

Prvková analýza piv a varních vod metodou neutronové aktivační analýzy

Ivana Krausová¹, Jan Kučera¹, Pavel Dostálek², Václav Potěšil³

¹ Ústav jaderné fyziky AV ČR v.v.i., Řež

² Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha

³ Pivo Praha, s.r.o., Praha

V této studii byl analyzován tradiční český mok v potravinářské analýze netradiční metodou. Neutronovou aktivační analýzou vzorků filtrovaných piv a varních vod bylo zjišťováno, zda lze stanovením některých prvků zjistit, ve kterém pivovaru bylo pivo vyrobeno, tj. určení jeho původu. Již dříve byly analyzovány vzorky filtrovaných piv z pivovarů Staropramen, Budvar, Černá Hora a Litovel. V nich byl sledován obsah křemíku, o němž se tvrdí, že je v pivu přítomen ve formě s vysokou biologickou dostupností¹. Tento esenciální prvek je sice obsažen i v dalších složkách lidské stravy, ale jeho biologická dostupnost je v nich nižší. V této práci byly analyzovány jak lyofilizáty 10° a 12° filtrovaných piv značky Gambrinus ze tří výrobních závodů - Plzeň, Popovice a Radegast, tak varní vody z uvedených závodů a několika dalších pivovarů. Byly sledovány nutričně i analyticky zajímavé prvky jako je Si, Na, K, Ca, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Rb, Cs a La. Zjištěné koncentrace byly porovnány s doporučenými denními dávkami pro člověka (DDD).

Experimentální část

Příprava vzorků filtrovaných piv

Lyofilizáty 10° a 12° piv značky Gambrinus z výrobních závodů Plzeň, Popovice a Radegast (původní objem 250 ml, obsah sušiny 3 - 4 %) byly spalovány v Ni kelímku ve zlatnické peci (Clasic CZ, s.r.o.) v otevřeném systému při 600°C. Vzorek byl vložen do pece vyhřáté na uvedenou teplotu a spalován po dobu 4 hodin. Tímto způsobem se předešlo pění lyofilizátu při spalování, ke kterému docházelo při postupném zvyšování teploty při prvních experimentech. Z popela (4 - 6 % hmotnosti lyofilizátu) byly vylisovány tablety o průměru 14 mm a hmotnosti 150-200 mg, které byly zataveny do polyethylenového (PE) pouzdra o průměru 20 mm. K analýze popela bylo přistoupeno z toho důvodu, že při ozařování v jaderném reaktoru v předběžných experimentech vedl radiační rozklad samotného lyofilizátu k vypění vzorku z PE pouzdra a až k 80 % ztrátám ozařovaného materiálu.

Příprava vzorků varních vod

Vzorky pivovarských vod pro výrobu piva značky Gambrinus ve třech závodech (Plzeň, Radegast a Popovice) a piv značek Budvar, Černá Hora a Staropramen byly upraveny přidávkou HNO₃ na hodnotu pH 2-3. Při následující redukci objemu odpařováním tak nedocházelo k vylučování nerozpustných sloučenin Ca, Mg a Fe. Pilotní pokusy při stanovení Si rušil vysoký obsah chlóru. Proto byla koncentrace chlóru redukována umístěním okyselených vzorků vod do ultrazvukové vodní lázně při teplotě 22°C na cca 4 hodiny a následně byly vzorky přivedeny na několik minut k prudkému varu. Pak byly vzorky odpařovány na teflonové desce při teplotě 90 °C, dokud se jejich objem nezredukoval minimálně na jednu dvacetinu. Po vychlazení byla zkoncentrovaná voda převedena do 50 ml odměrných baněk. Vzorky vod byly dále pipetovány ve 100 µl dávkách na disky chromatografického papíru (Whatman 1) o průměru 14 mm a pod infralampou lampou vysoušeny. Deponovaný objem zahuštěné vody činil 2 ml. Takto připravené vzorky byly zataveny do PE diskových pouzder o průměru 20 mm.

Příprava referenčních materiálů

Z referenčních materiálů NIST SRM 2704 Buffalo River Sediment, NIST SRM 1633b Coal Fly Ash, NIST SRM 1515 Apple Leaves byly připraveny lisováním tablety o průměru 14 mm a hmotnosti cca 100 mg, které byly rovněž zataveny do PE diskových pouzder o průměru 20 mm.

