

REFERENTIASTANDAARD VOOR TPO-ANALYSES

Introductie

De zoektocht naar een referentiestandaard voor TPO (Total Package Oxygen; totaal zuurstof in een verpakking) is nog steeds gaande, ook al worden meetmethoden en -apparaten voor deze belangrijke parameter in brouwerijen al veelvuldig gebruikt. Vandaag de dag is TPO een van de unieke parameters die de bieranalist tot zijn beschikking heeft waarvoor geen standaard is. Hieronder wordt een nieuwe methode voor het opstellen van een TPO-standaard beschreven en vergeleken met andere methoden. Deze nieuwe standaard wordt vervolgens gebruikt om TPO-metingen met behulp van bestaande methoden te evalueren.

Zuurstof wordt beschouwd als een essentiële parameter voor de houdbaarheid van verpakt bier.

In 1984 publiceerden K. Uhlig en C. Vilachá een studie dat om verschillende redenen een doorbraak was:

- Overgang van lucht- naar zuurstofmetingen
- Overgang van nat-chemische analyses naar analyses met moderne instrumenten
- Verbetering van de lage detectielimiet tot een paar ppb, waar deze eerder ongeveer 1 mL lucht was (komt overeen met 270 ppb TPO)

25 jaar later werd er nog een belangrijke stap gezet toen fabrikanten analysers ontwikkelden die speciaal bedoeld waren voor TPO.

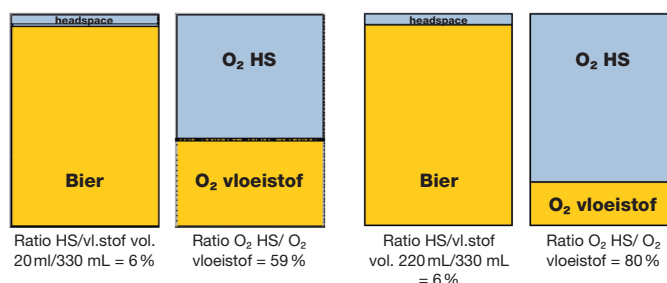
Van alle methoden gaf luchtinjectie de beste resultaten. De kracht van deze methode werd aangetoond in combinatie met de nieuwe Orbisphere 6110-analyser van Hach.

Wat is TPO?

Afb. 1 toont een blikje van 330 mL bij 8°C na stabilisatie. Afb. 2 toont een voorbeeld van een blikje direct na het vullen. De gele en blauwe gebieden tonen het volume van het bier en de headspace met het bijbehorende O₂-gehalte. De berekening voor Afb. 1 werd gemaakt met de Z-factor. De proporties van elk oppervlak komen overeen met de verhouding tussen het volume en het zuurstofgehalte.

De TPO-paradox is dat de grootste hoeveelheid zuurstof in de verpakking in het deel met het kleinste volume zit: de headspace.

In eerste instantie verklaren de fysieke eigenschappen van zuurstof dit fenomeen. Zuurstof is 30 keer minder oplosbaar dan CO₂ en zal in de gastoestand blijven, met een concentratie die overeenkomt met de temperatuur van de vloeistof en de volumeverhoudingen. Dit wordt weergegeven in Afb. 1.



Afb. 1: blikje gestabiliseerd, 20 mL HS-vol.

Afb. 2: voorbeeld van een blikje na het vullen, niet gestabiliseerd

Elke variatie in het headspacevolume (HS) heeft ook een belangrijke invloed op TPO. Een vergroting van het headspacevolume van 10 mL levert een TPO-verhoging van 9 % op.

Vereisten voor een TPO-standaard

De toepasbaarheid van een nieuwe TPO-referentiestandaard werd aan de hand van de volgende criteria beoordeeld:

- Precisie
- Herhaalbaarheid
- Reproduceerbaarheid
- Bereik

Eenvoudige implementatie (kan overal worden ingezet – laboratorium, fabrieksvloer; niet operator-afhankelijk)

Principes van geëvalueerde TPO-standaarden

Het hoofddoel van de TPO-standaard is om een bekende hoeveelheid zuurstof te hebben voor een verpakking met een onzekerheid.

Veel mogelijke methoden zijn gebaseerd op de introductie van een onbekende of bekende hoeveelheid lucht in de headspace van de verpakking. In chemische analyse wordt deze methode ook wel SAM (standaardadditiemethode) genoemd.

Voorafgaand aan de luchtinjectie wordt een batch blanco's (oud bier met laag zuurstofgehalte) geanalyseerd. De verwachte eindwaarde is de som van de TPO-concentratie in de blanco en de toegevoegde lucht.

Mogelijke oplossingen voor TPO-standaarden

Headspace gespoeld met lucht

Flessen worden voorbereid in een kast met een zuurstof-geregelde atmosfeer.

Deze methode heeft een goede precisie en herhaalbaarheid maar vereist speciale apparaten en lange spoeltijden. Dit heeft een negatieve invloed op de eenvoud van de implementatie.

