJKA, P. *Sladařství. Teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. 626 s. ISBN 978-80-87109-47-2.
- [8] BASAŘOVÁ, G., HLAVÁČEK, I., BASAŘ, P., HLAVÁČEK, J. *České pivo*. Praha: Havlíček Brain Team, 2011. 310 s. ISBN 978-80-87109-25-0.
- [9] BASAŘOVÁ, G., ŠAVEL, J., BASAŘ, P., LEJSEK, T. *Pivovarství. Teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2010. 904 s. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [10] Pivo, vitaminy a další důležité látky pro výživu a zdraví člověka [online]. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z: <http://www.ceske-pivo.cz/pivo-vitaminy-dalsi-dulezite-latky...>
- [11] ČÍŽKOVÁ, H., DOSTÁLEK, P., FIALA, J., KOLOUCHOVÁ, I. Význam bílkovin z hlediska pěnivosti a stability pěny piva. *Chemické listy*, 2006, roč. 100, č. 7, str. 478 – 485. ISSN 1213-7103-009-2770.
- [12] Nutriční vlastnosti piva – díl druhý - Pivovary.Info [online]. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z: <http://www.pivovary.info/view.php?cislocclanku...>
- [13] PROKEŠ, J. Technologický význam dusíkatých látek v ječmeni a sladu. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2000, roč. 46, č. 10, s. 277-279. ISSN 0023-5830.

- [14] DVOŘÁKOVÁ, M., DOSTÁLEK, P., HULÍN, P. Analytické metody stanovení polyfenolů ve sladinách, mladínách a pivech. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2006, roč. 52, č. 4, s. 111-114. ISSN 0023-5830.
- [15] PRÝMA, J., HAVLOVÁ, P., ŠUSTA, J., MIKULÍKOVÁ, R., EHRENBERGEROVÁ, J., NĚMEJC, R. Zdravotně významné látky v ječmeni a pivu. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2000, roč. 46, č. 12, s. 350-352. ISSN 0023-5830.
- [16] KELLNER, V., ČEJKA, P., ČULÍK, J., HORÁK, T., JURKOVÁ, M. Pozitivní přínosy piva ke zdraví spotřebitele. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2002, roč. 48, č. 9, s. 244-248. ISSN 0023-5830.
- [17] ČEJKA, P., KELLNER, V., ČULÍK, J., HORÁK, T., JURKOVÁ, M. Charakterizace piva českého typu. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2004, roč. 50, č. 1, s. 3-11. ISSN 0023-5830.
- [18] ČEPIČKA, J., KARABÍN, M.: Polyfenolové látky piva – přirozené antioxidanty. *Chemické listy*, 2002, roč. 96, č. 2, s. 90-95. ISSN 1213-7103-009-2770
- [19] KELLNER, V., ČEJKA, P., MARINOVA, G., BAČVAROV, V., JURKOVÁ, M., ČULÍK, J., HORÁK, T., DVOŘÁK, J., HAŠKOVÁ, D. Studium jednoduchých polyfenolových látek v pivech různé provenience. *Kvasný průmysl – odborný časopis pro výrobu nápojů a biochemické technologie*, 2010, roč. 56, č. 5, s. 234-238. ISSN 0023-5830.
- [20] ANZENBACHER, P., KOVÁŘ, J. *Metody chemického výzkumu pro biochemiky*. Praha: Ministerstvo školství ČSR, 1986. 199 s.
- [21] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Vyd. 2. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [22] ČŮTA, F., POPL, M. *Instrumentální analýza*. Praha: SNTL–Nakladatelství technické literatury, 1986. 296 s.
- [23] ZÝKA, J. A KOLEKTIV. *Analytická příručka*. Vyd. 4. Praha: SNTL–Nakladatelství technické literatury, 1988. 832 s.
- [24] KOLEKTIV AUTORŮ. *Laboratorní cvičení z biochemie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2012. 158 s. ISBN 978-80-244-3328-8.
- [25] KÁŠ J., KODÍČEK, M., VALENTOVÁ, O. *Laboratorní techniky biochemie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2006. 258 s. ISBN 80-7080-586-2.

- [26] Lowryho metoda [online]. [cit. 2016-02-08]. Dostupné z: <http://alma.karlov.mff.cuni.cz/.../StanoveniProteinu.pdf>
- [27] Bílkoviny a aminokyseliny [online]. [cit. 2016-02-08]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/.../Bilkoviny%20a%20aminokyseliny.pd...>
- [28] Stanovení proteinů – UP [online]. [cit. 2016-02-08]. Dostupné z: <http://biochemie.upol.cz/.../KBCBAMStanoveniproteinu08-...>
- [29] PAŘILOVÁ, K. *Studium vybraných aktivních látek v českém pivu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 140 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
- [30] Chemie potravin - laboratorní cvičení [online]. [cit. 2016-02-10]. Dostupné z: <http://web2.mendelu.cz/.../23-kleckerova+navody+2013+op...>
- [31] BOKROVÁ, J. *Zdravotní účinky českého piva*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 59 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
- [32] Sacharidy [online]. [cit. 2015-10-28]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/koplikr/Sacharidy.pdf>
- [33] European Brewery Convention Analysis Committee. *Analytica-EBC*. Nürnberg: Verlag Hans Carl GetränkeFachverlag. 2009. ISBN 978-3-418-00759-5.
- [34] Technologie výroby piva [online]. [cit. 2016-02-12]. Dostupné z: <http://krtekjr.wz.cz/kestazeni/technologie.doc>
- [35] DROZDOVÁ, J. *Situační a výhledová zpráva chmel, pivo. Prosinec 2015*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2015. 48 s. ISBN 978-80-7434-263-9.
- [36] KABELOVÁ, I., DVOŘÁKOVÁ, M., ČÍŽKOVÁ, H., DOSTÁLEK, P., MELZUCH, K. Determination of free amino acids in beers: A comparison of Czech and foreign brands. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, roč. 21, č. 8, s. 736-741. ISSN 0889-1575.
- [37] HORTIN, L. G., MEILINGER, B. Cross-Reactivity of Amino Acids and Other Compounds in the Biuret Reaction: Interference with Urinary Peptide Measurements. *Clinical Chemistry*, 2005, roč. 51, č. 8, s. 1411-1419.
- [38] JURKOVÁ, M., ČEJKA, P., ŠTĚRBA, K., OLŠOVSKÁ J. Determination of Total Carbohydrate Content in Beer Using Its Pre-column Enzymatic Cleavage and HPLC-RI. *Food Anal. Methods*, 2014, č. 7, s. 1677-1686.

