

DOI: 10.18832/kp201831

# A device monitoring turbidity and color changes of beverages directly in bottled samples

## Přístroj pro monitorování změn barvy a zákalu nápojů přímo v komerčních lahvích

Petr GABRIEL<sup>1</sup>, Karel SIGLER<sup>2</sup><sup>1</sup>Laboratory of General Physics Education, Charles University, Ke Karlovu 3, Prague 2, 121 16

Katedra výuky obecné fyziky, Universita Karlova, Ke Karlovu 3, Prague 2, 121 16

<sup>2</sup>Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4

Mikrobiologický ústav AV, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4

e-mail: gabriel@karlov.mff.cuni.cz

Reviewed paper / Recenzovaný článek

**Gabriel, P., Sigler, K., 2018: A device monitoring turbidity and color changes of beverages directly in bottled samples. Kvasny Prum. 64(5): 224–232**

Color and turbidity are important properties of fermented beverages, especially light and dark beers, white and red wines and spirits. The spectrum of absorption and scattering of light is a decisive and very important analytical parameter of the consumer's quality and health acceptability of the beverages. A large number of the above types of beverages are filled into transparent glass and plastic bottles that allow for optical measurements. The Colorturb prototype has been designed, developed and constructed to determine color changes and turbidity in commercial packaging. The device uses a red-green-blue (RGB) light-emitting diode as a light source to enable independent measurement of absorbance in the sample in 3 wavelength regions ranging up to 4 absorbance units. Absorbance measurement at 3 wavelengths makes it possible to eliminate the effect of the bottle color on the measurement and, apart from color intensity, to distinguish differences in the color hue of the samples.

**Gabriel, P., Sigler, K., 2018: Přístroj pro monitorování změn barvy a zákalu nápojů přímo v komerčních lahvích. Kvasny Prum. 64(5): 224–232**

Barva a zákal jsou významnými vlastnostmi fermentovaných nápojů, zejména světlých, tmavých piv, bílých a červených vín a destilátů. Spektrum absorpce a rozptylu světla je určujícím a velmi důležitým analytickým parametrem spotřebitelské kvality a zdravotní nezávadnosti uvedených nápojů. Velké množství výše jmenovaných druhů nápojů se plní do lahví z průsvitného skla a plastů, které umožňují provádění optických měření. Byl navržen, vyvinut a realizován přístroj Colorturb pro určování změn barvy a zákalu nápojů přímo v komerčních obalech. Navržený přístroj využívá RGB LED světelný zdroj, který umožňuje nezávislé měření absorbance ve vzorku ve 3 oblastech vlnových délek v rozsahu až do 4 absorbančních jednotek. Měření absorbance na 3 vlnových délkách umožňuje odstranit vliv lahve na měření barvy, a kromě intenzity barvy odlišit i rozdíly v barevných odstínech vzorků.

**Keywords:** beer, color, turbidity, beverage, non-intrusive sample measurement**Klíčová slova:** pivo, barva, zákal, nápoje, neintruзивní měření

## 1 INTRODUCTION

Color and turbidity are important features of fermented beverages for two basic reasons. First, they have a basic effect on consumers; second, they reflect the chemical and physical properties of the product (Šavel, 2005). Therefore, their determination is part of quality management of most producers.

Turbidity is due to the presence of suspended solids and its measurement is based on the intensity of elastically scattered light. Color is a visual perception based on the ability of certain wavelengths of light to induce physico-chemical response in light sensitive cone cells in the retina. The retina contains three types of conical cells that are individually sensitive to red (R), green (G) or blue (B) light. The final color is created in the brain by combining the signals of these three types of light sensitive cells. The sample color is obtained by absorbing the light in the sample depending on the wavelength. Sample color depends on the content, composition and absorption spectrum of light absorbing substances.

Both turbidity and color are strongly influenced by raw materials, production processes and product storage of fermented beverages. Both parameters are indicators of a product change during its aging (Callemien and Collin, 2007; Šavel, 2005). The color changes of beverages during storage are explained by various mechanisms, which usually involve enzymatic or non-enzymatic oxidation of polyphenols and / or melanoidin formation (Friedman, 1996). Oxygen plays an important role in these processes. In wine, the increase in color during storage is associated with oxidation of the product and formation of oxidative aroma (Godden et al., 2001). In-situ measurement of sample color directly in the bottle can be used for continuous non-destructive testing of the sample during storage (Skoromounis et al., 2003).

The exclusion of oxygen from the beer and the headspace of the package was expected to stop the aging of the beer, but it was never observed. Pigments formed from reductons and oxidized polyphenols play an important role during aging and may be referred to as aging indicators (Šavel, 2005).

## 1 ÚVOD

Barva a zákal jsou významnou vlastností fermentovaných nápojů ze dvou základních důvodů. Za prvé mají vliv na spotřebitele, za druhé, odrážejí chemické a fyzikální vlastnosti produktu (Šavel, 2005). Proto je jejich určení u většiny producentů součástí kontroly kvality produktu.

Zákal je způsoben přítomností suspendovaných nerozpuštěných látek a měří se na základě intenzity elasticky rozptýleného světla. Barva je vizuální vjem založený na schopnosti určitých vlnových délek světla indukovat fyzikálně-chemickou odezvu ve světelně citlivých kónických buňkách v sítnici oka. Sítnice obsahuje tři typy kónických buněk, které jsou individuálně citlivé na červené (Red), zelené (Green) nebo modré (Blue) světlo. Výsledná barva je vytvořena v mozku kombinací signálů těchto tří typů buněk. Barva vzorku vzniká absorpcí světla ve vzorku v závislosti na vlnové délce světla a je závislá na obsahu, složení a absorpčním spektru světlo absorbujících látek.

Zákal i barva jsou u fermentovaných nápojů silně ovlivněny surovinami, procesem výroby i skladováním produktu. Oba parametry jsou indikátorem změn produktu během jeho stárnutí (Callemien a Collin, 2007; Šavel, 2005). Změny barvy nápojů během skladování jsou vysvětleny různými mechanismy, které obvykle zahrnují enzymatickou nebo neenzymatickou oxidaci polyfenolů a / nebo tvorbu melanoidinových látek (Friedman, 1996). Důležitou roli v těchto procesech hraje kyslík. U vína je zvyšování barvy během skladování (tzv. browning) spojeno s oxidací produktu a tvorbou oxidačního aroma (Godden et al., 2001). In-situ měření barvy vzorku přímo v lahvi lze využít k průběžné nedestruktivní kontrole vzorku během skladování (Skoromounis et al., 2003). Očekávalo se, že vyloučení kyslíku z piva a hrdlového prostoru lahve zastaví stárnutí piva, ale tento jev nebyl nikdy pozorován. Pigmenty tvořené z reduktónů a oxidovaných polyfenolů hrají důležitou roli při stárnutí a mohou být označovány jako jeho ukazatele (Šavel, 2005).

Zatímco zákal se již dlouho stanovuje přímo v komerčních obalech, analytické stanovení barvy se u většiny nápojů provádí otevřením lahve a přelitím nápoje do měřicí květy spektrofotometru. Při-

While haze has long been established directly in commercial packaging, analytical color determination is performed with most beverages by opening the container and pouring the beverage into the measuring cuvette of a spectrophotometer. In this way, the bottle closure is destroyed and the general physico-chemical effect of opening the bottle modifies the properties of the drink, and the associated color change. This applies in particular to carbonated beverages such as beers or sparkling wines from which carbon dioxide has to be removed by shaking, filtration or by ultrasound before the color measurement.

The Colorturb device has been developed to measure the color of beverages without dispensing samples into measuring cuvettes. It makes it possible to determine turbidity and color of beverages directly in closed commercial bottles. The apparatus can be used to determine the physico-chemical and colloidal stability and predict beverage durability, as well as to measure the influence of temperature-controlled aging on the color change of beverages directly in commercial bottles (Callemien and Collin, 2007).

The analytical beer color measurement method uses absorbance measurements at 430 nm wavelength (Analytica EBC, 2009, equation 1)  $Abs_{430nm}$  is an absorbance value measured at 430 nm wavelength in a cuvette with 1 cm optical pathlength while the analytical method for measuring wine browning uses absorbance measurement at 420 nm (Skoromounis et al., 2003). The color measurement so established can provide information only about the concentration of the chromophores present but cannot distinguish changes in the color hues between the samples.

$$Color (EBC) = 25 \cdot Abs_{430} \quad (1)$$

The human eye contains three types of cone cells that are individually sensitive to red (R), green (G) or blue (B) light. All colors can be composed of these 3 basic colors; the colors form a 3-dimensional space. The introduction of the tristimulus values (Smedley, 1995) is also based on this fact.

