

# VYUŽITÍ DVOUÚHLOVÉHO ZÁKALOMĚRU K ROZLIŠENÍ TYPU NĚKTERÝCH ZÁKALOTVORNÝCH ČÁSTIC

Mgr. PETR GABRIEL, RNDr. M. DIENSTBIER, Doc. Ing. PETR SLADKÝ, Katedra Chemické fyziky, Matematicko-fyzikální fakulta UK, Praha 2, Ing. L. ČERNÝ, Pivovary a sladovny, Výzkum a služby a.s. Praha

**Klíčová slova:** kapalina, zákal, dvouúhlový zákaloměr, zákalotvorné částice

## 1. ÚVOD

Zákaloměry jsou zařízení, která měří stupeň zakalení kapalin na základě rozptylu světla. Prochází-li světlo prostředím (kapalinou), v němž se vyskytují částice, je část světla na těchto částicích rozptýlena. Čím více je v kapalině rozptýlujících částic, tím více světla je rozptýleno. Rozptýlené světlo se snímá optickým detektorem a z jeho intenzity lze určit stupeň velmi malého zákalu kapaliny.

Zákaloměry od různých výrobců se liší svou konstrukcí, barvou (zdrojem) použitého světla, úhlem (vzhledem k dopadajícímu paprsku), pod kterým se snímá rozptýlené záření. Již z vlastní podstaty rozptylu světla plyne, že zákaloměry různé konstrukce jsou jinak citlivé na různé typy zákalotvorných částic [1]. Zákaloměry, které měří světlo rozptýlené v dopředném směru (úhel menší než  $90^\circ$ ) jsou citlivější na částice mnohem větší než vlnová délka použitého světla, zákaloměry s detektorem umístěným v úhlu  $90^\circ$  jsou citlivější na menší částice.

Zákal piva může být způsoben částicemi různých typů. Při nedokonalé ostré filtraci mohou do filtrovaného piva, zejména před zablokováním filtru, proniknout mikroorganismy, kaly nebo částičky křemelin z křemelinového filtru. Tyto pevné částice jsou v pivu nežádoucí a účelem ostré filtrace je snížit jejich koncentraci na minimum. Dobře zfiltrované pivo bez těchto částic bude ale i nadále rozptylovat záření a vykazovat nenulový zákal. V pivu jsou totiž vždy ve větší či menší míře přítomné malé, obtížně zfiltrovatelné částice - zejména vysokomolekulární bílkoviny a polyfenoly. Tyto částice vykazují prostým okem nepostřehnutelný zákal, jež se stává plně viditelným v důsledku jejich shlukování při silném ochlazení piva. Takto vzniklý chladový zákal je u čerstvých piv při opětovném zvýšení teploty reverzibilně rozpustný. Tato schopnost však se stárnutím piva, vlivem snižování disperzity částic koloidního systému, klesá a zákal se stává trvale viditelným i za běžné pokojové teploty. To je způsobeno shlukováním původně velmi malých částic do větších celků - tríslobílkovinných komplexů - působením fyzikálně-chemických procesů.

Zatímco pevné částice křemeliny a mikroorganismy lze z piva poměrně jednoduše separovat, u původců koloidního zákalu to je obtížné, jednak vzhledem k jejich velikosti, jednak vzhledem k tomu, že jsou vzájemně vázány slabými silami, jejichž účinek je ovlivněn vlastnostmi prostředí. Koncentrace, velikost i složení těchto koloidních komplexů se druh od druhu piva liší.

Tríslobílkovinné komplexy se od pevných částic křemeliny a kvasinek liší svojí průměrnou velikostí a dalšími fyzikálními vlastnostmi (např. index lomu), a proto se pozorují i rozdílné odezvy zákaloměrů v závislosti na barvě použitého světla a úhlu pozorování [2].

