

Porovnání subjektivních a objektivních metod měření barvy sladiny

663.443:535.6

Ing. PAVEL ČEJKA — Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Ing. JAROSLAV ČEPIČKA, CSc., Ing. PAVEL ZÍTEK a Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., VŠCHT Praha, katedra kvasné chemie a bioinženýrství

1. ÚVOD

Zrakový vjem při konzumaci piva značně ovlivňuje celkový dojem a musí odpovídat požadavkům spotřebitele. Barva a průzračnost jsou dvě z vlastností piva, kterým se v posledních letech přisuzuje velký význam. Barva je též rozlišovacím znakem jednotlivých druhů pív. Prvotním zdrojem barevných látek obsažených v pivě je slad, i když velký vliv na jejich obsah má i složení varní vody a technologie rmutování a chmelovaru. Na výsledné barvě piva se pak podílí celý technologický postup a výrazně se uplatňují zejména rozličné oxidativní procesy. Při hvozdnění zeleného sladu a zejména v poslední fázi při dotahování probíhají chemické reakce za vzniku barevných látek — melanoidinů. V širším smyslu se v pivovarství uplatňují rozmanité typy reakcí vyvolávajících hnědnutí surovin, meziproductů a hotových výrobků. Patří mezi ně především karbonyl-aminové reakce aldehydů, ketonů a redukcí cukrů s aminokyselinami, aminy, peptidy, a bílkovinami, dále karamelizační reakce vyvolané zahříváním polyhydroxykarbonylových složek, tedy zejména sacharidů, za poměrně vysoké teploty v nepřítomnosti látek obsahujících aminokyseliny a nakonec oxidativní reakce vyvolané enzymy skupiny EC 1.1.3.n, tj. polyfenoloxidasami.

2. TEORETICKÁ ČÁST

Stanovení barvy sladiny, mladiny a piva náleží mezi běžné analytické a kontrolní postupy ve sladařství a pivovarství. I přes zdánlivou jednoduchost se však setkáváme s řadou problémů. Metody měření barvy lze zásadně rozdělit do dvou skupin na metody subjektivní a metody objektivní. U subjektivních metod se porovnává zkoumaný vzorek s barevným standardem, který je tvořen buď roztoky barevných látek (Brandova škála), nebo sadou barevných skel (stupnice EBC) [1, 2]. Objektivní metody měření barvy sladiny, mladiny či piva jsou založeny na měření absorpance při některé z vlnových délek 430, 450, 530 nm. U některých metod se měření provádí při dvou vlnových délkách 430 a 700 nm a měření při 700 nm slouží pouze k odečtení vlivu případného zákalu měřeného vzorku [3, 4]. Nejnovější objektivní metody používají polychromatické světlo [6].

Obě skupiny metod mají své kladné i záporné stránky. Ve prospěch objektivních metod se uvádí především lepší reprodukovatelnost výsledků, malá spotřeba vzorku a možnost automatizace analytického procesu, někdy je však třeba před měřením vzorky speciálně upravovat čiřením a filtrací, což má za následek prodloužení doby analýzy a snížení přesnosti. Hlavní výhodou subjektivních metod je jejich rychlost a nenáročnost na přístrojové vybavení, reprodukovatelnost výsledků je však nízká a možnosti automatizace jsou omezené. Další problém subjektivního měření barvy spočívá v nejistotě odstupňování světlosti barevné stupnice v případě, že barevný odstín měřeného vzorku nesouhlasí přesně s odstínem standardního roztoku nebo skla. Různí pozorovatelé pak mohou posuzovat barvu různě. Měření smějí provádět pouze osoby s neporušeným barvocitem. Porušení barvocitu se podle posledních údajů vyskytuje až u 10 %

mužů a 1 % žen [7]. Osoby určené k měření barvy sladu a piva by měly být pravidelně testovány např. pomocí testů „Test for Colour Blindness“ [8]. Pro dosažení větší reprodukovatelnosti výsledků se doporučuje, aby barvu měřily alespoň tři osoby. Je zřejmé, že takto prováděná měření se stávají zdlouhavými a není možné běžně zpracovávat velké série vzorků. Vzhledem k uvedeným častým zdrojům chyb subjektivních metod je všeobecná snaha přecházet postupně na objektivní metody měření barvy. Tím by se měly odstranit větší odchylky mezi výsledky naměřenými různými pozorovateli a dále by se měly snížit i rozdíly ve výsledcích získaných v různých laboratořích. Rada států s vyspělým pivovarským průmyslem sdružených v EBC či ASBC již zavedla instrumentální spektrofotometrické metody měření barvy, neboť spolehlivost získaných výsledků převyšuje výhody subjektivních metod.