Ozařování a měření vzorků

Vzorky popelů a odparků byly ozařovány v jaderném reaktoru LVR-15 Centra výzkumu Řež, s.r.o., v jehož ozařovacích kanálech dosahuje hustota toku tepelných, epithermálních a rychlých neutronů hodnot postupně $3,5 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $8,5 \cdot 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $5,6 \cdot 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Pro stanovení Si bylo použito jaderné reakce $^{29}\text{Si}(n,p)^{29}\text{Al}$ ($T_{1/2}=6.56 \text{ min}$) s rychlými neutrony (fast neutron activation analysis-FNAA) po odstínění tepelných neutronů ozařováním v Cd pouzdrech o tloušťce stěny 1 mm po dobu 45 s. Ostatní prvky (viz Tab. 1) byly stanoveny krátkodobým (1 min.) a dlouhodobým (2 hod.) ozařováním v reaktorovém spektru neutronů. Vymírací a měřicí doby byly zvoleny tak, aby bylo možno stanovit co největší počet prvků s co nejmenší nejistotou a byly obdobné jako v našich dřívějších pracích^{2,3}.

Aktivita indukovaných radionuklidů byla měřena gama-spektrometricky s využitím několika koaxiálních polovodičových HPGe detektorů, jejichž relativní účinnost byla v rozmezí 23 % - 78 % a energetická rozlišovací schopnost FWHM v rozmezí 1,75 keV - 1,85 keV (oba parametry pro fotony ^{60}Co o energii 1332,5 keV). Detektory byly spojeny lineární elektronikou s gama-spektrometrickým systémem Canberra Genie 2000. Součástí lineární elektroniky byl Loss Free Counting modul (LFC Canberra 599, Dual mode) ke korekci efektu nakupení impulzů a dynamických změn mrtvé doby. Současně se vzorky byly ozařovány a měřeny ve stejných podmínkách standardy stanovovaných prvků, které byly připraveny pipetováním 25 μl - 50 μl roztoků se známým obsahem prvků na na disky chromatografického papíru Whatman 1, odpařením a zatavením do PE pouzder. Jako standard pro stanovení Si byl použit kov o polovodičové čistotě.

Tab. 1 Jaderné reakce a parametry analytických radionuklidů⁴

Prvek	Jaderná reakce	Poločas přeměny (hlavní energie záření γ)	Doba ozařování
Si	$^{29}\text{Si}(n,p)^{29}\text{Al}$	6,56 m (1273,4 keV)	45 s (FNAA)
Na	$^{23}\text{Na}(n,\gamma)^{24}\text{Na}$	14,9 h (1368,6 keV)	2 h
K	$^{41}\text{K}(n,\gamma)^{42}\text{K}$	12,4 h (1524,6 keV)	2 h
Ca	$^{48}\text{Ca}(n,\gamma)^{49}\text{Ca}$	8,72 m (3084,5 keV)	1 m
Sc	$^{45}\text{Sc}(n,\gamma)^{46}\text{Sc}$	83,8 d (889,3 keV)	2 h
V	$^{51}\text{V}(n,\gamma)^{52}\text{V}$	3,75 m (1434,1 keV)	1 m
Cr	$^{50}\text{Cr}(n,\gamma)^{51}\text{Cr}$	27,7 d (320,1 keV)	2 h
Mn	$^{55}\text{Mn}(n,\gamma)^{56}\text{Mn}$	2,6 h (1810,8 keV)	1 m
Fe	$^{58}\text{Fe}(n,\gamma)^{59}\text{Fe}$	44,5 d (1291,6 keV)	2 h
Co	$^{59}\text{Co}(n,\gamma)^{60}\text{Co}$	5,27 y (1332,5 keV)	2 h
Zn	$^{64}\text{Zn}(n,\gamma)^{65}\text{Zn}$	244,1 d (1115,5 keV)	2 h
Rb	$^{85}\text{Rb}(n,\gamma)^{86}\text{Rb}$	18,7 d (1076,7 keV)	2 h
Cs	$^{133}\text{Cs}(n,\gamma)^{134}\text{Cs}$	2,06 y (795,9 keV)	2 h
La	$^{139}\text{La}(n,\gamma)^{140}\text{La}$	1,68 d (1596,5 keV)	2 h

Vzorky popela pro stanovení Si byly analyzovány duplikátně, vzorky popela pro stanovení ostatních prvků byly analyzovány ze 4 nezávislých navážek. Vzorky vod byly analyzovány z jednoho odparku. Ze stanovených koncentrací prvků v popelu piva byly ze známých poměrů objem piva/hmotnost lyofilizátu a hmotnost popela/hmotnost lyofilizátu vypočteny koncentrace prvků v původním objemu piva. U vzorků vod byl pro výpočet koncentrace prvků vzat v úvahu faktor zahuštění.

