

Vliv teploty na měření rozpuštěného kyslíku v obalu

Effect of Temperature on the Measurement of Dissolved Oxygen in the Package

Jan ŠAVEL, Petr KOŠIN, Adam BROŽ

Budějovický Budvar, n.p., Karolíny Světlé 4, 370 21 České Budějovice / Budějovický Budvar, n.p., Karolíny Světlé 4, CZ-370 21 České Budějovice

e-mail: jan.savel@budvar.cz

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A.: Vliv teploty na měření rozpuštěného kyslíku v obalu. Kvasny Prum. 60, 2014, č. 1, s. 2–7

Článek se zabývá měřením obsahu rozpuštěného kyslíku elektronickou sondou v nápojích a vlivem doby a změny teploty stočeného vzorku, ponechaného v klidu před analýzou. Měřil se vliv teploty vody nasycené vzduchem na údaj oximetru. Při změně teploty roztoku se změnil i údaj oximetru, ačkoliv nedošlo k výměně kyslíku mezi plynnou a kapalnou fází obalu. S poklesem teploty vody se zvyšoval údaj oximetru, zatímco s nárůstem teploty klesal. Rozdíl obsahu rozpuštěného kyslíku vlivem teploty byl menší, než by odpovídalo rozdílu rozpustnosti kyslíku. Spekulativní vysvětlení tohoto jevu předpokládá existenci mikrobublin kyslíku, rozptýlených v kapalině. Pro analýzu odebraných vzorků je proto účelné stanovit i povolené doby mezi odběrem a analýzou vzorku. Doba mezi odběrem a analýzou by neměla být delší, než 2 h.

Šavel, J. – Košin, P. – Brož, A.: Effect of temperature on the measurement of dissolved oxygen in the package. Kvasny Prum. 60, 2014, No. 1, p. 2–7

The article deals with the measurement of dissolved oxygen in beverages using electronic probe and the influence of time and temperature changes on the result of measurement in a sample standing at a rest. The content of dissolved oxygen in the water depended on the temperature even with the constant concentration of dissolved oxygen in the sample, without any exchange of oxygen between gaseous and liquid phase. With the drop in water temperature the displayed DO increased while it decreased with increasing temperature. The difference of dissolved oxygen due to temperature changes was lower than it would correspond to the difference in solubility of oxygen. Speculative explanation of this phenomenon assumes the existence of microbubbles of oxygen dispersed in the liquid. For the analysis of samples is therefore advisable to determine the permissible time between sampling and analysis. The time between sampling and analysis should not be longer than 2 h.

Šavel, J.–Košin, P. – Brož, A.: Der Einfluss der Temperatur auf die Gelöstensauerstoffmessung in der Verpackung. Kvasny Prum. 60, 2014, Nr. 1, S. 2–7

Der Artikel befasst sich mit der Gelöstensauerstoffmessung in der Verpackung mit der elektronischen Sonde in den Getränken und mit dem Einfluss der Zeit und der Temperaturänderung des in Ruhe vor der Analyse belassenen Musters. Es wurde der Einfluss der Temperatur des mit Luft gesättigten Wassers auf die Angabe des Oximeters gemessen. Bei der Temperaturänderung der Lösung ist auch die Angabe des Oximeters geändert worden, trotzdem dass keiner Sauerstoffumtausch zwischen der Gas- und Flüssigkeitsphase der Verpackung realisiert wurde. Mit einer Abnahme der Wassertemperatur erhöht sich die Angabe des Oximeters, mit Temperaturerhöhung die Angabe nahm ab. Der Unterschied des Gehalts an gelösten Sauerstoff durch einen Temperatureinfluss war geringer als der Differenz der Sauerstofflöslichkeit entsprach. Eine spekulative Erklärung setzt das Vorhandensein von in der Flüssigkeit verstreuten Sauerstoffmikrobubbles vor. Dadurch ist es zweckmäßig, für die Analyse von gesammelten Proben eine erlaubte Zeitfrist zwischen der Musterabgabe und Analyse festzustellen. Diese Zeitfrist sollte nicht länger als zwei Stunden gewesen sein.

Klíčová slova: dissolved oxygen, DO, TPO, regulační meze koncentrace kyslíku, stáčení piva, provozní a laboratorní kontrola nápojů

Keywords: dissolved oxygen, DO, TPO, control limits of oxygen concentration, bottling beer, operational and laboratory control of beverages

1 ÚVOD

Obsah kyslíku ve stočeném obalu s pivem je důležitým znakem jeho kvality. Obvykle se určuje jako hodnota, která udává celkové množství kyslíku v obalu, vztažené na jednotku hmotnosti, nebo objemu piva (TPO – Total Package Oxygen nebo TIPO – Total In-Pack Oxygen). Tato hodnota slouží k hodnocení filtrace i stáčení piva a stanovují se pro ni toleranční meze v různých místech výroby.

Při stanovení TPO se původně dosahovalo rovnováhy kyslíku mezi plynnou a kapalnou fází obalu intenzivním třepáním (5 až 15 min) a celkové množství kyslíku se počítalo z rovnovážné koncentrace kyslíku v plynu nebo kapalině (White a Boulton, 2003; Analytica EBC, 2007).

Později se kyslík v hrdle i pivu začal měřit odděleně i za nerovnovážných podmínek (Šavel a Košin, 2012a). Tento způsob je výhodnější, protože umožňuje rozeznat, zda nežádoucí kyslík pochází z piva před stočením, nebo z nedostatečně odstraněného vzduchu v hrdle lahvi.

Současná technika umožňuje stočit pivo s celkovým obsahem kyslíku v jednotkách ppb, tj. v µg/kg. Z toho se odvíjejí současné vnitřní normy pivovarů pro rozpuštěný kyslík (DO = Dissolved Oxygen) v pivu, které obvykle požadují koncentraci DO pod 50 ppb a TPO pod 150 ppb. Analytika MEBAK z roku 2013 uvádí obvyklý obsah v pivu před plněním pod 100 ppb a 300 ppb v stočeném pivu (MEBAK, 2013).