V současné době nejrozšířenější subjektivní metoda podle EBC používá standardní stupnici skel, která je kompromisem mezi poměry červené a žluté barvy. Tím může nastat situace, že při měření dvou různých vzorků mohou být stanoveny jejich barvy různě subjektivní i objektivní metodou, i když při pozorování ve sklenici se jeví oba vzorky stejné. Dále je třeba uvážit, že v současné době vyráběné skleněné standardy stupnice EBC jsou standardizovány spektrofotometricky a zdá se proto rozumnější používat spektrofotometrických metod přímo, než s jejich pomocí připravovat druhotný standard, který teprve slouží k vlastnímu měření. V naší zemi je nejrozšířenější subjektivní metoda měření barvy podle Brandovy škály, která však není stálá a zavedením instrumentální metody by odpadla její zdlouhavá příprava.

Důležitým předpokladem uplatnění instrumentálních metod měření barvy je odstranění vlivu zákalu pivovarských kapalin. Podle výsledků *Hudsona* [9] vyvolává zákal o síle 2,15 j. EBC zvýšení barvy o 1,0 j. EBC.

V odborné literatuře bylo dosud popsáno několik objektivních instrumentálních metod měření barvy. Spektrofotometrická standardní referenční metoda podle ASBC [3] je založena na měření absorpance vzorku piva bez zákalu při vlnové délce 430 nm a zahrnuje poměrně složitý postup za účelem odstranění vlivu zákalu. Na obdobném principu je založena i fotometrická metoda. Analytický výbor anglického Institute of Brewing doporučil používat spektrofotometrickou metodu založenou na měření absorpance vzorku při 530 nm [4]. Státní norma NDR zahrnuje spektrofotometrické stanovení barvy metodou TGL na přístroji SPEKOL při vlnové délce 450 nm. I u této metody se musí vzorek předem upravit, aby neobsahoval zákal [4]. Další spektrofotometrickou metodu popsali *Bernard* a *Scriban* [12]. Měření provádějí při 430 nm a 700 nm, aby eliminovali vliv zákalu a našli regresní rovnice pro přepočet výsledků různých metod. Metodu založenou na objektivním měření polychromatického světla s charakteristikou deního světla prošlého měřeným vzorkem navrhla firma *Neuss* [6].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Provedli jsme experimentální ověření výsledků získa-

Tabulka 1. Absorbance a propustnost standardního roztoku síranu kobaltnato-amonného v 1 cm kyvetě v rozsahu vlnových délek 400–668 nm (10)

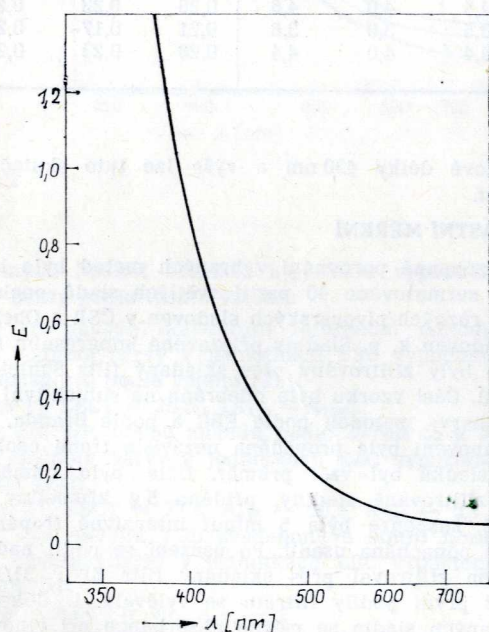
Vlnová délka [nm]	Absorbance	Propustnost	Vlnová délka [nm]	Absorbance	Propustnost
400	0,0125	0,972	500	0,1635	0,686
404,7 Hg	0,0144	0,967	501,6 Hg	0,1661	0,682
410	0,0168	0,962	510	0,1742	0,670
420	0,0224	0,950	520	0,1689	0,678
430	0,0340	0,925	530	0,1452	0,716
435,8 Hg	0,0437	0,904	540	0,1113	0,774
450	0,0522	0,887	546,1 Hg	0,0901	0,813
440	0,0773	0,837	550	0,0775	0,837
460	0,1031	0,789	560	0,0308	0,932
470	0,1213	0,756	578,0 Hg	0,0219	0,951
480	0,1349	0,733	580	0,0207	0,953
491,6 Hg	0,1472	0,713	587,6 Hg	0,0167	0,962
490	0,1497	0,708	667,8 Hg	0,0089	0,980