Výsledky a diskuze

Křemík v pivu a ve varních vodách

Koncentrace Si v pivech a vystíracích vodách x a jejich kombinovaná nejistota u ($k=1$) jsou uvedeny v Tab. 2.

Tab. 2 Koncentrace Si v pivech a varních vodách

Vzorek	Pivo, mg·l ⁻¹		Voda, mg·l ⁻¹	
	x	u	x	u
Staropramen	13,7; 15,0	0,8	2,56	0,40
Pilsner Urquell	16,3; 16,8	0,7	2,78	0,46
Budvar	25,7; 27,5	0,7	4,49	0,41
Černá Hora	30,4; 32,3	0,8	7,13; 7,37	0,92
Litovel	43,3; 44,2	1,1	< 3,8	-
Gambrinus 10°, Plzeň	18,5; 18,8	0,8	2,78	0,46
Gambrinus 10°, Popovice	15,5; 19,3	0,6	10,6	0,75
Gambrinus 10°, Radegast	17,9; 18,2	0,7	5,60	0,44
Gambrinus 12°, Plzeň	22,6; 22,2	0,9	2,78	0,46
Gambrinus 12°, Radegast	30,5; 26,5	0,7	5,60	0,44

Nebyla vyhodnocována korelace mezi koncentrací Si v pivu a ve varní vodě, protože z hmotnostní bilance Si při výrobě piva jsme zjistili, že 95 % Si v pivu pochází z ječmene, 3 % z vody a 2 % z chmelového granulátu¹. Kromě toho koncentrace Si v pivu se zvyšuje se zvyšujícím se prokvašením (viz Gambrinus 10°, Plzeň versus Gambrinus 12°, Plzeň a Gambrinus 10°, Radegast versus Gambrinus 12°, Radegast). Doporučená denní dávka Si pro člověka (DDD) je 5 – 20 mg⁵. Z výsledků v Tab. 2 je zřejmé, že pivo je významným zdrojem Si v lidské stravě.

Kontrola správnosti stanovení Si byla provedena analýzou NIST SRM 2704 a NIST SRM 1633b Coal Fly Ash. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 2. Nalezené hodnoty souhlasí s hodnotami NIST v rámci uvedených nejistot a potvrzují správnost našich výsledků.

Tab. 3 Výsledky stanovení Si (%) v referenčních materiálech

Referenční materiál	Tato práce ^a $x \pm u$	Hodnota NIST ⁶
NIST SRM 2704 Buffalo River Sediment	29,80 ± 0,64	29,08 ± 0,13
NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	22,60 ± 0,43	23,02 ± 0,08

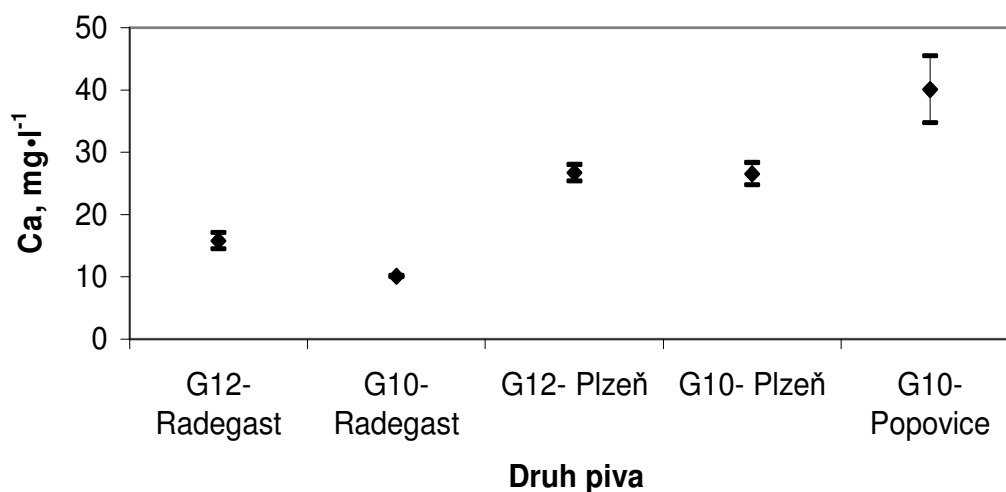
^a - u je rozšířená nejistota ($k=2$)