The introduction of tristimulus values is an attempt to represent the color of the transmitted or reflected light as the individual intensities X red, Y green and Z blue. Tristimulus values can be obtained using three standard color matching functions with transmission measurements over the visible range of the spectrum (from 380 to 780 nm). Calculation of tristimulus values is accomplished by integrating the standard color matching function with the transmittance intensity over the visible spectrum. Standard color matching functions correspond to the light sensitivity of the three photosensitive pigments in the retina of the eye. The resulting values X, Y, Z correspond to the perception of the eye. Chromaticity values represent the proportion of a particular color in the light transmitted through, or reflected by, the sample (Equation 2),

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}, \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}, \quad z = \frac{Z}{X + Y + Z} \quad (2)$$

where  $x, y, z$  are the chromaticity values of red, green, blue light in the sample.

Various types of 3-dimensional color spaces are introduced, such as CIE  $L^*a^*b^*$ , RGB, CMY, and HLS color space, where the color is completely described by three values calculated from the tristimulus values. For example, for HLS space, color is defined by Hue, Luminance, and Saturation.

The disadvantage of tristimulus and chromaticity values is that they are specific to a selected Standard Illuminant. The values are also dependent on the optical path length through which the object is viewed. This disadvantage can be avoided by using absorbance values.

When the light passes through the liquid, it is attenuated by absorption. According to Lambert Beer law, the decrease in light intensity is exponential depending on the path length of the beam of light through the sample  $L$  and the concentration of the absorbing substances  $c$  according to the formula (Equation 3),

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot c \cdot L} \quad (3)$$

where  $\epsilon$  is the molar attenuation coefficient or absorptivity of the attenuating species.  $I$  is the radiant flux transmitted by the sample,  $I_0$  is the incident radiant flux attending the sample). Therefore, the absorbance value  $Abs$  is introduced as the negative logarithm of the intensity ratio of the beam that passed through the sample  $I$  to

tom dojde k destrukci uzávěru lahve a obecným fyzikálně-chemickým působením i k modifikaci vlastností nápoje, a s tím související změně barvy. To se týká zvláště nápojů syčených v lahvích oxidem uhličitým, jako jsou např. piva, šumivá vína, aj., která je nutné pro měření barvy zbavit oxidu uhličitého třepáním, filtrací nebo ultrazvukem.

Pro měření barvy nápojů bez nutnosti přelévání vzorků do měřících kyvet byla vyvinuta aparatura Colorturb, která umožňuje stanovení zákalu a barvy nápojů přímo v uzavřených komerčních lahvích. Aparaturu lze využít pro stanovení fyzikálně-chemické a koloidní stability a předpověď trvanlivosti nápojů a zároveň i pro měření vlivu teplotně řízeného stárnutí na změnu barvy nápojů přímo v komerčních lahvích (Callemien a Collin, 2007).

Analytická metoda měření barvy piva používá měření absorbance na jedné vlnové délce 430 nm (Analytica EBC, 2009, rovnice 1).  $Abs_{430nm}$  je hodnota absorbance měření na vlnové délce 430 nm v kyvetě s optickou dráhou 1 cm, stejně tak analytická metoda měření hnědnutí vína používá měření absorbance na 420 nm (Skoromounis et al., 2003). Takto zavedené měření barvy je schopné poskytnout informaci pouze o koncentraci přítomných chromoforů, ale nemůže rozlišit změny v barevném odstínu mezi jednotlivými vzorky.

$$Color (EBC) = 25 \cdot Abs_{430} \quad (1)$$

Lidské oko obsahuje tři typy kónických buněk, které jsou individuálně citlivé na červené, zelené a modré světlo. Všechny barvy lze složit z těchto tří základních (pure) barev, barvy tvoří třídimenzionální prostor. Z tohoto faktu vychází i zavedení trichromatických souřadnic (Smedley, 1995).

Zavedení trichromatických souřadnic je pokusem o vyjádření barvy procházejícího nebo odraženého světla jako jednotlivé barevné podněty (intenzity) X červená, Y zelená a Z modrá. Barevné podněty (intenzity) v trichromatických souřadnicích lze získat pomocí tří standardních spekter odpovídajících dané barvě a transmisních spekter vzorku naměřených ve viditelném rozsahu spektra (od 380 do 780 nm). Výpočet barevných podnětů se provádí integrací spektra odpovídajícího dané barvě násobeného intenzitou propustnosti vzorku přes viditelné spektrum. Spektrum odpovídající vybrané barvě je funkce spektrální citlivosti daného pigmentu v oční sítnici. Výsledné hodnoty X, Y, Z odpovídají vnímání oka. Hodnoty chromaticity představují poměr určité barvy ve světle procházejícím nebo odraženém vzorkem (rovnice 2),

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}, \quad y = \frac{Y}{X + Y + Z}, \quad z = \frac{Z}{X + Y + Z} \quad (2)$$

kde  $x, y, z$  jsou hodnoty chromaticity pro červené, zelené a modré světlo.

Zavádění se různé typy 3 rozměrných barevných prostorů, například CIE  $L^*a^*b^*$ , RGB, CMY, HLS barevné prostory, kde barva je kompletně popsána třemi veličinami vypočtenými z barevných podnětů v trichromatických souřadnicích. Například u HLS prostoru je barva definována veličinami odstín, jas a saturace.

Nevýhodou trichromatických souřadnic a hodnot chromaticity je to, že jsou specifické pro vybrané standardní osvětlení a jsou závislé na optické dráze paprsku ve vzorku. Výhodnější je použití hodnoty absorbance.

Při průchodu světla kapalinou dochází k jeho útlumu v důsledku absorpcce. Pokles intenzity světla je podle Lambert Beerova exponenciální v závislosti na dráze světla ve vzorku  $L$  a koncentraci absorbujících látek  $c$  podle rovnice 3,

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot c \cdot L} \quad (3)$$

kde  $\epsilon$  je molární absorpční koeficient absorbující látky ( $I$  je intenzita světelného záření prošlého vzorkem,  $I_0$  je intenzita záření dopadajícího na vzorek). Proto se zavádí hodnota absorbance  $Abs$  podle rovnice 4 jako záporný logaritmus poměru intenzity paprsku prošlého vzorkem  $I$  ku intenzitě původního paprsku  $I_0$  (rovnice 4). Takto zavedená hodnota absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbujících látek  $c$  a dráze světla ve vzorku  $L$  (rovnice 4).

$$Abs = -\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot L \quad (4)$$

Výhodou takto zavedené veličiny je, že při známé dráze světla ve vzorku a intenzitě dopadajícího světla lze vypočítat intenzitu světla prošlého stejným vzorkem o jiné dráze.

the intensity of the original beam  $I_0$  (Equation 4). The absorption value so established is directly proportional to the concentration of the absorbing substances  $c$  and the path of the beam of light  $L$  through the material sample (Equation 4).

$$Abs = -\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot L \quad (4)$$

The advantage of the quantity thus introduced is that, at a known path length in the sample and the intensity of the incident light, the intensity of the light passed through the same pattern in another path can be calculated.

Another advantage of absorbance is additivity. If the light passes through multiple absorbing layers, the resulting absorbance is given by the sum of the absorbances of the individual layers. In our case the measured absorbance is given by the sum of the absorbances of the bottle and of the sample itself. When the light passes through the sample placed in a bottle, it is possible to determine the resulting beam attenuation by the sum of the absorbances of the bottle and of the sample itself.

The Colorturb instrument measures absorbance values in the sample in 3 wavelength regions that correspond approximately to the light sensitivity of the three photosensitive pigments in the retina of the eye. Measured absorbance values form a 3-dimensional vector in color space. These three values give a complete eye-color information and it is possible to specify all sample color parameters in any color space selected, such as intensity, saturation and hue in HLS color space. Using 3 absorbance values, it is possible to distinguish samples that differ not only in intensity but also in hue.

Beer is similar in color to caramel solutions. With increasing wavelength, their absorption spectra are monotonically decreasing curves without absorption maxima. The property of these spectra is that in the logarithmic absorption scale (Log absorption spectra) these spectra are linear in the visible part of the spectrum. The color can then be expressed with only two parameters, intensity and hue. The intensity is given by the absorbance logarithm at some particular wavelength, the hue can be determined from the slope of the absorption spectrum log line. This feature was noticed by R.T. Linner (Linner, 1970) who introduced the so-called LHI - Linner hue index (Equation 5),

$$LHI = 10 \cdot \log_{10} (Abs(510) / Abs(610)) \quad (5)$$

where the  $Abs(510)$ ,  $Abs(610)$  values are absorbance values at wavelengths of 510 nm and 610 nm.