Správnost a přesnost stanovení těchto hodnot v stočeném obalu se kontroluje různými metodami (Schmidt, 2013). Obsah rozpuště-

1 INTRODUCTION

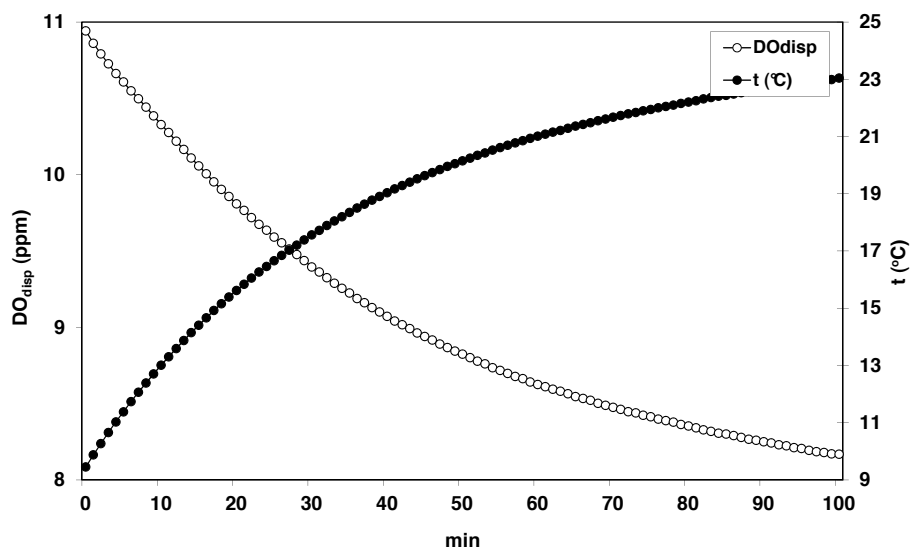
The content of oxygen in packaged beer is an important attribute of its quality. It is usually determined as the total amount of oxygen in the package per unit weight or volume of beer (TPO - Total Package Oxygen or TIPO - Total In-Pack Oxygen). This value describes beer quality in the course of filtration and filling process to set control limits at different production sites.

TPO analysis is based on the determination of oxygen concentration in gaseous or liquid phase after achievement of the oxygen equilibrium by vigorous shaking (5–15 min) (White and Boulton, 2003; Analytica EBC, 2007).

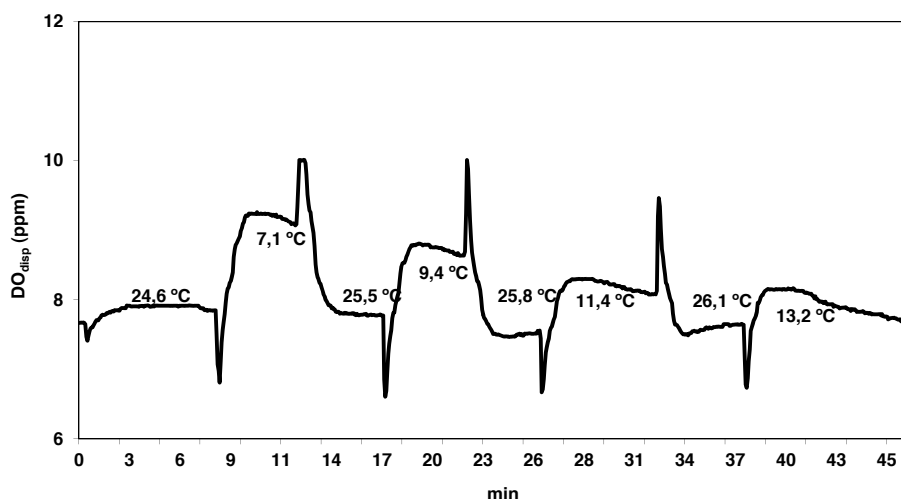
Recently, the oxygen in the bottle neck and beer was measured separately for non-equilibrium conditions (Šavel and Košin, 2012a). Advantage of this method is the possibility to recognize whether unwanted oxygen comes from beer before its filling, or from the insufficiently removed air in the neck of the bottle.

Current technology enables to reach total oxygen content in the level of ppb, i.e. in µg/kg. Nowadays, the internal standard for dissolved oxygen (DO = Dissolved Oxygen) in beer is usually based on oxygen concentration between 50 ppb and 150 ppb expressed as TPO. Analytika MEBAK states the typical content of 100 ppb in beer before bottling and 300 ppb in bottled beer (MEBAK, 2013).

The rightness and precision of these values are validated by various methods (Schmidt, 2013). Total dissolved oxygen content in beer package is usually expressed as equilibrium concentration of



Obr. 1 Údaje elektrochemického měřiče rozpuštěného kyslíku (DO_{disp} , t) při samovolném ohřevu elektrody na vzduchu (97 kPa) v závislosti na teplotě t (°C) / Fig.1 Dissolved oxygen and temperature reading of electrochemical oxygen probe (DO_{disp} , t) during spontaneous warming the electrode in the air (97 kPa)



Obr. 2 Údaj optického měřiče rozpuštěného kyslíku (DO_{disp}) při přenosu sondy přístroje mezi teplou (25 °C) destilovanou vodou nasycenou vzduchem a stejnou vodou ochlazenou na 6 °C. Čísla udávají teplotu v láhvi se studenou vodou / Fig. 2 Dissolved oxygen reading (DO_{disp}) during successive transport between warm (25 °C) and cold (6 °C) distilled water saturated with air. Numbers indicate the temperature of the water

ného kyslíku v pivo se nejčastěji udává jako rovnovážná koncentrace kyslíku v destilované vodě, syčené vzduchem při známé teplotě a tlaku, popř. ještě s použitím korekcí na další složky extraktu piva.

Na rozdíl od původních kolorimetrických metod se nyní k měření používají elektrochemické, nebo optické elektronické sondy (Hiefner a Burwig, 1967; Basařová a Šavel, 2010).

Stejnou sondou se může měřit koncentrace kyslíku v plynné i kapalné fázi. Při měření v plynné fázi, např. ve vzduchu, vzniká zdánlivý paradox, neboť údaj sondy na vzduchu závisí na teplotě, ačkoliv objemový podíl kyslíku ve vzduchu je na teplotě prakticky nezávislý. Údaj měřiče totiž zobrazuje koncentraci vzdušného kyslíku, kterou by měla destilovaná voda, kdyby se při stejné teplotě nasýtila vzduchem o známém tlaku.

