

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПИВА НА ОСНОВЕ ЭКСПРЕССНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИАЦЕТИЛА

В статье приведены результаты экспрессного определения диацетила в отдельных сортах пива, полученные авторами фотоколориметрическим методом. Метод позволяет снизить время и затраты на пробоподготовку, уменьшить по сравнению с существующими способами пробоподготовки потери определяемого вещества. Выполнена экспериментальная проверка свойств аддитивности анализируемой сложной системы. Экспресс-анализ реализован на основе метода серии добавок. Статистическими методами управления качеством выполнен анализ возможных источников погрешностей и даны рекомендации по их уменьшению.

Увеличивающиеся объемы производства пива в нашей стране, а так же жесткая конкуренция вынуждают производителей в целях повышения качества готового продукта обращать внимание не только на основные, нормируемые национальными стандартами [1,2], но и дополнительные показатели качества.

Медико-токсикологической оценкой производства установлено, что токсичное действие пива на организм человека зависит не от процентного содержания алкоголя в нем, а от реакции организма на некоторые побочные продукты брожения (ППБ). Эти продукты, действующие как наркотики, окисляются в организме через фазу этилового спирта и являются гепатотропными ядами [3]. Многие из них являются ароматобразующими и во многом определяют как вкусовые качества пива, так и критерий его созревания. Поэтому нормирование содержания ППБ и их своевременный контроль в процессе производства будет способствовать выпуску пива с улучшенными вкусовыми характеристиками, а так же снижению его токсичности.

Существуют и широко известны зарубежные методы определения ППБ в пиве, разработанные ведущими мировыми пивоваренными организациями: Европейской пивоваренной конвенцией (ЕВС), Аналитической комиссией стран Центральной Европы по пивоварению (МЕБАК) [4,5]; но отечественные пивовары на практике редко пользуются этими методами. Причин этому несколько, в качестве основных можно выделить:

1) отсутствие нормативной базы – ППБ не входят в номенклатуру показателей качества, определяемых ГОСТ Р 51174-98 «Пиво.

Общие технические условия», а так же СанПиН 2.3.2. 1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы». Существующие Российские стандарты являются стандартами только вкуса и запаха и не имеют никакого отношения к токсичности пива. В проекте технического регламента на пиво требования к токсико-химической безопасности пива так же не регламентированы [6];

2) как следствие первого – отсутствуют аттестованные методики определения (контроля) ППБ.

Из побочных продуктов брожения особое значение имеют вицинальные дикетоны, от содержания которых зависят вкусовые качества пива. Первым из них образуется ацетоин (бутанон -2-ол-3), при окислении которого получается диацетил (2,3 бутандион), а при восстановлении – 2,3-бутиленгликоль (2,3- бутандиол). В основном на вкус пива влияет диацетил. В литературных источниках [5,7,8,9 и др.] приводятся многочисленные, подчас противоречивые сведения о присутствующих концентрациях диацетила для пива различных сортов. Так Вест с сотрудниками установил в пиве наличие от 0,53 до 2,23 мг/л диацетила, а в сортах с нормальным вкусом – от 0,20 до 0,50 мг/л [7]. Неожиданным и приятным фактом оказалось весьма низкое (на уровне требований ведущих пивоваренных держав) содержание диацетила в отечественных сортах пива «Очаково специальное»: 0,01-0,03 мг/л [9].

В результате исследований было установлено, что при повышении концентрации ацетоина до 5,3 мг/л (ПДК которого составляет 3 мг/л) придает пиву затхлый и плесневый вкус. Подобный привкус придает также

2,3-бутиленгликоль, который, кроме того, при очень большом содержании его в пиве дает остающуюся горечь.

Ориентировочное значение содержания общего диацетила (вицинальных дикетонов и их предшественников) в созревшем пиве должно составлять не более 0,1 мг/л [5], некоторые зарубежные авторы считают, что ПДК диацетила в пиве должно быть в пределах 0,2-0,5 мг/л [7]. Обеспечить столь малые значения диацетила, граничащие с вкусовым порогом ощущений, возможно лишь при своевременном контроле и управлении технологическими параметрами (т.е. в технологическом потоке).