ných modifikovanou metodou TGL a standardní referenční spektrofotometrickou metodou ASBC v porovnání s výsledky subjektivních vizuálních metod podle EBC a podle Branda.

Spektrální měření absorbancí při 430, 450 a 700 nm byla prováděna na spektrofotometru SPEKOL, který byl vybaven zesilovacím a měřicím nástavcem ZV. Naměřené hodnoty byly dále porovnány s údaji získanými na spektrofotometru VSU 2P Zeiss, Jena. Všechny rozbory byly prováděny v křemenných kyvetách a šifka měřené vrstvy byla vždy 1 cm. Jako slepý vzorek byla při všech měřeních použita destilovaná voda.

3.1 KALIBRACE PŘÍSTROJE SPEKOL

Jak je patrné z obr. 1, nevykazuje absorbanční křivka běžné sladiny v oblasti viditelného světla žádné absorpční maximum. Naopak, její průběh je v okolí měřených vlnových délek 430, 450 a 530 nm značně strmý,



Obr. 1

Tabulka 2. Absorbance a propustnost standardního roztoku chromanu draselného v 1 cm kyvetě v rozsahu vlnových délek 400–500 nm [10]

Vlnová délka [nm]	Absorbance	Propustnost	Vlnová délka [nm]	Absorbance	Propustnost
400	0,3872	0,410	450	0,0325	0,928
410	0,1972	0,635	460	0,0173	0,961
420	0,1261	0,748	470	0,0083	0,981
430	0,0841	0,824	480	0,0035	0,992
436	0,0650	0,861	490	0,0090	0,998
440	0,0535	0,884	500	0,0000	1,000

Tabulka 3. Vliv křemeliny a filtračního papíru na hodnoty absorbancí čirých vzorků při různých vlnových délkách

Vlnová délka	Bex křemeliny		Celite 512		HYFLO SUPER C.	
	ZPČP 31/1589	Schl. Schüll	ZPČP 31/1589	Schl. Schüll	ZPČP 31/1589	Schl. Schüll
430 nm	0,431	0,432	0,431	0,430	0,510	0,470
530 nm	0,096	0,096	0,099	0,096	0,145	0,145
700 nm	0,013	0,012	0,017	0,017	0,039	0,044

a proto chybné nastavení vlnové délky může mít značný vliv na velikost hodnoty měřené absorbance. Každý spektrofotometr, mají-li být naměřené hodnoty považovány za správné, musí mít zkalibrovanou jednak stupnici vlnových délek, jednak měřicí stupnici. Stupnice vlnových délek se běžně kontroluje interferenčními filtry nebo vhodnými zdroji čárového spektra (např. rtuťovou výbojkou). Správnost měřicí stupnice se ověřuje pomocí absorpčních filtrů nebo pomocí kalibračních roztoků. V našem případě jsme ke kontrole použitého přístroje SPEKOL použili rtuťové výbojky, která emituje čárové spektrum vlnových délek 365, 404,7/404,8, 435,8 a 546,1 nm. Na zjištěné diference je třeba brát zřetel při nastavování správné vlnové délky.

Pro kalibraci měřicí stupnice byl použit kalibrační roztok síranu kobaltnato-amonného [10]. Roztok se připraví rozpuštěním 14,481 g $\text{CoSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 1 000 ml odměrné baňce v destilované vodě a po přidání 10 ml koncentrované kyseliny sírové ($h = 1835 \text{ kg/m}^3$) se doplní po značku. Tabulka 1 udává odpovídající hodnoty absorbancí a propustností v závislosti na vlnové délce. V oblasti od 400 do 700 nm platí uvedené hodnoty i pro roztok síranu kobaltnatého ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), kterého se navažuje k přípravě standardního roztoku 10,30 g do 1 000 ml a roztok se nefiltruje.

