

Srovnání různých metod stanovení oxidu uhličitého v pivu

Comparison of Carbon Dioxide Determination Measured by Different Methods

Jana OLŠOVSKÁ, Karel ŠTĚRBA, Pavel ČEJKA

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2 / RIBM Plc, Lípová 15, CZ 120 44 Prague
olšovska@beerresearch.cz

Olšovská, J. – Štěrbá, K. – Čejka, P.: Srovnání různých metod stanovení oxidu uhličitého v pivu. Kvasny Prum. 59, 2013, č. 3, s. 63–68.

Obsah oxidu uhličitého v pivu má velký význam z hlediska jeho sensorických vlastností, a proto je měření jeho obsahu velmi důležitým kritériem, jak posoudit kvalitu piva. Pro stanovení obsahu oxidu uhličitého v pivu se používá řada metod, které se liší jak v principu měření, tak i z hlediska přesnosti, pracnosti, časové náročnosti a v neposlední řadě i ve finančních nárocích na pořízení a provoz potřebné instrumentace. Tato práce je zaměřena na srovnání výsledků, přesnosti a pracnosti tří různých metod stanovení obsahu oxidu uhličitého v pivu, jejichž principem je měření tlaku, objemové expanze a tepelné vodivosti. Zjištěné rozdíly mezi jednotlivými metodami lze pravděpodobně připsat kombinaci různého principu měření a variability složení různých piv, např. obsahu ostatních rozpuštěných plynů.

Olšovská, J. – Štěrbá, K. – Čejka, P.: Comparison of carbon dioxide determination measured by different methods. Kvasny Prum. 59, 2013, No. 3, s. 63–68.

The carbon dioxide content in beer is of great importance in terms of its sensory properties and its measurements provide an important criterion for assessing the quality of beer. The wide range of methods currently used for carbon dioxide determination differ in the principles of measurement as well as in reproducibility, laboriousness, time requirements and also in acquisition and operation costs of the requisite instrumentation. This article compares the results, accuracy, and laboriousness of three methods for determination of carbon dioxide in beer based on the measurement of pressure, volume expansion and thermal conductivity. The differences that were found between the individual methods can be probably ascribed to a combination of different measurement principles and variability of the composition of different beers including the content of other dissolved gases.

Olšovská, J. – Štěrbá, K. – Čejka, P.: Der Vergleich von verschiedenen Methoden der Kohlendioxidbestimmung im Bier. Kvasny Prum. 59, 2013, Nr. 3, S. 63–68.

Im Hinblick auf die sensorische Eigenschaften des Bieres spielt eine große Rolle seiner Gehalt an Kohlendioxid, darum stellt die Messung dieses Gehalts ein sehr wichtiges Kriterium dar, die Qualität des Bieres zu beurteilen. Zur Messung des Kohlendioxidgehalts gibt es viele Methoden, die im Prinzip, in der Genauigkeit, im Arbeits- und im Zeitaufwand, in den finanziellen Ansprüchen auf Einkauf und auf Betrieb sich unterscheiden. Der Artikel befaßt sich mit dem Vergleich der Ergebnisse, des Zeit- und Arbeitsaufwands von den 3 verschiedenen Methoden zur Bestimmung des Gehalts an Kohlendioxid im Bier, deren Prinzip die Druckmessung, die Volumenexpansion und Wärmeleitfähigkeit ist. Die festgestellten Unterschiede unter den einzelnen angewandten Methoden können wahrscheinlich der Kombination vom unterschiedlichen Messungsprinzipen und der Variabilität der Bierzusammensetzung, zum Beispiel auf den Gehalt an anderen gelösten Gasen im Bier zugeschrieben werden.

Klíčová slova: oxid uhličitý, pivo, měření tlaku, objemová expanze, tepelná vodivost, hrdlový prostor, rozpuštěné plyny v pivu

Keywords: carbon dioxide, beer, pressure measurement, volume expansion, thermal conductivity, bottleneck space, dissolved gases in beer

1 ÚVOD

Obsah oxidu uhličitého patří mezi důležité ukazatele kvality piva. Bublínky oxidu uhličitého (CO_2) způsobují v ústech štiplavý pocit, který je v pivovarské terminologii označován jako tzv. „říz“. Tento jev spočívá zejména v působení CO_2 na trojklaný nerv. Přítomné bublinky aktivují tzv. mechanoreceptory (buňky citlivé na mechanické podráždění) a pomocí konverze na kyselinu uhličitou aktivují receptory bolesti (Dessirier, 2000). Bylo prokázáno, že obsah CO_2 ovlivňuje chuť piva, např. hořkost a sladkost (Clark, 2011).

Ke stanovení obsahu CO_2 se využívá široká škála metod. Ty se liší v přesnosti, reprodukovatelnosti, pracnosti, jsou různě náročné na čas a v neposlední řadě kladou různé finanční nároky na provoz a pořízení potřebné instrumentace. Jedná se jak o metody chemické, např. desorpce CO_2 varem, zachycení v roztoku hydroxidu barnatého a následná titrace, tak i metody fyzikální, založené na měření tlaku a teploty, tepelné vodivosti nebo IR spekter (Basařová, 1999; ASBC, 2009).

Cílem tohoto článku je porovnat mezi sebou výsledky stanovení CO_2 v pivu získané fyzikálními metodami, které jsou založeny na odlišném principu měření a jsou v současné době nejvíce rozšířeny v pivovarských laboratořích. Tyto metody lze obecně rozdělit na manometrické, expanzní a vodivostní.

