

# Moderní metody a zařízení pro stanovení obsahu alkoholu v pivu

Mgr. E. DANDAROVA, Mgr. P. GABRIEL, RNDr. M. DIENSTBIER, doc. ing. P. SLADKÝ, CSc.  
Katedra chemické fyziky, Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy, Ke Karlovu 3,  
121 16 Praha 2  
Ing. L. ČERNÝ, Pivovary a sladovny, a. s., výzkum a služby, Praha

**Klíčová slova:** *pivo, alkohol, stanovení obsahu, metody, zařízení*

## ÚVOD

Cílem tohoto příspěvku je podat ucelený přehled metod a zařízení, které se nejčastěji používají pro analýzu obsahu alkoholu v pivu, spolu se stručným nástinem fyzikálních principů, na nichž jsou založeny. V přehledu jsou zahrnuty jak metody tradiční, přístrojově relativně nenáročné, tak složité a drahé automatické analyzátry, jakož i nejnovější spektroskopické metody, které teprve hledají širší uplatnění.

Podobně jako ve všech průmyslových odvětvích i v pivovarství vyvolává rostoucí konkurence tlak na stále zefektivňování výroby a zvyšování kvality finálních výrobků. Toho lze dosáhnout pouze důslednou a přesnou kontrolou a analýzou co největšího počtu parametrů na všech stupních výroby. Jedním z důležitých sledovaných parametrů v pivovarské výrobě je obsah alkoholu v pivu. Pivo je složitým mnohosložkovým systémem, a proto jeho analýza není zcela jednoduchá, zejména má-li být prováděna přímo v provozu bez extrakce vybrané komponenty.

## DESTILAČNÍ METODA [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]

Destilační metoda je standardní referenční metodou na stanovení obsahu alkoholu v pivu. K měření obsahu alkoholu se využívá rozdílného bodu varu a rozdílné hustoty vody a alkoholu. Přístrojové vybavení je relativně nenáročné a dostupné ve většině laboratoří. Je zapotřebí destilační zařízení, váhy vážící s přesností min. na  $10^{-4}$  g a pyknometr (případně přesný hustoměr), dovolující určit relativní hustotu na 5 desetinných míst. Ze zvoleného množství (obvykle 100 g) zkušebního vzorku piva, zbaveného oxidu uhličitého, se

spolu s nejméně 70 % původního objemu oddestiluje kvantitativně veškerý alkohol. Významné je zabezpečení dokonalého promíchání destilátu k docílení stejnoměrné kontrakce roztoku. Po dovažení do vytárované baňky zachyceného destilátu na původní hmotnost vzorku se pyknometricky stanoví s přesností na 5 desetinných míst jeho relativní hustota při 20 °C. Odpovídající množství alkoholu se odečte v alkoholových tabulkách. Výsledek se uvádí v hmotnostních procentech s přesností na 2 desetinná místa.

Nevýhodou této metody jsou pracnost a časová náročnost, souběžné stanovení dalších těkavých látek a poměrně značná rozdílnost údajů alkoholometrických tabulek, publikovaných v různých pramenech. Hodnoty obsahu alkoholu, vycházející z tabulek zdánlivé relativní hustoty roztoku ethylalkoholu a vody, používaných ve státech EBC [1] (u nás např. Konečný: Pivovarsko-sladařská příručka, Praha 1949 [2], Žáček—Andrlík: Chemické tabulky, Praha 1953 [3]) jsou relativně více než o 1 % vyšší než údaje odvozené z publikací americké společnosti pivovarských chemiků [4] (u nás např. Bednář—Štekr—Vančura: Pivovarsko-sladařské tabulky, Praha 1967 [5]). Normovaná tabelovaná data, obsažená v dnes již nezávazné ČSN 56 0186 [6] (Metody zkoušení piva, Praha 1986), vypočítaná na základě interpolačního vzorce v doporučení č. 22 mezinárodní organizace legální metrologie (Alkoholometrie 1977), nebo v ON 66 0807 [7] (Podrobné alkoholometrické tabulky 1973) a která jsou používána státními kontrolními orgány, udávají hodnoty mezi těmito extrémy, tj. asi o 0,75 % nižší oproti tabulkám zemí



EBC a naopak o 0,25 % vyšší než v USA. Tímto způsobem samotná volba alkoholometrických tabulek může ovlivnit výsledek stanovení nesrovnatelně významněji než vlastní přesnost metody.