Zjistit nedestruktivním způsobem informace o velikosti, koncentraci a tvaru částic přítomných v kapalině umožňují fotometry měřící rozptýlené záření v celém úhlu pozorování od  $0^\circ$  do  $360^\circ$ . Přitom se vychází z komplikovaného teoretického popisu rozptylových charakteristik jednotlivých druhů částic, který navíc platí pouze v omezeném koncentračním oboru. Takovéto přístroje jsou však vzhledem ke své ceně a konstrukčnímu uspořádání prakticky v pivovarské praxi nepoužitelné.

V pivovarských laboratořích se obvykle používají zákaloměry, které měří rozptýlené záření pouze pod jedním úhlem - v převážné většině pod úhlem  $90^\circ$ . Z takto získaných hodnot zákalu však nelze žádným způsobem usuzovat na jeho podstatu. Začínají se však využívat i zákaloměry, které měří zákal ve dvou směrech pozorování. Cílem tohoto článku je ukázat, že i s tímto zařízením lze získat užitečné a dosud jinak nedostupné informace o podstatě zákalu v pivu.

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

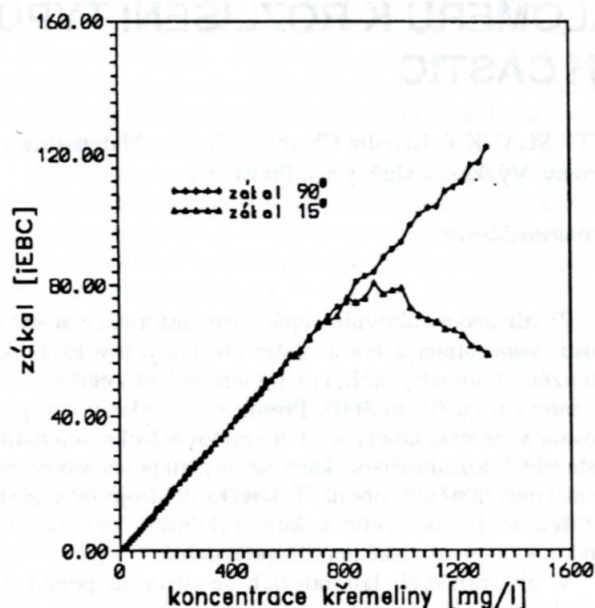
Pro měření zákalu byl použit automatický zákaloměr MZN 93-MC2, vyvinutý v oddělení Optotermální Spektroskopie MFF UK, který pracuje s bílým světlem (tj. zářením v intervalu vlnových délek 400-700 nm) a měří současně záření rozptýlené ve dvou směrech, v dopředném směru (v úhlu  $15^\circ$ ) a v úhlu  $90^\circ$  v rozsahu 0-150 j.EBC pro  $90^\circ$  a 0-70 j.EBC pro  $15^\circ$ .

Abychom prokázali odlišnou citlivost zákaloměru MZN 93-MC2 k různým zákalotvorným částicím, byla provedena řada následujících experimentů. Do 200 ml destilované vody bylo přidáváno definované množství zákalotvorných částic určitého druhu. U takto vytvořeného vzorku byl změřen zákal. Zákal byl měřen v obou úhlech (kanálech). Zákaloměr měří v jednotkách EBC dle formazinového standardu (podle ČSN 56 0186 část 4). Hodnoty zákalu naměřené pod úhlem  $90^\circ$  budeme dále označovat  $Z90^\circ$ , hodnoty zákalu naměřené pod úhlem  $15^\circ$  budeme dále označovat  $Z15^\circ$ .