Jelikož hodnoty absorbancí jsou pro některé vlnové délky příliš nízké, doporučuje se provádět kalibraci v 5 cm kyvetách a získané údaje přepočítat na 1 cm kyvetu. Námi ověřovaný kalibrovaný přístroj vykazoval shodu naměřených a tabelovaných hodnot pro standardní roztok síranu kobaltnato-amonného.

3.2 ÚPRAVA VZORKU PŘED MĚŘENÍM

Jak bylo uvedeno, při objektivním měření barvy je nezbytné eliminovat vliv eventuálního zákalu. V odborné literatuře jsou doporučeny různé typy křemelin pro čištění vzorků, přičemž pro analytické účely je doporučena u nás nedostupná křemelina Celite Filter Aid [2]. V této práci jsme vyzkoušeli dvě křemeliny, Hyflo Super Cel a Celite 512. Při čištění vzorků jsme postupovali podle

Tabulka 4. Hodnoty barvy sladin zjištěné subjektivními metodami a absorpance sladin při různých vlnových délkách

Číslo vzorku	Barva podle EBC (j. EBC)	Barva podle Branda (ml 0,1 M I ₂)	Absorbance		
			430 nm	450 nm	700 nm
1	2,3	0,14	0,102	0,075	0,011
2	3,4	0,20	0,150	0,115	0,018
3	3,4	0,19	0,146	0,105	0,014
4	3,8	0,22	0,159	0,120	0,015
5	4,1	0,24	0,173	0,127	0,011
6	3,4	0,19	0,145	0,109	0,010
7	3,8	0,20	0,146	0,111	0,014
8	3,8	0,20	0,155	0,116	0,015
9	4,1	0,22	0,165	0,122	0,014
10	3,9	0,20	0,164	0,120	0,013
11	2,2	0,14	0,110	0,083	0,018
12	2,2	0,14	0,110	0,083	0,019
13	2,2	0,14	0,108	0,083	0,016
14	2,3	0,14	0,120	0,091	0,021
15	2,3	0,14	0,110	0,083	0,017
16	3,4	0,18	0,131	0,095	0,015
17	3,4	0,20	0,147	0,095	0,010
18	3,4	0,19	0,128	0,097	0,017
19	3,4	0,19	0,143	0,092	0,015
20	3,9	0,22	0,162	0,099	0,012
21	4,5	0,22	0,178	—	0,023
22	4,7	0,24	0,188	—	0,020
23	4,4	0,24	0,177	—	0,019
24	4,1	0,22	0,173	0,019	0,019
25	3,4	0,20	0,142	0,112	0,012
26	3,4	0,20	0,140	0,110	0,009
27	3,4	0,19	0,140	0,103	0,009
28	3,8	0,21	0,159	0,115	0,010
29	3,6	0,20	0,162	0,126	0,020
30	3,3	0,18	0,142	0,097	0,012
31	3,3	0,19	0,138	0,102	0,012
32	3,8	0,23	0,156	0,120	0,015
33	4,2	0,24	0,181	0,131	0,015
34	3,8	0,22	0,161	0,121	0,015
35	4,1	0,23	0,170	0,128	0,015
36	3,3	0,19	0,136	0,102	0,015
37	4,1	0,24	0,174	0,127	0,014
38	4,4	0,25	0,191	0,139	0,016
39	3,4	0,20	0,155	0,115	0,016
40	4,4	0,26	0,186	0,136	0,014

Tabulka 5. Hodnoty barvy sladin vypočtené na základě objektivního měření absorpance u tří vybraných metod