Manometrické metody jsou založeny na principu Henryho zákona, podle něhož je koncentrace rozpuštěného plynu v kapalině přímo úměrná jeho parciálnímu tlaku nad hladinou. Po uvolnění CO_2 z piva vytřepáním nebo ultrazvukem se jeho obsah stanoví z tlaku v láhvi. Vzhledem k tomu, že tlak v láhvi nevytváří pouze oxid uhličitý, ale v menší míře také vzduch (resp. dusík), je třeba na tuto skutečnost vzít ohled a provést korekci. Ta se provede odečtením obsahu vzduchu v hrdlovém prostoru (po průchodu plynů roztokem louhu)

1 INTRODUCTION

The amount of carbon dioxide is one of most important indicators of beer quality. The bubbles of carbon dioxide (CO_2) elicit a tingling response called beer bite or sharpness. This phenomenon is based on the action of CO_2 on oral trigeminal receptors. The bubbles activate so-called mechanoreceptors (cells sensitive to mechanical irritation) and by conversion of CO_2 to carbonic acid activate nociceptors (Dessirier, 2000). It was shown that the amount of CO_2 influences the taste of beer, e.g. sweetness or bitterness (Clark, 2011).

A wide range of methods is used for determining the CO_2 content. They differ in accuracy, reproducibility, laboriousness, time consumption and they have different operating costs and acquisition price. The methods are based both on chemical (e.g. desorption of CO_2 by boiling, capturing in solution of barium hydroxide with following titration) and physical principles such as measuring pressure and temperature, thermal conductivity or IR spectrum (Basařová, 1999; ASBC, 2009).

The aim of this work is to compare the determination of CO_2 content by physical methods with the different principles of measurement that are currently most widespread in brewery laboratories. These methods can be divided into those based on pressure measurement, volume expansion or conductivity measurement.

Determination of CO_2 content by pressure measurement is based on the principles of Henry's law, which says that the amount of a gas dissolved in a liquid is directly proportional to the partial pressure of the gas above the liquid. After release of CO_2 from beer by shaking or ultrasonic bath, its content is determined from the pressure in the bottle. Because of the presence of other gases in the bottle and their influence on the pressure (air, nitrogen) it is desirable to make a correction for them. This is done by calculation from the amount of

Tab. 1 Základní parametry použitých přístrojů / Basic parameters of used instruments

Přístroj / Instrument	Rozsah měření (g/l)* Measuring range (g/l)*	Opakovatelnost* Repeatability*
Haffmans Inpack 2000 CO ₂	2.5–9.99	± 0.1 g/l
CarboQC	0–12	± 0.01 g/l
Orbisphere Package analyzer 3625	0.02–10	± 1 %

* údaje poskytnuté výrobcem / parameters given by a producer

a zjištěním objemu hrdlového prostoru nad hladinou piva v láhvi nebo plechovce. Pro danou metodu je důležité, aby byl vzorek piva vytemperován na správnou teplotu (obvykle 20 nebo 25 °C). Manometrickou metodu stanovení využívají např. přístroje od firmy Haffmans nebo Zahm & Nagel.

Expanzní metody stanovení obsahu CO₂ využívají techniky multiásobné objemové expanze, která umožňuje eliminovat vliv ostatních rozpuštěných plynů na vlastní stanovení. V následném výpočtu se využívá platnosti Henryho a Daltonova zákona. Tuto metodu používá např. analyzátor CarboQC firmy Anton Paar.

Vodivostní metody jsou založeny na principu měření tepelné vodivosti plynů. Měřicí čidlo je umístěno pod difúzní membránou umožňující průstup plynů a měří rozdíl teplotních vodivostí referenčního a měřeného plynu. Naměřené údaje jsou pak na základě kalibrace přepočteny na koncentraci CO₂. Měřením tepelné vodivosti plynů stanovují obsah CO₂ např. přístroje Corning nebo Orbisphere.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité přístroje, pracovní postup měření

1. **CarboQC** (Anton Paar) je digitální automatický přístroj, který měří absolutní tlak, teplotu a parciální tlaky po 10 % a 30 % expanzi měřící komory. Po vložení lahve/plechovky a jejího zajištění v prostoru pro měření CO₂ obsluha prorazí korunku/víčko a sepně tlačítko Start. Další postup včetně odečtení výsledku je řízen zcela automaticky. Délka měření je asi 2 min. Pro velké provozy je přístroj vybaven automatickým dávkovačem pro všechny typy lahví a plechovek s 18 pozicemi. Vzorky nemusí být předem temperovány, přístroj automaticky provádí korekci na teplotu. Kromě informace o koncentraci CO₂ lze tímto postupem získat údaj o celkovém obsahu vzduchu (ppm).

2. **Haffmans Inpack 2000 CO₂** je manuální přístroj vybavený digitálním tlakoměrem. Vzorek piva musí být vytemperován na 20 nebo 25 °C. Láhev, plechovka či PET lahev se umístí do ultrazvukové lázně a pomocí páky se propíchnou korunkový či plastový uzávěr. Pomocí ultrazvuku se uvolní CO₂ a změří tlak na manometru. Po dosažení maximální hodnoty tlaku se plyn opatrně pustí do byrety naplněné roztokem hydroxidu sodného, kam se sorbuje CO₂. Z naměřeného tlaku, objemu vzduchu na stupnici byrety a zjištěného hrdlového prostoru se vypočítá konečná koncentrace CO₂. Celý postup včetně výpočtu je manuální, délka celého postupu pro vzorek je asi 10 min.

3. **Orbisphere Package analyzer 3625** je automatický přístroj s počítačovým výstupem. Měření je založeno na sledování tepelné vodivosti plynů pomocí selektivního senzoru. Vzorek piva v uzavřené lahvi/plechovce se ručně 3 min protřepe a 3 min nechá stát, aby opadla pěna. Poté se uzavřený obal s pivem vloží do držáku přístroje, propíchnou se zátky a přístroj změří tlak v hrdlovém prostoru. Potom se do vzorku pod hladinu zasune jehla a vzorek se automaticky začne pumpovat do systému senzoru. Ostatní měření probíhají automaticky. Kromě stanovení CO₂ je přístroj schopen určit i obsah N₂ (při použití CO₂ jako nosného plynu) a O₂. Vlastní měření jednoho vzorku trvá zhruba 3 min.

air in the bottleneck space after passing of gases through the alkali solution and from the volume of bottleneck space. An important step in these methods is to keep the samples at a given temperature (usually 20 or 25 °C). This manometric principle is used for instance by instruments from Haffmans or Zahm & Nagel.