[39] PAI, TAPASYA V., SAWANT, SIDDHI Y., GHATAK, ARINDAM A., CHATURVEDI, PALAK A., GUPTE, ARPITA M., DESAI, NEETIN S. Characterization of Indian beers: chemical composition and antioxidant potential. *J Food Sci Technol*, 2015, roč. 52, č. 3, s. 1414-1423.

[40] PIAZZON, A., FORTE, M., NARDINI, M. Characterization of Phenolics Content and Antioxidant Activity of Different Beer Types. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, roč.58, č. 19, s. 10677-10683.

[41] OBRUČA, S., MÁROVÁ, I., PAŘILOVÁ, K., MÜLLER, L., ZDRÁHAL, Z., MIKULÍKOVÁ, R. A Contribution to Analysis of „Czech Beer“ Authenticity. *Czech J. Food Sci.*, 2009, roč. 27, Special Issue, s. 736-741.

[42] OLŠOVSKÁ, J., ČEJKA, P., SIGLER, K., HÖNIGOVÁ, V. The Phenomenon of Czech Beer: a review. *Czech J. Food Sci.*, 2014, roč. 42, č. 4, s. 309-319.

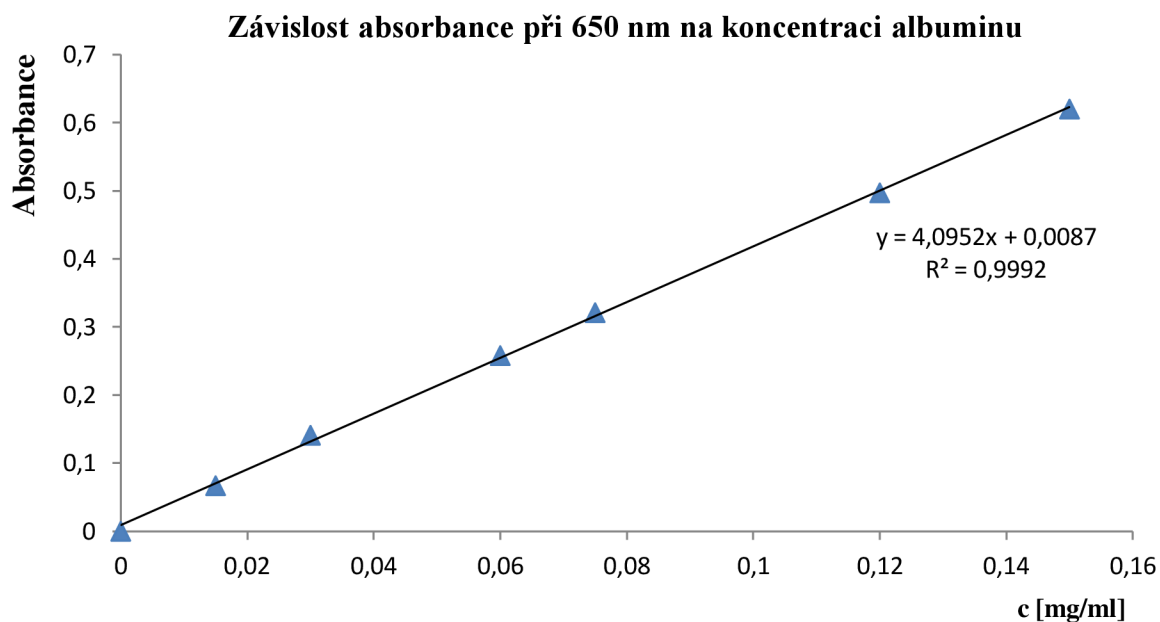
[43] České pivo[online]. [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: [http:// www.ceskepivo.cz/](http://www.ceskepivo.cz/)

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|------------|---|
| A | absorbance |
| BSA | Bovine serum albumin (hovězí sérový albumin) |
| c | koncentrace |
| CCD | charge-coupled device (zařízení se zdvojeným nábojem) |
| DMS | dimetylsulfid |
| EBC | European Brewery Convention |
| EPM | extrakt v původní mladině |
| ϵ | molární absorpční koeficient |
| HDL | High Density Lipoproteins (lipoproteiny s vysokou hustotou) |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) |
| HSD | „honestly“ significant difference |
| IPA | India Pale Ale |
| l | délka kyvety |
| LDL | Low Density Lipoproteins (lipoproteiny s nízkou hustotou) |
| OVA | Ovalbumin |
| PC | Paper Chromatography (papírová chromatografie) |
| T | transmittance |
| TLC | Thin Layer Chromatography (tenkovrstvá chromatografie) |
| UV | ultraviolet (ultrafialové záření) |
| VIS | visible (viditelné záření) |

7. PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Kalibrační křivka pro stanovení celkových bílkovin Hartree-Lowryho metodou



Příloha č. 2: Kalibrační křivka pro stanovení celkových polyfenolů