Среди всего многообразия методов определения вицинальных дикетонов, основными являются: методы сенсорного анализа [10], газохроматографический [4,9,11], спектрофотометрический [4] и фотоколориметрический методы [4], которые с различной степенью точности и достоверности позволяют провести качественный и количественный анализ пива на предмет содержания данных соединений. Их достоинства и недостатки, а так же возможность использования при экспресс-анализе проанализированы авторами в [12,13]. Основным недостатком указанных методов является продолжительность анализа, связанная, прежде всего, со сложностью и длительностью пробоподготовки образцов пива.

В [13] описана возможность экспрессного определения диацетила и ацетоина в пиве по авторской «шкале цветности», которая позволяет с помощью тест – полосок, например, чешской фирмы Ла –Хема, и раствора α -нафтола методом сравнения окраски быстро, непосредственно у танков брожения и дображивания, определять концентрации ацетоина, а по разнице химических веществ – диацетил.

Ранее авторами в работе [12], с использованием известного спектрофотометрического (с отгонкой дистиллята) и оригинального химического (прямым титрованием азетропной смеси после перегонки) методов было проведено раздельное определение диацетила и ацетоина в некоторых сортах пива, производимого в Оренбургской области.

Однако во всех описанных методах анализа требуется отгонка пробы пива водяным

паром для получения дистиллята с диацетилом. Кроме значительных затрат времени на данный процесс, всегда существует вероятность потерь диацетила в процессе отгонки.

При разработке метода экспресс-анализа диацетила решались следующие основные задачи:

- обеспечение минимальной пробоподготовки образцов пива;
- применение метода анализа, реализуемого на приборах, широко применяемых в условиях заводских лабораторий пивоваренных заводов.
- применение широко распространенных компьютерных программ для обработки результатов.

В основе предлагаемой методики лежит известная реакция взаимодействия диацетила с α -нафтолом с образованием окрашенного комплекса. Интенсивность окраски образовавшегося химического соединения зависит от концентрации диацетила и изменяется от желтой до интенсивно-красной. Концентрацию диацетила определяли по значению оптической плотности, измеряемой фотоколориметрически при длине волны 490 нм. Колориметрирование реакционной смеси проводили на фотоэлектроколориметре КФК-3-01 с использованием кюветы на 2 см. Основная погрешность при измерении оптической плотности на приборе находится в пределах от -1% до 1% [14].

Так как реальные концентрации диацетила в пиве очень малы и находятся в пределах от 0,1 до 0,5 мг/л, то первоначальной задачей исследований являлось определение диапазона концентраций диацетила в растворах, при которых соблюдается закон Бугера-Ламберта – Бера и величины оптической плотности растворов лежат в диапазоне максимальной точности прибора. Были исследованы диапазоны концентраций диацетила в стандартных растворах от 0 до 2 мг/л и от 0 до 10 мг/л. Выбранные диапазоны позволяют определять концентрации диацетила не только в готовом продукте, но и в сусле, а так же молодом пиве.

Полученные калибровочные графики приведены на рисунках 1-2.

Из данных, представленных на рисунке 1, следует, что закон Бугера-Ламберта-Бера в интервале концентраций диацетила в ра-

створе от 0 до 2 мг/л выполняется. Однако значения оптической плотности растворов, полученные в ходе анализа, находятся в пределах от 0,07 до 0,15 Б. Данный диапазон оптической плотности растворов в фотоколориметрировании применять не рекомендуется [14], так как он соответствует максимальной погрешности прибора.

Из рисунка 2 следует, что в диапазоне концентраций диацетила в растворе от 0 до 10 мг/л основной закон фотометрии также выполняется, а величины оптических плотностей растворов в этом случае находятся в пределах от 0,1 до 0,5 Б, что соответствует максимальной точности измерения на приборе. Для нормированного диапазона измерений оптической плотности (0-2 Б) погрешность измерения зависит от измеряемой величины и достигает минимума при оптической плотности 0,4 Б [14]. Поэтому пределы от 0,1 до 0,5 Б находятся ближе к рекомендуемым значениям оптической плотности (диапазон от 0,3 до 0,6 Б [14]). Принимая во внимание, что цена деления фотоэлектроколориметра КФК-3-01 равна 0,01 Б, путем несложных вычислений можно определить, что погрешность прибора при измерении в диапазоне от 0,1 до 0,5 Б уменьшается в 5 раз.