Volume expansion methods for the determination of CO₂ content are using multiple volume expansion and therefore are able to eliminate the influence of other gases during the determination. The subsequent calculation

uses Henry's and Dalton's law. This method of measurement is used by, e.g., CarboQC analyzer from Anton Paar.

Another possibility of CO₂ determination is the measurement of the thermal conductivity of gases. The measuring sensor is placed behind a diffusion membrane, which permits the transport of gases, and is measuring the difference in the thermal conductivities of reference and measured gas. The measured values are then converted to the content of CO₂ by calibration. Thermal conductivity is used by instruments from, e.g., Corning or Orbisphere.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Instruments used for measurement of CO₂

1. **CarboQC** (Anton Paar) is a digital automatic instrument. It measures absolute pressure, temperature and partial pressures after 10 % and 30 % expansion of the measuring cell. After the insertion of a bottle or can and its fixing in the measuring position the operator pierces the cap and presses the „Start“ button. The rest of the measurement is fully automatic and lasts approximately 2 minutes per sample. The instrument can be equipped with an automatic filling device for all types of bottles and cans with a feeder for 18 positions for use in large productions. The instrument doesn't need sample temperature control, the correction for temperature is performed automatically. In addition to the amount of CO₂ it also determines the total content of air (ppm).
2. **Haffmans Inpack 2000 CO₂** is a manual instrument with digital manometer. The sample of beer must be kept at 20 or 25 °C. Glass bottle, PET bottle or can is placed in ultrasonic bath and the cap

Tab. 2 Srovnání dvou vzorků piv měřených různými metodami v různých pivovarech / Comparison of the CO₂ concentration measured by different methods in various breweries

Podnik / Company	Typ přístroje / Instrument	Vzorek A / Sample A (g/l)*	RSD (%)	Vzorek B / Sample B (g/l)*	RSD (%)
Pivovar C / Brewery C	Haffmans	5.03	0.64	5.06	2.40
Pivovar D / Brewery D		5.09	0.45	5.22	1.20
VÚPS / RIBM		4.93	1.17	5.13	2.98
Průměr / Mean		5.02	1.51	5.14	2.41
Pivovar E / Brewery E	CarboQC	4.54	0.79	4.71	0.21
Pivovar A / Brewery A		4.53	1.27	4.77	1.21
Pivovar B / Brewery B		4.50	0.00	4.63	2.49
Průměr / Mean		4.52	0.86	4.70	1.85
Pivovar A / Brewery A	Orbisphere senzor / Orbisphere sensor	4.20	0.00	4.40	0.00
Pivovar B / Brewery B		4.55	1.55	4.77	1.21
Průměr / Mean		4.38	4.46	4.58	4.25
Pivovar A / Brewery A	Orbisphere výpočet / Orbisphere calculation	5.03	1.15	5.07	1.14

* koncentrace CO₂ v tabulce jsou průměrné hodnoty ze tří měření / CO₂ concentrations in table are means from three measurements

Tento přístroj umožňuje také měření bez senzoru, kdy je obsah CO_2 vypočítán z hodnoty tlaku, jako je tomu u manometrických metod.

V tab. 1 jsou uvedeny základní parametry srovnávaných přístrojů, rozsah a opakovatelnost měření. Rozsah spolehlivě pokrývá a přesahuje běžné koncentrace CO_2 . Deklarovaná opakovatelnost se liší mezi srovnávanými přístroji zhruba v rozsahu jednoho řádu.

2.2 Popis experimentů

Pokus A: V první části experimentu byly srovnávány výsledky měření CO_2 ze dvou běžných komerčních vzorků lahvoových pív (světlý ležák). Tyto vzorky byly analyzovány na obsah CO_2 v pěti pivovarech a v laboratoři VÚPS, a.s. v Praze, celkem na 9 přístrojích zahrnujících popsání přístroje CarboQC, Haffmans Inpack 2000 CO_2 a Orbisphere Package analyzer 3625. Každý vzorek byl změřen třikrát, byly vypočteny relativní směrodatné odchylky (RSD %) pro jednotlivá měření a pro jednotlivé použité přístroje.

Pokus B: V druhé části experimentu byly všechny vzorky měřeny jedním pracovníkem VÚPS na přístroji Haffmans (instrument VÚPS) CarboQC (zapůjčený do VÚPS firmou Anton Paar) a Orbisphere (v technických kancelářích firmy Denwell s.r.o.). U šesti komerčních vzorků lahvoových pív byl změřen obsah CO_2 na přístrojích uvedených v tab. 1. Podle informace výrobců byly všechny vzorky stáčeny v atmosféře CO_2 , u vzorků 1 a 3 s přidávkou dusíku.

Pokus C: Třetí část pokusu byla zaměřena na podrobnější srovnání shodných přístrojů CarboQC na dvou pracovištích (VÚPS a zúčastněný pivovar) a na srovnání dvou přístrojů (Haffmans a CarboQC) na jednom pracovišti (VÚPS) při zajištění identických podmínek měření (místo, čas, teplota, tlak, operátor). K tomuto pokusu byly použity tři komerční vzorky lahvoových pív (piva 7 a 8 světlé výčepní, pivo 9 světlý ležák), měření bylo provedeno trojnásobně.