Druhý zdánlivý paradox měření vychází ze skutečnosti, že při ponoření sondy do vody nasycené vzduchem, v níž nedošlo k výměně kyslíku mezi plynnou a kapalnou, závisí údaj sondy rovněž na teplotě, ačkoliv obsah kyslíku v ní zůstal stejný.

Při kalibraci senzoru pro měření DO se vychází ze skutečnosti, že voda nasycená vzduchem obsahuje tabelovanou koncentraci kyslíku, na kterou se nastavuje tzv. horní kalibrační bod elektrody. Principy měření a způsob výpočtu těchto hodnot jsme popsali v před-

oxygen in distilled water saturated with air at a known temperature and pressure, sometimes with a correction for beer composition.

The original colorimetric methods for oxygen determination are now replaced by instruments with electrochemical or optical probe (Hiefner and Burwig, 1967; Basařová and Šavel, 2010).

The same probe can measure the oxygen concentration in the gaseous and liquid phase separately. There is an apparent paradox if oxygen is measured in the gaseous phase e.g. in air because the probe displays a value which is dependent on temperature of air, although the volume fraction of oxygen in the air is practically independent of the temperature. In fact the probe displays the value responding to the equilibrium concentration of oxygen in distilled water saturated with air at the same temperature and pressure.

Second apparent paradox of the measurement is based on the fact that DO value measured with probe immersed into liquid depends on liquid temperature although oxygen concentration in the liquid is constant especially if there is no exchange between gaseous and liquid phase.

The calibration of the sensor for the measurement of DO uses the tabulated solubility of oxygen in distilled water saturated by air at known pressure which serves for upper point of this probe calibration. Principles of the measurement and the calculation of these values were published in our previous articles (Basařová and Šavel, 2010, Šavel and Košin, 2012b).

Usually more precise two-point calibration is recommended if the calibration curve is not linear throughout the range of measurement. The lower calibration point is obtained by removing oxygen from a gaseous or liquid phase by nitrogen or by immersing the electrode into solution in which oxygen was consumed by chemical reaction, e.g. using sodium sulfite with traces of cobalt, or copper salts (Šavel and Košin, 2012a; Analytica EBC, 2007).

Electrochemical probes show better linearity than optical ones. The manufacturers of optical probes solve the problem using at least two sensors for solutions containing previously known high or low concentrations of dissolved oxygen, which usually occurs in various brewing intermediates, such as wort before pitching or matured beer. Sophisticated approach uses a single sensor with

three-point calibration, which compensates nonlinearity of the probe response.

Tabulated values of dissolved oxygen are given in different units, often ppm and ppb (mg/kg or $\mu\text{g/kg}$), although mixed units, e.g. mg/l can occur. The article does not distinguish between them due to the fact that the density differences of beer and water are relatively small and does not exceed the inherent measurement errors. Moreover, it is often assumed that the solubility of oxygen in beer and water is approximately the same.

The solubility tables can be replaced by calculation formula, which is somewhat different between individual authors but the differences can mostly be neglected (Hale and Fitzgerald, 1995).

It is necessary set a standard time between sampling and measurement. The measured value can change for the following reasons:

- exchange of oxygen between the headspace (HS) and beverage,
- oxygen consumption by the beverage.

Both processes are dependent on the temperature and the mechanical movement of beverage in the package. Exchange of oxygen between the headspace and beer is accelerated by shaking to reach equilibrium (determination TPO), or slowed down by keeping

chozích člancích (Basařová a Šavel; 2010; Šavel a Košin, 2012b).

U kvalitních přístrojů se doporučuje dvou-bodová kalibrace, ve které se kontroluje ještě údaj přístroje v roztoku s nulovou koncentrací kyslíku, protože kalibrační křivka nemusí být v celém rozsahu měření lineární. Spodní kalibrační bod se získá odstraněním kyslíku z plynné nebo kapalné fáze dusíkem nebo ponořením elektrody do tzv. nulového roztoku, obvykle do siřičitanu sodného se stopami kobaltnaté, nebo měďnaté soli (Šavel a Košin, 2012a; Analytica EBC, 2007).

Elektrochemické sondy vykazují lepší linearity mezi údajem vykazovaným a skutečnou koncentrací kyslíku. Zejména výrobci optických oximetrů řeší tuto situaci výměnou alespoň dvou senzorů pro roztoky, obsahující předem přibližně známou vysokou nebo nízkou koncentraci rozpuštěného kyslíku, která se obvykle vyskytuje v rozdílných pivovarských substrátech, jako jsou mladina před zakvašením, nebo stočené pivo. Sofistikovaný přístup využívá jediného čidla s trojbodovou kalibrací, která vyrovnává linearity odezvy sondy.

Tabelované hodnoty rozpuštěného kyslíku se uvádějí v různých jednotkách, nejčastěji ppm a ppb (mg/kg a µg/kg), popř. i ve smíšených jednotkách, např. mg/l, ale obvykle se mezi nimi nerozlišuje vzhledem k tomu, že rozdíly jsou díky blízkým hustotám piva a vody poměrně malé a nepřekračují přirozené chyby měření. Navíc se často předpokládá, že rozpustnost kyslíku v pivu a vodě je přibližně stejná.

Tabulky závislosti rovnovážného kyslíku se dají nahradit výpočtovými vzorci, které se u jednotlivých autorů poněkud liší, rozdíly lze však většinou zanedbat (Hale a Fitzgerald, 1995).

