Z výzkumu a praxe

NOVÝ ZPŮSOB OBJEKTIVNÍHO PROVÁDĚNÍ TESTŮ PIVA SÍRANEM AMONNÝM V BĚŽNÝCH CHEMICKÝCH ZKUMAVKÁCH

PETR SLADKÝ, HANA CÍSAŘOVÁ, Katedra chemické fyziky a optiky, Matematicko-fyzikální fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Klíčová slova: pivo, koloidní stabilizace, zákal, síranový test, fotometrické srážecí titrace

1. ÚVOD

K rychlému posouzení účinků koloidní stabilizace piva a vzájemného působení bílkovin a polyfenolových látek se ve výrobní praxi používá tzv. test piva síranem amonným v provedení podle [1]. Stejný způsob stanovení „síranového testu“ piva je popsán i v analytice [2], kde je však na rozdíl od [1] použito principiálně správné označení síranového testu názvem „práh srážení (koloidů piva) síranem amonným“.

Z obecného fyzikálně-chemického hlediska patří test piva síranem amonným mezi tzv. srážecí titrace, které se vyznačují vesměs skokovou změnou zákalu roztoku při překročení prahové dávky titrantu do titrovaného vzorku. V našem případě se jedná o prahovou dávku nasyceného roztoku síranu amonného do vzorku piva.

Přestože v pivovarských analytikách [1] i [2] jsou citovány i fotometrické metody stanovení prahu srážení koloidů piva nasyceným roztokem síranu amonného, jejich analytický účinek resp. přesnost je malá, podobně jako při hodnocení vývoje zákalu vzorků zrakem.

Cílem předložené práce je popsat nový objektivní a zpřesněný způsob měření prahu srážení koloidů piva při laboratorní teplotě pomocí laboratorního pivovarského zákaloměru [3], upraveného pro měření zákalu mililitrového množství vzorků [4]. Níže popsaným způsobem lze měřit přímo i provozní vzorky sladiny a mladiny bez nutnosti jejich úpravy

např. předfiltrací [5]. Předností vyvinutého postupu stanovení prahu srážení koloidů piva, mladiny i sladiny, resp. sladového extraktu, je i malá spotřeba titrantů, což umožňuje pracovat s poměrně nákladnými chemikáliemi biochemické čistoty.

2. POPIS MĚŘENÝCH VELIČIN A DEFINICE PRAHU SRÁŽENÍ

Při objektivních, tj. fotometrických srážecích titracích měříme obvykle některou z veličin popisujících zákal vzorku, jako např. turbiditu v transmisním uspořádání nebo lépe nefelometrický zákal, v závislosti na rostoucím objemovém množství titrantu. V případě síranového testu se jedná o měření vývoje zákalu v přesně odměřeném objemu zkoušeného vzorku piva v závislosti na přesně odměřeném množství přidávaného nasyceného roztoku síranu amonného v čase.

Vzhledem k tomu, že velikost měřeného zákalu vznikající sráženinou nebo i dočasně rozpouštějícího se zákalu je obecně závislá na kinetice probíhajících reakcí a na následujícím resp. výchozím částicovém složení titrovaného roztoku, je nutno dbát během titrace na jednotný a reprodukovatelný způsob a účinek míchání vzorku. Běžně používané míchání titrovaných vzorků magnetickými míchadly ne vždy zaručuje definované míchání z důvodu rozdílně nastavených otáček i rozměrů použitých míchadel a nádob. Podstatně výhodnějším se jeví, z hlediska

kinetiky srážecích reakcí a koagulačních procesů, rychlé jednorázové promíchání vzorku s titrantem (např. pístovým míchadlem) ihned po krokovém nadávkování titrantu do zkumavky. Takovéto zamíchání je pak následováno již téměř stacionární perikinetickou koagulací částic v roztoku vzorku [6].