Mezilaboratorní testy BAPS: Závěry z pokusů A, B a C byly v této práci použity ke srovnání popsání metodik s výsledky BAPS (Brewing Analytes Proficiency Scheme), kterých se Analytická laboratoř Pivovarského ústavu v Praze pravidelně účastní v měsíčních intervalech. Tyto testy jsou organizovány společností LGC Standards a Campden BRI Brewing Division. Systém je založen na zasílání komerčních vzorků piva v plechovce účastníkům testu, kterých je v současné době přes 200, a získané výsledky jsou organizátory statisticky vyhodnocovány. Součástí těchto testů je i měření obsahu CO_2 v pívu.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Pokus A

Výsledky získané z jednotlivých pivovarů jsou srovnány podle typu měřících přístrojů a uvedeny v tab. 2 (jsou uvedeny pouze průměry ze tří měření). Je patrné, že manometrické metody založené na výpočtu obsahu oxidu uhličitého z naměřeného tlaku poskytují srovnatelné výsledky (Haffmans, Orbisphere-výpočet), zatímco přístroje založené na jiných principech měření poskytly nižší hodnoty obsahu CO_2 , přičemž nejnižší hodnoty byly naměřeny na přístroji Orbisphere.

Statistickým hodnocením těchto dat pomocí analýzy rozptylu bylo prokázáno, že rozdíly mezi průměry obsahu CO_2 zjištěných jak u přístrojů Haffmans, tak i CarboQC jsou statisticky nevýznamné, což znamená, že tyto přístroje poskytují i na různých pracovištích srovnatelné výsledky (v rámci statistické chyby). Nejmenší směrodatná odchylka byla naměřena pro přístroje CarboQC, což odpovídá opakovatelnosti udávané výrobcem.

3.2 Pokus B

Pokus B byl proveden se záměrem potvrdit nebo vyloučit hypotézu, že za odlišné údaje poskytnuté manometrickými metodami může vyšší obsah ostatních rozpuštěných plynů (např. dusík). Proto byla do experimentu přidána dvě piva (Pivo 1 a 3), u kterých bylo deklarováno stáčení pod dusíkovou atmosférou. Obsah ostatních plynů v Pívech 1–6 byl proměřen jak pomocí přístroje CarboQC, tak pomocí přístroje Haffmans. Ověření správnosti měření obsahu ostatních rozpuštěných plynů vyplývá z obr. 1, který znázorňuje korelaci mezi obsahem rozpuštěných plynů (mg/l) naměřených přístrojem CarboQC a vzduchu v hrdlovém prostoru (ml) pomocí přístroje Haffmans (za předpokladu, že mezi plyny rozpuštěnými v pívě a jejich obsahem v hrdlovém prostoru existuje rovnováha). Výsledný korelační koeficient $r = 0,994$ svědčí o tom, že údaj, který je naměřen přístrojem Haffmans pro korekci výsledku na obsah vzduchu v hrdlovém prostoru, odpovídá obsahu rozpuštěných ply-

in je propíchnutý tyčičkou. CO_2 je uvolněno a tlak je měřený manometrem. Po dosažení maximálního tlaku jsou plyny uvolněny do sklenice naplněné roztokem NaOH, který absorbuje CO_2 a objem vzduchu je získán. Množství CO_2 je vypočteno z tlaku, objemu vzduchu a objemu sklenice. Celý proces je manuální a trvá přibližně 10 minut na vzorek.

3. **Orbisphere Package analyzer 3625** je automatický instrument s počítačovým výstupem. Měření je založeno na monitorování tepelné vodivosti plynů selektivním senzorem. Vzorek piva v uzavřené lahvičce nebo plechovce je ručně protřesen po dobu 3 minut a poté nechán, aby se pěna usadila. Vzorek je vložen do držáku, víčko je propíchnuto a instrument měří tlak v hrdlovém prostoru. Poté je do vzorku vložena jehla a instrument automaticky začne měřit. Zbytek měření je automatický. Kromě měření obsahu CO_2 lze měřit i obsah dusíku (s CO_2 jako nosným plynem) a obsah kyslíku. Měření trvá přibližně 3 minuty na vzorek. Tento instrument lze také použít k měření obsahu CO_2 tlakovou metodou.

Tab. 1 uvádí základní parametry výše uvedených instrumentů, jejich rozsah a opakovatelnost. Rozsah uspokojivě pokrývá a přesahuje běžné koncentrace CO_2 v pívě. Opakovatelnost mezi instrumenty je v rámci jednoho řádu.

2.2 Description of experiments

Experiment A: Two samples of commercial beers (pale lagers) in glass bottles were analyzed for the content of CO_2 in 5 breweries and at the Research Institute of Brewing and Malting on a total of nine instruments including CarboQC, Haffmans Inpack 2000 CO_2 and Orbisphere Package analyzer 3625. Every sample was measured three times and relative standard deviation (RSD %) was calculated for every measurement and for every type of instrument.

Experiment B: Six samples of commercial beers were measured by one employee of the Research Institute of Brewing and Malting on the instruments Haffmans (Research Institute of Brewing and Malting), CarboQC (lent to the Research Institute of Brewing and Malting by Anton Paar) and Orbisphere (technical office of Denwel Ltd.). The parameters of the instruments are listed in Tab. 1. Samples 1 and 3 were filled in an atmosphere of CO_2 with an admixture of nitrogen, the other samples in CO_2 atmosphere.

Experiment C: Three samples of commercial beers (7, 8 – pale beers, 9 – pale lager) in glass bottles were analyzed in two CarboQC instruments in different laboratories (Research Institute of Brewing and Malting and a participating brewery) for their closer comparison and in a Haffmans instrument (Research Institute of Brewing and Malting) for comparison with CarboQC under the same conditions (place, time, temperature, pressure, operator). Every measurement was performed three times.

BAPS international laboratory tests: The conclusions from experiments A, B and C were compared with the results of BAPS (Brewing Analytes Proficiency Scheme) administered by Campden BRI Brewing Division and LGC Standards. The Research Institute of Brewing and Malting participates in this scheme every month. The system is based on the monthly analysis of different commercially available beers by over two hundred participants and the statistic evaluation of the results by the organizers. A part of these tests is the determination of the CO_2 content.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Experiment A

The results from breweries are sorted by the type of measuring instrument and listed in Tab. 2 (only means of three measurements are shown). It is evident that the methods based on pressure measurement provide similar results (Haffmans, Orbisphere-calculation), while the other instruments give lesser amount of CO_2 . Lower results were obtained by Orbisphere.

