

Z výzkumu a praxe

Stanovení oxidu siřičitého v pivovarských surovinách a pivu

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Ing. ALEXANDR MIKYŠKA, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.41:543.845
546.224

ÚVOD

Oxid siřičitý se nachází v pivu jednak ve volné formě, resp. jako hydrogensířičitanový ion, jednak vázaný na různé složky extraktu, například na aldehydy, cukry, organické kyseliny a podobně. Z toho plynou obtíže při výběru vhodné metody pro stanovení jeho celkové koncentrace. U surovin tj. sladu a chmele, je nutno před vlastním stanovením převést oxid siřičitý nejdříve ve vhodnou formu do roztoku.

PŘEHLED ZÁKLADNÍCH METOD STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO V SUROVINÁCH A PIVU

Metody stanovení celkové koncentrace oxidu siřičitého používané ve výzkumu a kontrolní praxi v potravinářství a tudíž i v pivovarnictví, lze rozdělit do tří základních skupin:

1. metody využívající plynovou chromatografii,
2. metody fotometrické přímé nebo po uvolnění SO_2 destilací,
3. metody destilačně-titrační.

1. STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO PLYNOVOU CHROMATOGRAFIÍ

Plynová chromatografie se využívá pro kvantitativní i kvalitativní stanovení škály sirných sloučenin obsažených v pivu [1]. Za použití vhodného detektoru lze stanovit volný a po uvolnění i vázaný oxid siřičitý [2]. Určení celkové koncentrace oxidu siřičitého umožňuje postup vypracovaný Tresslem aj. [3]. Princip záleží v přímém stanovení obsahu volného oxidu siřičitého pomocí specifického, plamenově-fotometrického detektoru. Vázaný SO_2 se nejdříve uvolní a redukuje na sirovodík chloridem cínatým a kyselinou chlorovodíkovou a jako takový stanoví.

Diskutované metody jsou rychlé a velmi citlivé. Vzhledem k náročnosti na přístrojovou techniku jsou využívány spíše ve výzkumu než v běžné kontrolní praxi.

2. SPEKTROFOTOMETRICKÉ, RESP. KOLOMETRICKÉ STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO

Fotometrické metody využívají barevné reakce některých činidel s oxidem siřičitým nebo sirovodíkem. Jedná se o tyto principy:

- a) stanovení koncentrace oxidu siřičitého na základě přímé tvorby barevného komplexu s činidlem [4],
- b) tvorba barevného komplexu následuje po destilačním uvolnění oxidu siřičitého [5],
- c) destilačně uvolněný oxid siřičitý se redukuje na sirovodík a následuje barevná reakce s činidlem [6].

Použitelnost metod stanovení celkové koncentrace oxidu siřičitého s přímou tvorbou barevného komplexu je omezena na čiré, světlé roztoky a tedy i pouze na zfiltrovaná světlá piva. Jedinou prakticky používanou a v pivovarských analytických příručkách doporučenou metodou tohoto typu je stanovení SO_2 reakcí s rosanilinem [4].

Soubor metod založených na tvorbě barevného komplexu po destilaci, popřípadě redukcí uvolněného oxidu siřičitého na sirovodík je vhodný pro stanovení celkové koncentrace oxidu siřičitého v surovinách, meziproduktech i pivu. Kombinací destilačního uvolnění a kolometrického stanovení oxidu siřičitého se dosahuje vyšší citlivosti než metodami destilačně-titračními. Postup je však zdoluhavější a složitější.

3. METODY DESTILAČNĚ-TITRAČNÍ PRO STANOVENÍ OXIDU SIŘIČITÉHO

Principem tzv. destilačně-titračních metod je uvolnění oxidu siřičitého ze vzorku působením anorganických kyselin za vyšší teploty a převedení volného oxidu siřičitého proudem nosného plynu do předlohy naplněné oxidantem. Vzniklá kyselina sírová je stanovena alkalimetricky nebo komplexometricky.

Destilačně titrační metody jsou velmi rozšířeny pro svoji jednoduchost, rychlost, malé nároky na přístrojové vybavení a univerzálnost. Byla popsána řada modifikací [7, 8, 9, 10].