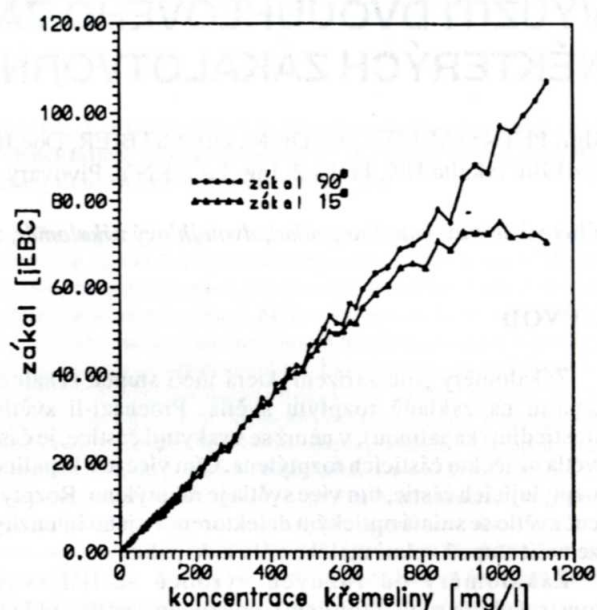
Způsobem popsáným v předcházejícím odstavci byly proměřeny křivky závislosti  $Z90^\circ$  a  $Z15^\circ$  na koncentraci 4 druhů křemelin: Hyflo Super Cel (HSC), Filter Cel (FC) Johns Manville, USA a F4 a F60 Kalofrig Borovany a.s., ČR a tří druhů mikroorganismů (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *Uvarum*, kmen č. 96 dle sbírky VÚPS, *Pediococcus species* - *Laktobacillus species* ze sbírek VÚPS Praha). Na obr. 1 až 7 jsou vyneseny křivky závislosti změřeného zákalu na koncentraci uvedených látek přidávaných do vody.

U křemelin je závislost zákalu na koncentraci téměř lineární, směrnice přímků proložených hodnotami  $Z90^\circ$  a  $Z15^\circ$  jsou pro jednotlivé druhy křemeliny téměř totožné.

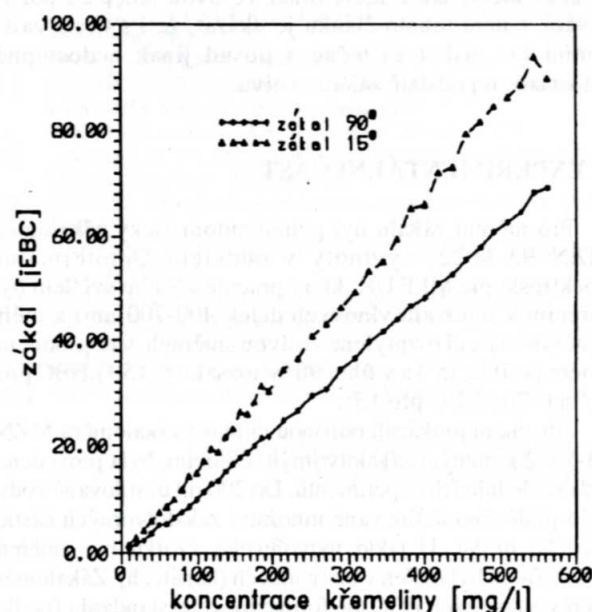




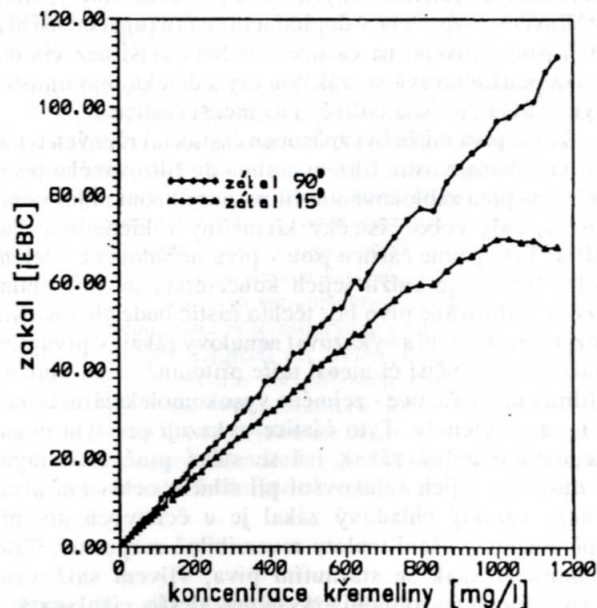
Obr.1 Závislost velikosti zákalu v destil. vodě na koncentraci křemeliny (typ FC) (korekce na vodu)