The statistic evaluation with analysis of variance proved that the differences between means of the CO_2 content obtained from Haffmans or CarboQC instruments are statistically insignificant, i.e. these instruments provide the same results in different laboratories (within the statistical error). The lowest RSD was calculated for CarboQC, which is in agreement with the repeatability given by the manufacturer.

nů získanému pomocí přístroje CarboQC. Rozpor mezi informací, že pivo 3 bylo stočeno pod přidavkem dusíku a zjištěním jeho naměřené téměř nulové hodnoty (oběma přístroji), lze vysvětlit způsobem stáčení tohoto piva (vypěněním piva před uzavřením láhve). Naopak u piva 6 byl naměřen vyšší obsah ostatních plynů.

Výsledky měření obsahu CO_2 jsou znázorněny na obr. 2. Nejnížší hodnoty ve všech případech byly naměřeny pomocí přístroje CarboQC. Tento přístroj poskytl u Piva 1, 2, 3 a 5 výsledky s nejlepší opakovatelností. Přístrojem Orbisphere bylo dosaženo nejlepší opakovatelnosti u Piva 4 a 6. Při srovnání manometrických metod byl pouze u Piva 3 a 4 zjištěn větší rozdíl než 0,1 g/l.

V rámci tohoto pokusu se podařilo prokázat i určitou souvislost mezi zvýšeným obsahem dusíku (ostatních plynů) a výraznějšími odchylkami mezi výsledky naměřeného CO_2 různými typy přístrojů. Z obr. 2 je patrné, že největší rozdíly ve výsledcích mezi manometrickými metodami a expanzní metodou byly zjištěny u piv 1 a 6, kde byly nalezeny nejvyšší obsahy dalších plynů (obr. 1) na rozdíl od ostatních piv, kde byl obsah ostatních plynů nižší.

3.3 Pokus C

Podobně jako v pokusu A, byly pomocí přístrojů CarboQC získány srovnatelné výsledky (obr. 3) a směrodatné odchylky měření byly malé. Oproti tomu výsledky z přístroje Haffmans jsou vyšší a jejich směrodatná odchylka je rovněž větší.

3.4 Mezilaboratorní testy BAPS

Pro srovnání sledovaných metod jsou v této práci uvedeny výsledky z několika měsíčních testů, srovnání je provedeno pro konkrétní měřicí přístroje, resp. pro metody založené na různém principu měření.

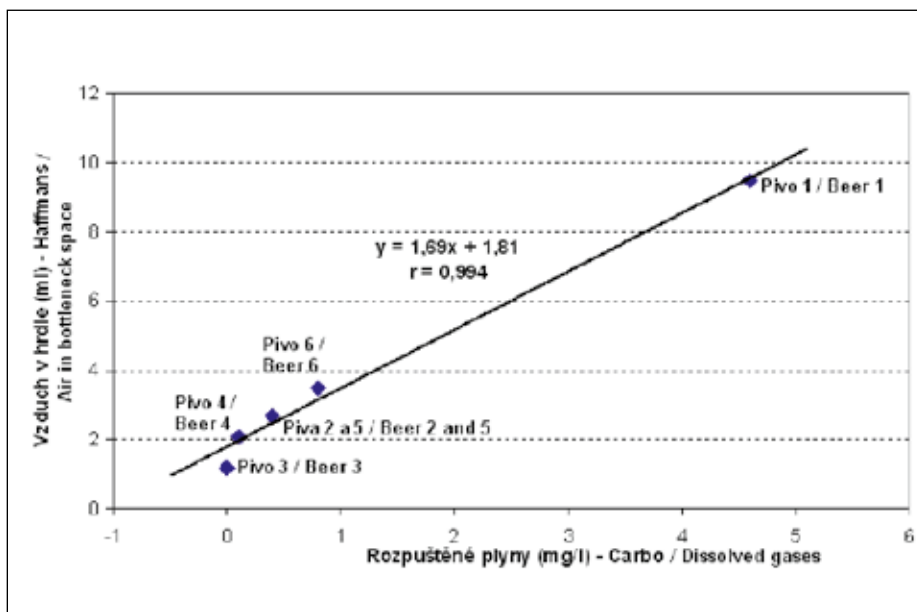
Výsledky z roku 2011 uvedené v tab. 3 odlišené podle použitých přístrojů ukazují, že výsledky naměřené různými metodami jsou srovnatelné, největší rozdíly jsou v testu IX/11.

Při grafickém porovnání výsledků z roku 2012 odlišených podle principu použitých metod na obr. 4 je opět patrné, že s výjimkou testu V/12 jsou uvedené hodnoty srovnatelné. Nejmenší rozpětí naměřených hodnot bylo zjištěno pro expanzní metody, přičemž pro každou kategorii byl počet účastníků ve všech případech vyšší než 20.