Определение наличия связи между концентрацией диацетила (фактор) и оптической плотностью растворов (функция отклика) выполнена путем построения и анализа диаграмм рассеяния. По полученным в процессе калибровки экспериментальным точкам определены коэффициенты корреляции и регрессии. Результаты показали наличие сильной положительной связи.

Для повышения чувствительности экспресс-анализа было предложено использование метода добавок (серии добавок), причем концентрация добавленного диацетила находилась в пределах от 0 до 10 мг/л (или от 0 до 5 мг/л).

Для оперативности анализа графики строились с применением программ Microsoft Office Exsel, которые позволяют быстро обработать полученные данные и получить уравнение регрессии. При отсутствии компьютера, т.е. при ручной обработке результатов можно воспользоваться методом наименьших квадратов, однако это требует значительных временных затрат и,

в конечном счете, сказывается на оперативности анализа.

Одним их факторов, приводящих к необходимости сложной пробоподготовки образцов анализируемого пива, а именно, к отгонке диацетила с водяным паром на специальной установке, является проблема выбора «холостого» раствора (раствора сравнения) при фотометрическом анализе. Это связано с тем, что растворы самого пива из-за собственной окраски обладают собственной оптической плотностью, поэтому использование «холостых» растворов сравнения на основе дистиллированной воды приводят к заведомо неверному результату анализа. Использование «холостых» растворов на основе пива невозможно, так как само пиво уже содержит определяемый компонент – диаце-

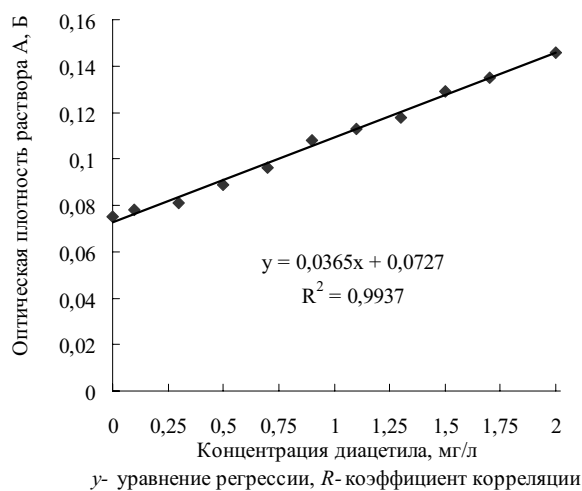


Рисунок 1. Калибровочный график фотоколориметрического определения концентрации диацетила в диапазоне от 0 до 2 мг/л

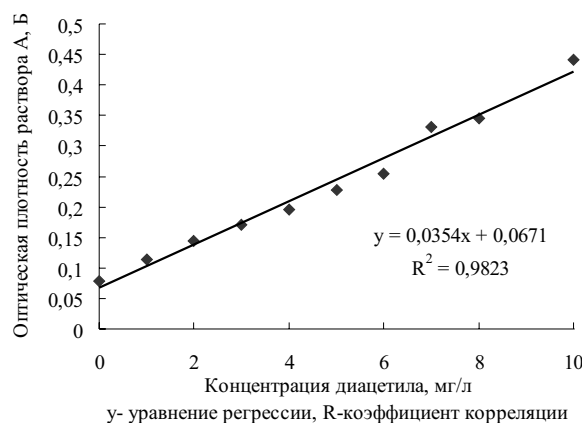


Рисунок 2. Калибровочный график фотоколориметрического определения концентрации диацетила в диапазоне от 0 до 10 мг/л

тил. Для разрешения возникшего затруднения было предложено использовать свойство аддитивности оптической плотности сложного раствора.

В нашем случае оптическая плотность раствора пива с реагентами относительно дистиллированной воды равна:

$$A_{\text{общ}} = A_n + A_p + A_o + A_{\text{доб}} \quad (1)$$

где $A_{\text{общ}}$ – оптическая плотность всей системы; A_n – оптическая плотность пива; A_p – оптическая плотность химических реагентов; A_o – оптическая плотность, обусловленная фотокolorиметрической реакцией диацетила пива с реагентами; $A_{\text{доб}}$ – оптическая плотность, обусловленная добавкой диацетила.