The purpose of this study is to show that the Colorturb allows the color of samples to be measured in cylindrical optical cells and some commercial bottles. Measurement of light attenuation in the 3-wavelength-region range allows, in addition to the color intensity, for the determination of the color hue.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Apparatus

The Colorturb prototype, developed at the Department of Chemical Physics and Optics, Charles University in cooperation with 1-Cube s. r. o. within the TAČR project "Apparatus and method for thermally controlled haze and color evaluation of beverages in commercial bottles", was used for the measurement (Fig. 1). The apparatus measures samples in cuvettes and directly in commercial bottles from 0.1 liter volumes for cuvettes up to 2 liters for PET bottles. This makes it possible to measure the properties of beverages and other liquids without opening the bottle. To minimize the effect of the bottle on the measurement results, the sampler is placed in a chamber with an immersion liquid and undergoes defined rotation during measurement. The chamber is equipped with inputs for connecting an external thermostat for controlled sample thermal control.

Fig. 2 schematically describes the arrangement of optical detection by Colorturb prototype. Detectors N (nephelometry) and F (forward) sense the intensity of the radiation scattered at 90° and 13-20°. The T (transmission) detector then senses the radiation intensity of the light passed through the sample, and the R (reference) detector monitors the light intensity of the light source.

Measured T transmission values monitor the change in the intensity of the measuring beam when passing through the sample due to absorption and scattering of the light in the sample. LED is installed

Další výhodou absorbance je aditivnost. Pokud světlo prochází přes více absorbujících vrstev, je výsledná absorbance dána jako součet absorpčních jednotlivých vrstev. V našem případě je naměřená absorbance dána součtem absorpčních lahve a vlastního vzorku. Při průchodu světla přes vzorek umístěný v lahvi je možný výsledný útlum paprsku zjistit součtem absorpčních lahve a vlastního vzorku.

Navržený přístroj Colorturb měří hodnoty absorbance ve vzorku ve 3 oblastech vlnových délek, které korespondují se světelnou citlivostí tří typů fotosensitivních buněk v oku. Naměřené hodnoty absorbance vytvářejí trojrozměrný vektor v barevném prostoru. Tyto 3 hodnoty dávají kompletní informaci o barvě vnímané okem, je z nich možné určit všechny parametry barvy vzorku v libovolně vybraném barevném prostoru, například intenzitu, sytost i odstín v HLS barevném prostoru. Pomocí 3 hodnot absorbance je možné rozlišit vzorky lišící se nejen intenzitou, ale i svým odstínem.

Pivo vykazuje obdobné zabarvení jako karamelové roztoky. Jejich absorpční spektra jsou s rostoucí vlnovou délkou monotónně klesající křivky bez absorpčních maxim. Vlastností těchto spekter je, že v logaritmické škále absorbance (Log absorpční spektra) jsou tato spektra ve viditelné části lineární. Barvu lze potom vyjádřit pouhými dvěma parametry, intenzitou a zabarvením. Intenzita je dána hodnotou logaritmu absorbance pro jednu vybranou vlnovou délku. Zabavení je možné určit ze směrnice přímky log absorpčního spektra. Těto vlastnosti si všiml R.T. Linner (Linner, 1970) a zavedl barevný index, později pojmenovaný jako Linnerův (LHI - Linner hue index), rovnice 5,

$$LHI = 10 \cdot \log_{10} (Abs(510) / Abs(610)) \quad (5)$$

kde hodnoty  $Abs(510)$ ,  $Abs(610)$  jsou hodnoty absorbance na vlnových délkách 510 nm a 610 nm.

Cílem tohoto příspěvku je ukázat, že aparatura Colorturb umožňuje měření barvy vzorků ve válcových optických květách a v některých typech komerčních lahví. Měření útlumu světla ve vzorku ve třech oblastech vlnových délek umožňuje kromě intenzity barvy i určení barevného odstínu vzorku.

## 2 MATERIÁL A METODY

### 2.1 Přístroje

Pro měření bylo využito prototypu přístroje Colorturb, vyvinutého na Katedře chemické fyziky a optiky University Karlovy ve spolupráci s firmou 1-Cube s. r. o. v rámci projektu TAČR „Přístroj a metoda stanovení zákalu a barvy lahvových vzorků nápojů a jiných kapalin v teplotně řízené měřící komoře“ (obr. 1). Aparatura měří vzorky v květách a přímo v komerčních lahvích od objemů 0,1 L pro květy do 2 L pro PET lahve. To umožňuje změřit vlastnosti nápojů a jiných kapalin bez nutnosti otevření lahve. Pro minimalizaci vlivu lahve na výsledky měření je vzorkovnice umístěna v komoře s imerzní kapalinou a během měření dochází k jejímu definovanému otáčení. Komoza je vybavena vstupy pro připojení externího termostatu pro řízené termostátování vzorku.

Na obr. 2 je schematicky popsáno uspořádání optické detekce přístrojem Colorturb. Detektory N (nephelometry) resp. F (forward) snímají intenzitu záření rozptýleného pod úhly 90° resp. 13-20°. Detektor T (transmission) pak snímá intenzitu záření prošlého vzorkem a detektor R (reference) monitoruje intenzitu záření světelného zdroje.

Naměřené hodnoty transmise  $T$  monitorují změnu intenzity měřícího paprsku po průchodu vzorkem v důsledku absorpce a rozptylu světla ve vzorku. Jako vysílač optického záření je v přístroji instalována LED svítící nezávisle na třech pásmech vlnových délek. Světelné zdroje lze jednotlivě zapínat a vypínat a měřit optické veličiny pro vybrané spektrální pásmo. Jednotlivé světelné zdroje svítí na vlnových délkách se střední hodnotou 466 nm, 518 nm a 630 nm a pološířkou 20 nm (obr. 3). Absorbance naměřené s použitím jednotlivých světelných zdrojů jsou dále v textu či grafech označovány:

- zdroj 466 nm – absorbance označovaná **AbsBlue**
- zdroj 518 nm – absorbance označovaná **AbsGreen**
- zdroj 630 nm – absorbance označovaná **AbsRed**

Naměřené hodnoty  $T$  mohou fluktuovat v důsledku nestability světelného zdroje. Proto se k výpočtu útlumu paprsku ve vzorku používá poměr hodnot  $T/R$ , který je nezávislý na intenzitě světelného zdroje. Jako referenční bod se použijí hodnoty naměřené na destilované vodě s nulovou absorpcí a rozptylem světla ( $T_0$ ,  $R_0$ ). Absorbance se pak určí z poměrů hodnot  $T/R$  pro měření i referenční vzorek pomocí vztahu (rovnice 6).





Fig. 1 Apparatus for thermally controlled haze and color evaluation of beverages in commercial bottles  
Obr. 1 Přístroj na stanovení zákalu a barvy lahvových vzorků nápojů a jiných kapalin

as a light source in the device containing 3 independent chips emitting light independently at three wavelength bands. Light sources can be individually switched on and off and measure optical quantities for the selected spectral band. The individual light sources emit light at wavelengths with a mean value of 466 nm, 518 nm and 630 nm with a half-width of 20 nm (Fig. 3). The absorbance values measured using individual light sources are marked in the text or graphs:

- Source 466 nm – absorbance labeled **AbsBlue**
- Source 518 nm – absorbance labeled **AbsGreen**
- Source 630 nm – absorbance labeled **AbsRed**

The measured T values may fluctuate due to instability of the light source. Therefore, the ratio of Transmission / Reference values, which is independent of the intensity of the light source, is used to calculate the beam attenuation in the sample. The values measured on distilled water with zero absorption and light scattering ( $T_0$ ,  $R_0$ ) are used as the reference point. Absorbance is then determined from the T/R values for both the measured and the reference sample using the relationship (Equation 6).

$$Abs = -\log \frac{R_0}{T_0} \cdot \frac{T}{R} \quad (6)$$

The ratio of the output signals of the N/T and F/T photodetectors from the scattering and transmission detectors gives the so-called relative turbidity ZR. Ratiometric mode of measurement is also used here to eliminate unwanted effects such as light source instability, clogging of optical elements by dirt or light absorption in the sample. Relative turbidity is then recalculated to yield the resulting turbidity Zn (turbidity measured by detector N) and Zf (turbidity measured by detector F) using the calibration curve measured on standard turbidity-measuring solutions with a defined concentration. In most meas-