Při měření obsahu rozpuštěného kyslíku ve stočeném obalu je nutné stanovit i dobu mezi odběrem a měřením. V této době se i ustálená hodnota přístroje může měnit z těchto důvodů:

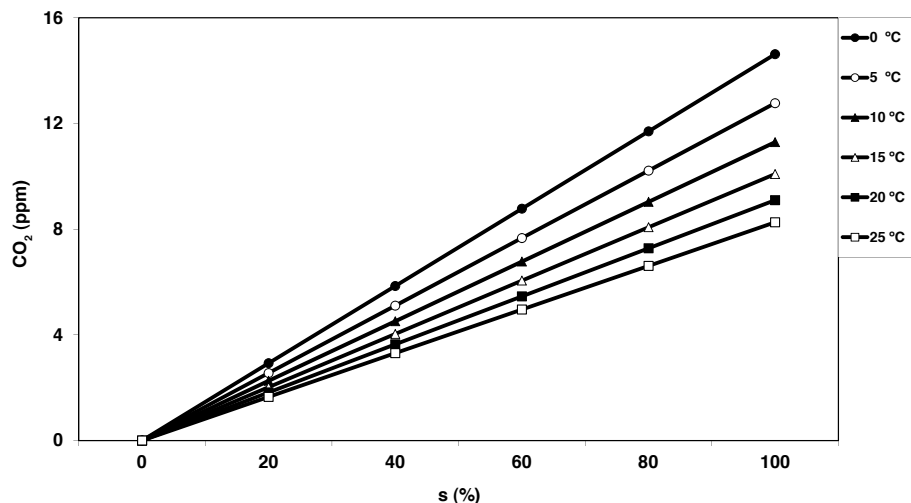
- výměna kyslíku mezi hrdlovým prostorem (HS = headspace) a nápojem,
- spotřeba kyslíku nápojem.

Oba procesy závisí na teplotě a mechanickém pohybu nápoje v obalu. Výměna kyslíku mezi hrdlovým prostorem a nápojem se cíleně urychluje např. třepáním, aby se dosáhlo rovnováhy (stanovení TPO), nebo naopak omezuje ponecháním obalu v klidu při oddělení stanovení kyslíku v hrdlovém prostoru a nápoji.

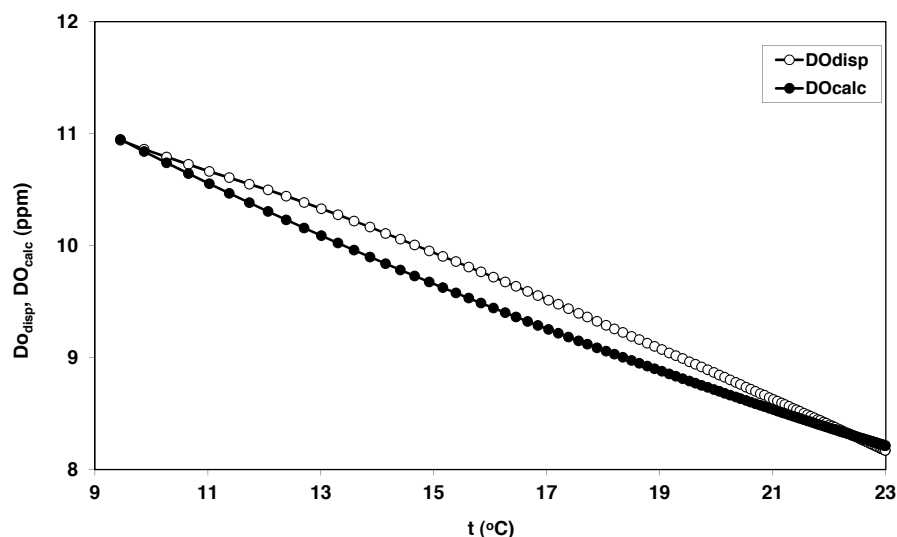
Při laboratorní teplotě je doba výměny kyslíku i několik dní v klidu, za třepání se rovnováhy dosahuje za 3 až 15 minut (Hale a Fitzgerald, 1995; White a Boulton, 2003). Rychlost přenosu kyslíku z piva do hrdla velmi závisí na rychlosti přirozeného úniku oxidu uhličitého z piva, neboť oxid uhličitý vynáší s sebou i kyslík.

Doba spotřeby kyslíku pivem se v klidu pohybuje řádově ve dnech až týdnech. Obecně se doporučuje doba mezi odběrem a analýzou v desítkách minut, např. podle analytiky EBC 2 h (Analytica EBC, 2007). Podle firemního materiálu firmy Orbisphere z roku 1999 poklesl celkový obsah kyslíku v pivu z asi 250 ppb na 25 ppb při pokojové teplotě v klidu za asi 10 dní (Orbisphere, 1999). Rychlost spotřeby velmi závisí na koncentraci přirozených redukčních látek mladiny a piva. Kromě toho do stočené láhve opět proniká kyslík stěnami plastické láhve nebo pod korunkovým uzávěrem, u plechovky se průnik kyslíku neuplatňuje (Konrad a Zanker, EBC).

Kromě těchto změn údaje přístroje na době měření lze pozorovat již zmíněný paradox, že údaj přístroje při měření rozpuštěného kyslíku v kapalné rovněž závisí na teplotě. Při provozní kontrole se lze tedy pouhou změnou teploty vyhnout překročení předepsaných tolerančních mezí obsahu rozpuštěného kyslíku v pivu. Po odběru se samovolným ohřevem vzorku před měřením obsah změřeného kyslíku „sníží“, i když výměna kyslíku mezi plynnou a kapalnou fází nenastala.



Obr. 3 Teoretická závislost rozpustnosti kyslíku v destilované vodě na stupni saturace s (%) vody pro teploty 0 až 25 °C / Fig. 3 Theoretical dependence of the oxygen solubility in distilled water to the degree of saturation (%) of water with air at temperatures between 0 and 25 °C



Obr. 4 Závislost hodnot změřených (DO_{disp}), a vypočtených (DO_{calc}) na teplotě měření t pro data z Obr. 1 / Fig. 4 Dependence of the measured values (DO_{disp}) and calculated (DO_{calc}) on the temperature t for data from the Fig. 1

the bottle still to avoid oxygen exchange if the oxygen content in headspace and in beer is measured separately.

At room temperature, the time of oxygen exchange takes several days at rest, or 3–15 minutes to reach equilibrium with agitation (Hale and Fitzgerald, 1995; White and Boulton, 2003). Rate of oxygen transfer from beer to headspace is highly dependent on the velocity of the natural carbon dioxide liberation from the beer, because releasing carbon dioxide carries oxygen out with him.