Vlastní hodnotu prahu srážení definujeme s výhodou pomocí tečen podprahové a nadprahové části funkce $Z = Z(C)$, jak je vyznačeno pomocí grafů na obr. 1 a 2. Poznamenejme, že podprahový průběh závislosti $Z = Z(C)$ nemusí být konstantní, tj. rovnoběžný s osou koncentrace, nýbrž může i růst v důsledku paralelně probíhajících zákalových procesů. Dokonce může pod prahem srážení funkce $Z(C)$ s rostoucí koncentrací síranu amonného klesat vlivem rozpouštění zákalotvorných látek přítomných ve vzorku (případ tzv. „vsolování“).

Ve všech uvedených případech je tangenciální neboli „tečnová“ definice prahu srážení C_{sa} z fyzikálně-chemického hlediska nejpřesnější [7]. Jestliže se spokojíme s menší přesností stanovení prahové hodnoty, můžeme použít tzv. ordinátovou definici, tj. vyznačit práh srážení pomocí zvolené prahové hodnoty zákalu Z_0 , které přiřadíme odpovídající hodnotu koncentrace titrantu C_{so} : $Z_0 = Z(C_{so})$ (viz též obr. 1, 2). Musíme však potom pracovat stále v jednotném uspořádání pomocí jednotného postupu a cejchování.

Obr. 1 Grafické znázornění tečnové C_{sa} a ordinátové C_{so} definice prahové koncentrace titrantu pro typický průběh vývoje zákalu v závislosti na rostoucí koncentraci, způsobené postupným dávkováním titrantu do vzorku

Obr. 2 Grafický záznam časového vývoje zákalu 5 ml vzorku piva při rovnoměrném krokovém dávkování nasyceného roztoku síranu amonného rychlostí $v = 0,1$ ml/1 min s jednorázovým pístovým zamícháním po každém kroku. Platí:

$$C_{so} = v \cdot t_{so} = 0,1 \cdot 5,2 = 0,52 \text{ ml titrantu na 5 ml vzorku}$$

$$C_{sa} = v \cdot t_{sa} = 0,1 \cdot 5,8 = 0,58 \text{ ml titrantu na 5 ml vzorku}$$

3. USPOŘÁDÁNÍ LABORATORNÍHO PIVOVARSKÉHO ZÁKALOMETRU PRO MĚŘENÍ VE ZKUMAVKÁCH

Běžné pивovarské laboratorní zákalometry jsou určeny především pro měření zákalu piva přímo v komerčních lahvích a ve velkých válcových kyvetách podobného průměru. Pro měření síranového testu v běžných chemických zkumavkách lze použít pouze ty laboratorní pивovarské zákalometry, které lze opatřit vhodným zkumavkovým nástavcem, vloženým do měřicí komory zákalometru. Mezi takové přístroje patří i zákalometr popsaný v práci [3] v úpravě podle [4], který navíc umožňuje automatický záznam naměřených hodnot v čase a jejich grafické zobrazení pomocí osobního počítače.

Pro měření zákalu vzorku ve zkumavkách zvoleného průměru pomocí připraveného adaptéru je nutno provést odpovídající kalibrační přepočet jednotek EBC oceňchováním sestavy pomocí standardní formazinové suspenze.

Výsledky měření zákalu vzorku titrovaného piva ve zkumavce v závislosti na přidávku titrantu v podobě nasyceného roztoku síranu amonného lze přirozeně zapisovat ručně do předtištěné tabulky. Výhodnější je však automatický zápis měřených hodnot pomocí připojeného osobního počítače a vhodného tabulkového a grafického programového vybavení.

4. DÁVKOVÁNÍ A MÍCHÁNÍ ROZTOKŮ

K dosažení co největší reprodukovatelnosti měření je žádoucí co nejpřesnější odměřování jak titrovaných vzorků, tak i dávek titrantu. V případě nasyceného roztoku síranu amonného je potřeba dodržet v maximální míře rovnovážnou nasycenost a pracovat při stejné teplotě vzorku i titrantu.