Číslo vzorku	Barva sladin					
	(j. EBC)			(ml 0,1 M I ₂)		
	Metoda podle ASBG	Metoda Bernarda Scribana	Metoda TGL (NDR)	Metoda podle ASBG	Metoda Bernarda Scribana	Metoda TGL (NDR)
1	2,3	1,8	2,0	0,13	0,10	0,11
2	3,4	2,7	3,6	0,20	0,16	0,21
3	3,4	2,9	3,2	0,20	0,17	0,18
4	3,7	3,2	3,8	0,21	0,18	0,22
5	4,2	3,8	4,1	0,25	0,22	0,24
6	3,4	3,1	3,4	0,20	0,18	0,20
7	3,4	2,9	3,4	0,20	0,17	0,20
8	3,6	3,0	3,6	0,21	0,18	0,21
9	3,9	3,4	3,9	0,23	0,20	0,23
10	3,9	3,4	3,8	0,23	0,20	0,22
11	2,3	1,6	2,3	0,13	0,10	0,13
12	2,3	1,6	2,3	0,13	0,10	0,13
13	2,3	1,7	2,3	0,13	0,10	0,13
14	2,5	1,7	2,6	0,15	0,10	0,15
15	2,4	1,7	2,3	0,14	0,10	0,13
16	2,0	2,4	2,8	0,17	0,14	0,16
17	3,5	3,1	2,8	0,20	0,18	0,16
18	2,8	2,2	2,9	0,16	0,13	0,17
19	3,3	2,7	2,7	0,19	0,16	0,15
20	3,8	3,4	3,0	0,22	0,20	0,17
21	4,0	3,2	—	0,23	0,19	—
22	4,3	3,7	—	0,25	0,21	—
23	4,0	3,4	—	0,24	0,20	—
24	4,0	3,3	—	0,23	0,19	—
25	3,3	2,9	3,5	0,19	0,17	0,20
26	3,3	3,0	3,4	0,19	0,17	0,20
27	3,3	3,0	3,1	0,19	0,17	0,18
28	3,8	3,5	3,6	0,22	0,20	0,21
29	3,6	2,9	4,0	0,21	0,17	0,24
30	3,3	2,9	2,9	0,19	0,17	0,17
31	3,2	2,8	3,1	0,19	0,18	0,18
32	3,6	3,1	3,8	0,21	0,12	0,22
33	4,2	3,8	4,2	0,25	0,22	0,25
34	3,7	3,2	3,8	0,22	0,19	0,22
35	4,0	3,5	4,1	0,23	0,20	0,24
36	3,1	2,6	3,1	0,18	0,15	0,18
37	4,1	3,6	4,1	0,24	0,21	0,24
38	4,5	4,0	4,6	0,26	0,23	0,27
39	3,5	3,0	3,6	0,21	0,17	0,21
40	4,4	4,0	4,4	0,26	0,23	0,26

postupu doporučeného analytikou ASBC [3], tzn. že bylo přidáváno vždy 5 g křemelinu na 100 ml zkoumaného vzorku. Vhodnost zkoušených křemelin jsme ověřovali na čirých vzorcích s přídavkem a bez přídavku křemelinu.

Z výsledků uvedených v tabulce 3 je zřejmé, že použité filtry pravděpodobně nezachycují nejjemnější podíly křemelin, a tím je způsobeno zvyšování hodnot absorpance. Zejména hodnoty naměřené při použití křemelinu Hyflo Super Cell byly značně odlišné od hodnot čirých vzorků.

Pro ověření propustnosti filtrů bylo do předem připraveného standardního Hartongova roztoku [2] přidáno stejné množství křemelinu Celite 512 nebo Hyflo Super Cel a proměřena spektra ve viditelné oblasti na spektrofotometru SPECOL firmy Zeiss, Jena. Standardní Hartongův roztok se připraví rozpuštěním 0,100 g dvojchromanu draselného — K₂Cr₂O₇ a 3,500 g nitroprussidu sodného — Na₂[Fe(CN)₅NO]. 5 H₂O v 1000 ml destilované vody prosté organických látek. Roztok má být připraven 24 h před začátkem měření, má se uchovávat v temnu a má trvanlivost 1 měsíc.