Testblikjes met water

Er wordt een batch blikjes met koolzuurhoudend water gebruikt die afkomstig zijn van een vuller waarvan de prestaties met betrekking tot luchtopname bekend zijn. Een deel van de batch wordt gemeten en de statistische TPO-verdeling wordt bepaald.

Deze methode is eenvoudig te implementeren, maar de precisie kan niet worden vastgesteld.

De methode werd aanvankelijk beoordeeld door de ASBC in 2004 en werd vervolgens afgewezen.

Luchtinjectie in het schuim van open flessen

De dop van een fles gepasteuriseerd bier wordt voorzichtig verwijderd. Er wordt voorzichtig met een staaf op de zijkant van de fles getikt om een grote hoeveelheid schuim te laten ontstaan die aan de bovenkant van de fles naar buiten komt. Er wordt een spuit met lucht in het schuim gestoken en de lucht wordt ingespoten. Vervolgens wordt onmiddellijk een kroonkurk op de fles gezet en de fles wordt afgedicht.

Deze methode werd ook beoordeeld door een ASBC-subcommissie en werd in 2007 afgewezen na een test in verschillende laboratoria. Er werd ingeschat dat herhaalbaarheid niet goed genoeg was en er te veel verschillen tussen operators waren.

Luchtinjectie in de headspace

Dit is een variant van de initiële ASBC-methode die hierboven is beschreven. Bij deze methode wordt de kroonkurk vervangen door een andere met een septum. De methode bleek een herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid te hebben met een verhouding standaardafwijking/gemiddelde van 28 %. Er moet speciaal een specifieke kroonkurk worden voorbereid. Met de standaard TPO-analysemethode werd een precisie van 80 % gevonden, wat betekent dat er een afwijking van 20 % is.

De nieuwe methode: luchtinjectie in blikjes

De ASBC-subcommissie noemde in de conclusie van haar eindrapport in 2007 een variant van deze methode. Een bekende hoeveelheid lucht wordt ingespoten in een blikje waarbij van tevoren een rubberen septum op het injectiepunt is aangebracht. Het septum wordt met een grote slangenklem op zijn plaats gehouden. Zie Afb. 3.

De methode werd 4 jaar gebruikt en bleek goede resultaten te bieden.

De monstervoorbereiding is eenvoudig en met deze methode kan vrijwel elke hoeveelheid lucht in het blikje worden gespoten. Hierdoor wordt een oplossing geboden voor precisie, lineariteit en herhaalbaarheid.

Er worden standaardblikjes oud bier gebruikt, en de benodigde tijd voor de voorbereiding en de eenvoud van implementatie zijn acceptabel.



Afb. 3: luchtinjectie in een blikje

Evaluatie van methoden

Tabel 1 toont de evaluatie van alle methoden voor verschillende criteria.

Criteria	Waternestblikjes	Luchtspoeling in headspace	Luchtinjectie in schuim	Luchtinjectie in headspace	Luchtinjectie in blikjes
Precisie (juistheid)	●	●	●	●	●
Herhaalbaarheid	●	●	●	●	●
Reproduceerbaarheid	●	●	●	●	●
Bereik	○	●	●	●	●
Eenvoudige implementatie	●	○	●	●	●

Tabel 1: vergelijking van verschillende TPO-standaarden

Luchtinjectiemethode toegepast met de Orbisphere 6110 TPO-analyser

De Orbisphere 6110 meet O₂-, CO₂- en headspacevolumes aan de hand van de hoeveelheid gas in zowel de headspace als de vloeistof. Het systeem maakt gebruik van een gepatenteerde techniek voor gasmonsternamen. Zie Afb. 4.

De herhaalbaarheid van monsters die werden gemeten na luchtinjectie met één analyser, dezelfde operator en een gemiddelde van 170 ppb, bleek tussen ±20 en ±2 ppb te zijn. Deze laatste waarde werd behaald door ervaren operators.

De parameter voor de recovery ratio werd gebruikt als routine voor validatie van de standaard. Recovery is de ratio (gemeten O₂)/(geinjecteerde O₂) en zou idealiter 100 % moeten zijn. Zie Afb. 5.

Het volledige meetproces verloopt automatisch. Het feit dat er geen contact plaatsvindt tussen de sensoren en de vloeistof beperkt de vereisten voor onderhoud en zorgt voor consistente werking en betrouwbare resultaten.

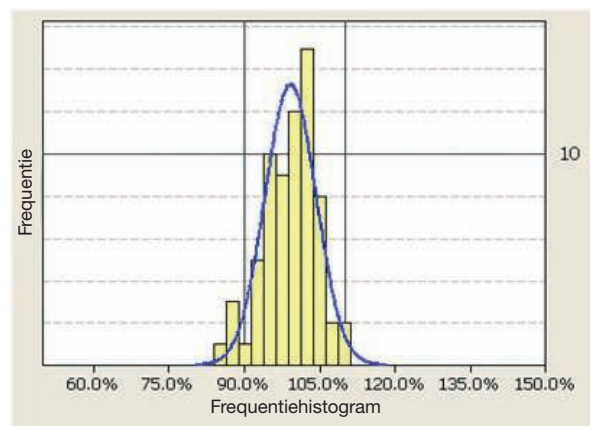
Het gemiddelde recovery bleek met 99,2 % (159 ppb) en een standaardafwijking van slechts ±5 % uitstekend te zijn.