Time of oxygen consumption by beer is in the range of days or weeks at rest. It is generally recommended to keep the bottle for maximum one or two hours between sampling and the analysis, according to Analytica EBC 2007. According to ORBISPHERE manual from 1999 the dissolved oxygen decreased from about 250 ppb to 25 ppb in beer after 10 days at room temperature at rest (Orbisphere, 1999). Consumption velocity is highly dependent on the concentration of reducing substances in wort and beer. In addition oxygen can penetrate through wall of plastic bottle or under bottle crown while oxygen penetration through can is negligible (Konrad and Zanker, 2005).

In addition to these changes, the displayed value of oxygen at the time of measurement is also dependent on temperature according to above mentioned paradox. The production quality control can therefore avoid exceeding the prescribed tolerance limits of dissolved oxygen in beer by suitable change of the sample temperature. After

Výměna kyslíku mezi pivem a hrdlovým prostorem obalu nebo vlastní spotřeba kyslíku pivem se začínou uplatňovat teprve po delší době.

Možnými příčinami teplotních odchylek sondy při měření rozpuštěného kyslíku v kapalině se zabývá tento článek.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Oximetr a digitální teploměr

Přenosný elektrochemický oximetr s výjimečnou elektrodou Orbisphere 3650 (Švýcarsko) a přenosný oximetr s optickou sondou 1-CUBE (ČR). Digitální teploměr (1-CUBE, ČR) s dvěma čidly umožňoval měření teploty kapaliny.

Elektrody obou přístrojů se kalibrovaly ve vzduchu, dusíku, v nultém roztoku siřičitanu sodného ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,1 %) s přídavkem chloridu kobaltnatého ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mg/l) a ve vzduchem, nebo dusíkem nasycené destilované vodě.

2.2 Měření závislosti údaje oximetru na teplotě

Měření v plynné fázi

Oximetr Orbisphere 3650 s připojenou vnější sondou se 3 h temperoval při venkovní teplotě 9 °C a potom se nechal samovolně ohřívat v místnosti s teplotou 25 °C. Hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku a teploty zobrazované sondou se monitorovaly po dobu 2 h a označovaly jako DO_{disp} a t . Tlak vzduchu (97 kPa) se během měření neměnil. Uvedené výsledky jsou průměry ze dvou měření (obr. 1).

Měření v kapalně fázi

Destilovaná voda (25 °C) se nasýtila kyslíkem probubláváním vzduchem (1020 kPa), nasyceným roztokem vzduchu se po okraj naplnily dvě pивní láhve, které se uzavřely korunkou. Jedna z láhví se ponechala při teplotě laboratoře, druhá láhev se během 1 h ochladila na 6 °C. Po otevření lahví v laboratoři (28 °C) se do nich střídavě ponořovala optická sonda s čidlem přesného teploměru, měřící teplotu roztoku (obr. 2).

Hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku a teploty zobrazované sondou se označovaly jako DO_{disp} a t . Obrázky ukazují typické měření ze tří opakování pokusů.

3 VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUSE

V pivovarství se koncentrace rozpuštěného kyslíku obvykle vyjadřuje jeho rozpustností:

$$c_{\text{O}_2} = K(t) \cdot p_{\text{O}_2} \quad (1)$$

kde c_{O_2} je koncentrace rozpuštěného kyslíku, $K(t)$ je teplotně závislost rozpustnosti kyslíku a p_{O_2} je parciální tlak kyslíku. Při sycení kapalinou vzduchem platí:

$$p_{\text{O}_2} = 0,209 P_{\text{air}} \quad (2)$$

kde P_{air} je tlak vzduchu, jemuž odpovídá rovnovážná koncentrace c_{O_2} .

Koncentrace rozpuštěného kyslíku se také vyjadřuje stupněm nasycení kapalinou vzduchem:

$$s = \frac{P_{\text{air}}}{P_{\text{atm}}} \quad (3)$$

$$c_{\text{O}_2} = K_{\text{atm}}(t) \cdot \frac{P_{\text{air}}}{P_{\text{atm}}} = K_{\text{atm}}(t) \cdot s \quad (4)$$

kde s je stupeň nasycení kapalinou vzdušným kyslíkem (0 až 1), vyjadřované často v procentech (0 až 100 %), P_{atm} je normální atmosférický tlak vzduchu (101,325 kPa) a K_{atm} je rozpustnost vzdušného kyslíku při normálním atmosférickém tlaku. Hodnota K_{atm} závisí na teplotě t , a proto ve vzduchu o různém, ale konstantním tlaku sonda zobrazuje různé hodnoty c_{O_2} pro různé teploty podle vztahu (4) (obr. 3).

Při měření obsahu kyslíku v hrdle obalu se jeho hmotnost vypočte podle stavové rovnice:

$$m_{\text{O}_2} = \frac{p_{\text{O}_2} M_{\text{O}_2}}{RT} \cdot V_{\text{HS}} \quad (5)$$

kde m_{O_2} je hmotnost kyslíku v hrdle obalu, p_{O_2} je parciální tlak kyslíku, T je teplota plynu v K, V_{HS} je objem hrdlového prostoru. R je

sample taking up the spontaneous heating of the package can “decrease” the displayed value of DO although the transfer of oxygen between the gas and liquid phase did not occur. Oxygen exchange between beer and headspace begin after longer time.

Possible causes of temperature variations of the probes for measuring of dissolved oxygen in the beverage are discussed in this article.

2 THE EXPERIMENTAL PART

2.1 Oximeter and digital thermometer

Portable oximeter with external electrode Orbisphere 3650 (Switzerland) and portable oximeter with optical probe 1-CUBE (Czech Republic). Digital thermometer (1-CUBE, Czech Republic) with two sensors and datalogger.

The electrodes of both instruments were calibrated in air, nitrogen, nitrogen-saturated distilled water or in sodium sulphite ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0.1%) solution with the addition of cobalt chloride ($\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 10 mg/l).

2.2 Dependence of the displayed DO on temperature

Measurement in the gaseous phase

Oximeter Orbisphere 3650 with external probe was kept at 9 °C for 3 h and then spontaneously warmed at room temperature 25 °C. The DO values and temperature were recorded for 2 hours at air pressure (97 kPa), which did not change during the measurement. The results are the average of two measurements (Fig. 1).