Stopové prvky v pivu a ve varních vodách

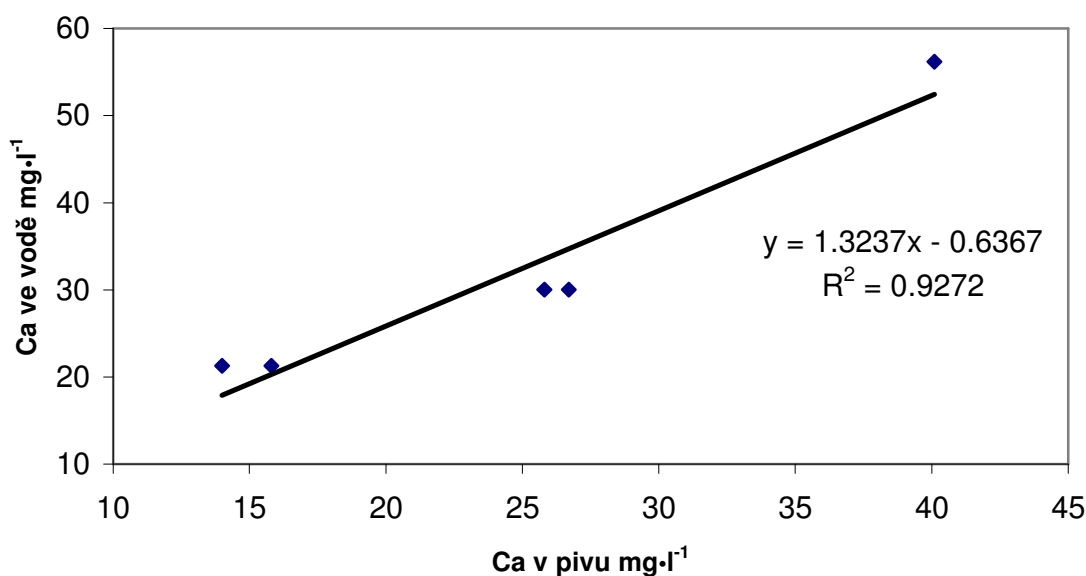
Byla analyzována 10° a 12° piva značky Gambrinus vyráběná v pivovarech Plzeň, Popovice a Radegast a ve varních vodách z jednotlivých závodů s cílem zjistit, zda lze z prvkového složení jednotlivých piv určit jejich původ (výrobní závod). Ze stanovených prvků byla vyhodnocována korelace koncentrací prvků ve vodě a v pivu jen u Ca, protože je známo, že řada prvků obsažených ve vodě a dalších surovinách přejde při výrobě piva do mláta.

Vápník

Výsledky stanovení koncentrace Ca ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) v pivech jsou graficky znázorněny na Obr. 1, korelace mezi Ca ve vodě a v pivech Gambrinus je uvedena na Obr. 2. Koncentrace Ca ve vystírací vodě se pohybuje v rozmezí 21,3 – 56,1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, doporučená denní dávka Ca pro člověka DDD je 800 mg.⁷ Hodnoty Ca ve vystírací vodě jsou vyšší než ve vyrobeném pivu značky Gambrinus, což znamená, že i část Ca přechází z varní vody do mláta nebo je odfiltrována.



Obr.1 Koncentrace Ca v pivech Gambrinus.



Obr. 2 Korelace mezi Ca ve vodě a v pivech Gambrinus.