Vzhledem k potřebě vybrat v našich podmínkách spolehlivou a na přístrojové vybavení nenáročnou metodu pro provozní kontrolu, provedli jsme ve VÚPS sériové ověření pracnosti, citlivosti a reprodukovatelnosti destilační metody stanovení SO_2 podle postupu uvedeného v analytice EBC [4], metodu ze sbírky MEBAK obdobného principu [7], metodu podle Reitha-Willemsa [8] a spektrofotometrické stanovení s p-rošanilinem [4].

Stanovení oxidu siřičitého reakcí s p-rošanilinem (mezinárodní metoda)

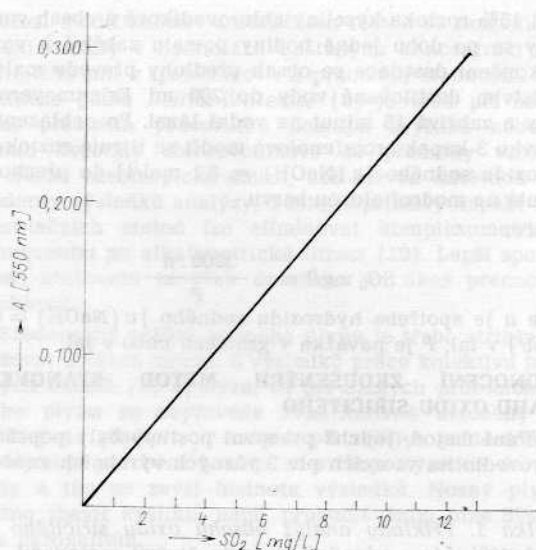
Princip metody

Hydrogenchlorid p-rošanilinu tvoří s oxidem siřičitým oranžově-fialové zbarvení, jehož intenzita se měří fotometricky při vlnové délce 550 nm.

Reagencie a přístroje:

— barevné činidlo: 100 mg rosanilin-hydrochloridu se převede do 250 ml odměrné baňky a rozpustí se asi v 200 ml destilované vody. Přidá se 40 ml kyseliny chlorovodíkové ředěné 1:1, promíchá a doplní destilovanou vodou po rysku. Činidlo je třeba uchovávat v temnu a chladnu;

- 0,2% roztok formaldehydu;
- rtuťový stabilizační roztok: 27,2 g chloridu rtuťnatého a 11,7 g chloridu sodného se rozpustí v destilované vodě a doplní na 1000 ml;
- hydroxid sodný, odměrný roztok $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$,
- kyselina sírová, odměrný roztok $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$,
- škrobový indikátor: 1% vodný roztok škrobu,
- n-hexanol,
- hydrogensířičitan sodný,
- roztok jodu, odměrný roztok $c(\text{I}_2) = 0,05 \text{ mol/l}$,



Obr. 1. Kalibrační křivka pro stanovení oxidu siřičitého reakcí s p-rosanilinem

- 35–38% kyselina chlorovodíková,
- thiosíran sodný, roztok $c(Na_2S_2O_3) = 0,1$ mol/l,
- fotometr s možností měřit absorpce při 550 nm.

Pracovní postup:

Pro sestavení kalibrační křivky se naváží do baňky se zábrusem 250 mg hydrogensířičitanu sodného, přidá se 50 ml roztoku jodu $[c(I_2) = 0,05$ mol/l] a baňka se uzavře. Po pěti minutách stání při teplotě místnosti se obsah baňky okyslí 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a přebytek jodu se titruje roztokem thiosíranu sodného $[c(Na_2S_2O_3) = 0,1$ mol/l] za použití škrobového indikátoru. Každý spotřebovaný mililitr jodového roztoku odpovídá 3,203 mg oxidu siřičitého (5,20 mg hydrogensířičitanu sodného).

Roztok A — připraví se roztok hydrogensířičitanu sodného tak, aby 1 ml obsahoval 10 mg oxidu siřičitého (cca 8,6–9,0 g hydrogensířičitanu sodného do 500 ml destilované vody).

Roztok B — 100 ml rtuťového stabilizátoru se převede do 500 ml odměrné baňky, přidá se 1 ml roztoku A a doplní destilovanou vodou po rysku. 1 ml roztoku B obsahuje 20 μ g oxidu siřičitého.