Так как используется метод серии добавок, то расчет концентрации собственно диацетила следует вести не по известной [15] формуле

$$\frac{A_x}{A_{\text{доб}}} = \frac{C_x}{C_x + C_{\text{доб}}}, \quad (2)$$

а по предлагаемой формуле

$$C_o = K_p \times A_o / b, \quad (3)$$

где A_x, C_x – оптическая плотность и концентрация неизвестного компонента соответственно, $A_{\text{доб}}, C_{\text{доб}}$ – оптическая плотность и концентрация добавки в исследуемом растворе (из расчета только добавленного количества в пиве) соответственно; b – коэффициент уравнения регрессии вида $Y = bx + a$; K_p – коэффициент, учитывающий степень разбавления анализируемой пробы. Для удобства расчет ведут при $C_{\text{доб}} = 0$.

Предлагаемая методика по определению концентрации диацетила была апробирована на некоторых образцах отечественного пива, реализуемых в торговой сети. Результаты представлены в таблице 1.

Количественная оценка суммарной случайной погрешности измерения при использовании предлагаемого метода была выпол-

Таблица 1. Результаты определения диацетила в отдельных образцах пива ($n = 5, P = 0,95$)

Образцы пива пастеризованного	Концентрация в пиве, мг/л
«Гофман»	0,452±0,08
«Шихан»	1,623±0,57
«Золотая бочка»	1,785±0,61

нена с применением стандартной методики статистической обработки параллельных результатов наблюдений [4].

Погрешность определения диацетила в сбраживаемом сусле и пиве складывается из погрешности средства измерения (КФК-3-01), погрешности оператора при снятии показаний, погрешности данного метода, погрешности модели (вследствие изменчивости состава пробы) и дополнительной погрешности из-за изменения условий при которых выполнялись измерения.

Для оценки правильности метода, характеризуемой величиной систематической погрешности, необходимо его сравнение с другим аттестованным методом, погрешность которого известна заранее. Таким методом, например, может быть метод капиллярной газожидкостной хроматографии с селективным и чувствительным электронно-захватным детектором [9] или метод газовой хроматографии по методике ЕВС [4,5]. Для оценивания правильности метода необходим анализ стандартного образца (образца с точно известным содержанием определяемого компонента).

Известные трудности приобретения реактивов, используемых в качестве внутреннего стандарта, в настоящее время не позволили авторам выполнить эксперимент по оценке правильности. Таким образом, выявление систематических погрешностей требует специальных исследований.

Контроль протекающего процесса (экспрессного определения диацетила) с целью представления фактов для его корректировки и улучшения осуществлялся статическими методами. Кроме корреляционно-регрессионного анализа применялись японские инструменты управления качеством.

Химический анализ включает ряд последовательных операций, в результате которых получены достоверные данные относительно качественного и количественного состава исследуемого образца. К основным этапам химического анализа определения содержания диацетила в пиве относятся:

- взвешивание навесок;
- приготовление исходных и рабочих растворов;
- определение оптической плотности;
- построение калибровочной кривой;

– вычисления и обработка результатов анализа.

На каждом этапе химического анализа возможно возникновение погрешностей, а, следовательно, конечный результат анализа также имеет погрешность определения.

Однако оценка отдельных составляющих погрешностей была проведена. Так параллельное определение содержания диацетила в исследуемой и «холостой» пробах (раствор сравнения) с последующим вычитанием анализа «холостой» пробы из результата анализа исследуемого образца позволили определить величины реактивной погрешности.

Были выполнены исследования влияния условий фотоэлектроколориметрического анализа на его метрологические характеристики. При отработке экспресс-метода оценивалась зависимость оптической плотности растворов от времени приготовления реактива (α – нафтола). Со временем данный раствор менял свою окраску (становился темнее), тем самым изменялась окраска анализируемой пробы. Это может сказаться на результатах оптической плотности. На основе проведенного эксперимента сделан вывод, что следует использовать свежеприготовленный раствор α – нафтола (в течение двух часов).