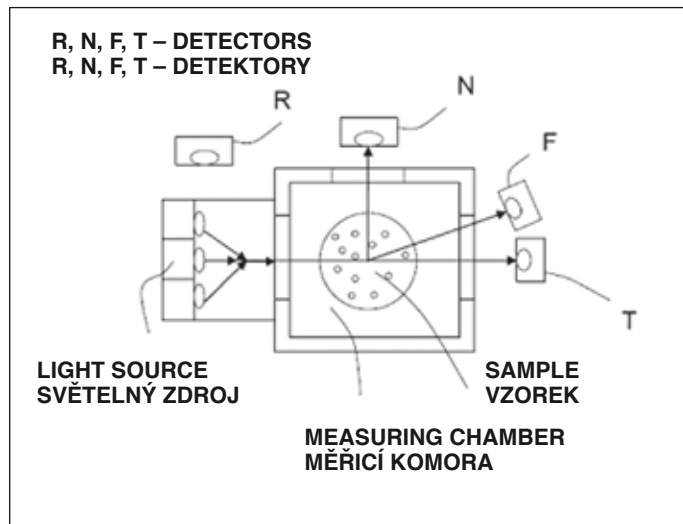


Fig. 2 The arrangement of optical detection by Colorturb prototype  
Obr. 2 Uspořádání optické detekce přístrojem Colorturb

$$Abs = -\log \frac{R_0}{T_0} \cdot \frac{T}{R} \quad (6)$$

Poměr hodnot výstupních signálů fotodetektorů N/T a F/T z rozptylového a transmisního detektoru udává tzv. relativní zákal ZR. Poměrový mód měření se i zde používá s cílem odstranění nežádoucích vlivů, jako jsou nestabilita světelného zdroje, zanášení optických prvků nečistotami a absorpcí záření ve vzorku. Relativní zákal se přepočítává na výslednou hodnotu zákalu Zn (zákal měřený detektorem N), Zf (zákal měřený detektorem F) pomocí kalibrační křivky naměřené na roztocích standardní zákaloměrné suspenze s definovanou koncentrací. Ve většině norem se jako standardní kalibrační roztok používá formazinová suspenze a výsledky měření se udávají v mezinárodních jednotkách EBC, NTU, FTU nebo ppm. Výsledný zákal je nezávislý na barvě vzorku.

Přístroj je řízen mikroprocesorem, který řídí vlastní proces měření, ovládá funkci otáčení vzorku, řídí zapínání a vypínání optických zdrojů, snímání dat z detektorů a přepočítání naměřených hodnot podle kalibračních konstant. Mikroprocesor komunikuje po sériové lince RS232 s počítačem. Přístroj se ovládá z klávesnice, která umožňuje spuštění měření s vybraným optickým zdrojem. Po ukončení měření jsou na displeji zákaloměru zobrazeny naměřené hodnoty absorbance (Abs), nefelometrického zákalu měřeného pod úhlem 90° (Zn) a zákalu měřeného pod malým úhlem 13-20° (Zf) pro použitý zdroj světla. Měřicí rozsah absorbance je 0-4 absorbančních jednotek (AU, až 4 řády útlumu), měřicí rozsah zákalu je do 500 EBC (Analytica-EBC, 2009).

Výsledkem měření na aparatuře Colorturb jsou vždy trojice hodnot absorbancí naměřených se světelnými zdroji ve 3 oblastech vlnových délek AbsRed, AbsGreen, AbsBlue a dále hodnoty zákalu Zn a Zf naměřené z intenzity rozptylu detektory pod úhly 90° - Zn resp. 13-20° - Zf při použití červeného zdroje světla.

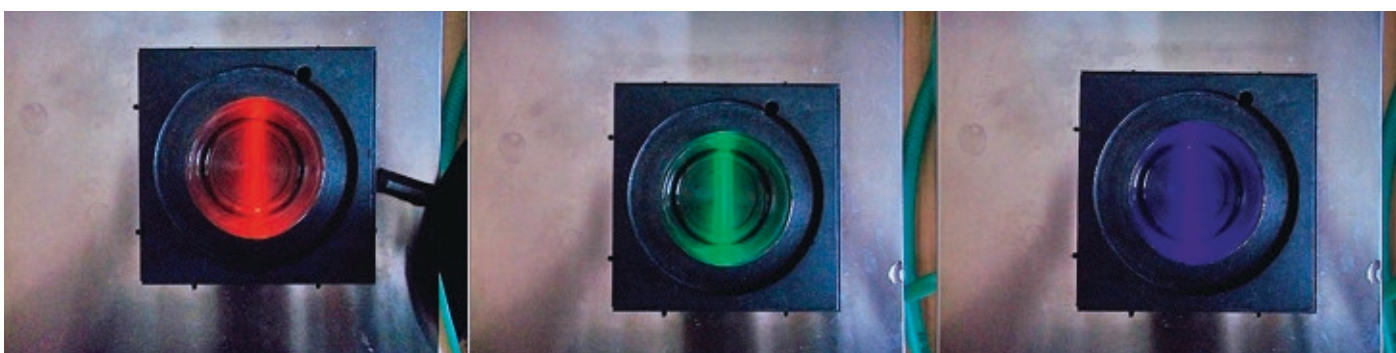


Fig. 3 The individual light sources  
Obr. 3 Jednotlivé světelné zdroje

urements, the formazin solution is used as the standard calibration solution and the measurement results are reported in international units of EBC, NTU, FTU or ppm. The resulting turbidity is independent of the color of the sample.

The instrument is controlled by a microprocessor that controls the actual measurement process, the rotation of the sample, the switching on and off of optical sources, the sensing data from the detectors, and recalculates the measured signals to final turbidity and absorbance values. The microcomputer communicates over the RS232 serial line with the computer. The device is operated from a keyboard that allows measurement to be run with the selected optical source. At the end of the measurement, the Absorbance (Abs), nephelometric turbidity measured at 90° (Hn) and turbidity measured at a small angle of 13–20° (Hf) for the light source used are displayed on the device screen. The absorbance measuring range is 0-4 absorption units (AU), up to 4 orders of attenuation), the turbidity measuring range is up to 500 EBC (Analytica EBC, 2009).

The Colorturb measurements result in three values of the absorbances measured with light sources in the three wavelength regions AbsRed, AbsGreen, AbsBlue, and the Zn and Zf turbidity values measured by the detector at 90° (Zn) or 13-20° (Zf) using a red light source.

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

In the first step, the repeatability, linearity and measuring range of the Colorturb apparatus were evaluated. Solutions of black food color with different concentrations were prepared and their absorbance was measured on a spectrophotometer in a 1 cm cuvette. The absorbance of samples in the Colorturb apparatus was then measured in a reference cylindrical cell with an internal diameter of 56 mm. When measured on the Colorturb apparatus, the beam passes through a measuring chamber filled with immersion liquid. The decrease of the intensity of the measuring beam also occurs due to scattering on dirt in the immersion liquid and reflection on the windows and walls of the measuring sample container. Like in the standard spectrophotometer, the effect of these phenomena can be eliminated by measuring the absorbance of a reference sample filled with distilled water. The absorbance values of a sample of distilled water are measured prior to the measurements on the Colorturb apparatus, and these values are subtracted from the absorbance values of the measured samples. A repeated measurement of the sample of the food dye has confirmed the repeatability of the absorbance measurement better than  $\pm 0.005$  AU.

Fig. 4 shows the interdependence of the AbsBlue values measured on the Colorturb apparatus and the absorbance values measured on a spectrophotometer in a 1 cm cuvette at 466 nm, i.e. Abs(466). Wavelength 466 nm corresponds to the average blue LED wavelength of the RGB LEDs used in the Colorturb. The linear coefficient of dependence, 5.63, corresponds to the optical path of the reference cylindrical cuvette with an internal diameter of 56 mm. Colorturb measures absorption up to 4 AU, until 3 AU the AbsBlue increases linearly with color concentration. For AbsBlue values over

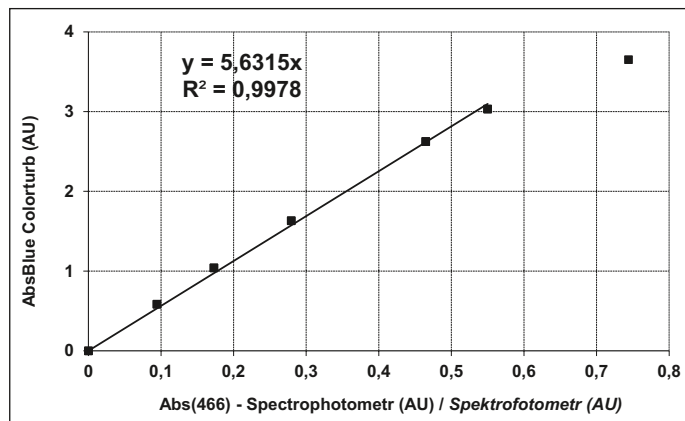


Fig. 4 Interdependence of the AbsBlue values measured on the Colorturb apparatus and the absorbance values measured on a spectrophotometer in a 1 cm cuvette at 466 nm