Do série osmi 100 ml odměrných baněk se odměří po 10 ml studeného piva nezbaveného oxidu uhličitého. Pivo se odměřuje válečkem s jednou kapkou hexanolu. Do jednotlivých baněk se přidá 0–7 ml roztoku B (pipetou), doplní destilovanou vodou po rysku a dobře promíchá. Z každé této baňky se převede 5 ml do 50 ml odměrné baňky, přidá se 5 ml barevného činidla a 5 ml roztoku formaldehydu. Po promíchání se baňky doplní destilovanou vodou po rysku. Po 30 minutách inkubace při 25 °C se proměří intenzita zbarvení při 550 nm ve skleněných kyvetách proti slepému pokusu (baňka bez přídavku roztoku B) a výsledky se vynesou do grafu (obr. 1).

Hlavní stanovení

Do 100 ml odměrné baňky se pipetují 2 ml rtuťového stabilizátoru a 5 ml roztoku kyseliny sírové $[c(H_2SO_4) = 0,05$ mol/l]. Přidá se 10 ml piva, 15 ml roztoku hydroxidu sodného $[c(NaOH) = 0,1$ mol/l] a obsah baňky se promíchá. Po 15 sekundách se přidá 10 ml roztoku kyseliny sírové $[c(H_2SO_4) = 0,05$ mol/l] a obsah baňky se opět dobře promíchá. Baňka se doplní destilovanou vo-

dou po rysku a obsah se homogenizuje. 25 ml alikvót se převede do 50 ml odměrné baňky a podrobí se barevné reakci. Zbarvení se proměří při 550 nm proti slepému pokusu (slepý pokus k hlavnímu stanovení se připraví odměřením 10 ml chladného, jednou kapkou hexanolu odpěněného piva do 100 ml odměrné baňky. Přidá se 0,5 ml roztoku škrobu a titruje se jodovým roztokem $[c(I_2) = 0,05$ mol/l] do trvale modrého zbarvení. Přidá se 1 kapka navíc. Baňka se doplní destilovanou vodou po rysku a obsah se promíchá. Po vymizení modrého zbarvení se převede 25 ml alikvót do další 50 ml odměrné baňky a podrobí se barevné reakci.

Výpočet

Koncentrace oxidu siřičitého ve zkoušeném vzorku v mg/l se odečte z kalibrační křivky.

Destilační stanovení oxidu siřičitého

Princip metody

Oxid siřičitý se uvolní ze vzorku přídavkem kyseliny a následným zahřátím. Uvolněný oxid siřičitý je převeden proudem nosného plynu do předlohy, zoxidován na kyselinu sírovou, která se stanoví alkalimetricky.

Destilační stanovení podle analytiky EBC [4]

Reagencie:

- 5% kyselina trihydrogenfosforečná,
- 10% peroxid vodíku,
- hydroxid sodný, odměrný roztok $[c(NaOH) = 0,01$ mol/l],
- roztok bromfenolové modři: 0,2% roztok ve 20% ethanolu,
- nosný plyn: oxid uhličitý nebo dusík,
- 5% pyrogallol.

Pracovní postup

Do destilační baňky aparatury (obr. 2) se nalije 50 ml 5% roztoku kyseliny trihydrogenfosforečné. Obsah baňky se vaří za současného probublávání nosným plynem tak dlouho, dokud není z aparatury odstraněn vzduch (cca 3 minuty). Výstupní trubice aparatury nezasahuje do předlohy. Potom se připojí předloha a do destilační baňky se přidá rychle 50 ml vzorku. Předloha je předem naplněna 10 ml 10% roztoku peroxidu vodíku, který se neutralizoval po přídavku 5–6 kapek barevného indikátoru roztokem hydroxidu sodného $[c(NaOH) = 0,01$ mol/l]. Destiluje se 15 minut při malém průtoku nosného plynu a potom se uzavře přívod vody do zpětného chladiče. Po zahřátí výstupní trubice aparatury je destilace ukončena. Odpojí se předloha, výstupní trubice se opláche destilovanou vodou do předlohy. Obsah předlohy se ztitruje roztokem hydroxidu sodného $[c(NaOH) = 0,01$ mol/l].