Obr.3 Závislost velikosti zákalu v destil. vodě na koncentraci křemeliny (typ F60) (korekce na vodu)



Obr.2 Závislost velikosti zákalu v destil. vodě na koncentraci křemeliny (typ F4) (korekce na vodu)



Obr.4 Závislost velikosti zákalu v destil. vodě na koncentraci křemeliny (typ HSC) (korekce na vodu)

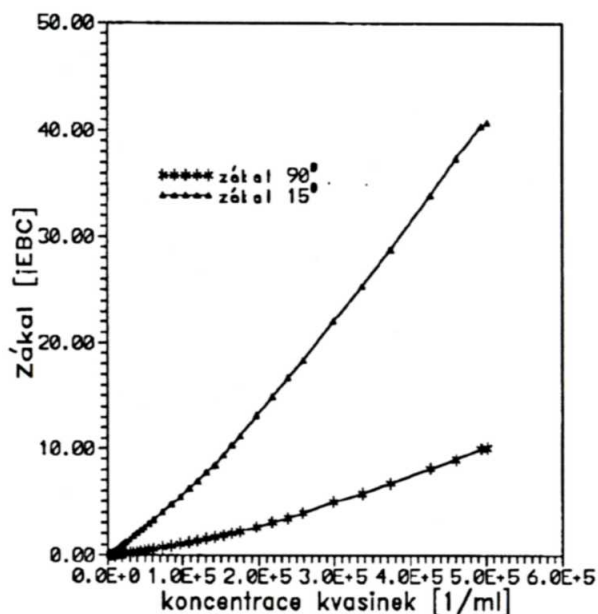
Při měření stejné závislosti u mikroorganismů jsme obdrželi rozdílné výsledky. Křivky při vyšších koncentracích nevykazují lineární závislost, pro koncentrace částic, jež se vyskytují v pivu a jež odpovídají zákalu do 5 j. EBC však je možno naměřené křivky bez velké chyby interpolovat na přímky. Směrnice takto proložených přímek se pro zákal naměřený v úhlu  $90^\circ$  a  $15^\circ$  výrazně liší.

Dále byla provedena série měření více než patnácti druhů dobře zfiltrovaných piv. Průměrné hodnoty  $Z_{90^\circ}$  se pohybují v rozmezí hodnot 0,3-0,6 j.EBC a  $Z_{15^\circ}$  v rozmezí 0,15-0,3 j.EBC. Střední velikost částic způsobujících koloidní zákal je řádově menší než u pevných částic i než

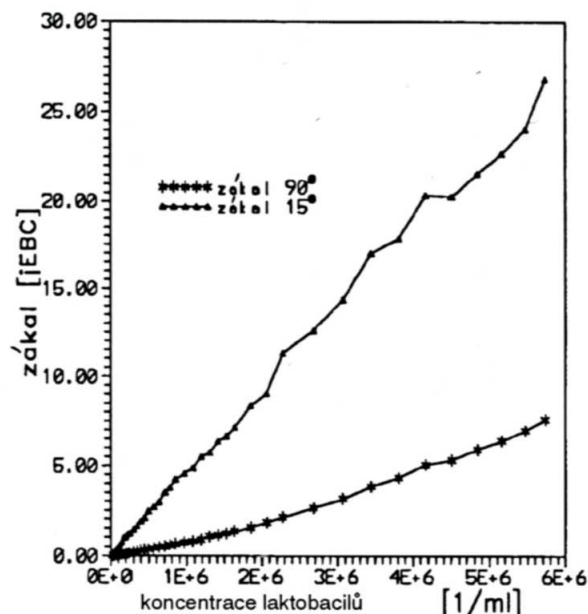
vlnová délka světla. Proto je jejich společnou vlastností to, že vykazují vyšší hodnoty zákalu při měření pod úhlem  $90^\circ$  než v dopředném směru.