Obr. 4 Závislost hodnot AbsBlue naměřených na přístroji Colorturb a hodnot absorbance naměřených na spektrofotometru v 1 cm kyvetě na vlnové délce 466 nm

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

V prvním kroku byla ověřena opakovatelnost, linearita a měřicí rozsah aparatury Colorturb při měření hodnot absorbance. Byly připraveny roztoky černé potravinářské barvy o různé koncentraci. Absorbance těchto roztoků byla proměřena na spektrofotometru v 1 cm kyvetě. Poté byla změřena absorbance vzorků na aparatuře Colorturb v referenční válcové kyvetě s vnitřním průměrem 56 mm. Při měření na aparatuře Colorturb prochází paprsek měřicí komorou naplněnou imersní kapalinou. K poklesu intenzity měřicího paprsku dochází i v důsledku rozptylu na nečistotách v imersní kapalině, odrazu na oknech komory a stěnách měřicí vzorkovnice. Vliv těchto jevů lze stejně jako u měření na standardním spektrofotometru odstranit referenčním měřením absorbance vzorkovnice naplněné destilovanou vodou. Před započítáním měření na aparatuře Colorturb se vždy měří hodnoty absorbance na vzorku destilované vody a tyto hodnoty se odečítají od hodnot absorbancí měřených vzorků. Opakovaným měřením vzorku potravinářského barviva byla ověřena opakovatelnost měření absorbance lepší než  $\pm 0,005$  AU.

Na obr. 4 je zobrazena vzájemná závislost hodnot AbsBlue naměřených na přístroji Colorturb a hodnot absorbance naměřených na spektrofotometru v 1 cm kyvetě na vlnové délce 466 nm Abs(466). Vlnová délka 466 nm odpovídá střední vlnové délce modré LED na RGB LED použité v aparatuře Colorturb. Lineární koeficient závislosti 5,63 odpovídá optické dráze referenční válcové kyvetě s vnitřním průměrem 56 mm. Colorturb měří absorbanci až do rozsahu 4 AU, do 3 AU roste hodnota AbsBlue lineárně s koncentrací barvy. Pro hodnoty AbsBlue nad 3 AU závislost není lineární z důvodu nezanedbatelné spektrální pološířky LED zdroje v přístroji Colorturb (cca 20 nm) a z důvodu odrazů paprsku v měřicí komoře (stray light). Obdobná situace nastává i pro červené a zelené světlo a hodnoty AbsRed a AbsGreen.

V rozsahu hodnot, kde je AbsBlue lineární (0-3 AU) je možné využít aditivnost absorbance jednotlivých absorbujících vrstev, lze počítat příspěvek absorbance vzorku a vzorkovnice. Pro hodnoty absorbance vyšší než 3 AU již aditivnost neplatí, je možné sledovat změny absorbance vzorku, ale velikost pozorované změny je menší než skutečná změna absorbance vzorku. **Aparatura Colorturb umožňuje přesné měření absorbance v rozsahu do 3 AU jednotek a měření změn absorbance do 4 AU.**

#### 3.1 Možnost měření v komerční lahvi

Dále jsme ověřili možnost měření absorbance vzorku přímo v komerční lahvi. Útlum měřicího paprsku procházejícího vzorkem v lahvi je ovlivněn i parametry této lahve - barvou skla, vlnou stěny atd. Aby bylo možné měřit barvu vzorků přímo v komerční lahvi, je nutné vliv lahve minimalizovat. Proto musí být splněno několik předpokladů. Útlum světla ve stěnách lahve musí být pro všechny lahve vybraného typu totožný, optická dráha měřicího světla v lahvi musí být totožná, odraz na stěnách lahve musí být minimální nebo reprodukovatelně stejný. Parametry jednotlivých typů lahví jsou různé, proto musí být vybraný typ lahve charakterizován tak, aby bylo možné určit, zda je vhodný k měření barvy.

#### 3.2 Absorbance lahve

Abychom vyhodnotili vliv barvy lahve na výsledné měření barvy vzorku, byly na aparatuře Colorturb naměřeny hodnoty Absorbancí vybraných typů lahví naplněných destilovanou vodou. Naměřené hodnoty absorbance jsou v tomto případě dány převážně absorpcí světla ve stěnách lahve. Vliv odrazů na stěnách lahve je minimalizován měřením v imerzní kapalině.

Byly proměřeny parametry některých typů barevných pivních lahví používaných výrobcí piva v ČR. Pro každý typ lahve byla měřena sada 20 lahví. V tab. 1 jsou shrnuty střední hodnoty absorbancí a jejich standardní odchylka (SD). Z výsledků je možné vyvodit dva závěry. Za prvé střední hodnoty absorbancí se pro jednotlivé typy lahví výrazně liší, u zelených lahví je to pro AbsBlue od 0,640 AU až po 1,540 AU. Z toho plyne, že nelze použít žádný univerzální koeficient pro korekci vlivu libovolné lahve na měření barvy. Za druhé standardní odchylka (SD) absorpčních koeficientů u jednotlivých měřených typů lahví je okolo 10%. Například zelená lahev 0,5l Pilsner Urquell (PU) má průměrnou absorbanci v modrém světle AbsBlue = 0,744 AU se standardní odchylkou  $\pm 0,063$  AU (Na měřené sadě lahví jsme naměřili hodnoty od 0,665 AU až do 0,846 AU). Pokud při měření barvy vzorku v této lahvi použijeme k odečtení vlivu lahve střední hodnotu absorbance AbsBlue = 0,744 AU, musíme počítat s chybou naměřené hodnoty absorbance vzorku  $\pm 0,100$  AU, při přepočtu na optickou dráhu paprsku 1 cm je to chyba  $\pm 0,020$  AU.



3 AU the increase is no longer linear because of the non-negligible spectral half-wavelength of the Colorturb LED source (about 20 nm) and due to the stray light. The similar situation occurs for red and green light and AbsRed and AbsGreen values.

In the range of values where AbsBlue is linear (0-3 AU) it is possible to use the absorption additivity of individual absorbing layers, i.e. to add the contribution of sample absorbance and the sample container absorbance. For absorbance values greater than 3 AU, additivity is no longer applicable but changes in sample absorbance may be observed though the magnitude of the observed change is less than the actual change in absorbance of the sample. **The Colorturb instrument enables precise absorption measurements up to 3 AU units and the measurement of absorbance changes up to 4AU.**

### 3.1 Measurement in a commercial bottle

We have verified the possibility of measuring sample absorbance in a commercial bottle. The attenuation of the beam passing through the sample in the commercial bottle is affected by the parameters of this bottle, color, wall thickness, etc. In order to measure the color of the sample directly in the commercial bottle, it is necessary to minimize the influence of the bottle. Therefore, several assumptions must be fulfilled. The light attenuation in the bottle walls must be the same for all bottles of the selected type, the optical path length of the light in the bottle must be the same, reflection on the bottle walls must be minimal or reproducibly identical. The parameters of each bottle type are different, so the selected bottle type must be characterized in order to determine whether it is suitable for color measurement.

### 3.2 Absorbance of the bottle

To evaluate the effect of the bottle color on the resulting sample color measurements, absorbance values of selected bottle types filled with distilled water were measured on the Colorturb apparatus. Measured absorbance values in this case are predominantly due to the absorption of light in the bottle walls. The impact of reflections on the bottle walls is minimized by measuring in an immersion liquid.

The parameters of some types of colored beer bottles used by beer producers in the Czech Republic were measured. For each bottle type, a set of 20 bottles was measured. The Table 1 summarizes the mean values of absorbances and their standard deviation (SD). Two conclusions can be drawn from the results. First, the average absorption coefficients vary considerably for each bottle type; for green bottles the AbsBlue ranges from 0.640 AU to 1.540 AU. It follows that **no universal coefficient can be used to correct the effect of any color measurement bottle**. Second, the standard deviation of the absorption coefficients for each measured bottle type is about 10%. For example, a 0.5 liter Pilsner Urquell (PU) green bottle has an average absorbance in blue AbsBlue = 0.744 AU with a standard deviation of  $\pm 0.063$  AU. (We measured values from 0.665 AU to 0.846 AU on a measured bottle set). If the AbsBlue = 0.744 AU is used to measure the color of the sample in this bottle, we must take into account a  $\pm 0.100$  AU error in the absorbance reading of the sample, with an error of  $\pm 0.020$  AU when converted to the 1cm optical path of the beam. It follows that some types of bottles have standard color properties that they allow for color measurement, provided their parameters are measured in advance and used to correct the measured values.