**Přesnost:**  $\pm 0,02$  %.

### REFRAKTOMETRICKÁ METODA [8, 9]

Principem metody je využití lomu světelného paprsku na rozhraní vícesložkového systému voda—těkavé látky (převážně alkohol)—extrakt a měřicího hranolu. Index lomu je vedle fyzikálních podmínek měření výrazně ovlivňován koncentrací jednotlivých složek, především alkoholu a extraktu. Z empiricky zjišťovaných funkčních vztahů lze odvodit regresní rovnice k výpočtu zjišťovaných složek.

V pivu zbaveném oxidu uhličitého se stanoví relativní hustota (pyknometricky) a refrakce. Refrakce vody a piva se stanovuje pomocí komerčních refraktometrů při 20 °C. Nejpoužívanějším přístrojem je refraktometr od firmy Carl Zeiss Jena nebo Meopta Přerov. Obsah ethanolu lze vypočítat několika způsoby. Nejčastěji se používá Lehmanova—Gerumova vzorce:

$$A\% = \frac{2(R - L)}{7 \cdot h}$$

kde  $A$  — hmotnostní obsah ethanolu v pivu

$R$  — refrakce vzorku zmenšená o refrakci vody

$L$  —  $(h - 1) \cdot 1\,000$

$h$  — relativní hustota vzorku zbaveného oxidu uhličitého

Výpočet obsahu ethanolu podle vzorce Lehmana—Geruma vyhovuje především pro dobře prokvašená piva s obsahem alkoholu do 4,0 až 4,5 % hm. (výčepní piva a některé ležáky). K vyhodnocení analýz silných speciálních piv s vysokým obsahem ethanolu, zejména tmavých mírně prokvašených extraktivních piv, jsou vhodnější vztahy formulované Berglundem—Emlingtonem a Rasmusem<sup>1)</sup> nebo Schildem a Irrgangem<sup>2)</sup>, případně s konstantami dále upravenými Weyhem<sup>3)</sup> nebo Nebem<sup>4)</sup>; naopak u piv s nízkým obsahem ethanolu lze použít modifikovaný vztah podle Schilda a Irrganga<sup>5)</sup>.

Nevýhodou refraktometrické metody je, že její výsledky se obvykle neshodují s hodnotami získanými referenční (destilační) metodou (mezi oběma postupy nebyl dosud prokázán objektivní zákonitý vztah). Užší korelace výsledků lze docílit použitím korekčního součinitele  $f$  [8], definované

ho jako poměr hodnoty refrakce změřené k refrakci vypočtené podle příslušného vzorce ze skutečného, předem destilačně stanoveného obsahu ethanolu ve vzorku. Tímto každý druhý měsíc nebo při změně technologie či skladby surovin periodicky aktualizovaným faktorem, stanoveným individuálně pro daný refraktometr a druh piva, je třeba před výpočtem násobit zjištěnou hodnotu refrakce.

Odhad přesnosti určení obsahu alkoholu v pivu refraktometrickou metodou je třeba rozdělit do dvou částí. První část chyby je dána nepřesností naměřených hodnot indexu lomu a hustoty a z nich přímo plynoucí chybou určení obsahu alkoholu. Tato chyba dosahuje vzhledem k velké přesnosti měření hodnoty 0,03 %. Druhým zdrojem chyby může být nepřesnost použitého výpočtového vzorce. Velikost takovéto odchylky závisí na použitém výpočtu a může dosahovat hodnoty až 0,3 %; odchylku je možno minimalizovat zavedením korekčního součinitele  $f$  [8] definovaného v předchozím odstavci.

**Přesnost:**  $\pm 0,03$  %.

### MĚŘENÍ ALKOHOLU ULTRAZVUKEM

[10, 11]

Existují dva druhy přístrojů měřících obsah alkoholu ultrazvukem — laboratorní a on-line analyzátoři.