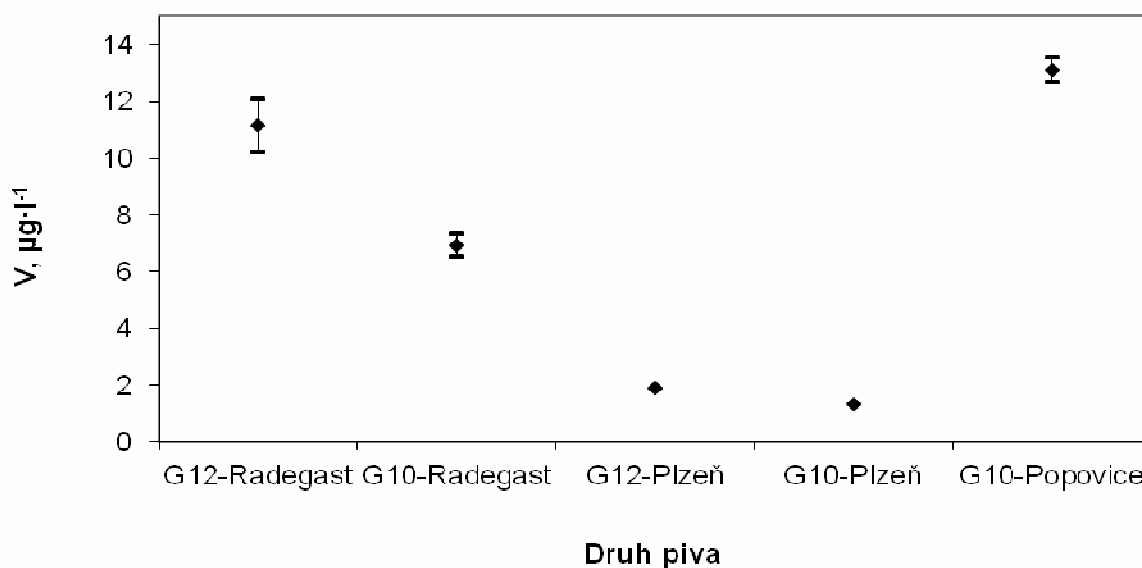
Vanad

Výsledky stanovení koncentrace vanadu v pivech a ve varních vodách jsou uvedeny v Tab. 4, grafické znázornění koncentrací vanadu v pivu je uvedeno na Obr. 3. Hodnoty pod mezí detekce jsou na Obr. 3 znázorněny bez chybové úsečky znázorňující nejistotu. Stanovení vanadu pod mezí detekce metody INAA by vyžadovalo použití metody NAA s radiochemickou separací (RNAA).

Tab. 4 Koncentrace vanadu v pivech a ve varních vodách

Vzorek (výrobní závod)	Koncentrace V, $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ($x \pm u$)	
	Pivo	Voda
Gambrinus 12° (Plzeň)	< 1,9	< 0,3
Gambrinus 12° (Radegast)	11,2 \pm 1,0	< 0,2
Gambrinus 10° (Plzeň)	< 1,3	< 0,3
Gambrinus 10° (Radegast)	6,9 \pm 0,4	< 0,2
Gambrinus 10° (Popovice)	13,1 \pm 0,6	0,7 \pm 0,2
Budvar	NA*	< 0,2
Staropramen	NA*	< 0,3

* - neanalyzováno



Obr. 3 Koncentrace vanadu v pivech Gambrinus (hodnoty bez chybové úsečky značí mez detekce).

Výsledky stanovení koncentrací ostatních studovaných prvků v pivech a ve varních vodách jsou uvedeny v Tab. 5. Nebyly zjištěny významné korelace mezi koncentracemi prvků v pivech Gambrinus a ve varních vodách z jednotlivých závodů. Většina nejnižších koncentrací prvků byla nalezena v 10° pivu Gambrinus vyráběném v Popovicích, většina nejvyšších koncentrací prvků byla zjištěna v 10° a 12° pivech Radegast. Ve spektrech záření gama ozářených vzorků popelů piv byly dále zjištěny prvky As, Cl, Br, Sb, a Se. Jejich koncentrace však nebyly vyhodnocovány, protože při použité metodě přípravy vzorků k ozáření spalováním lyofilizátu při teplotě 600 °C mohly tyto prvky částečně vytékat.