Titrant je třeba přidávat do vzorku rovnoměrně po stejných dávkách rychlostí umožňující ustavení reakční rovnováhy. Při krokovém (tj. nespojitém) dávkování nasyceného roztoku síranu amonného do titrovaného vzorku piva je nutno po každé dávce reakční směs promíchat např. jednorázově pístovým míchadlem. Je třeba dbát, aby během dávkování i míchání byla odměřená dávka titrantu dodána do vzorku a neulpěla na stěnách zkumavky či míchadla.

Tab.1 Příklad objektivizace síranového testu dle [1] resp. [2]. C je množství nasyceného roztoku síranu amonného přidávané do 10 ml vzorku, Z zákal v relativních jednotkách nebo v jednotkách EBC

Síranový test piva M1 v deseti zkumavkách	
C [ml]	Z [rel.j.]
0,0	0,13
0,4	0,11
1,0	0,13
1,4	0,12
1,6	0,17
1,8	0,21
2,0	0,91
2,2	1,45
2,4	2,11
2,6	3,53

K diskrétnímu i spojitému dávkování titrantu do vzorku se s výhodou používají různé typy mikropipetů, z nichž některé lze řídit programově z vestavěného či vnějšího počítače. Jednoduchý a nenákladný mikrodávkač titrantu lze zhotovit svépomocí na bázi jednorázových injekčních stříkaček opatřených hadicovým nástavcem jehly zakončeným pístovým míchadlem a šroubovým posunem dávkovacího pístu.

K dosažení co největší přesnosti a reprodukovatelnosti stanovení prahu srážení koloidů piva nasyceným roztokem síranu amonného je rovněž důležité pracovat s optimálním objemem vzorků ve zkumavce určujícím, v závislosti na průměru zkumavky, výšku hladiny vzorku nad svazkem zkušebního světla. Optimální výchozí výška hladiny vzorku je několik milimetrů nad měřicím svazkem světla vymezeným šterbinami držáku zkumavky v měřicí komoře.

5. VÝSLEDKY MĚŘENÍ

Subjektivní, tj. vizuální pozorování vývoje zákalů během srážení koloidů piva nasyceným roztokem síranu amonného ve zkumavkách podle [1] resp. [2] lze snadno objektivizovat postupným proměřením vzniklých zákalů přímo v reakčních zkumavkách pomocí upraveného laboratorního pивovarského zákalometru v uspořádání popsaném výše (viz kap. 3 a práce [4]). Abychom ukázali analytické přednosti způsobu navrženého v této práci, porovnáváme ho v této kapitole se způsoby [1] resp. [2] včetně jejich fotometrických variant.

5.1. Srovnání subjektivních a objektivních měření v řadě zkumavek dle [1] a [2]

Podle [1] (viz též [2]) jsme do deseti očíslovaných zkumavek 0 až 9 o průměru 19 mm odměřili s přesností na 1% 10 ml vytřepaného piva. Vzorek piva byl získán nákupem v ma-

loobchodní síti. Nasycený roztok síranu amonného (p.a., Lachema, Brno) jsme připravili podle [1]. Měření probíhala za laboratorní teploty ($23 \pm 1^\circ\text{C}$).

Nasycený roztok síranu amonného byl přidáván mikropipetou do řady zkumavek vyrovnaných na stojanu podle schématu vyznačeného v tab. 1. Po nadávkování každé zkumavky bylo v souladu s [1] provedeno důkladné protřepání reagující směsi. Po 15 min stání byl vzniklý zákal hodnocen jak vizuálně, tak měřením v upraveném zákalometru. Výsledky měření byly zapsány a vyhodnoceny pomocí tab. 1, kterou bylo možno předem pro každý test připravit tiskem, resp. pomocí grafu na obr. 3.

5.2. Objektivní měření prahu srážení novým způsobem v jedné zkumavce

Ke stanovení hodnoty prahu srážení koloidů piva novým způsobem dle našeho návrhu postačí objektivně měřit vývoj zákalu vzorku v závislosti na dávce titrantu v jedné zkumavce, umístěné pomocí adaptéru v měřicí komoře zákalometru. Přitom výsledky měření lze vyjadřovat v poměrných jednotkách zákalu bez jejich převedení na jednotky EBC oceňchováním pomocí formazinového standardu. Poměrně vysoké produktivity měření lze dosáhnout již pomocí ručního zápisu měřených hodnot vývoje zákalu při rychlostech dávkování cca 100 ml za minutu s jednorázovým mezioperačním promícháním pomocí pístového míchadla po každém kroku a odečtení hodnoty zákalu do tabulky nebo vyznačení hodnoty přímo do příručního grafu (viz tab. 2 a obr. 4).