*On-line analýza* je založena na měření rychlosti zvuku v pivu. Vychází z měření času, za který krátký ultrazvukový puls o frekvenci 1 až 5 MHz urazí určitou dráhu. Přístroj je opatřen mikroprocesorem, který kontroluje generaci ultrazvukového pulsu, zpracování signálu a konečný výpočet. Rychlost zvuku je závislá na koncentraci složek piva přes molekulární objem a kompresibilitu. Pro organická rozpouštědla je obecně rychlost zvuku nepřímo úměrná teplotě. Nicméně v důsledku molekulárních interakcí vodné roztoky vykazují anomální chování — rychlost zvuku je obecně rostoucí funkcí teploty. Alkohol a voda interagují vodíkovou vazbou, což ovlivňuje mezimolekulární vzdálenost a kompresibilitu směsi. Vezmeme-li v úvahu všechny tyto faktory, vztah mezi koncentrací a rychlostí zvuku za různých teplot může být velmi komplikovaný, ale nicméně dobře definovaný. V případě koncentrací ethanolu menších než 10 % objemových jednotek lze vztah mezi rychlostí zvuku a koncentrací ethanolu aproximovat přímkou. Jelikož pivo není jednoduchá směs vody s alkoholem a obsahuje hodně jiných složek ovlivňujících hustotu, rychlost zvuku a index refrakce, měření jen jednoho z těchto parametrů není postačující pro přesné stanovení obsahu ethanolu v pivu. Pro dosažení vyšší, v pivovarství požadované přesnosti, je nutno přičlenit druhou fyzikální techniku, jako např. měření indexu lomu světla.

#### Poznámky:

<sup>1)</sup>  $A\% = 0,269R - 0,2775L + 0,323$

<sup>2)</sup>  $A\% = 0,2965R - 0,2958L - 0,07$  (ležáky)

$A\% = 0,2984(R - L) - 0,16$  (silná speciální piva)

<sup>3)</sup>  $A\% = 0,2889R - 0,2894L + 0,12$

<sup>4)</sup>  $A\% = 0,2750(R - L) - 0,37$

<sup>5)</sup>  $A\% = (R - 14,17) : 1,761$



Tab. 1 Přesnost stanovení obsahu alkoholu on-line analýzou

Měřené parametry	Výrobek	Přesnost
rychlost zvuku	všechna piva	$\pm 0,3 \text{ \% v/v}$
rychlost zvuku + index lomu	všechna piva	$\pm 0,16 \text{ \% v/v}$
rychlost zvuku + index lomu	vybrané vzorky	$\pm 0,05 \text{ v/v}$

Laboratorní automatický analyzátor piva PAAR stanoví obsah alkoholu a skutečného extraktu v pivu měřením hustoty (metodou ohybového oscilátoru) a rychlosti zvuku (stanovením doby průchodu ultrazvukového impulsu přesně definovaným úsekem vzorku). Měření hustoty a rychlosti zvuku jsou řízeny mikroprocesorem. Výpočet se provádí pomocí polynomicke aproximace, založené na hodnotách destilační analýzy.

K nevýhodám této metody patří nutnost kalibrace a odlišná přesnost pro různé druhy piva.

**Přesnost:**  $\pm 0,04 \text{ \%}$  (při přesném nastavení přístroje až  $\pm 0,02 \text{ \%}$ ).

## METODA KATALYTICKÉHO SPALOVÁNÍ [12]

Této metody používá např. mnohoúčelový laboratorní analyzátor SCABA, který provádí jak analýzu koncentrace původní mladiny (O. G.), skutečného a zdánlivého extraktu (Real E, App. E), skutečného a zdánlivého prokvašení (Real Ferm, App. Ferm), tak i analýzu obsahu alkoholu. Analýza obsahu alkoholu je prováděna na dekarbonizovaných vzorcích při teplotě  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzorek je rozdělen do dvou částí, jedna je vedena do oscilační trubice ve tvaru U, kde na základě stanovení vlastní frekvence kmitání trubice s pivem je změněna jeho hustota a druhá do speciální kyvety s topnou spirálou, kde se vzorek odpaří, páry alkoholu se spálí a vzniklé teplo, které je proporcionální obsahu alkoholu ve vzduchovém proudu, se změří speciálním senzorem založeným na principu Wheatstonova mostu. Obsah alkoholu ve vzduchovém proudu (který je proporcionální obsahu alkoholu ve vzorku) se stanoví na základě předem provedené kalibrace roztokem o známé koncentraci ethanolu. Pro kalibraci denzitometru se používají vzduch a destilovaná voda.