Výpočet:

$$SO_2 \text{ mg/l} = a \cdot 6,4$$

kde a je spotřeba roztoku hydroxidu sodného $[c(NaOH) = 0,01$ mol/l] v ml.

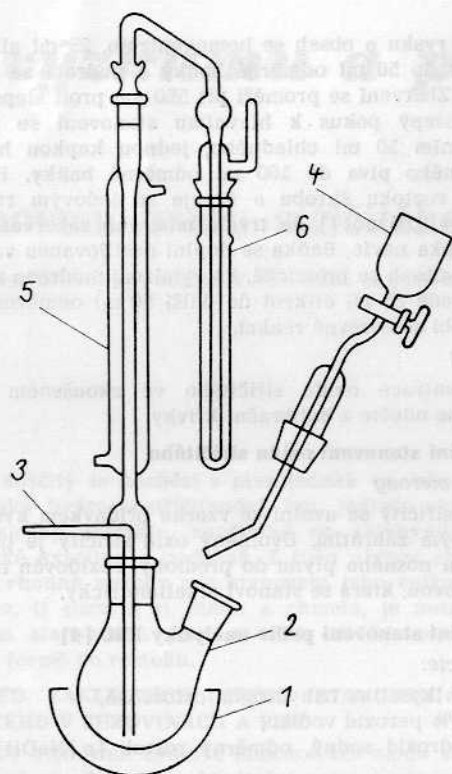
Destilační stanovení oxidu siřičitého podle sbírky metod MEBAK [7]

Reagencie:

- 25% kyselina trihydrogenfosforečná,
- 3% peroxid vodíku,
- hydroxid sodný, odměrný roztok $[c(NaOH) = 0,01$ mol/l],
- indikátor Tashiro: 30 mg methylčerveně se rozpustí v methanolu na objem 100 ml, přidá se 15 ml 0,1% vodného roztoku methylénové modři a promíchá,
- nosný plyn: dusík,
- 5% pyrogallol.

Pracovní postup

Destilační baňka aparatury se naplní 100 ml destilované vody, průtok dusíku aparaturou se upraví na 150 ml/min.



Obr. 2. Schéma aparatury pro destilační stanovení oxidu siřičitého

1 — topné hnízdo, 2 — destilační baňka, 3 — přívod nosného plynu, 4 — dávkovací nálevka, 5 — zpětný chladič, 6 — předloha

Předloha se naplní 10 ml 3% roztoku peroxidu vodíku a 5 až 6 kapkami Tashirova indikátoru a neutralizuje se roztokem hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol/l}$]. Předloha se připojí k aparatuře. 100 ml chladného piva nezbaveného oxidu uhličitého se odměří válečkem za přidání 1 kapky hexanolu a vlije se do destilační baňky. Rychle se přidá 10 ml 25% roztoku kyseliny trihydrogenfosforečné a aparatura se uzavře. Po uvedení do varu se destiluje 20 minut. Potom se odejme předloha, výstupní trubice aparatury se opláchne malým množstvím neutralizovaného roztoku peroxidu vodíku do předlohy. Obsah předlohy se ztitruje roztokem hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol/l}$] do šedozeleného zbarvení.

Výpočet:

$$\text{SO}_2 \text{ mg/l} = a \cdot 3,2$$

kde a je spotřeba roztoku hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol/l}$]. Výsledky se uvádějí v celých číslech.

Destilační stanovení oxidu siřičitého podle Reitha-Willemse [8]

Reagencie

- 15% kyselina chlorovodíková,
- 3% peroxid vodíku,
- hydroxid sodný, odměrný roztok [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$],
- nosný plyn: oxid uhličitý,
- bromfenolová modř: 1% roztok v ethanolu,
- 5% pyrogallol.

Pracovní postup

Destilační aparatura se 150 ml destilované vody ve varní baňce se 15 minut promývá oxidem uhličitým. Předloha se naplní 10 ml peroxidu vodíku, do varní baňky se vpraví odvážené nebo odměřené množství vzorku. Průtok nosného plynu se upraví na 100 ml/min, přidá se

40 ml 15% roztoku kyseliny chlorovodíkové a obsah varní baňky se po dobu jedné hodiny pomalu zahřívá k varu. Po skončení destilace se obsah předlohy převede malým množstvím destilované vody do 200 ml Erlenmayerovy baňky a zahřívá 15 minut na vodní lázni. Po ochlazení a přidavku 3 kapek bromfenolové modři se titruje roztokem hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$] do přechodu ze žluté na modrofialovou barvu.