Dalšího zvýšení analytické produktivity měření, co se týče jak přesnosti, tak i rychlosti, lze dosáhnout automatickým záznamem naměřených hodnot pomocí osobního počítače připojeného k použitému zákalometru. Do paměti počítače se zaznamenávají v závislosti na čase množství nadávkovaného titrantu a jemu

Obr.3 Grafické zpracování naměřených hodnot z tab. 1: Příklad nefelometrické objektivizace síranového testu piva M1. Okolo předpokládané prahové hodnoty dávkováno s menším krokem. Po nadávkování a promíchání jednotlivých dávek nasyceného roztoku síranu amonného do deseti zkumavek s 10 ml vzorku (viz tab.1) byly po 15minutovém ustálení změřeny zákal vzorků v jednotlivých zkumavkách. Zjištěná hodnota prahu srážení je $C_{sa} = 1,8$ ml titrantu na 10 ml vzorku.

odpovídající rovnovážná hodnota vzniklého zákalu po předchozím jednorázovém promíchání. Měření lze provádět již pomocí jednoduchého software pro záznam průběhu zákalu v čase při zachování rovnoměrných časových intervalů mezi jednotlivými konstantními dávkami nasyceného roztoku síranu amonného do zkumavky se vzorkem, následovanými opět jednorázovým zamícháním po každé dávce.

Příklad záznamu prahu srážení vzorku pomocí jednoduchého grafického software [8] je ukázán na obr. 5.

Tab.2 Příklad zápisu výsledků síranového testu měřeného v jedné zkumavce s 5 ml vzorku piva M2. C je množství nasyceného roztoku síranu amonného přidávané do 5 ml vzorku, Z zákal v relativních jednotkách nebo v jednotkách EBC

Síranový test piva M2 v jedné zkumavce	
C [ml]	Z [rel.j.]
0,00	0,06
0,06	0,07
0,12	0,07
0,18	0,10
0,24	0,13
0,30	0,09
0,36	0,13
0,42	0,14
0,48	0,09
0,54	0,17
0,60	0,18
0,66	0,23
0,72	0,18
0,78	0,22
0,84	0,24
0,90	0,68
0,96	3,35
1,02	6,58
1,08	8,47
1,14	9,71

6. DISKUSE

Stanovení prahu srážení koloidů piva nasyceným roztokem síranu amonného je dle [1] resp. [2] udáváno s relativní přesností 0,1 ml titrantu na 10 ml výchozího objemu titrovaného vzorku, tedy cca 1 %. Dosažení vyšší přesnosti stanovení pod 1 % vyžaduje zachování co nejlépe definovaných podmínek pokusu, počínaje velmi přesným dávkováním titrantu definované čistoty, reprodukovatelným mícháním i teplotou reakcí. Je to dáno velmi složitými a dosud ne plně poznávanými procesy srážení koloidů piva resp. pivovar-ských meziproduktů.

Určitého zpřesnění lze dosáhnout přirozeně větším počtem pokusů a jejich statistickým vyhodnocením. K tomu napomáhá v zásadě i výše popsaný nový způsob měření síranových testů s objektivním měřením zákalu přímo v chemických zkumavkách.

Podrobnější kvantitativní diskuse chyby měření nefelometrických titrací vyžaduje zvláštní pojednání, které přesahuje rámec této práce. Proto si zde spíše všimneme technicko-ekonomických předností navrženého způsobu měření.