Nevýhody této metody jsou citlivost k atmosférickým nečistotám, nezbytnost každodenní kalibrace a vysoká pořizovací cena přístroje; do výsledků jsou navíc zahrnuty všechny alkoholy.

**Přesnost:**  $\pm 0,02 \text{ \%}$ .

## METODA PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE [13, 14]

Plynová chromatografie se používá k separaci, identifikaci a kvantitativnímu určování komponent složitých směsí vyskytujících se v plynném

skupenství. Látky se dělí v kolonách, kterými prochází nosný plyn obsahující vzorek (tzv. mobilní fáze); v kolonách je uložena nepohyblivá neboli stacionární fáze. Při analýze alkoholu se injektuje dávka piva do porézní kolony při izotermálních podmínkách. Jako nosný plyn se používá helium nebo dusík. Detekce je prováděna plamenovým ionizačním detektorem. Při kalibraci se používá interní standard — n-propanol. Obsah ethanolu je určen přímo z příslušného píku na plynovém chromatogramu.

Výsledky měření v 10 laboratořích ukazují, že přesnost stanovení obsahu ethanolu v pivu pomocí plynové chromatografie je srovnatelná s přesností referenční metody. Je navíc rychlejší a lze ji použít pro in-line nebo process monitoring. Plynové chromatografy jsou ale velmi drahé, vyžadují náročnou technickou údržbu a vysoce kvalifikované pracovníky.

**Přesnost:**  $\pm 0,02 \text{ \%}$ .

## HEAD-SPACE ANALÝZA [15]

Metoda je založena na analýze plynné fáze, nacházející se v rovnováze s kapalinou v uzavřeném systému. Ethanol je hlavní složkou plynné fáze nad hladinou piva a v důsledku toho nejsou výsledky ovlivněny ostatními substancemi. Senzory, používané při této metodě, jsou založeny na principu katalytické oxidace (např. Fuji sensor). Chemická reakce má za následek změny elektrických vlastností citlivé elektrody. Fuji sensor se skládá ze dvou platinových drátků. Drátek s katalyzátorem funguje jako senzor, zatímco drátek bez katalyzátoru — jako reference změny teploty a vlhkosti. Závislost odporu citlivého prvku na koncentraci alkoholu je lineární.

Head-space analýza je rychlá a z operačního hlediska jednoduchá metoda, ale vyznačuje se menší přesností ve srovnání s ostatními metodami.

**Přesnost:**  $\pm 0,1 \text{ \%}$ .

## BLÍZKÁ INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE [16, 17]

Blízká infračervená (NIR) spektroskopie je rychlá a přesná nedestruktivní technika, která je v současné době široce užívána k analýze řady zemědělských a potravinářských výrobků. Velkou výhodou této techniky je možnost jejího použití v on-line uspořádání.

NIR spektroskopie používá na analýzu vzorků infračervené světlo. NIR oblast pokrývá část energetického spektra mezi viditelnou a střední infračervenou oblastí od  $750 \text{ nm}$ . do  $2\,500 \text{ nm}$ . K analýze vzorků pomocí blízké infračervené spektroskopie se používají 3 základní uspořádání — transmisní, transflexní a reflexní. Pro kapalné systémy se nejčastěji používají přístroje v transmisním uspořádání.



Při průchodu optického záření absorbujícím prostředím dochází k poklesu jeho intenzity. Podstata spektroskopických měření spočívá v měření velikosti útlumu světelné vlny na určité dráze. Výsledkem měření je tzv. spektrum, které představuje závislost absorpce na vlnové délce v této oblasti. Závislost absorpce  $A$  na určité vlnové délce je definována vztahem:

$$A(\nu) = \log \left[ \frac{I^0(\nu)}{I(\nu)} \right]$$

kde —  $I(\nu)$  — intenzita záření po průchodu látkou

—  $I^0(\nu)$  — intenzita záření dopadajícího na látku

NIR spektra složek potravinářských výrobků (v daném případě piva) se vyznačují širokými absorpčními pásy, které se navzájem překrývají a jsou důsledkem absorpce C—H, O—H anebo N—H vazeb na prvních nebo druhých vlastních harmonických frekvencích anebo na jejich kombinovaných frekvencích.