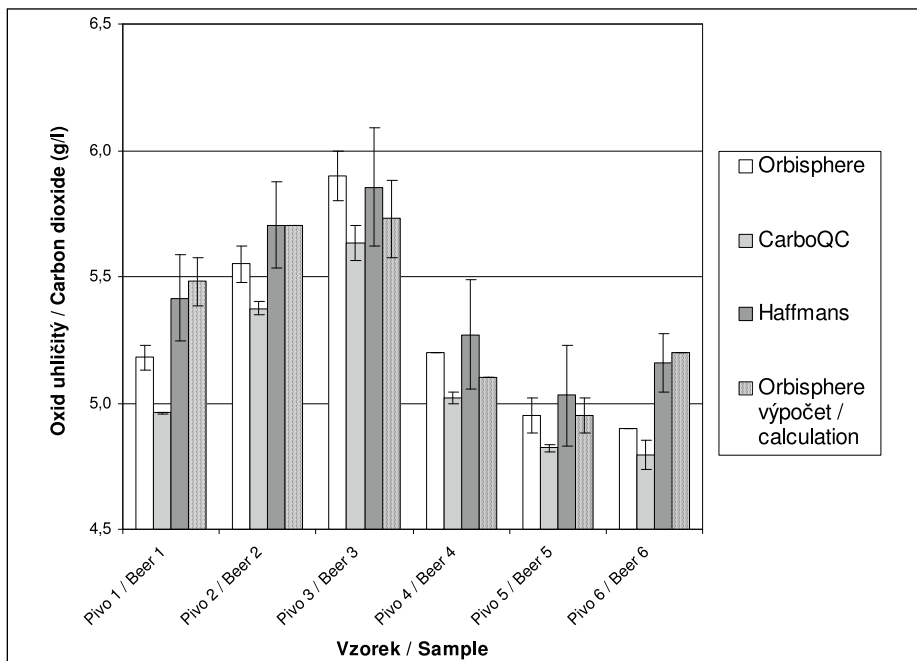
Oproti pokusům A, B a C je v rámci testu patrná výrazně větší shoda mezi metodami založenými na různém principu. Tento rozdíl může být způsoben rozdílnými typy piv použitých v testu, zároveň v dostupných parametrech testovaných piv není uveden údaj o množství ostatních rozpuštěných plynů.

4 ZÁVĚR

Z výsledků této srovnávací studie nelze vyvodit jednoznačný závěr o tom, která metoda poskytuje nejsprávnější měření. Na základě uvedených informací a výsledků měření si však lze udělat představu, která metoda uživatelů po specifikaci požadovaných kritérií více vyhovuje. Je patrné, že srovnávané přístroje se liší v přesnosti, opakovatelnosti, pracnosti, měření na nich je různě časově náročné a kladou různé finanční nároky na jejich pořízení a provoz. Při srovnání přístrojů používajících metody založené na objemové expanzi (např. CarboQC) a přístrojů založených na měření objemu a tlaku vzorku (např. Haffmans) byl zjištěn nižší rozptyl výsledků pro přístroje založené na objemové expanzi. Pro některé vzorky byl manometrickými metodami naměřen vyšší obsah CO_2 , což může být způsobeno roz-



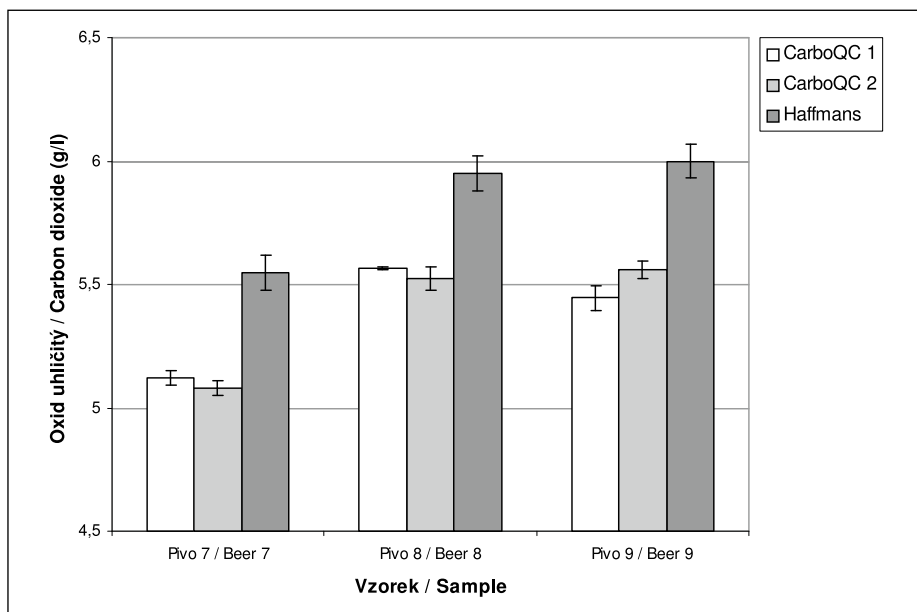
Obr. 1 Korelace obsahu rozpuštěných plynů (mg/l) a vzduchu v hrdlovém prostoru (ml) / Fig. 1 Correlation between the amount of other dissolved gases (mg/l) and the volume of the air (ml) in the bottle neck space



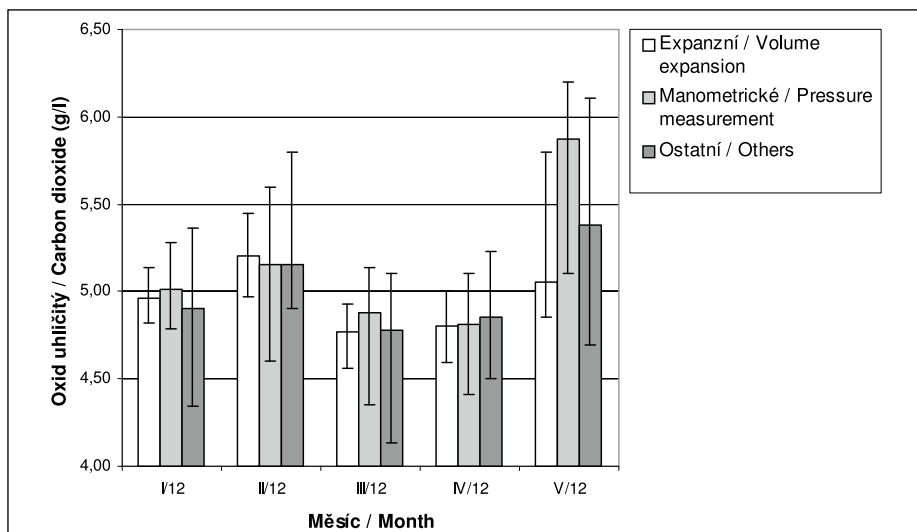
Obr. 2 Stanovení CO_2 v pivu. Srovnání čtyř různých metod na šesti vzorcích piv / Fig. 2 Determination of CO_2 in beer. Comparison of four different methods on six beer samples