The color of beer is defined by the absorbance in the blue part of the spectrum (Equation 1), and the AbsBlue values are thus decisive for determining the color. The AbsBlue values for brown bottles range from 2.2 AU to 3 AU. Blue light attenuation in the brown bottle walls is so large that with the Colorturb measuring range of up to 4 AU units, the color of the sample can only be measured within the sample absorbance range to about 1 AU - 1.8AU. In addition, this measurement is burdened with a large absorption error. The AbsBlue for green bottles is significantly lower (up to 1.5 AU) and the sample color can be measured up to higher absorbance values and with higher accuracy. For white NRW bottles, the absorbance is given by reflection on walls and scattering on glass inhomogeneities and is almost equal to  $0.05 \pm 0.01$  AU at all wavelengths.

### 3.3 Verifying the optical path length of the selected bottle type

Detection of the optical path length of light in the selected bottle type can be done by measuring a set of samples with different absorbances and comparing the values measured in the Colorturb instrument on samples in a bottle set and in a reference precision cylindrical cuvette with a known optical path length. The results of the

Z toho plyne, že některé typy lahví mají natolik standardní barevné vlastnosti, že umožňují měření barvy piva za předpokladu, že se jejich parametry předem naměří a použijí ke korekci naměřených hodnot.

Barva piva se podle definice určuje z absorbance v modré části spektra (rovnice 1), proto jsou hodnoty AbsBlue rozhodující pro určení barvy. Hodnoty AbsBlue u hnědých lahví jsou v rozsahu 2,2 AU až 3 AU. Útlum modrého světla ve stěnách hnědých lahví je natolik velký, že vzhledem k měřicímu rozsahu přístroje Colorturb do 4 AU, lze barvu vzorku měřit pouze v rozsahu absorbance vzorku do cca 1 AU až 1,8 AU. Navíc toto měření je zatíženo velkou chybou. U zelených lahví je AbsBlue výrazně nižší (do 1,5 AU), barvu vzorku je možné v nich měřit do vyšších hodnot a s vyšší přesností. U bílých NRW lahví je absorbance dána odrazem na stěnách a rozptylem na nehomogenitách skla a je na všech vlnových délkách téměř stejná  $0,05 \pm 0,01$  AU.

### 3.3 Ověření optické dráhy vybraného typu lahve

Zjištění optické dráhy světla ve vybraném typu lahve je možné provést proměřením sady vzorků s rozdílnou absorbcí a srovnáním hodnot naměřených v přístroji Colorturb na vzorcích v sadě lahví a v referenční přesné válcové kyvetě se známou optickou dráhou. Výsledky ukázkového měření jsou shrnuty na obr. 5. Jako referenční kyveta byla použita válcová kyveta z optického borosilikátového skla s vnitřním průměrem 56mm, k ukázkovému měření byla vybrána sada zelených lahví PU s objemem 0,5l. Od naměřených hodnot na vzorcích v lahvích byla odečtena hodnota absorbance naměřená na lahvi naplněné čistou vodou, aby se odečetla část absorbance způsobená absorpcí stěn lahve. Hodnotami byla proložena regresní přímka s koeficientem úměrnosti 1,0041. Z toho je zřejmé, že testovaný typ lahve PU 0,5l má stejnou optickou dráhu paprsku jako referenční kyveta, tzn. 5,6 cm. Při střední hodnotě absorbance vzorku AbsBlue=1,430 AU je střední odchylka naměřených hodnot v kyvetě a lahvi  $\pm 0,025$  AU, tj. 1,7%. Stejná je i procentuální odchylka optické dráhy v sadě měřených lahví. Stejným postupem je možné určit optickou dráhu porovnáním absorbcí naměřených v přístroji Colorturb na vzorcích v sadě lahví s hodnotami naměřenými ve spektrofotometru.

Z předchozích ukázkových měření vyplývá procedura, kterou je nutné provést pro měření barvy na aparatuře Colorturb ve vybraném typu lahve.

- 1) Vybrat sadu lahví;
- 2) Naměřit na aparatuře Colorturb hodnoty absorbcí lahví naplněných destilovanou vodou a vypočítat průměrnou hodnotu AbsPrumer;
- 3) Naplnit sadu lahví vzorky barevných roztoků o různé koncentraci, naměřit na aparatuře Colorturb hodnoty absorbcí a naměřit referenční hodnoty absorbcí těchto roztoků ve spektrofotometru nebo v referenční kyvetě se známou optickou dráhou. Z koeficientu lineární závislosti (viz obr. 5) určit optickou dráhu světla OPL ve vybraném typu lahve;
- 4) Z naměřených hodnot absorbcí na lahvi dostaneme absorbcí vzorku na 1cm optické dráze odečtením absorbance lahve AbsPrumer a podělením délkou optické dráhy OPL.

Podle navržené procedury byly naměřeny a vyhodnoceny parametry zelené lahve Budvar 0,5l. Na sadě 25 lahví se vzorky různých piv byly na aparatuře Colorturb naměřeny hodnoty absorbance (AbsBlue, AbsGreen, AbsRed), a poté ve spektrofotometru absorpční spektra v 1cm kyvetě. Hodnoty AbsBlue byly korigovány odečtením střední absorbance lahve a podělením střední optickou dráhou paprsku v lahvi. Výsledky korelace korigovaných hodnot AbsBlue s absorbcí na 466nm Abs(466) určenou spektrofotometricky jsou zobrazeny na obr. 6. Naměřené hodnoty absorbance v lahvi korelují s hodnotami určenými na spektrofotometru se střední kvadr. odchylkou 0,005 AU při průměrné hodnotě absorbance 0,274 AU, tzn. 2% hodnoty.

### 3.4 Výpočet parametrů barvy piva

Na obr. 7 je ukázkové absorpční spektrum vzorku světlého piva pilsenského typu s absorbcí v logaritmické stupnici, tzn. Log Abs spektrum. Naměřenými hodnotami je proložena přímka s korelačním koeficientem 0,997. Log Abs spektrum piva je lineární, lze ho charakterizovat 2 parametry: hodnotou absorbance pro jednu vlnovou délku (určuje intenzitu barvy) a směrnici přímky log absorpčního spektra (určuje zabarvení). Pomocí těchto parametrů je možné určit hodnotu absorbance pro libovolnou vlnovou délku. Podle EBC norm se barva piva určuje z absorbance na vlnové délce 430 nm ve spektrofotometru v 1cm kyvetě (rovnice 1). Jako parametr určující

Table 1 Beer bottle absorption properties  
Tab. 1 Hodnoty absorpance pivních lahví

Bottle type Typ láhve	Colour Barva	Volume(L) Objem (l)	AbsBlue	SD	AbsGreen	SD	AbsRed	SD
Pilsner Urquell	green zelená	0.5	0.744	0.063	0.197	0.020	0.679	0.062
Pilsner Urquell	green zelená	0.3	0.640	0.023	0.233	0.010	0.618	0.023
Budvar	green zelená	0.5	0.864	0.068	0.309	0.041	0.904	0.073
Staropramen	green zelená	0.5	0.983	0.139	0.352	0.054	1.026	0.158
Zlatopramen	green zelená	0.5	0.693	0.065	0.247	0.025	0.753	0.068
Bakalář	green zelená	0.5	1.540	0.136	0.528	0.051	1.584	0.110
Gambrinus	brown hnědá	0.5	2.443	0.259	1.091	0.129	0.594	0.056
NRW(HB)	brown hnědá	0.5	2.449	0.186	1.108	0.098	0.546	0.044
Holba	brown hnědá	0.5	2.813	0.139	1.292	0.065	0.753	0.055
NRW	white bílá	0.5	0.050	0.005	0.047	0.006	0.052	0.006

sample measurement are in Fig. 5. A cylindrical cuvette made of optical borosilicate glass with an internal diameter of 56mm was used as a reference cell and a set of green 0.5L PU bottles was selected for the sample measurement. The absorbance reading measured on a bottle filled with clean water was subtracted from the measured values on the samples in the bottles to subtract the bottle wall absorbance influence. A regression line with a correlation coefficient of 1.0041 was interpolated. From this, it is clear that the tested type of PU 0.5L bottle has the same optical path length of the beam as the reference cuvette, i.e., 5,6 cm. At the AbsBlue sample absorbance value 1.430 AU, the mean deviation of the measured values in the cuvette and bottle is  $\pm 0.025$  AU, i.e. 1.7%. The percent deviation of the optical path length in the set of measured bottles is the same. Using the same procedure, it is possible to determine the optical path length by comparing the absorbances measured in the Colorturb apparatus on the samples in the set of bottles with the values measured in the spectrophotometer.