Výpočet

$$\text{SO}_2 \text{ mg/l} = \frac{3200 \cdot a}{P}$$

kde a je spotřeba hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$] v ml, P je navážka v gramech nebo v ml.

ZHODNOCENÍ ZKOUŠENÝCH METOD STANOVENÍ OBSAHU OXIDU SIŘIČITÉHO

Ověření metod, jejichž pracovní postupy byly popsány, se provedlo na vzorcích pív 3 různých výrobních značek.

Tabulka 1. Příklad analyz obsahu oxidu siřičitého tří druhů 12% pív z různých expedic čtyřmi metodami

	EBC destilační	MEBAK	Reith-Willems	EBC rosanilínové	Δ_1 %	Δ_2 %	Δ_3 %
expe- dice	pivo A = SO ₂ (mg/l)						
1	8,0	8,0	8,2	7,9	0,0	2,5	-1,3
2	8,0	8,1	8,2	7,8	1,3	2,5	-2,5
3	8,4	8,2	8,4	8,1	-2,4	0,0	-3,6
4	8,4	8,2	8,2	8,0	-2,4	-2,4	-4,8
5	8,1	8,1	8,0	7,8	0,0	-1,2	-3,7
expe- dice	pivo B = SO ₂ (mg/l)						
1	12,5	12,5	12,6	12,2	0,0	0,8	-2,4
2	18,9	18,7	18,9	18,1	-1,0	0,0	-4,2
3	13,4	13,4	13,8	13,7	0,0	3,0	2,2
4	11,4	11,2	11,4	11,0	-1,8	0,0	-3,5
5	9,8	9,9	10,1	10,2	1,0	3,1	4,1
expe- dice	pivo C = SO ₂ (mg/l)						
1	8,0	8,1	8,0	7,8	1,2	1,2	-3,7
2	6,5	6,3	6,5	6,3	-3,1	0,0	-3,1
3	12,2	12,2	12,3	12,0	0,0	0,8	-1,6
4	10,8	10,8	10,9	10,5	0,0	0,9	-2,1
5	13,1	13,1	13,4	13,5	0,0	2,3	3,1

Δ_2 , Δ_1 , Δ_3 — procentuální rozdíl výsledků analyz metod podle MEBAK a EBC destilační podle Reitha-Willemse a EBC destilační, podle EBC rosanilínové a EBC destilační tvzážený na metodu podle EBC destilační.

V tabulce 1 jsou uvedeny příklady výsledků analyz obsahu oxidu siřičitého v třech druzích 12% piva (označeno A, B, C), které byly provedeny čtyřmi dále diskutovanými metodami. Z každého vzorku piva se analyzovalo 5 lahví. Přitom z každé jednotlivé láhve se stanovil obsah SO₂ čtyřmi metodami. Mezi hodnotami zjišťovanými různými postupy v jedné láhvi téhož piva jsou minimální rozdíly pohybující se v rámci běžné odchylky stanovení. Větší rozdíly se zjistily v obsahu oxidu siřičitého stanoveného u téhož druhu piva v jednotlivých lahvích různých expedic.

Mezi modifikacemi destilačních metod se nezjistily zásadní rozdíly v hodnotách zjištěných koncentrací oxidu siřičitého ani v spolehlivosti a pracnosti stanovení. U modifikace podle *Reitha-Willemsse* [8] je však při nedodržení přesného pracovního postupu zvýšené nebezpečí úniku kyseliny chlorovodíkové do předlohy vzhledem k tvorbě azeotropické směsi, což má za následek vyšší hodnoty výsledků analýzy. Tento nepříznivý aspekt všech destilačních metod lze eliminovat komplexometrickým stanovením po alkalimetrické titraci [10]. Lepší spolehlivosti stanovení je však dosaženo na úkor pracnosti a rychlosti.