3.2 Experiment B

This experiment was performed to confirm or disprove the hypothesis that the different results given by pressure measurement can be caused by a higher content of other dissolved gases (e.g. nitrogen). For this reason beers 1 and 3 filled in the atmosphere with nitrogen were added to the experiment. The amounts of other gases were measured by both CarboQC and Haffmans. The verification of the correctness of the measurement is apparent from Fig. 1, which shows the correlation between the amount of other dissolved gases (mg/l) determined by CarboQC and the volume of the air (ml) in the bottle neck space measured by Haffmans (assuming there is equilibrium between dissolved gases and their amount in the bottle neck space). The correlation coefficient $r = 0.994$ confirms that the value used for the correction of the amount of the air corresponds with the amount of dissolved gases obtained by CarboQC. The difference between the information about nitrogen atmosphere at filling beer 3 and measured zero results of dissolved gases can be explained by the filling method (gushing of the beer before closing the bottle). On the other hand, a higher amount of dissolved gases was found for beer 6.



Obr. 3 Stanovení CO_2 v pivu. Srovnání přístrojů CarboQC a Haffmans na třech vzorcích pív / Fig. 3 Determination of CO_2 in beer. Comparison of CarboQC and Haffmans instruments on three beer samples



Obr. 4 Porovnání výsledků mezilaboratorních testů BAPS pro různé metody stanovení oxidu uhličitého. Naměřené výsledky jsou uvedeny ve formě mediánu po vyloučení odlehlých výsledků. Chybové úsečky znázorňují nejvyšší a nejnižší naměřenou hodnotu po vyloučení odlehlých výsledků / Fig. 4 Comparison of BAPS international laboratory tests results obtained by different methods of CO_2 determination. Results are shown as a median after exclusion of outlying results. Error bars show the highest and the lowest result after exclusion of outlying results

dílným složením vzorků, např. vyšším obsahem rozpuštěných plynů ve vzorku.

Z hlediska srovnávaných přístrojů má Haffmans nejnižší pořizovací a provozní náklady. Jeho nevýhodou je trochu nižší přesnost (závislá na zkušenosti obsluhy), delší doba analýzy a větší pracnost z důvodu manuálního ovládání. CarboQC je automatický přístroj, který dokáže rozlišit CO_2 od dalších rozpuštěných plynů a má malou chybu měření. Orbisphere Package Analyzer je také automatický přístroj, který dokáže obsah CO_2 stanovit dvěma různými metodami. Zároveň dokáže stanovit obsah rozpuštěného kyslíku ve vzorku a při připojení CO_2 jako nosného plynu také obsah dusíku.

Podstatou zjištěných rozdílů mezi výsledky získanými různými technikami může být pravděpodobně také vliv vazby CO_2 na další složky piva, který se projevuje v rychlosti jeho uvolňování z piva za různých podmínek. Mezi tyto podmínky patří chemické složení piva, množství nukleacích center, teplota, pH atd. Tyto podmínky mohou následně ovlivnit různou míru uvolnění CO_2 ultrazvukem nebo v expanzní kyvetě v použitých přístrojích a může tím dojít k naměření odlišných koncentrací CO_2 . Také výsledky vodivostní metody mohou být ovlivněny různými faktory. Tyto skutečnosti mají na výsledek

The results of the CO_2 content determination are shown in Fig. 2. The lowest results for all samples were obtained by CarboQC. The best repeatability for samples 1, 2, 3 and 5 was found by CarboQC, for samples 4 and 6 by Orbisphere. For the methods based on pressure measurement, a difference bigger than 0.1 g/l was found only for beers 3 and 4.

This experiment proved a certain relation between a higher content of nitrogen (i.e. other gases) and higher differences between different methods of measurement. From Fig. 2 it is evident that greater differences between methods based on volume expansion and those based on pressure measurement as well as higher contents of other gases were found for beers 1 and 6, while in the other samples the content of other gases was lower.

3.3 Experiment C

Similar to experiment A the CarboQC instruments provided comparable results (Fig. 3) and the RSD were low. The Haffmans instruments showed higher results and bigger RSD.

3.4 BAPS international laboratory tests

The results from several monthly tests are listed in order to compare the methods under investigation. The comparison is shown for particular instruments and for methods based on different measurement principles.

The data from 2011 listed in Tab. 3 and differentiated according to particular instruments show that the obtained results are comparable, the biggest differences being found in test IX/11.

The graphical comparison of the results from 2012 differentiated according to the methods of measurement (Fig. 4) shows that, except for test V/12, the results are comparable. The lowest range was found for the methods based on volume expansion and the number of the participants for every measurement was over twenty.

In contrast to experiments A, B and C, the results of the test evince better accordance between methods based on different principles of measurement. This difference can be caused by different types of beer used in experiments; also, the available parameters of tested beers contain no information about other dissolved gases.

4 CONCLUSIONS

The results of this study do not provide a basis for an unambiguous conclusion as to which method provides the best results, although the results and the relevant information derived from them may point to the method more suitable after the specification of the required criterion. It is evident that the instruments have different precision, repeatability, laboriousness, time requirements and also acquisition and operation costs. The comparison of instruments based on volume expansion (e.g. CarboQC) and instruments based on pressure measurement (e.g. Haffmans) revealed a lower variance of results for methods based on volume expansion. A higher content of CO_2 was determined for some samples by the methods based on pressure measurement; this can be caused by different composition of the samples, e.g. higher content of dissolved gases in the sample.