Vedle naznačené možnosti zvýšení přesnosti provádění síranového testu piva jeho objektivním měřením s vysokou produktivitou analytické práce a navazujícím statistickým vyhodnocením naměřených dat je zásadní

Obr. 4 Závislost zákalu vzorku M2 na množství rovnoměrně přidávaného nasyceného roztoku síranu amonného. Titrant dávkován postupně do jedné zkumavky s 5 ml vzorku s mezioperačním píستovým zamícháním. Hodnoty zákalu byly ručně zapsány do tab.2. Zjištěná hodnota prahu srážení je $C_{sa} = 0,9$ ml titrantu na 5 ml vzorku.

předností nového způsobu velmi malá spotřeba chemikálií a ostatního materiálu. Pro stanovení jedné analytické hodnoty síranového testu pomocí navrženého způsobu potřebujeme průměrně 5 ml vzorku piva a 1 ml nasyceného roztoku síranu amonného o obsahu cca 0,7 g bezvodé krystalické suroviny. Maximálně tedy spotřebujeme na měření novým způsobem cca 1 g síranu amonného v ceně cca 2 Kč biochemické čistoty resp. 0,5 až 1 Kč čistoty p.a.

V případě klasického síranového testu dle [1] resp. [2] je spotřeba síranu amonného na jednu analytickou hodnotu 5 až 10krát větší podle modifikace postupu. Tomu odpovídá i větší spotřeba zkumavek a dalšího pomocného materiálu, a tedy i vedlejšího pracovního času.

7. ZÁVĚR

Popsaný nový způsob objektivního provádění testů piva síranem amonným (ale i jinými

titrany) se ve srovnání se stávajícími způsoby vyznačuje řadou předností:

- analyticky definovaným vymezením prahu srážení koloidů vzorku;
- definovaným nefelometrickým stanovením prahu srážení v běžných chemických zkumavkách, tj. ne specializovaných fotometrických kyvetách;
- definovaným píستovým promícháním titrantu ve vzorku s následnou stacionární perikinetickou koagulací (bez nutnosti použití magnetických míchadel);
- vysokou analytickou účinností, tj. rychlostí a přesností stanovení již při ručním zápisu měřených dat;
- malou spotřebou vzorků i titrantů (cca 5 ml vzorku a několik ml titrantu v případě nasyceného roztoku síranu amonného);
- minimálně desetinásobnou úsporou nákladů nutných na jednu analýzu oproti stávajícím způsobům;

Obr.5 Příklad automatického záznamu časového vývoje zákalu 5 ml vzorku piva M2 při rovnoměrném krokovém dávkování nasyceného roztoku síranu amonného rychlostí $v = 0,12$ ml / 1 min pomocí grafického software Magistr a osobního počítače. Zjištěná hodnota prahu srážení je $C_{sa} = v \cdot t_{sa} = 0,12 \cdot 7,5 = 0,9$ ml titrantu na 5 ml vzorku.

– možností automatizace provádění testů při použití jednoduše adaptovaných zákalometrů ve spojení s osobními počítači opatřenými grafickým software.

Výše popsanou novou metodiku síranového testu lze s vysokou návratností využít jak ve velkých, tak i malých pivovarských závodech, k intenzifikaci výroby a standardizaci jakosti, a tím zvýšení konkurenceschopnosti včetně posílení exportních možností produkce.

LITERATURA

- [1] BASAŘOVÁ, G. et al.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1993, s. 724
- [2] PFENNINGER, H. et al.: Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 3.Aufgabe MEBAK, Freising-Weihenstephan, 1993, s. 164
- [3] GABRIEL, P., et al.: Kvasny Prum. 40, 1994, s. 203
- [4] SLADKÝ, P., et al.: Kvasny Prum. 44, 1998, s. 208

- [5] SLADKÝ P., CÍSAŘOVÁ H.: v přípravě
- [6] POUCHLÝ, J.: Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav, Vyd. VŠCHT, Praha, 1998
- [7] KALOUS, V.: Základy fyzikálně-chemických metod, SNTL, Praha, 1975, s. 154
- [8] GABRIEL, P.: Grafický software Magistr (nepublikováno)

*Lektoroval Ing. Pavel Čejka, CSc.
Do redakce došlo 14. 2. 1999*