V tabulce č. 1 jsou vyneseny hodnoty citlivosti zákaloměru pro jednotlivé druhy zákalotvorných částic. Jako citlivost je definována změna zákalu při jednotkové změně koncentrace částic v roztoku v oblasti zákalů do 5 j. EBC. V této oblasti je závislost zákalu na koncentraci částic lineární a citlivost konstantní.

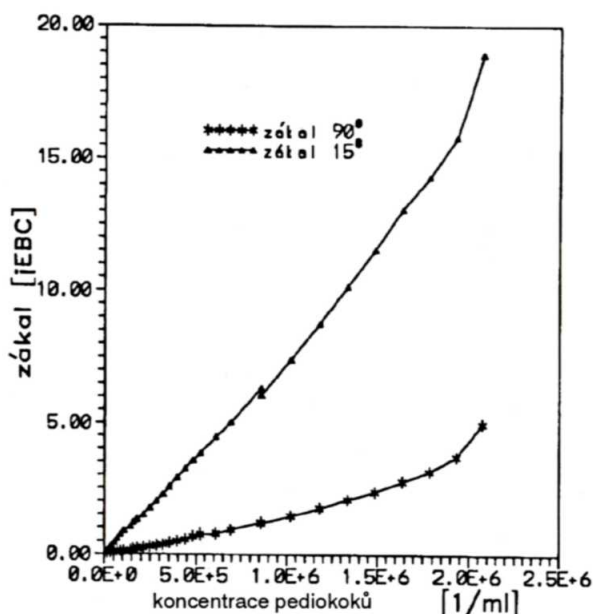
Porovnáním hodnot citlivostí z tabulky 1 lze dospět k následujícímu závěru. Zatímco zákal tvořený křemelinovými částicemi se projevuje podobně v kanále  $15^\circ$  i  $90^\circ$ ,



Obr.5 Závislost velikosti zákalu na koncentraci kvasinek ve fyziologickém roztoku (korekce na fyziol. roztok)



Obr.7 Závislost velikosti zákalu fyziol. roztoku na koncentraci laktobacilů (korekce na fyziol. roztok)



Obr.6 Závislost velikosti zákalu fyziol. roztoku na koncentraci pedioků (korekce na fyziol. roztok)

zákal způsobený mikroorganismy se několikanásobně více projeví v kanále 15°. Rozdílnost odezvy dává možnost rozlišit, jakým typem částic je zákal způsoben.

## 2.1. Zavedení specifického poměru $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$

Lineární závislost zákalu na koncentraci částic v obou úhlech ukazuje, že podíl hodnot  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  je číslo, které nezávisí při zákalach do 5j.EBC na koncentraci částic, ale je specifické právě pro daný druh zákalotvorných částic. Právě toto číslo nám může dát dodatečnou informaci, která poslouží k identifikaci podstaty zákalu.

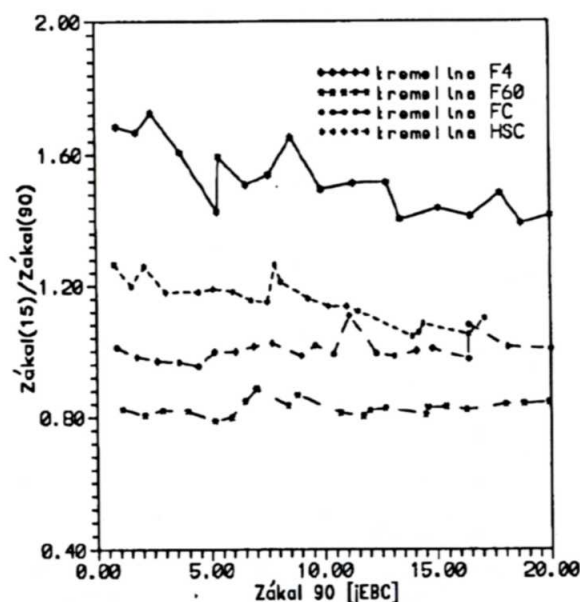
Tabulka 1

Typ částic	Citlivost 90° [j.EBC/mg.l]	Citlivost 15° [j.EBC/mg.l]	Specifický poměr $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$
křemelina: FC	0,09249	0,09150	0,99
F4	0,1003	0,1526	1,51
HSC	0,07691	0,08788	1,20
F60	0,09092	0,07762	0,82
mikro-organismus	[j.EBC na miliony v ml]	[j.EBC na miliony v ml]	
kvasinky	8,8	49,4	5,61
pediokoky	1,32	7,15	5,42
laktobacily	0,744	4,72	6,34