Measurement in the liquid phase

Distilled water (25 °C) was saturated with oxygen by bubbling with air (1020 kPa), and saturated solution was filled up into two beer bottles up to the rim which were closed with crowns. One of the bottles was kept at temperature of room, the second bottle was cooled to 6 °C during 1 h. The bottles were open in the laboratory (28 °C) and the oxygen probe together with external temperature probe was alternately submerged into both bottles filled with saturated water (Fig. 2).

The measured values of dissolved oxygen concentration (DO_{disp}) and the temperature were obtained in three times repeated experiments.

3 RESULTS AND DISCUSSION

In brewing, the concentration of dissolved oxygen is usually expressed by its solubility:

$$c_{\text{O}_2} = K(t) \cdot p_{\text{O}_2} \quad (1)$$

where c_{O_2} is dissolved oxygen concentration, $K(t)$ is the temperature dependence of the oxygen solubility and p_{O_2} is the partial pressure of oxygen. At saturation of liquid by air the following formula applies:

$$p_{\text{O}_2} = 0.209 P_{\text{air}} \quad (2)$$

The concentration of dissolved oxygen is also expressed as a degree of saturation of the liquid with air:

$$s = \frac{P_{\text{air}}}{P_{\text{atm}}} \quad (3)$$

$$c_{\text{O}_2} = K_{\text{atm}}(t) \cdot \frac{P_{\text{air}}}{P_{\text{atm}}} = K_{\text{atm}}(t) \cdot s \quad (4)$$

where s is the saturation degree of the liquid by oxygen in the air (0–1), often expressed as a percentage (0–100%), P_{atm} is the normal atmospheric pressure (101.325 kPa) and K_{atm} is the solubility of oxygen in the air in distilled water at normal atmospheric pressure. K_{atm} value depends on the air temperature because at constant pressure the probe shows different values of c_{O_2} for different temperatures according to equation (4) (Fig. 3).

Oxygen amount in the headspace is calculated by the gas equation:

$$m_{\text{O}_2} = \frac{p_{\text{O}_2} M_{\text{O}_2}}{RT} \cdot V_{\text{HS}} \quad (5)$$

where m_{O_2} is the mass amount of oxygen in the headspace, p_{O_2} is the oxygen partial pressure of oxygen, T is the gas temperature in K, V_{HS} is headspace volume, R is the universal gas constant and M_{O_2} is the molecular weight of oxygen. Partial pressure of oxygen is calculated

univerzální plynová konstanta a M_{O_2} molekulární hmotnost kyslíku. Parciální tlak kyslíku se vypočte podle vztahů (2) a (4). Množství kyslíku se obvykle vztahuje na jednotkové množství nápoje dělením vypočtené hmotnosti kyslíku objemem, nebo hmotností nápoje.

Protože vztah (4) platí jen pro kapalinu nasycenou vzduchem, je nutné při měření obsahu rozpuštěného kyslíku v kapalině údaj oximetru dělit hodnotou K_{atm} pro posouzení stupně nasycení.

$$\alpha = \frac{DO_{disp}(t)}{K_{atm}(t)} \quad (6)$$

kde α je odhad stupně nasycení kapaliny vzduchem a t je teplota měření. Pro $\alpha = 1$ je kapalina nasycená vzduchem, při měření obsahu kyslíku v pivo jsou hodnoty α blízké nule.

Ačkoliv k výpočtu hodnot podle vzorců (1) – (6) lze použít tabulovaných hodnot rozpustnosti vzdušného kyslíku v destilované vodě, je možný i výpočet podle některého z výpočtových vzorců, např. podle Montgomery a Thorma (cit. Pitter, 2009):

$$\ln c_{O_2} = 7,7117 - 1,31403 \cdot \ln(t + 45,93) + \ln \frac{P_{air}}{P_n} \quad (7)$$

kde c_{O_2} je koncentrace rozpuštěného kyslíku (ppm) při tlaku vzduchu P_{air} (kPa) a $P_n = 101,325$ kPa, t je teplota ($^{\circ}\text{C}$), přičemž vzorec platí pro teploty 0,4 až 37 $^{\circ}\text{C}$ (Montgomery a Thorm 1964).

Originální tvar vzorce (7) nepřipouští nulovou hodnotu tlaku vzduchu, což lze obejít přepisem na tvar:

$$c_{O_2} = \frac{P_{air}}{P_{atm}} \exp(7,7117 - 1,31403 \cdot \ln(t + 45,93)) \quad (8)$$

Protože bod mraznutí piva leží pod 0 $^{\circ}\text{C}$, lze pro výpočty použít extrapolaci vzorce na nulovou teplotu vzhledem k tomu, že hraniční teplota pro tento vzorec (0,4 $^{\circ}\text{C}$) je blízká nule.

Teplotní závislost konstanty K_{atm} lze podle těchto vzorců vyjádřit jako:

$$K_{atm}(t) = \exp(7,7117 - 1,31403 \ln(t + 45,93)) \quad (9)$$

Obr. 3 znázorňuje výpočet koncentrace rozpuštěného kyslíku v destilované vodě, nasycené vzduchem při různých teplotách.

Měření údaje sondy ve vzduchu s různou teplotou napodobuje měření rozpuštěného kyslíku ve vodě nasycené vzduchem. Naměřená data se zpracovala podle vzorců (1) – (9).

Obr. 4 zobrazuje závislost naměřených (DO_{disp}) a vypočtených (DO_{calc}) hodnot, odpovídajících c_{O_2} pro vodu nasycenou vzduchem při tlaku 97 kPa:

$$DO_{calc} = \frac{P_{air}}{P_{atm}} \cdot K_{atm}(t_{disp}) \quad (10)$$

kde P_{air} je tlak okolního vzduchu a t_{disp} je teplota měřená sondou.

Data se prakticky shodují v okrajových bodech měřené závislosti, menší odchylky jsou pravděpodobně způsobeny rozdílnou dobou odezvy kyslíkové a teplotní elektrody, neboť na počátku a konci měření senzor setrval při příslušných teplotách delší dobu. Tento vliv se uplatňuje i při měření rozpuštěného kyslíku v kapalině, kde odezva teplotního čidla je podstatně rychlejší, než odezva kyslíkového senzoru.