Ze spektra uvedeného na obr. 2 je zřejmé, že přes filtry skutečně procházejí jemné částičky křemelin, ale

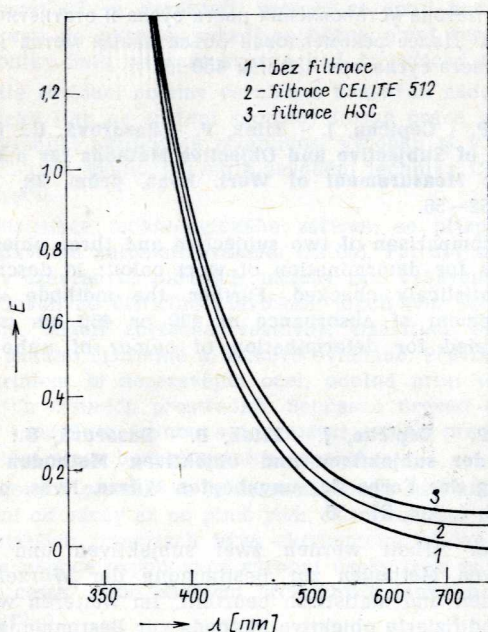
pro vlnové délky 430 nm a výše lze tuto skutečnost zanedbat.

3.3 VLASTNÍ MĚŘENÍ

Pro vzájemné porovnání vybraných metod bylo laboratorně sermutováno 40 partií světlých sladů pocházejících z různých pivovarských sladoven v ČSR a Obchodních sladoven k. p. Sladiny připravené kongresním rmutováním byly zfiltróvány přes skládaný filtr Schleicher /- Schüll. Část vzorku byla odebrána na subjektivní stanovení barvy metodou podle EBC a podle Branda. Obě tato stanovení byla prováděna nezávisle třemi osobami a z výsledků byl vzat průměr. Dále bylo odměřeno 100 ml zfiltróvané sladinu, přidáno 5 g křemelinu Celite 512, suspenze byla 5 minut intenzivně třepána a 5 minut ponechána usadit. Po usazení se podíl nad sedimentem zfiltróval přes skládaný filtr ZPČP 31/1598, přičemž první podíly filtrátu se vylévaly. U dokonale zfiltróvaných sladin se měřila absorpance při vlnových délkách 430, 450 a 700 nm. V tabulce 4 jsou uvedeny naměřené hodnoty pro 40 různých vzorků sladin. Z na-

Tabulka 6. Výsledky statistického porovnání objektivních metod a subjektivních metod měření barvy sladiny párových t-testem.

Srovnávací subjektivní metoda	Původní standardní referenční metoda podle ASBC $n = 40$ $t_k = 2,021$ $P = 95 \%$	Nová metoda podle Bernarda a Scribana $n = 40$ $t_k = 2,704$ $P = 95 \%$	Metoda TGL podle státní normy NDR $n = 30$ $t_k = 2,042$ $P = 95 \%$
Subjektivní metoda podle Branda	$\bar{d} = 0,001$ $s = 0,011$ $t = 0,5849$	$t = 16,542$	$\bar{d} = -0,004$ $s = 0,017$ $t = 1,313$
	Vypočtená hodnota t se statisticky významně neliší od hodnoty t_k	Vypočtená hodnota t je mnohem vyšší než hodnota t_k	Obě metody se statisticky významně neliší
Subjektivní metoda podle EBC	$\bar{d} = -0,03$ $s = 0,18$ $t = 3,004$	$t = 15,992$	$\bar{d} = -0,13$ $s = 0,285$ $t = 2,483$
	Vypočtená hodnota t se statisticky liší od hodnoty t_k	Vypočtená hodnota t je mnohem vyšší než hodnota t_k	Metody se statisticky významně liší



Obr. 2

měřených hodnot extinkcí byly dále vypočítány hodnoty barvy podle těchto vztahů:

A) Pro původní standardní referenční metodu ASBC byla hodnota barvy v jednotkách EBC vypočtena podle Trommsdorfa podle vztahu [11]:
Barva (j. EBC) = $25,5 \cdot (A_{430} - A_{700})$

B) Pro tzv. novou metodu podle Bernarda a Scribana byla hodnota barvy v jednotkách EBC vypočtena podle vztahu [12]:
Barva (j. EBC) = $27,4 \cdot A_{430} - 59,5 \cdot A_{700} - 0,3$

C) Pro metodu TGL uvedenou ve státní normě NDR byla hodnota barvy v jednotkách EBC vypočtena podle vztahu [5]:
Barva (j. EBC) = $40 \cdot A_{450} - 1$

U všech tří objektivních metod byly dále hodnoty barvy v jednotkách EBC přepočteny na hodnoty barvy podle Branda v ml 0,1 M I₂ podle vztahu [1, 5]:

$$\text{Barva podle Branda (ml 0,1 M I}_2) = \frac{j. EBC}{18} + \frac{j. EBC^2}{36}$$

Vypočtené hodnoty pro zkoumané tři objektivní metody jsou uvedeny v tabulce 5. Vypočtené hodnoty barvy v jednotkách EBC byly dále statisticky porovnány pomocí párového t-testu s hodnotami subjektivních metod, jak je uvedeno v tabulce 6.