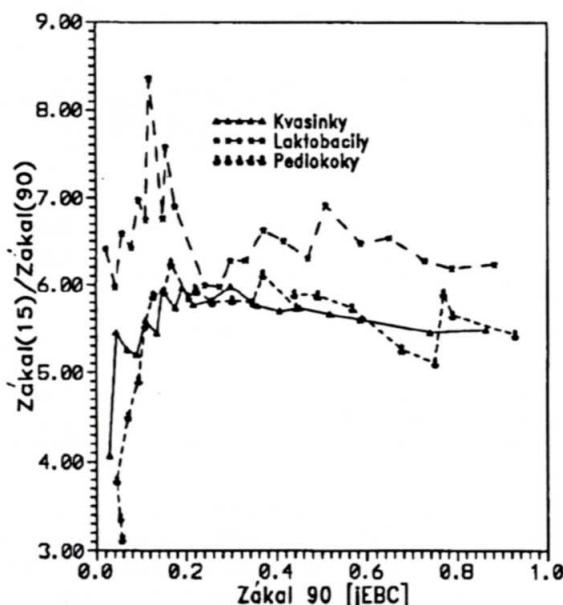
Na obr. 8 a 9 je vynesena závislost poměru  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  na zákalu 90° pro jednotlivé částice. Skupina křemelin se liší od měřených mikroorganismů. Při zákalu do 10 j. EBC se hodnoty poměru  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  pro jednotlivé druhy křemelin nepřekrývají a v rámci chyby měření jsou konstantní. Poměr  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  se u křemelin pohybuje v rozmezí 0,8 - 1,5. Pro mikroorganismy se poměr  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  pohybuje v rozmezí 5-7. Křivky pro kvasinky a pediokoky se překrývají, tyto dva druhy částic nelze pomocí měření pod uvedenými úhly na zákaloměru rozlišit. (Toto zjištění je na první pohled překvapující, neboť je známo, že pediokoky jsou řádově desetinásobně menší než kvasinky. Pediokoky se však vyskytují převážně ve větších celcích. Tato problematika bude předmětem dalšího studia.)

Z obrázků 8 a 9 vyplývá, že pokud se v kapalině vyskytuje pouze 1 typ studovaných zákalotvorných částic, je možné jej identifikovat pomocí specifického poměru  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  (nelze však rozlišit kvasinky a pediokoky). Jinak je tomu v případě, kdy je v pivu přítomno současně více typů zákalotvorných látek najednou.





Obr. 8 Závislost velikosti poměru  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  na velikosti zákalu  $90^\circ$

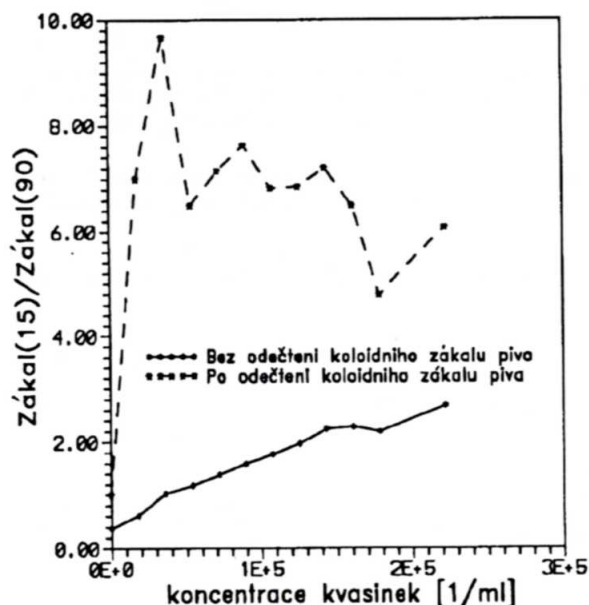


Obr. 9 Závislost velikosti poměru  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  na zákalu  $Z\ 90^\circ$  pro mikroorganismy (korekce na fyziologický roztok)