Měření obsahu rozpuštěného kyslíku ve vodě záviselo na teplotě i při stejné koncentraci rozpuštěného kyslíku, rozdíly však byly menší, než by odpovídalo novému ustavení rovnovážné koncentraci kyslíku při přestupu vzduchu mezi kapalinou a plynem (obr. 2).

Píky zaznamenané křivky odpovídají krátkému styku sondy s teplejším vzduchem při přenosu mezi teplou a studenou vodou o stejné koncentraci rozpuštěného kyslíku.

Rozdíly mezi naměřenými ustálenými hodnotami DO_{disp} se s postupným sblížováním teplot zmenšují, což svědčí o zachování původní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě. Spekulativní vysvětlení tohoto jevu spočívá v předpokládané existenci mikrobublin kyslíku ve vodě, přičemž se změnou teploty ustavuje rychle rovnováha mezi plynou fází mikrobublin a rozpuštěným kyslíkem v kapalině, zatímco stoupání mikrobublin k hladině obalu je podstatně pomalejší.

Z praktického hlediska z toho vyplývá nutnost specifikace podmínek měření kyslíku v kapalně fázi u vzorků. Pivo, čerpané do plně obalů je rozvířené a obsahuje mnoho mikrobublin vzduchu, a proto se mění i obsah rozpuštěného kyslíku s teplotními změnami stočeného vzorku. Pro analýzu odebraných vzorků je proto účelné stanovit i povolené doby mezi odběrem a analýzou vzorku.

Podle obr. 2 je účelné ponechat odebrané vzorky při nízké teplotě v chladničce (5 až 10 $^{\circ}\text{C}$), protože při přenesení piva do laboratoře

according to equation (2) and (4). The amount of oxygen usually relates to the amount of the beverage by dividing the oxygen content by the volume or weight of the beverage.

Since equation (4) applies only to liquid saturated with air, it is necessary to divide DO by K_{atm} to estimate the degree of saturation

$$\alpha = \frac{DO_{disp}(t)}{K_{atm}(t)} \quad (6)$$

where α is the estimation of the degree of saturation of liquid by air at the temperature t . For $\alpha = 1$ the liquid is saturated with air, while at current content in beer is the value of α near zero.

Although the calculation of the formulas (1) - (6) may use tabulated values of the solubility of oxygen in air in distilled water, the calculation using any of the formulas, for example, by Montgomery and Thorm is also possible (cit. Pitter, 2009):

$$\ln c_{O_2} = 7.7117 - 1.31403 \cdot \ln(t + 45.93) + \ln \frac{P_{air}}{P_n} \quad (7)$$

where c_{O_2} is the dissolved oxygen concentration (ppm), P_{air} is air pressure (kPa) and $P_n = 101.325$, t is the temperature ($^{\circ}\text{C}$) and the formula is valid for the temperature of 0.4 to 37 $^{\circ}\text{C}$ (Montgomery and Thor, 1964).

The original shape of the formula (7) does not allow to use value zero for air pressure, which leads to transcription of the equation:

$$c_{O_2} = \frac{P_{air}}{P_{atm}} \exp(7.7117 - 1.31403 \cdot \ln(t + 45.93)) \quad (8)$$

Since the freezing point of the beer lies below 0 $^{\circ}\text{C}$ the formula can be used to calculate c_{O_2} at zero temperature because the temperature limit of the formula (0.4 $^{\circ}\text{C}$) is near zero value.

Temperature dependence of the K_{atm} can be expressed as:

$$K_{atm}(t) = \exp(7.7117 - 1.31403 \ln(t + 45.93)) \quad (9)$$

Fig. 3 shows the result of calculation of the concentration of dissolved oxygen in distilled water saturated with air at different temperatures.

The different displayed DO values in air at different temperatures simulated the measurement of dissolved oxygen in water saturated by air. The measured data are processed by the formulas (1) - (9).

Fig. 4 shows the dependence of the displayed (DO_{disp}) and calculated (DO_{calc}) values corresponding to c_{O_2} in water saturated with air at a pressure of 97 kPa:

$$DO_{calc} = \frac{P_{air}}{P_{atm}} \cdot K_{atm}(t_{disp}) \quad (10)$$

where P_{air} is the ambient air pressure and t_{disp} is the temperature measured by the probe.

Measured DO values are approximately identical in the peripheral points in the range of measured data, smaller variations are probably caused by the different response times of oxygen and temperature sensors, while at the beginning and end of the measurement the sensor remained at the responding temperatures for a longer time. Similar effect also occurred in the measurement of dissolved oxygen in the liquid, where the sensor response is significantly faster than the response of the oxygen sensor.

Measured dissolved oxygen in the water depended on the temperature even at the same concentration of dissolved oxygen, but the differences were lower than it would correspond to the new establishment of the equilibrium oxygen concentration after the transfer of air between the liquid and gas (Fig. 2).

Curve peaks correspond to the short contact probes with warmer air during the transfer between warm and cold water with the same concentration of dissolved oxygen.

Difference between DO_{disp} values for approaching temperatures between cold and warm bottle decreases, which suggests conservation of the initial concentration of dissolved oxygen in the water. The speculative explanation of this phenomenon lies in the assumed existence of microbubbles of air in the water, with rapid establishment of equilibrium between gaseous phase of microbubbles and dissolved oxygen in the liquid, because the exchange oxygen during rising of microbubbles to the surface is considerably slower.

In practical terms this asks for a specification of measurement of oxygen in the liquid samples. Beer during its filling and packaging is strongly swirling and containing many microbubbles of air and therefore changing the content of dissolved oxygen between both phases along to temperature changes. For the analysis of samples is therefore advisable to determine the permissible time between sampling and analysis.

se teplota samovolně zvyšuje. Doba mezi odběrem a analýzou by neměla být delší, než 2 h.

According to Fig.2 is recommended to keep the samples at low temperature in a refrigerator (5–10 °C) because the temperature spontaneously increases after transport to warm laboratory. The time between sampling and analysis should not be longer than 2 h.