Z tabulky 6 je patrné, že existuje velmi dobrá shoda mezi metodou Brandovou a rovnicemi A a C. Pro metodu EBC leží vypočtené hodnoty testovacího kritéria mírně nad kritickou hodnotou, což může být způsobeno vyšším rozptylem při určování barvy metodou podle EBC, jejíž stupnice má hrubší dělení než stupnice Brandova (dělení sladové stupnice po 0,5 j. EBC odpovídá přibližně 0,03 jednotkám podle Branda). Rovnice B, přestože by měla platit dokonce i pro neupravené vzorky, se pro výpočet barvy sladiny nehodí, neboť vypočtené hodnoty jsou příliš nízké. Ze získaných výsledků dále vyplývá, že pro objektivní metody stanovení barvy kongresních sladin je vhodná obzvláště modifikovaná metoda TGL, neboť její výsledky vykazují velmi dobrou shodu s výsledky vizuální Brandovy metody. Velkou předností modifikované metody je její jednoduchost a rychlost, neboť měření se provádí pouze při jedné vlnové délce 450 nm. Modifikovaný postup nahrazuje původní filtraci skleněnou fritou G 5 čiřením křemelinou Celite 512 s následnou filtrací přes skládaný filtr ZPČP 31/1589. Touto úpravou bylo dosaženo lepší shody výsledků a navíc odpadlo zdlouhavé a nepříjemné čištění frity koncentrovanou kyselinou sírovou. Velkou předností metody je dále možnost měřit na spektrálním fotometru SPEKOL se zesilovacím měřicím nástavcem ZV, který je běžný ve vybavení provozních laboratoří.

Získaných experimentálních výsledků bylo též využito pro výpočet uvedených regresních rovnic pro závislosti mezi hodnotami absorbance při 430 nm a hodnotami barvy naměřené subjektivními metodami podle Branda a podle EBC:

D) Barva podle Branda (ml 0,1 M I₂) = $1,32 \cdot A_{430} + 0,01$

E) Barva podle EBC (j. EBC) = $27,5 \cdot A_{430} - 0,6$

U obou rovnic se vypočtené korelační koeficienty blížily hodnotě 1,0.

Použití hodnoty absorbance při 430 nm odpovídá sou-

časné metodě ASBC, podle níž se sice měří absorbance při 430 i 700 nm, ale měření při 700 nm slouží pouze jako pomocné [je-li jeho hodnota vyšší než 0,039. A_{430} , je nutno vzorek upravit] a do výpočtu se nezahrnuje.

Uvedené regresní rovnice však nemohou být považovány za exaktní přepočty mezi jednotkami podle ASBC a *Branda*, popřípadě *EBC*, neboť norma ASBC předpisuje pro stanovení absorbance při 430 nm spektrofotometr se šířkou štěrbinou 1 nm [SPEKOL má 11 nm] a vzorky nebyly upravovány přesně předepsaným způsobem.

3.4 DOPORUČENÝ POSTUP MĚŘENÍ

K běžně připravené kogresní sladinně se přidá 5 g křemelinu Celite 512 na 100 ml. Suspenze se 5 min intenzivně třepe a dalších 5 min se nechá ustát. Po usazení hlavního podílu křemelinu se podíl nad sedimentem zfiltruje přes skládaný filtr ZPČP 31/1598 nebo jemu odpovídající, přičemž se první podíly filtrátu vylijí. Čirý filtrát se proměří při 430 nebo 450 nm proti destilované vodě v 1 cm silné kyvetě na kalibrovaném přístroji SPEKOL s měřicím a zesilovacím nástavcem ZV. Z naměřené hodnoty absorbance při 430 nm se vypočte barva sladinu podle vztahů:

Barva podle *Branda* (ml 0,1 M I₂) = 1,32 · A_{430} + 0,01
Barva podle *EBC* (j. EBC) = 27,5 · A_{430} - 0,60