Among the instruments, Haffmans has the lowest acquisition and operational costs. Its disadvantages include a slightly lower precision depending on the experience of the operating personnel, longer time of analysis and higher laboriousness because of the manual control. CarboQC is an automatic instrument, which can differentiate between CO_2 and other dissolved gases and exhibits only a small

Tab. 3 Porovnání výsledků mezilaboratorních testů BAPS pro sledované typy přístrojů /
Comparison of results from BAPS international laboratory tests for particular instruments

	Měsíc / Month	Počet výsledků / Number of results	Vyloučené výsledky / Excluded results	Medián / Median (g/l)	Směro- datná odchylka / Robust SD (g/l)	Nejnižší hodnota / The lowest result (g/l)	Nejvyšší hodnota / The highest result (g/l)
Carbo	VI/11	17	1	5.13	0.089	4.89	5.44
Haffmans		15	1	5.20	0.148	4.85	5.44
Orbisphere		4	0	5.10	0.067	4.98	5.17
Carbo	VII/11	11	0	5.02	0.059	4.94	5.25
Haffmans		1	0	5.21	*	*	*
Orbisphere		3	1	5.05	0.037	5.02	5.07
Carbo	VIII/11	18	0	5.28	0.141	5.08	5.61
Haffmans		12	0	5.26	0.096	4.95	5.45
Orbisphere		3	0	5.34	0.044	5.31	5.50
Carbo	IX/11	11	0	4.99	0.044	4.89	5.06
Haffmans		2	0	4.74	0.260	4.56	4.91
Orbisphere		3	0	5.13	0.282	4.94	5.33
Carbo	X/11	18	0	4.85	0.126	4.61	5.30
Haffmans		11	0	4.85	0.074	4.65	5.10
Orbisphere		5	0	4.95	0.148	4.74	5.05
Carbo	XI/11	10	0	5.22	0.052	5.18	5.48
Haffmans		1	0	5.38	*	*	*
Orbisphere		3	0	5.22	0.059	5.07	5.26
Carbo	XII/11	17	0	5.37	0.098	5.00	5.68
Haffmans		13	0	5.40	0.163	5.15	5.60
Orbisphere		3	0	5.40	0.015	5.25	5.41

zřejmě větší vliv než přítomnost dusíku při stáčení a obsah dalších plynů v příslušném balení.

Celkově lze shrnout, že zjištěné rozdíly mezi výsledky různých metod stanovení CO₂ v pivu jsou sice malé, ale prokazatelné a nelze exaktně zjistit jejich příčinu. Lze je pravděpodobně připsat kombinaci různého principu prověřovaných přístrojů a variability složení různých piv. Je zřejmé, že další výzkum by se měl ubírat směrem ke zjištění příčin těchto rozdílů v souvislosti se složením a vlastnostmi měřených piv.

Poděkování

Tato práce byla vypracována za podpory MZE-RO1012-Výzkum kvality a zpracování sladařských a pivovarských surovin.

Autoři také děkují pivovarům Černá Hora, Protivín, Plzeňský Prazdroj, Staropramen a Velké Popovice za vstřícnou spolupráci a poskytnutí naměřených výsledků.

Poděkování patří také firmě Anton-Paar za laskavé zapůjčení přístroje CarboQC, firmě Denwel s.r.o. za umožnění měření vzorků na jejich přístroji a firmě Haffmans za spolupráci a poskytnuté informace.

measurement variation. Orbisphere Package Analyzer is an automatic instrument, which can determine the content of CO₂ by two different methods. At the same time it can determine the amount of dissolved oxygen in the sample and after connection of CO₂ as carrier gas it is able to determine the content of nitrogen.

The observed differences between results obtained by different methods of measurement can be probably also ascribed to the influence of the binding of CO₂ to other beer components, which can be reflected in the speed of the evaluation of CO₂ under different conditions such as the chemical composition of the beer, the amount of nucleation sites, temperature, pH, etc. These conditions can subsequently influence the evolution of CO₂ from the liquid by ultrasound or in the expansion cell in different instruments and cause differences in the measured concentrations of CO₂. Also the results obtained by the method based on thermal conductivity can be influenced by various factors. These facts have probably a greater influence on the results than the presence of nitrogen during filling or the amount of other gases in beer.

Finally it can be said that the differences between the compared methods of determination of CO₂ in beer are small, but significant, and their cause is difficult to determine. It is probably a combination of the different principle of measurement and variability in beer composition. Further research should focus on defining the causes of these differences in the context of the composition and attributes of the measured beers.

Acknowledgements

This work was performed with the support of MZE-RO1012 project "Research of the quality and processing of malting and brewing raw materials".

The authors also thanks the breweries Černá Hora, Protivín, Plzeňský Prazdroj, Staropramen and Velké Popovice for cooperation and for providing the results of measurements.

Our thanks are also due to the companies Anton Paar for kindly lending us their instrument, Denwel Ltd. for the permission to measure on their instrument and Haffmans for their cooperation and sharing of information.

LITERATURA / REFERENCES

- Anton Paar, Application Note: Determination of the CO₂ content in beer and comparison of the results of CarboQC with two other CO₂ measuring Methods.
- ASBC, 2009: Methods of Analysis, Beer, chapter 13, Dissolved Carbon Dioxide.
- Basařová, G., 1999: Pivovarsko-sladařská analytika, sv. 3, Merkant, Praha: 681–699.
- Clark, R. A., Hewson, L., Bealin-Kelly, F., Hort, J., 2011: The Interactions of CO₂, Ethanol, Hop Acids and Sweetener on Flavour Perception in a Model Beer; Chem. Percept. 4: 42–54.

- Dessirier, J.-M., Simons, C.T., Iodi Carstens, M., O'Mahony, M., Carstens, E., 2000: Psychophysical and Neurobiological Evidence that the Oral Sensation Elicited by Carbonated Water is of Chemical Origin.; Chem. Senses 25: 277–284.

Recenzovaný článek / Reviewed paper
Do redakce došlo / Manuscript received: 12. 10. 2012
Přijato k publikování / Accepted for publication: 4. 12. 2012