Seznam symbolů

Jednotky symbolů se uvádějí ve tvaru, obvykle používaném v kontrolní praxi. Výpočtové vzorce předpokládají platnost mezinárodní měrovou soustavu (SI), při použití technických jednotek se vzorce musí doplnit o přepočtové faktory.

DO	rozpuštěný kyslík, koncentrace DO	mg/kg (ppm), µg/kg (ppb)
TPO	celkový obsah kyslíku v obalu	mg, µg, vztažené na 1 kg, popř. na 1 litr nápoje
C _{O2}	koncentrace rozpuštěného kyslíku	mg/kg, µg/kg
DO _{disp}	hodnota DO zobrazená oximetrem	mg/kg, µg/kg
P _{air}	rovnovážný tlak vzduchu	kPa
P _{atm}	normální atmosférický tlak vzduchu	101,325 kPa
P _{O2}	parciální tlak kyslíku	kPa
K(t)	rozpuštěnost kyslíku při teplotě t	mg/kg, µg/kg
K _{atm} (t)	rozpuštěnost kyslíku při tlaku P _{atm}	mg/kg (ppm), µg/kg (ppb)
t, T	teplota	°C, K
t _{disp}	teplota, měřená teploměrem sondy	°C
s, s(%)	stupeň nasycení kapaliny vzduchem	(0 až 1, 0 až 100 %)
m _{O2}	hmotnost kyslíku v hrdle obalu	mg, µg
M _{O2}	molekulová hmotnost kyslíku	
R	univerzální plynová konstanta	8,31441 J.mol ⁻¹ .K ⁻¹
VHS	objem hrdlového prostoru	ml
α	odhad stupně nasycení s	

List of symbols

Unit symbols are given in the form usually used in control practice. Calculation formulas assume an international measurement system (SI), therefore it is necessary to use conversion factors for the technical units in them.

DO	dissolved oxygen concentration DO	mg/kg (ppm), µg/kg (ppb)
TPO	total oxygen content in the package	mg, µg, relating to 1 kg, or to 1 liter of the beverage
C _{O2}	dissolved oxygen concentration	mg/kg, µg/kg
DO _{disp}	value displayed by the oximeter	mg/kg, µg/kg
P _{air}	equilibrium pressure	kPa
P _{atm}	normal atmospheric pressure of	101,325 kPa
P _{O2}	partial pressure of oxygen	kPa
K(t)	the solubility of oxygen at t	mg/kg, µg/kg
K _{atm} (t)	the solubility of oxygen at P _{atm}	mg/kg (ppm), µg/kg (ppb)
t, T	temperature	°C, K
t _{disp}	temperature by a thermometer probe	°C
s, s(%)	degree of saturation of the liquid by air	(0 až 1, 0 až 100 %)
m _{O2}	amount of oxygen in the neck	mg, µg
M _{O2}	molecular weight of oxygen	
R	universal gas constant	8,31441 J.mol ⁻¹ .K ⁻¹
VHS	volume of a headspace	ml
α	estimate of the degree of saturation	

LITERATURA / REFERENCES

- Analytica EBC – EBC Analysis Committee, 2007: Method 9.37 Measurement of dissolved oxygen by electrochemical sensors, Method 11.5 Total (Dissolved and Headspace) oxygen in packaged beer. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 692 s., ISBN 978-3-418-00759-5.
- Basařová, G., Šavel, J., Basař, P., Lejsek, T., 2010: Pivovarství. Teorie a praxe výroby piva. VŠCHT Praha, 1. vyd., ISBN 978-80-7080-734-7.
- Hale, J. M., Fitzgerald, B., 1995: Instrumental analysis of all gases dissolved in beer. Proceedings of the 25th Congress of European Brewery Convention Brussels 1995, přisp. 78: 663–668. ISBN 0-19-963614-1.
- Hiefner, R., Burwig, D., 1968: Beitrag zur Schnellbestimmung des Sauerstoffs in Bierflaschenprobe. Brauwissenschaft, 21: 11–13.
- Konrad, C., Zanker, G., Bizzari, A., Dolezal, C., Ribitsch, V., 2005: Novel optochemical method for the nondestructive determination of oxygen in encapsulated beer bottles. Proc. 30th EBC Congr. Prague 2005. Nurnberg, Germany: Fachverlag Hans Carl. CD-ROM. příspěvek 95: 847–859. ISBN 978-90-70143-23-7.
- MEBAK – Brautechnische Analysenmethoden, 2013: Wort, beer, beer based beverages. Method 2.28 Oxygen and air. 1. vyd. Freising-Weihenstephan, Selbstverlag der MEBAK.

- Montgomery, A. H. C., Thorm, N. S., Cockburn, A., 1964: Determination of dissolved oxygen by the Winkler method and the solubility of oxygen in pure water and sea water. J. Appl. Chem., 14(6): 280–296.
- Orbisphere, 1999: Why, where, and how to measure oxygen in the brewery from wort to final package. Firemní materiál (booklet).
- Pitter, P., 2009: Hydrochemie. 4. vyd., VŠCHT, Praha. ISBN 978-80-7080-701.
- Schmidt, G., 2013: Air injection in cans. Brew. Bever. Ind. Int., 3.
- Šavel, J., Košin, P., Brož, A., 2012a: Metody stanovení koncentrace plynů v pivovarství. Pivovarský kalendář 2012. VÚPS, Praha: 108–124. ISBN 978-80-86576-44-2.
- Šavel, J., Košin, P., Brož, A., 2012b: Vliv redukujících látek na rychlost redukce vzdušného kyslíku v modelových roztocích. Kvasny Prum. 58(3): 73–81.
- White, R. I., Boulton, C. A., Mundy, A., 2003: A novel, non-invasive Method of measuring in-pack oxygen concentration and its application in the study of staling of a fruit-flavoured alcoholic beverage. Proc. 29th EBC Congr., Dublin 2003. Nurnberg, Germany: Fachverlag Hans Carl. CD-ROM příspěvek č. 101:1027–1035. ISBN 90-70143-22-4.

Do redakce došlo / Manuscript received: 6. 6. 2013
Přijato k publikování / Accepted for publication: 2. 10. 2013