Tab. 5 Výsledky studovaných prvků v pivech a varních vodách z jednotlivých pivovarů u značky piva Gambrinus

Prvek	Obsah prvku v pivě (DDD) ^{5,7}	Obsah prvku ve vodě	Gambrinus s nejnižším/nejvyšším obsahem prvku
Na	7,7 – 50,9 mg·l ⁻¹ (2400 mg)	6,7 – 15,2 mg·l ⁻¹	G12° Radegast/G10° Radegast
K	245 – 459 mg·l ⁻¹ (2000 mg)	1,1 – 5,3 mg·l ⁻¹	G10° Popovice/G12° Plzeň
Sc	0,012 – 0,019 μg·l ⁻¹	0,009 – 0,029 μg·l ⁻¹	G 12° Plzeň/G12° Radegast
Cr	3,4 – 5,6 μg·l ⁻¹ (40 μg)	0,9 – 16,0 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G10° Plzeň
Mn	29,8 – 73,1 μg·l ⁻¹ (2 mg)	1,5 – 6,9 μg·l ⁻¹	G10° Radegast/G12° Plzeň
Fe	59,1 – 137 μg·l ⁻¹ (14mg)	24,9 – 150,0 μg·l ⁻¹	G10° Radegast/G12° Radegast
Co	0,11 – 3,57 μg·l ⁻¹	0,06 – 0,14 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G12° Plzeň
Zn	12,3 – 106 μg·l ⁻¹ (10 mg)	9,5 – 28,9 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G12° Radegast
Rb	131 – 239 μg·l ⁻¹	< 1,2 – 14,4 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G12° Radegast
Cs	0,149 – 0,525 μg·l ⁻¹	< 0,02 – 0,36 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G10° Plzeň
La	0,33 – 1,62 μg·l ⁻¹	< 0, 05 μg·l ⁻¹	G10° Popovice/G10° Radegast

Pro kontrolu správnosti výsledků byly analyzovány referenční materiály NIST SRM 2704 Buffalo River Sediment a NIST SRM 1515 Apple Leaves. Výsledky kontrolních analýz jsou uvedeny v Tab. 6.

Tab. 6 Výsledky stanovení prvků v referenčních materiálech

Prvek ^a	NIST SRM 2704		NIST SRM 1515	
	$x \pm u^b$	Hodnota NIST ^c	$x \pm u^b$	Hodnota NIST ^c
Na, %	0,562 ± 0,023	0,547 ± 0,014	0,00288 ± 0,00038	0,00244 ± 0,00012
K, %	1,99 ± 0,13	2,00 ± 0,04	1,62 ± 0,24	1,61 ± 0,02
Ca, %	2,66 ± 0,14	2,60 ± 0,03	1,51 ± 0,36	1,526 ± 0,015
Sc	11,5 ± 0,8	(12)	0,028 ± 0,002	(0,03)
V	94,5 ± 4,1	95 ± 4	NA ^d	0,26 ± 0,03
Cr	137 ± 10	135 ± 5	0,41 ± 0,12	(0,3)
Mn	560 ± 24	555 ± 19	NA ^d	54 ± 3
Fe, %	4,00 ± 0,60	4,11 ± 0,10	0,0074 ± 0,0008	0,0083 ± 0,0005
Co	13,2 ± 1,0	14,0 ± 0,6	0,122 ± 0,012	(0,09)
Zn	420 ± 30	438 ± 12	13,5 ± 0,8	12,5 ± 0,3
Rb	106 ± 9	(100)	8,6 ± 0,8	10,2 ± 1,5
Cs	5,7 ± 0,4	(6)	< 0,05	-
La	29 ± 2	(29)	22,2 ± 0,2	(20)

^a - mg·kg⁻¹, pokud není uvedeno jinak; ^b - rozšířená nejistota, k=2; ^c - certifikované hodnoty jsou uvedeny s nejistotou, necertifikované hodnoty bez nejistoty jsou uvedeny v závorce; ^d - neanalyzováno

V naprosté většině případů souhlasí stanovené hodnoty s certifikovanými hodnotami NIST v rámci uvedených nejistot a jsou blízké necertifikovaným hodnotám a potvrzují tak správnost našich výsledků. Výjimkou je výsledek stanovení Na v NIST SRM 1515, v němž byla zjištěna vyšší než certifikovaná hodnota z dosud neznámých příčin.