Er werden metingen tussen 144 ppb en 176 ppb gezien, voor een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

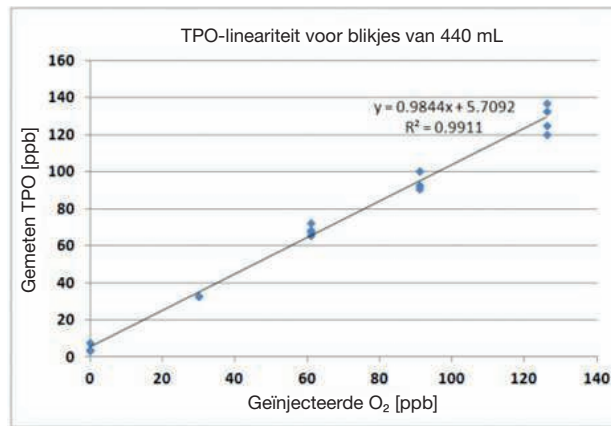
De validatie van lineariteit vindt vaak plaats tijdens ingebruikname. In Afb. 6 wordt een voorbeeld weergegeven met een bepalingcoëfficiënt R² bij 0,99 die de uitstekende lineariteit van de luchtinjectiemethode en de analyser aantoont.



Afb. 4 Orbisphere 6110-analyser



Afb. 5: recoveryhistogram voor Orbisphere 6110-analysers



Afb. 6: validatie van veldlineariteit met luchtinjectie in blikjes

Voordelen van de nieuwe TPO-referentie

Er zijn nog geen gegevens van ringonderzoeken beschikbaar, maar er zijn honderden luchtinjecties uitgevoerd op verschillende locaties die hebben aangetoond dat deze methode een hogere mate van betrouwbaarheid biedt voor elke TPO-analyser of TPO-methode. Andere voordelen van de nieuwe TPO-referentie zijn:

- Vaststellen van afwijkingen van analysers en verbetering van de kwaliteitscontrole.
- De evaluatie van prestaties in het laboratorium door middel van ringonderzoeken en vergelijkingsstudies.
- Beter beheer van productie buiten specificatie. Het zal mogelijk zijn de productconformiteit te beheren door een gebruik te maken van een verwerpsgebied, in plaats van een enkele, vaste limiet zoals tegenwoordig veel wordt gebruikt.

De standaard TPO-analyse en de beperkingen hiervan

Een robuuste TPO-referentie biedt de mogelijkheid om de prestaties van de standaardmethode voor TPO-analyse te evalueren.

In zowel het laboratorium als verschillende fabrieken werden verschillen aangetroffen tussen de resultaten van de standaard TPO-analysemethode en de 6110. De luchtinjectiereferentie bevestigde echter dat de 6110 de juiste resultaten gaf. De standaard TPO-methode is gebaseerd op de aanname dat een verpakking na 5 minuten volledig gestabiliseerd is. Dit is niet altijd het geval, en het verschil tussen theorie en praktijk is het gevolg van onder andere de volgende belangrijke factoren:

- Wentelapparaten voor flessen zijn vervangen door horizontale schudders
- De stabilisatietijd is niet hetzelfde voor flessen en blikjes
- Schuim in de verpakking vermindert wervelingen
- Matrix-effecten, met of zonder oxygen scavengers, beïnvloeden de opgeloste zuurstof naarmate tijd verstrijkt

Conclusie

De referentie met luchtinjectie in blikjes biedt aanzienlijke voordelen in vergelijking met andere methoden. De kracht komt van de superieure prestaties en de eenvoud van het gebruik en de implementatie.

Een ander voordeel van de luchtinjectiemethode is dat deze de luchtverontreiniging tijdens het vullen nabootst, waarbij het grootste deel van de zuurstof in de headspace komt. Een validatie van een TPO-methode wordt vervolgens uitgevoerd met een verpakking waarvan de eigenschappen zeer veel lijken op die van verpakkingen na het vulproces.

De luchtinjectiemethode heeft ook de beperkingen duidelijk gemaakt van de standaard TPO-analyse, waarbij de meting van de opgeloste zuurstof na een vermeende perfecte stabilisatie in veel gevallen leidt tot een onderschatting van het TPO. Dit komt omdat het moeilijk is de juiste zuurstofoverdracht van de headspace naar de vloeistof te krijgen: er is vrijwel nooit sprake van een volledige stabilisatie. Omdat 60 % tot 90 % van het TPO zich in de headspace bevindt, levert het meten van de kleinste hoeveelheid zuurstof in de vloeistof een grotere onzekerheid op wanneer de Z-factor wordt toegepast.

De prestaties van de luchtinjectiereferentie zijn vastgesteld met de Orbisphere 6110, die geen stabilisatie vereist.

Tot slot helpt het gebruik van een robuuste TPO-referentiestandaard bij de overgang van bestaande apparaten die met de standaardmethode werken naar nieuwe TPO-analysers.



www.hach.com