Так же экспериментально было установлено, что для приготовления раствора α – на-

фтола следует использовать гидроксид натрия. При разведении α – нафтола гидроксидом калия раствор разделялся на две среды: водную и маслянистую. При разведении α – нафтола гидроксидом натрия раствор сразу становится однородным, что экономит время пробоподготовки.

Установлена скорость протекания химической реакции, она равна 10 минутам. Это подтверждено экспериментально. Измерялась оптическая плотность анализируемой пробы каждую минуту (в течение 15 минут). За первые пять минут значения оптической плотности анализируемой пробы возрастали. Последующие пять минут они убывали. С десятой минуты значения оптической плотности анализируемой пробы стали стабильными, что свидетельствует об окончании протекания химической реакции.

Предметом дальнейших исследований должна быть возможность реализации встраиваемости прибора в автоматизированную систему контроля, оценка требуемой чувствительности датчиков контроля. Необходимо также определить инерционность системы контроля, требуемую для выработки своевременного управляющего воздействия на параметры технологического процесса приготовления пива.

Список использованной литературы:

1. ГОСТ Р 51174-98. Пиво. Общие технические условия [Текст]. – Введ. 1999-07-01. – М.: Изд-во стандартов, 1998. – 7 с.
2. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно – эпидемиологические правила и нормативы [Текст]. – Введ. 2002-09-02. – М.: ФГУП Интер СЭН, 2002. – 168 с.
3. Нужный, В. П. Пиво. Химический состав, пищевая ценность, биологическое действие и потребление [Электронный ресурс] / В. П. Нужный // Токсикологический вестник. – М., 1998. – Режим доступа: <http://www.naa.cnt.ru/analit/pivo.htm#Потребление>.
4. Ермолаева, Г. А. Справочник работника лаборатории пивоваренного предприятия [Текст]. / Г. А. Ермолаева. – СПб.: Профессия, 2004. – 536 с.
5. Кунце, В. Технология солода и пива: пер. с нем. [Текст] / В. Кунце, Г. Мит. – СПб.: Профессия, 2001. – 912 с.
6. Проект Федерального закона «О специальном техническом регламенте на пивоваренную продукцию и ее производство» [Электронный ресурс] / Разработчик – Некоммерческая организация «Союз Российских производителей пивобезалкогольной продукции». – М., 2004. – Режим доступа: http://www.np-supr.ru/docs/tr_pivo_18.doc (126 КБ).
7. Мальцев, П. М. Химико – технологический контроль производства солода и пива [Текст]. / П. М. Мальцев. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 280 с.
8. Булгаков, Н. Вкус, аромат и стойкость пива [Текст] / Н. Булгаков. – М.: ЦИНТИПИЩЕПРОМ, 1962 – 45 с.
9. Использование хроматографических методов анализа для контроля качества пива [Текст] / И. А. Ананьева [и др.] // Партнеры и конкуренты. – 2002. – № 12. – С. 36–40.
10. Крюкова, Е. В. Методы сенсорного анализа пищевых продуктов [Текст]. / Е. В. Крюкова // Партнеры и конкуренты. – 2002 – № 12 – С. 17–19.
11. Применение новых хроматографических методов в исследовании пива [Текст] / С. А. Савчук [и др.] // Пиво и напитки. – 2003. – № 1. – С. 15–21.
12. Третьяк, Л. Н. Анализ динамики разложения вторичных продуктов брожения в пиве [Текст] / Л. Н. Третьяк, Ю. А. Лосев, В. Р. Халиулин // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2004. – № 12 – С. 152-156.
13. Третьяк, Л. Н. Контроль качества пива в условиях ограниченно оборудованных пивоваренных лабораторий [Текст] / Л. Н. Третьяк, Ю. А. Лосев, Е. Г. Бондаренко // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2005. – № 10, т. 2. – С. 144–149.
14. Фотометры фотоэлектрические КФК-3 : руководство по эксплуатации [Текст]. – М.: ЗОМЗ, 2004. – 44 с.
15. Аналитическая химия. Физические и физико – химические методы анализа [Текст] : учебник для вузов / О. М. Петрухина [и др.]. – М.: Химия, 2001. – 496 с.