Závěr

Koncentrace Si v pivech a varních vodách byla nejvyšší ve 12° pivě Litovel a ve 12° pivě Gambrinus, závod Radegast, nejvyšší obsah Si ve varní vodě z Popovic. Byla zjištěna

pozitivní korelace koncentrace Ca v pivech v závislosti na koncentraci tohoto prvku ve vystírací vodě. Koncentrace Ca ve vystíracích vodách jednotlivých pivovarů se významně liší (vzrůstají v pořadí pivovarů Radegast, Plzeň, Popovice) a je proto možné použít koncentraci Ca k identifikaci pív Gambrinus vyrobených v jednotlivých pivovarech.

K odlišení pív Gambrinus vyráběných v různých pivovarech se z dalších prvků jeví vhodné koncentrace V (nejnižší koncentrace, pod mezí detekce, byla nalezena v pivech vyráběných v Plzni). Stanovení V v pivech z Plzně by vyžadovalo použití NAA s radiochemickou separací. Dalšími vhodnými „indikátory“ výrobních závodů jsou koncentrace Zn (nejnižší byla nalezena v 10° pivu vyráběném v Popovicích, nejvyšší v 12° pivu vyráběném v pivovaru Radegast) a koncentrace Cs (výrazně vyšší hodnoty byly nalezeny v pivech z Plzně než v pivech vyráběných v pivovaru Radegast a Popovice). U ostatních prvků nebyly rozdíly koncentrací prvků v pivech Gambrinus z různých pivovarů významné nebo systematické, často z důvodu velkého rozptylu výsledků čtyř nezávislých analýz. Platí to i např. pro koncentrace prvků vzácných zemin, pro něž bylo pravděpodobné očekávat, vzhledem k velmi nízkým mezím detekce, možnost detekce významných rozdílů koncentrací v pivech z jednotlivých pivovarů. Stanovované koncentrace se často pohybovaly v rozmezí desetin až desítek $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, tedy v oblasti koncentrací, u nichž existuje reálné riziko kontaminace z prostředí. To současně ukazuje na velmi vysokou čistotu piva s ohledem na koncentrace většiny stopových prvků. Proto by bylo nutné v budoucnu přijmout opatření proti možné kontaminaci při přípravě vzorků k analýze jako je např. čistota prostředí při lyofilizaci, čistota prostředí a volba materiálů používaných při spalování, atd. Neutronová aktivační analýza vzorků filtrovaných pív a vystíracích vod by mohla být jednou z analytických metod výhodně použitelnou pro stanovení stopových koncentrací určitého prvku nebo skupiny prvků k identifikaci výrobního závodu.

1. J. Kučera, I. Krausová, P. Dostálek, V. Potěšil, bude publikováno.
2. J. Kučera, L. Soukal: Homogeneity tests and certification analyses of coal fly ash reference materials by instrumental neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 121 (1988) 245-259.
3. Z. Řanda, J. Kučera: Trace elements in higher fungi (mushrooms) determined by activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 259 (2004) 99-107.
4. M. Blaauw: The IRI gamma-ray catalogue for INAA, Interfaculty Reactor Institute, Delft, The Netherlands.
5. <http://www.sportvital.cz/zdravi/vyziva-a-zdravi/stopove-prvky/stopove-prvky-kremik>
6. <http://www.nist.gov/srm>
7. Zákon 450/2004 Sb., Příloha, Doporučené denní dávky minerálních látek a vitamínů

Elementary analysis of beers and brewing waters by neutron activation analysis

Ivana Krausová¹, Jan Kučera¹, Pavel Dostálek², Václav Potěšil³

¹ Nuclear Physics Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež

² Faculty of Food and Biochemical Technology, Institute of Chemical Technology Prague

³ PIVO Praha Ltd., Prague

Neutron activation analysis (NAA) was used for determination of Si, Na, K, Ca, Sc, V, Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Rb, Cs, and La in Czech beers and brewing waters. The Si concentration in beer determined by the reaction $^{29}\text{Si}(n,p)^{29}\text{Al}$ with fast neutrons confirmed that beer is an important Si source in human diet. Determination of other trace elements by NAA with the whole spectrum of reactor neutrons aimed at the possibility of identification of Gambrinus beers brewed in various breweries. The elements Ca and V appeared to be the best candidates for the given purpose. The concentration of elements determined by NAA was also compared with the recommended daily element intake for humans. Accuracy of analyses were proved by analysis of several reference materials, namely NIST SRM 2704 Buffalo River Sediment, NIST SRM 1633b Coal Fly Ash, and NIST SRM 1515 Apple Leaves.