## 2.2. Vzorek se dvěma nebo více typy zákalotvorných částic

Pokud je koncentrace rozptylujících částic natolik malá, že hodnota zákalu nepřekračuje 2 j. EBC, dochází na částicích k rozptýlu záření, kterému říkáme jednoduchý. V oblasti jednoduchého rozptylu platí, že intenzity záření rozptýleného od jednotlivých rozptylujících částic se počítají. Z toho plyne, že i naměřený zákal v každém směru je dán součtem zákalu od jednotlivých typů zákalotvorných částic.

Jako příklad vývoje poměru  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  v kapalině s dvěma typy zákalotvorných částic byl proveden následující experiment. Suspenze kvasinek o známé koncentraci byla přidávána do ostře zfiltrovaného piva. Ve zfiltrovaném pivu byl zákal 0,4 j. EBC v úhlu  $90^\circ$  a 0,15 j. EBC v úhlu  $15^\circ$ , který byl tvořen koloidními částicemi a proto vykazoval vyšší hodnoty v úhlu  $90^\circ$ . Poměr  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  u tohoto ostře zfiltrovaného piva je 0,37. Poměr  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  u kvasinek je 5,6. Z obr. 10 je patrné, že poměr  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  začne po přidávání kvasinek do piva růst a blíží se k hodnotě typické pro kvasinky. Pokud od hodnot  $Z\ 15^\circ$  a  $Z\ 90^\circ$  odečteme hodnoty koloidního zákalu, který byl původně v pivu a vypočteme poměr  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  dostáváme téměř konstantu (přímku se směnicí nula) odpovídající svou hodnotou hodnotě  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  kvasinek ve vodě (viz. obr. 9).



Obr. 10 Závislost velikosti specifického poměru  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  na koncentraci kvasinek (kvasinky přidávány do piva)

Vyskytují-li se tedy v kapalině 2 nebo více typů rozptylujících částic s rozdílnými specifickými poměry  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$ , má výsledný poměr naměřených zákalů  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  hodnotu v rozmezí mezi hodnotami specifických poměrů obou typů částic a je blíže k hodnotě specifického poměru částic, které více k zákalu přispívají. Výsledný poměr  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  nikdy nepřekročí hranice vymezené specifickými poměry  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$  jednotlivých typů částic.

## 3. ZÁVĚR

Měření citlivosti zákaloměru prokázala, že odezva zákaloměru MZN 93-MC2 na zákal tvořený částicemi křemelin, mikroorganismů nebo koloidy se liší, což dává možnost usuzovat z výsledků měření na původce zákalu.

Charakteristickým ukazatelem při určování podstaty zákalu je údaj "specifický poměr"  $Z\ 15^\circ / Z\ 90^\circ$ , vypočtený jako podíl hodnot zákalů naměřených v obou detekčních úhlech zákaloměru. Tento údaj je pro každý typ záka-

lotvorných částic specifický a v oblasti zákalu do 5 j. EBC na velikosti zákalu nezávislý.

Specifický poměr se u křemelin pohybuje v rozmezí 0,8-1,5, u v pivovarské praxi nejběžnějších mikroorganismů v rozmezí 5-7. Specifický poměr  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  pro koloidní zákal běžných dobře zfiltrovaných piv se pohyboval v rozmezí hodnot 0,3-0,5.

Je-li poměr zákalů změřených vzorků piv  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  větší než 0,7 nebylo pivo kvalitně zfiltrované a nacházejí se v něm pevné částice křemeliny nebo mikroorganismy. Překročí-li poměr  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  hodnotu 1,5, nemůže být zákal piva způsoben pouze křemelinou, ale jeho původcem jsou mikroorganismy nebo částice jiného původu.