The previous sample measurements give rise to the procedure necessary for color measurement installation on the Colorturb apparatus in the selected bottle type.

- 1) Select a bottle set
- 2) Measure the absorbance values of bottles filled with distilled water on the Colorturb apparatus and calculate the average value of AbsAverage (Red, Green, Blue)
- 3) Fill sample bottles with color solutions of varying concentrations, measure Colorturb absorbance values and measure the absorbance values of these solutions in a spectrophotometer or a reference cell with a known optical path. From the linear dependence coefficient (see Fig. 5), determine the optical path length of light (OPL) in the selected bottle type
- 4) From the measured absorbance values on the bottle, one obtains the absorbance of the sample in a 1 cm optical path by subtracting the absorption of the AbsAverage bottle and dividing it by the mean optical pathway OPL.

The parameters of the Budvar green 0.5L bottle type were measured and evaluated based on the proposed procedure. On a 25-bottle set, the absorbance (AbsBlue, AbsGreen, AbsRed) values were measured on the Colorturb apparatus, followed by a measurement of the absorption spectrum in a 1 cm cuvette on a spectrophotometer. The AbsBlue values were corrected by subtracting the mean absorbance of the bottle and dividing the result by the mean optical path of the beam in the bottle. Correlation of corrected AbsBlue values with absorbance results at 466nm Abs(466) determined spectrophotometrically are shown in Fig. 6. The absorbance values measured in the bottle correlate with the values determined on a spectrophotometer with a mean square error of 0.005 AU at an average absorbance value of 0.274 AU, i.e. 2% of the value.

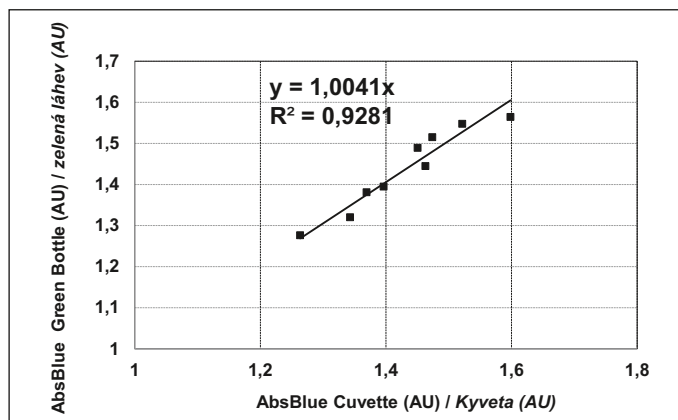
zabarvení vzorku je možné vzít Linnerův barevný index (LHI - Linner Hue index) viz rovnice 5, který je odvozen ze směrnice log abs spektra.

Z hodnot absorpance naměřených aparaturou Colorturb a znalosti vlnových délek použitých LED (AbsBlue-466nm, AbsGreen-518nm, AbsRed-630nm) lze vypočítat intenzitu barvy a zabarvení charakterizované LHI indexem a porovnat s výsledky získanými z měření na spektrofotometru. Absorbanci na vlnové délce 430nm Abs(430) a z ní barvu je možné vypočítat z hodnoty AbsBlue a AbsGreen přímo úměrou podle vzorce 7, kde 88 je rozdíl vlnových délek AbsGreen-518nm a 430nm a 52 je rozdíl vlnových délek AbsGreen (518nm) a AbsBlue (466nm). Jednodušším způsobem u piva jednoho typu je najít koeficient přímé úměrnosti mezi hodnotami AbsBlue měřenými Colorturbem a hodnotami Abs(430) měřenými spektrofotometrem.

$$\log_{10}(\text{Abs}(430)) = \log_{10}(\text{AbsGreen}) + \log_{10}(\text{AbsBlue}/\text{AbsGreen}) \cdot (88)/(52) \quad (7)$$

K výpočtu LHI byly použity hodnoty AbsGreen a AbsRed podle rovnice 8. Nižší koeficient ve vzorci 8 v porovnání s definicí LHI ve vzorci 5 je dán rozdílnými vlnovými délkami LED použitými v aparatuře Colorturb (rozdíl vlnových délek AbsGreen a AbsRed je 112 nm) ve srovnání s definicí LHI (510 nm a 610 nm, rozdíl 100 nm)

$$\text{LHI} = 8.93 \cdot \log_{10}(\text{AbsGreen}/\text{AbsRed}) \quad (8)$$

Fig. 5 The results of the sample measurement  
Obr. 5 Výsledky ukázkového měření

### 3.4 Calculation of beer color parameters

Fig. 7 is a sample absorption spectrum of a Pilsener type light beer sample with absorbance in a logarithmic scale, i.e., Log Abs spectrum. The measured values intersect with a line with a correlation coefficient of 0.997. The Log Abs spectrum of the beer is linear and it can be characterized by 2 parameters, the absorbance value for one wavelength (determines the intensity of the color) and the line of the Log absorption spectrum (defining the color hue). Using these two parameters, it is possible to determine the absorbance value for any wavelength. According to the EBC standards, the beer color intensity is determined from the absorbance at a wavelength of 430 nm in a spectrophotometer in a 1cm cuvette (Equation 1). As a parameter determining the color hue of the sample, it is possible to take the Linner Hue Index (LHI) see equation 5, derived from the log abs spectrum. From the Colorturb absorbance measurements and the knowledge of the wavelengths of the LEDs (AbsBlue-466nm, AbsGreen-518nm, AbsRed-630nm), the color intensity and hue of the sample (characterized by the LHI index) can be calculated and compared with the spectrophotometer results. Absorbance at a wavelength of 430 nm and color can be calculated from the AbsBlue and AbsGreen values using a direct proportion from equation 7, where 88 is the AbsGreen-518nm and 430nm wavelength difference, and 52 is the AbsGreen (518nm) and AbsBlue (466nm) wavelength differences. A simpler way for beer of one type is to find a direct proportionality coefficient between AbsBlue measured by Colorturb and Abs (430) measured by a spectrophotometer.

$$\log_{10}(\text{Abs}(430)) = \log_{10}(\text{AbsGreen}) + \log_{10}(\text{AbsBlue}/\text{AbsGreen}) * (88)/(52) \quad (7)$$

The AbsGreen and AbsRed values were used to calculate LHI according to equation 8. The lower coefficient in equation 8 compared to the LHI definition in equation 5 is given by the different wavelengths of the LEDs used in the Colorturb apparatus (AbsGreen and AbsRed wavelength difference is 112nm) compared to the definition (510nm and 610nm, difference 100nm)

$$\text{LHI} = 8.93 \cdot \log_{10}(\text{AbsGreen}/\text{AbsRed}) \quad (8)$$

The results measured on the 25-beer sample set in Budvar bottles of 0.5L were also used to compare the Color and LHI values determined by spectroscopy and by bottle measurements on the Colorturb apparatus.

Fig. 8 gives a comparison of color intensity data determined spectrophotometrically in a 1 cm cuvette and a Colorturb apparatus in a green bottle. The sample color measured by the Colorturb apparatus in the green bottle correlates with the color determined by the spectroscopy, the mean color determination error in the bottle is 0.4 EBC. LHI results measured spectrophotometrically in a 1 cm cuvette and in a Colorturb apparatus in a green bottle were compared. The absorbance values used for the LHI calculation are low for the measured samples, so the calculated LHI values are loaded with a large error of about 10% of the value. Within this error, LHI values determined by spectroscopy and the Colorturb apparatus correlate.

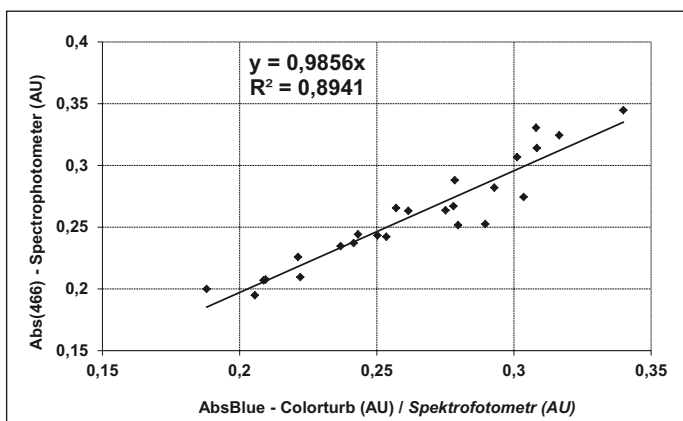


Fig. 6 Correlation of corrected AbsBlue values with absorbance results at 466nm Abs(466) determined spectrophotometrically  
Obr. 6 Výsledky korelace korigovaných hodnot AbsBlue s absorbcí na 466nm Abs(466) určenou spektrofotometricky

Výsledky naměřené na sadě vzorků 25 různých piv v lahvích Budvar 0,5l byly použity i pro srovnání hodnot barvy a LHI určenými spektroskopicky a měřením v lahvi na aparatuře Colorturb.