Z naznačených fyzikálních vlastností vyplývá, že metody NIR spektroskopie patří mezi tzv. sekundární. To znamená, že koncentraci určité složky složitých systémů (jakým je např. pivo) není možno určit předem pouze na základě spektroskopických měření, nýbrž je nutno použít výsledky některé referenční, dobře reprodukovatelné (tzv. primární) metody, k nalezení příslušných vztahů a vhodného postupu zpracování spektrálních měření.

Při této tzv. kalibraci se postupuje tak, že se sada vzorků nejdříve zanalyzuje primární metodou a potom jsou výsledky sekundární metody porovnány s výsledky referenční metody. Čím lépe souhlasí výsledky sekundární metody s výsledky primární metody, tím spolehlivější je tato nově vyvinutá metoda.

Cílem kalibračního postupu je odvodit kalibrační rovnici, jejíž nalezení však nebývá mnohdy jednoduché. Rychlý pokrok v spektroskopii a chemometrii v poslední době měl za následek vývoj různých statistických (tzv. multivariačních) metod na zpracování výsledků.

Pro spektroskopické stanovení obsahu ethanolu v pivu se prokázala jako velmi úspěšná MLR metoda (multivariační lineární regrese) pomocí níž lze získat kalibrační rovnici ve tvaru:

$$C = a_0 + a_1 T(A_{\lambda,1}) + a_2 T(A_{\lambda,2}) + \dots + a_n T(A_{\lambda,n})$$

kde  $C$  — koncentrace ethanolu ve vzorku piva

$a_i$  — koeficienty ( $i = 1 \dots n$ )

$T(A_{\lambda,i})$  — hodnota absorpce na vlnové délce  $\lambda_i$ , po vhodné transformaci (např. vyhlazení, derivaci atd.).

Ukazuje se, že s metodou NIR spektroskopie lze dosáhnout velmi dobré reprodukovatelnosti výsledků měření spolu s vysokou přesností.

Výhodou je poměrně jednoduchá manipulace se vzorky a rychlost provedené analýzy. Nevýhodou jsou doposud vyšší finanční nároky, vyplývající ze složitosti přístrojové techniky.

Původní výsledky aplikace této metody na různé druhy piv českého typu budou podrobně pojednány v připravovaném článku.

**Přesnost:**  $\pm 0,03 \%$ .

## LITERATURA

- [1] De CLERCK, J.: Lehrbuch der Brauerei, VLB Berlin, 1965
- [2] KONEČNÝ, F. V.: Pomocná pivovarsko-sladařská příručka, Praha, 1953
- [3] ŽÁČEK, Z., ANDRŠÍK, K.: Chemické tabulky SPN Praha, 1953
- [4] Tables Related to Determination of Wort, Beer and Brewing Sugars and Syrups. ASBC, 1956
- [5] BEDNÁŘ, J., ŠTEKR, K., VANČURA, M.: Pivovarsko-sladařské tabulky, SNTL, Praha, 1967
- [6] ČSN 56 0186, část 5 (1986)
- [7] ON 66 0807 (1973)
- [8] BASAŘOVÁ, G. a kol.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1993
- [9] ŠROGL, J.: Řešení problematiky stanovení stupňovitosti piv — Informační zpráva č. 77/2 ZČP Plzeň 1977
- [10] FORREST, I.: Measurement of Alcohol in Brewing, *Brewers' Guardian*, Sept. 1992, p. 24
- [11] FORREST, I.: Novel Ultrasonic Device for In-line Measurement of Sugar, Alcohol and Original Gravity, osobní sdělení
- [12] ČEJKA, P.: Kvas. prům., **38**, 1992, s. 331
- [13] CUTAIA, A. J.: Malt Beverages and Brewing Materials: Gas Chromatographic Determination of Ethanol in Beer, *J. Assoc. Anal. Chem.*, **67**, 1984, p. 192
- [14] KALOUS, V.: Základy fyzikálně chemických metod, SNTL, Praha 1975
- [15] BROWNE, A. a kol.: Development of a Sturdy, Portable Instrument for the Rapid Determination of Alcohol in Beer, *ASBC Journal*, **49**, 1991, p. 74
- [16] HALSEY, S. A.: The Use of Transmission and Transflectance Near Infrared Spectroscopy for the Analysis of Beer, *J. Inst. Brew.*, **91**, 1985, p. 306
- [17] PROUDLOVE, M. O.: The Use of Near Infrared Spectroscopy in Malting and Brewing. Lecture given to the Institute of Brewing, Cambridge Meeting, July 1991