Předepsaný průtok nosného plynu je třeba striktně dodržovat u všech metod. Z výsledků práce kolektivu japonských autorů [9] vyplývá, že při nízkých průtocích nosného plynu se nepřevede kvantitativně uvolněný oxid siřičitý do předlohy a naopak při vyšších průtocích, než předpisuje pracovní postup, se strhuje kyselina do předlohy a tím se zvýší hodnota výsledků. Nosný plyn je nutno zbavit kyslíku, např. probubláváním přes 5% roztok pyrogallolu.

Metoda podle MEBAK [7] má při zachování stupně přesnosti a spolehlivosti nejjednodušší postup. V metodě podle *Reitha-Willemsse* [8] se používá kyselina chlorovodíková místo méně dostupné kyseliny trihydrogenfosforečné. V porovnání s dalšími dvěma zkoušenými variantami destilačního stanovení SO_2 je doba potřebná pro analýzu téměř trojnásobná (100 minut proti 30–40 minutám).

Předností destilačních metod je jejich univerzální použití pro analýzu surovin, meziproduktů, světlých i tmavých pív. Další výhodou je jednoduchost a dostupnost skleněné destilační aparatury, která se u jednotlivých modifikací liší jen v detailech. Přesnost u všech tří ověřovaných metod se pohybovala v rozmezí ± 5 –10 %, což souhlasí s údaji v literatuře [4, 7, 8, 9].

Metoda stanovení SO_2 přímou reakcí s p-rosanilinem je vhodná pouze pro analýzu světlých pív. Je náročnější na přístrojové vybavení (fotometr s možností měřit absorbance při 550 nm). Přesnost je přibližně stejná jako u destilačních metod, výsledky jsou v průměru o 1,5 % nižší. Předností je možnost paralelního zpracování většího počtu vzorků.

Literatura

- [1] Analytical Control of Sulfur Compounds in Beer: The Brewers Digest 55, 1980, s. 20

- [2] DREWS B.: Mschr. Brauerei 22, 1969, s. 140
[3] TRESSL R., HOLZER M., NEUMANN, L.: Mschr. Brauerei 28, 1975, s. 45
[4] Analytica EBC, 3 vydání, Schweizer-Brauerei Rundschau, Zürich 1977, s. 712
[5] ANDERSON R. J., HOWARD G. A., HOUGH J. S.: Proc. EBC Congr. 1971, s. 253
[6] BRENNER M. W., OWADES J. L., FAZIO T.: Proc. ASB 1953, s. 133
[7] Brautechnische Untersuchungsmethoden Band II., Methodensammlung der MEBAK, Selbstverlag der MEBAK, Freising — Weihenstephan 1979, s. 346
[8] KRÜGER E., BIELING H. J.: Betriebsmund Qualitätskontrolle in Brauerei, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1976, s. 336
[9] KOJITA K., IKUZAWA M.: Zeitschrift Lebensm. Unters. Forsch. 163, 1979, s. 206
[10] THALACKER R., IHRING H. H.: Mschr. Brauerei 26, 1973, s. 62

Basařová, G. — Mikyška, A.: Stanovení oxidu siřičitého v pivovarských surovinách a pivu. Kvas. prům. 28, 1982, č. 11, s. 244–247.

Jsou uvedeny přehledy a zhodnocení metod stanovení SO_2 v surovinách a v pivu.

Басаржова, Г., Микишка, А.: Определение двуокиси серы в пивоваренном сырье и пиве. Квас. прум., 28, 1982, № 11, стр. 244–247.

Приводятся обзоры и оценка методов определения двуокиси серы в сырье и пиве.

Basařová, G. — Mikyška, A.: Determination of Sulphur Dioxide in Raw Materials for Brewing and in Beer. Kvas. prům. 28, 1982, No. 11, p. 244–247.

The paper contains a review of methods including their criticism for the determination of sulphur dioxide in raw materials and in beer.

Basařová, G. — Mikyška, A.: Bestimmung des Schwefeldioxyds in Brauereirohstoffen und Bier. Kvas. prům. 28, 1982, Nr. 11, S. 244–247.

Der Artikel enthält eine Übersicht und Auswertung der Methoden zur Bestimmung von SO_2 in Rohstoffen und Bier.