Na obr. 8 je srovnání výsledků určení barvy spektrofotometricky v 1cm kyvetě a aparaturou Colorturb v zelené lahvi. Barva vzorku naměřena aparaturou Colorturb v zelené lahvi koreluje s barvou určenou spektroskopicky, střední chyba určení barvy v lahvi je 0,4 EBC. Byly srovnány hodnoty LHI určené spektrofotometricky v 1cm kyvetě a aparaturou Colorturb v zelené lahvi. Hodnoty absorbance použité pro výpočet LHI jsou pro měřené vzorky nízké, proto jsou vypočtené hodnoty LHI zatíženy velkou chybou cca 10% hodnoty. V rámci této chyby jsou hodnoty LHI pro všechny vzorky téměř stejné, hodnoty LHI určené spektroskopicky a aparaturou Colorturb korelují.

## 4 ZÁVĚR

Prototyp přístroje Colorturb byl navržen, vyvinut a vyroben tak, aby umožnil měření zákalu a barvy nápojů přímo v obchodních lahvích. Zařízení provádí nezávislé měření absorbance ve vzorku ve 3 oblastech vlnových délek kompatibilních s buňkami citlivými na světlo lidského oka, které jsou individuálně citlivé na červené, zelené nebo modré světlo. To umožňuje určení všech parametrů barvy vzorku, nejen intenzity ale i zabarvení. Měření prokázalo, že po určení základních barevných parametrů lahvi je možné určovat barvu vzorku i v některých typech komerčních lahví. Měřicí rozsah aparatury Colorturb umožňuje provádět měření barvy ve většině zelených a bílých lahví. Útlum světla v hnědých lahvích v modré části světla je natolik velký, že přesné měření barvy neumožňuje. V článku je prezentován postup měření základních barevných parametrů komerč-

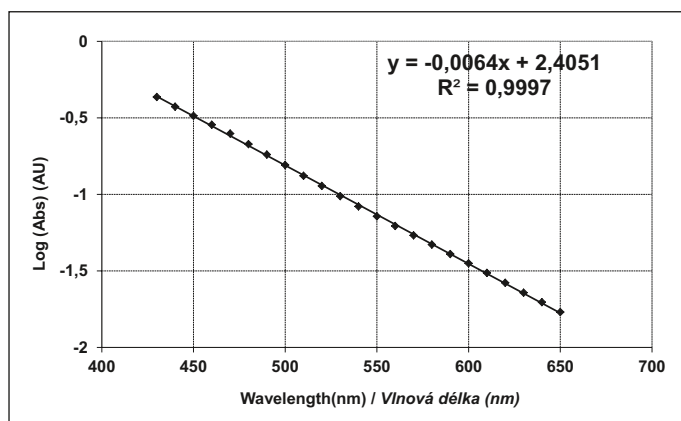


Fig. 7 Sample absorption spectrum of a Pilsener type light beer sample with absorbance in a logarithmic scale (Log Abs spectrum)  
Obr. 7 Ukázkové absorpční spektrum vzorku světlého piva plzeňského typu s absorbcí v logaritmicke stupnici (Log Abs spektrum)

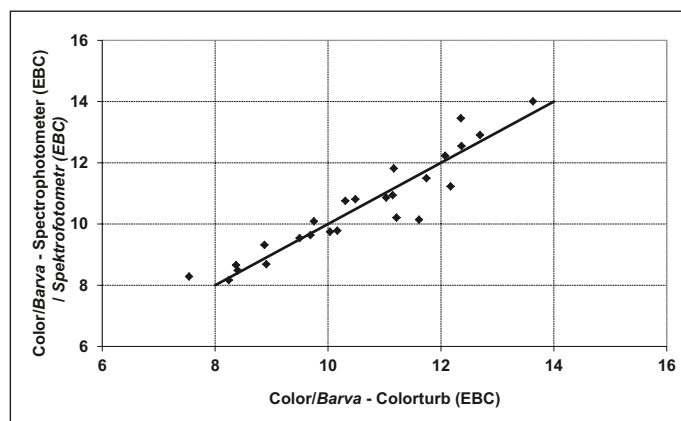


Fig. 8 Comparison of color intensity data determined spectrophotometrically in a 1 cm cuvette and a Colorturb apparatus in a green bottle  
Obr. 8 Srovnání výsledků určení barvy spektrofotometricky v 1cm kyvetě a aparaturou Colorturb v zelené lahvi



## 4 CONCLUSIONS

The Colorturb prototype has been designed and developed to measure double angle turbidity and color of beverages directly in commercial bottles. The device enables independent measurement of sample absorbance in 3 wavelength regions compatible with the human eye light sensitive cells that are individually sensitive to red, green or blue light. This allows determination of all sample color parameters, not only color intensity but also color hue. The measurement has shown that it is possible to determine the sample color in certain types of commercial bottles after determining the basic color parameters of a selected type of bottles. Colorturb's measuring range makes it possible to measure color in most green and white bottles. The attenuation of light in brown bottles in the blue part of the light is so great that it does not allow color measurements. The paper presents a procedure for measuring the basic color parameters of commercial bottles, and a procedure for calculating color parameters from measured absorbance values.

Color measurements on the Colorturb apparatus in green bottles can be done with an accuracy of 0.4 EBC, but this measurement can not replace accurate color determination on the spectrophotometer. On the other hand, color changes in one bottle can be measured with an accuracy of better than 0.1 EBC and this allows precise monitoring of the sample color development depending on its thermal and light damage. The main benefit of Colorturb apparatus is that it allows simultaneous monitoring of turbidity and color changes in closed bottles.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Technology Agency of the Czech Republic, programme Alfa, project TA01011423 „Apparatus and method for thermally controlled haze and color evaluation of beverages in commercial bottles”.

## REFERENCES / LITERATURA

- Analytica-EBC, 2009: Brauerei und Getränke – Rundschau, Method 9.6, Colour of Beer: Spectrophotometric Method (IM), Verlag Hans Carl, 8th edition.
- Callemin, D., Collin, S., 2007: Involvement of Flavanoids in Beer Color Instability during Storage. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 9066–9073.
- ČSN 56 0186-8, 2012: Metody zkoušení piva – část 8: Stanovení barvy piva. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012.
- Friedman, M., 1996: Food Browning and Its Prevention: An Overview. *J. Agric. Food Chem.*, 44(3): 631–653.
- Godden, P., Lech, F., Field, J., Gishen, M., Coulter, A., Valente, P., Hoj, P., Robinson, E., 2001: Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine performance up to 20 months post-bottling. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7: 64–105.
- Linner, R. T., 1970: Caramel color: a new method of determining its color hue and tinctorial power. *Proceedings of the Society of Soft Drink Technologists Annual Meeting*, 63–72.
- Smedley, S. M., 1995: Discrimination between beers with small colour differences using the Cielab colour space. *J. Inst. Brew.*, 101: 195–201.
- Šavel, J., 2005: Differential Spectroscopy and Beer Oxidation. *MBAA TQ*, 42(1): 57–64.
- Skouroumounis, G. K., Kwiatkowski, M., Sezon, M. A., Gawel, R., Waters, E. J., 2003: In situ measurement of white wine absorbance in clear and in coloured bottles using a modified laboratory spectrophotometer. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9: 138–148.

ních lahví (středních absorbancí, optické dráhy) a postup výpočtu parametrů barvy z naměřených hodnot absorbancí.

Měření barvy na aparatuře Colorturb v zelených lahvích je možné provádět s přesností na 0,4 j. EBC, toto měření nemůže nahradit přesné stanovení barvy na spektrofotometru. Naproti tomu změny barvy v jedné lahvi je možné měřit s přesností lepší než 0,1 j. EBC, a to umožňuje přesné sledování vývoje barvy vzorku v závislosti na jeho tepelném a světelném poškození. Hlavním přínosem přístroje Colorturb je, že dovoluje sledovat současně změny zákalu a barvy v uzavřených lahvích.

## PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory Technologické agentury ČR, programu ALFA, projektu TA01011423 „Přístroj a metoda stanovení zákalu a barvy lahvových vzorků nápojů a jiných kapalin v teplotně řízené měřící komoře“.

*Manuscript received / Do redakce došlo: 10/08/2018  
Accepted for publication / Přijato k publikování: 27/08/2018*