Tyto závěry nemusí být obecně platné v případě, že byla při filtraci použita křemelina jiného druhu než při popsaných měřeních, došlo ke kontaminaci odlišnými typy mikroorganismů, případně do piva pronikly kalové částice z ležáckých tanků. Specifický poměr  $Z_{15^\circ}/Z_{90^\circ}$  pro každý jiný typ zákalotvorných částic je možné získat opakováním popsaného experimentu.

## LITERATURA:

- [1] BUCKEE, G.K.-MORRIS, T.M.-BAILEY, T.P.: J.Inst.Brew, 92, 1986, s. 475
- [2] WACKERBAUER, K.-EVERS, H.-KAUFMANN, B.: Brauwelt, 46, 1992, s. 2378

*Lektoroval Ing. Jan ŠAVEL, CSc.  
Do redakce došlo 20.5.1994*

**Gabriel, P.-Dienstbier, M.-Sladký, P.-Černý, L.: Využití dvouúhlového zákaloměru k rozlišení typu některých zákalotvorných částic. Kvas.prům., 40, 1994, č. 7, s. 203 - 207**

Zákaloměr MZN 93-MC2 (měřič zákalu piva) měří zákal kapalin současně ve dvou kanálech, které se liší prostorovým umístěním detektoru. Každý kanál je jinak citlivý na různé druhy zákalotvorných částic. Testování citlivosti obou kanálů na některé druhy pevných částic (křemeliny, mikroorganismy) prokázalo

schopnost zákaloměru rozlišit v některých případech typ částic vytvářejících zákal.

**Gabriel, P.-Dienstbier, M.-Sladký, P.-Černý, L.: Application of Twin-Angle Turbidimeter for Determination of Some Species of Hazeforming Particles. Kvas.prům., 40, 1994, No. 7, pp. 203 - 207**

The turbidimeter MZN 93-MC2 (Beer Turbidity Measuring Device), measures liquids turbidity in two channels simultaneously, differing by detector location in space. Each channel shows a different sensitivity to various species of haze forming particles. By testing of the sensitivity of both channels to some species of solid particles (kieselgur, mikroorganisms) manifested its ability to distinguish in some cases the type of particles forming the turbidity.

**Gabriel, P.-Dienstbier, M.-Sladký, P.-Černý, L.: Applikation des zweiwinkligen Trübungsmessers zur Unterscheidung des Typs einiger Trübungsbildner. Kvas.prům., 40, 1994, Nr. 7, S. 203-207.**

Der Trübungsmesser MZN 93-MC2 (Biertrübungsmesser), der auf der Abteilung der Optithermalen Spektroskopie, MFF, Karlsuniversität Prag, konstruiert wurde, mißt die Trübung der Flüssigkeiten zugleich in zwei Kanälen, die sich durch die räumliche Lokalisierung des Detektors unterscheiden. Jeder Kanal ist auch anders empfindlich auf verschiedene trübungsbildende Bestandteile. Das Testen der Empfindlichkeit beider Kanäle auf einige Arten von festen Bestandteilen (Guren, Mikroorganismen) bestätigte die Fähigkeit des Trübungsmessers, in einigen Fällen den Typ der trübungsbildenden Bestandteile zu unterscheiden.

**Габриел, П. - Дистенбьер, М. - Слабы, П. - Черны, Л. : Использование двухугольного мутномера для различения типа некоторых мутнообразующих частиц. Квас. прум., 40, 1994, №7., стр. 203 - 207**

Мутномер МЗН 93-MC2 (измеритель мутности пива), сконструированный в Отделении оптотермальной спектроскопии МФФ УК, проводит измерения мутности жидкостей одновременно в двух каналах, отличающихся пространственным размещением детекторов. Каждый канал подругому чувствителен к разным видам мутнообразующих частиц. Исследованием чувствительности обоих каналов к некоторым типам твердых частиц (кремнеземли, микроорганизмы) была доказана способность мутномера различить в некоторых случаях тип частиц, образующих мутность.