Lektoroval Ing. J. Šrogl  
Do redakce došlo 15. 7. 1995

**Dandarova, E.—Gabriel, P.—Dienstbier, M.—Sladký, P.—Černý, L.: Moderní metody a zařízení pro stanovení obsahu alkoholu v pivu.** Kvas. prům., **41**, 1995, č. 9, s. 269—274

V příspěvku byl podán stručný přehled metod, které se v současné době nejvíce používají, jejich přesnosti, výhody a nevýhody. Konstatuje se, že tradiční metody jako destilační a refraktometrická jsou časově náročné, vyžadují zkušenosti a lze je provést pouze za laboratorních podmínek. U moderních automatických analyzátorů, např. PAAR a SCABA, jsou tyto nevýhody odstraněny (jsou rychlé a snadno obsluhovatelné). Jejich nevýhodou je vysoká cena. Blízká infračervená spektros-

kopie je relativně nová technika s velkou budoucností.

**Dandarova, E.—Gabriel, P.—Dienstbier, M.—Sladký, P.—Černý, L.: Modern Methods and Apparatus for Assessment Alcohol Contents in Beer.** Kvas. prům., 41, 1995, No. 9, pp. 269—274.

Short survey of currently most used methods, their accuracy, advantages and drawbacks. It was found that traditionally used methods such as distilling and refractometric ones are timely demanding, require experience and could be performed only in laboratory conditions. At modern automatic analysers, f.i. PAAR and SCABA are these disadvantages removed (they are rapid and easy in operation). Disadvantage can be seen in their high price. Near-infrared spectroscopy is a relatively new method with expectations to future.

**Dandarova, E.—Gabriel, P.—Dienstbier, M.—Sladký, P.—Černý, L.: Moderne Methoden und Apparaturen zur Bestimmung des Alkoholgehalts im Bier.** Kvas. prům., 41, 1995, Nr. 9, S. 269—274.

In dem Beitrag wird eine zusammenfassende Übersicht der Methoden gegeben, die gegenwärtig am meisten angewandt werden, wobei im einzelnen ihre Genauigkeit, ihre Vorteile und Nachteile charakterisiert werden. Es wird konstatiert, dass die traditionellen Methoden, d. h. vor allem die Destillations- und refraktometrische Metho-

den zeitraubend sind, Erfahrung erfordern und nur in Laborbedingungen durchführbar sind. Bei den modernen automatischen Analysatoren, z. B. PAAR und SCABA, sind diese Nachteile eliminiert, die Bestimmung erfolgt schnell und die Apparate sind einfach zu bedienen. Den Nachteil der Analysatoren stellt ihr hoher Anschaffungspreis dar. Die nahe infrarote Spektroskopie ist eine relativ neue Technik mit grossen Zukunftsmöglichkeiten.

**Дандарова, Е.—Габриел, П.—Динстбиер, М.—Сладки, П.—Черны, Л.: Современные методы и оборудование для определения содержания алкоголя в пиве.** Квас. прум., 41, 1995, № 9, стр. 269—274.

В статье приведен краткий обзор методов, которые в наше время находят наибольшее применение, их точности, преимуществ и недостатков. Констатируется, что традиционные методы, как дистилляционная и рефрактометрическая, требовательны к времени, требуют опыта, и их можно проводить только при лабораторных условиях. В случае автоматических анализаторов, напр. ПААР и СЦАБА, эти недостатки устранены (они быстродействующие и легкообслуживаемые). Недостатком является их высокая цена. Близкая инфракрасная спектроскопия — относительно новый способ с большим будущим.