Z hodnot absorbancí při 450 nm se vypočte barva podle vztahů:

Barva podle *Branda* (ml 0,1 M I₂) = A_{450} (1,23 + 2,160) - 0,055

Barva podle *EBC* (j. EBC) = 40 · A_{450} - 1

4. ZÁVĚR

Byly porovnány tři objektivní metody měření barvy sladinu se dvěma metodami subjektivními. Nejlepší shody bylo dosaženo mezi výsledky subjektivní metody podle *Branda* a původní standardní referenční metodou ASBC a metodou TGL. Na základě získaných výsledků byla doporučena modifikovaná objektivní metoda stanovení barvy sladinu na principu měření absorbance při 430 nebo 450 nm. Metoda je vhodná pro rychlé objektivní stanovení barvy sladinu, je nenáročná na provedení a nevyžaduje speciální nákladné instrumentální vybavení. Tím má všechny předpoklady k rozšíření do provozních laboratoří sladoven a pivovarů.

Literatura

- [1] VANČURA M.: Pivovarsko-sladařská analytika, SNTL Praha, 1967
- [2] Analytica EBC, III. Ed., Zürich, 1975
- [3] Methods of Analysis of the ASBC, 3. Ed. ASBC Inc., 1976
- [4] Recommended Methods of the Institute of Brewing, London, 1971

- [5] TGL 25 497, Biere, Bestimmung des Farbsättigungsgrades. Státní norma NDR
- [6] PIENDL A., BOHMANN J., GEIGER E.: Brauwiss. 32, 1979, 99
- [7] HOUNGH J. S., BRIGGS D. E., STEVENS R.: Mating and Brewing Science, Chapman and Hall Ltd., London, 1971
- [8] Test For Colour Blindness, H. K. Levis, London, 1978
- [8] PISARSKI J. A. F.: Příkladná biochimija i mikrobiologija, T. II., Ltd. 15, 1984, s. 9, 11, 1988, s. 57
- [10] ILINO J. A. A., VARŠAVSKÝ J. M.: Absorpcionaja spektroskopija, Ltd. 15, 1984, s. 9, 11, 1988, s. 57
- [11] RODOPULO A. K.: Biochimija Šampanskovo proizvodstva, Piš-
- [12] BERNARD M., SCRIBAN K.: Bios 7, 1976, 14
- [13] SCRIBAN R.: Bios 6, 1975, 431

Čejka, P. - Čepička, J. - Zítek, P. - Basařová, G.: Porovnání subjektivních a objektivních metod měření barvy sladinu. Kvas. prům. 29, 1983, č. 3, s. 52—56.

V práci byly porovnány dvě subjektivní a tři objektivní metody stanovení barvy sladinu a statisticky vyhodnoceny. Dále byla doporučena modifikovaná objektivní metoda měření barvy sladinu při 430 nebo 450 nm.

Чейка, П. — Чепичка, Я. — Зитек, П. — Басаржова, Г.: Сопоставление субъективных и объективных методов измерения окраски сусла. Квас. прум., 29, 1983, № 3, стр. 52—56.

V работе сопоставлены два субъективных и три объективных метода установления цвета сусла и статистически оценены. Далее рекомендован объективный метод измерения цвета сусла при 430 или 450 nm.

Čejka, P. - Čepička, J. - Zítek, P. - Basařová, G.: Comparison of Subjective and Objective Methods for a Colorimetric Measurement of Wort. Kvas. prům. 29, 1983, č. 3, s. 52—56.

The comparison of two subjective and three objective methods for determination of wort colour is described and statistically checked. Further, the methods using measurement of absorbance at 430 or 450 nm is recommended for determination of colour of unhopped wort.

Čejka, P. - Čepička, J. - Zítek, P. - Basařová, G.: Vergleich der subjektiven und objektiven Methoden der Messung der Farbe der ungehopften Würze. Kvas. prům. 29, 1983, č. 3, s. 52—56.

In der Arbeit werden zwei subjektiven und drei objektiven Methoden zur Bestimmung der Würzefarbe verglichen und statistisch beurteilt. Im weiteren werde eine modifizierte objektive Methode zur Bestimmung der Würzefarbe bei 430 oder 450 nm empfohlen.