



LANGE 

DOC022.98.90373

LZV936
DR 6000

02/2012, Edition 1A

Bedienungsanleitung de
User Manual en

Deutsch	3
English	25

Allgemeine Informationen

Sicherheitshinweise

Lesen Sie die gesamte Bedienungsanleitung sorgfältig durch, bevor Sie das Gerät auspacken, aufstellen und in Betrieb nehmen. Achten Sie auf alle Gefahren- und Warnhinweise. Nichtbeachtung kann zu schweren Verletzungen des Bedieners oder zu Beschädigungen am Gerät führen.

Um sicherzustellen, dass die Schutzvorrichtungen des Geräts nicht beeinträchtigt werden, darf dieses Gerät auf keine andere als die in dieser Bedienungsanleitung beschriebene Weise verwendet oder installiert werden.

Gefahrenhinweise in dieser Bedienungsanleitung

GEFAHR

Zeigt eine potenziell oder unmittelbar gefährliche Situation an, die, wenn sie nicht vermieden wird, zum Tod oder zu schweren Verletzungen führt.

WARNUNG

Zeigt eine potenziell oder unmittelbar gefährliche Situation an, die, wenn sie nicht vermieden wird, zum Tod oder zu schweren Verletzungen führen kann.

VORSICHT

Kennzeichnet eine mögliche Gefahrensituation, die geringfügige oder mittel-schwere Verletzungen zur Folge haben kann.



ACHTUNG

Kennzeichnet eine Situation, die, wenn sie nicht vermieden wird, zu Schäden am Gerät führen kann. Informationen, die besonders hervorgehoben werden sollen.

Hinweis: Informationen, die Aspekte aus dem Haupttext ergänzen.

Warnschilder

Beachten Sie alle Kennzeichen und Schilder, die am Gerät angebracht sind. Nichtbeachtung kann Personenschäden oder Beschädigungen des Geräts zur Folge haben. Für auf dem Instrument angebrachte Symbole finden sich in der Betriebsanleitung entsprechende Warnhinweise.

	Dieses Symbol kann am Gerät angebracht sein und verweist auf Bedienungs- und/oder Sicherheitshinweise in der Betriebsanleitung.
	Mit diesem Symbol gekennzeichnete elektrische Geräte dürfen ab dem 12. August 2005 europaweit nicht mehr im unsortierten Haus- oder Gewerbemüll entsorgt werden. Gemäß geltenden Bestimmungen (EU-Direktive 2002/96/EG) müssen ab diesem Zeitpunkt Verbraucher in der EU elektrische Altgeräte zur Entsorgung an den Hersteller zurückgeben. Dies ist für den Verbraucher kostenlos. Hinweis: Wenden Sie sich an den Hersteller oder Lieferanten, um zu erfahren, wie Sie ausgediente Geräte, vom Hersteller geliefertes elektrisches Zubehör sowie alle Hilfsartikel zur sachgemäßen Entsorgung oder Wiederverwertung zurückgeben können.

Installationshinweise

1. Wählen Sie **SYSTEM CHECK > GERÄTE-UPDATE**.
2. Schließen Sie den USB Stick mit der Zusatz-Software „Brauerei-Analytik LZV936“ an einen USB-Anschluss (Typ A) des DR 6000 an.
3. Bestätigen Sie mit **OK**.
Die Software wird installiert.
4. Schalten Sie das DR 6000 nach der vollständigen Installation am Netzschalter aus und starten es erneut.
Hinweis: Warten Sie vor jedem erneuten Einschalten ca. **20 Sekunden**, um die Elektronik und Mechanik des Geräts nicht zu beschädigen.

Chemische und biologische Sicherheit

⚠ GEFAHR

Das Arbeiten mit chemischen Proben, Standards und Reagenzien ist mit Gefahren verbunden. Es wird dem Benutzer dieser Produkte empfohlen, sich vor der Arbeit mit sicheren Verfahrensweisen und dem richtigen Gebrauch der Chemikalien vertraut zu machen und alle entsprechenden Sicherheitsdatenblätter aufmerksam zu lesen.

Während der Analyse der Proben kann der Einsatz von toxischen, leicht entzündlichen oder ätzenden Chemikalien erforderlich sein.

- Bitte beachten Sie die Gefahrenhinweise zum Umgang mit dem entsprechenden chemischen Stoff auf der Verpackung desselben.
- Sämtliche verbrauchte Lösungen müssen in Übereinstimmung mit den nationalen Vorschriften und Gesetzen entsorgt werden.

Einführung

Die Zusatz-Software Brauerei-Analytik LZV936 ist eine Zusammenstellung aller spektralphotometrischer Applikationen, die für die Brauerei-Analytik relevant sind. Die Arbeitsvorschriften sind den MEBAK-Handbüchern entnommen. Die Vorschriften beziehen sich in der Regel auf den Stand der 4. Auflage von 2002. Für viele Analysen bietet sich der Sipper SIP 10 zur komfortablen Durchführung des Tests mit einer Durchflussküvette an.

Auswahl eines gespeicherten Tests

1. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME**. Eine alphabetisch geordnete Liste aller verfügbaren Programme wird angezeigt. Die Methoden der Zusatz-Software Brauerei-Analytik LZV936 befinden sich am Ende der Liste.
2. Wählen Sie ein Programm aus, in dem Sie die entsprechende Zeile aktivieren.

Hinweis: Die Programme der Brauerei-Analytik haben die Nummer 2001 bis 2017. Wählen Sie **AUSWAHL NACH NR.** und bestätigen Sie die Eingabe mit **OK**.

3. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.

Verzeichnis der Abkürzungen

Allgemeine Hinweise

Reagenzien, wenn nicht anders vermerkt, in p.a. (z.A.)-Qualität. Lösungen, wenn nicht anders vermerkt, wässrig.

dest. H₂O	destilliertes bzw. entmineralisiertes Wasser
sec	Sekunden
min	Minuten
h	Stunden
s	Standardabweichung
r	Wiederholbarkeit (95%)
R	Vergleichbarkeit (95%)
V_k	Variationskoeffizient
m	Mittelwert

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden

Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analytikkommission (MEBAK)

Herausgegeben vom Vorsitzenden Dr. Heinrich Pfenninger

Selbstverlag der MEBAK

D-85350 Freising-Weihenstephan

4. Auflage, 2002

Arbeitsvorschriften

Bittereinheiten (EBC-Methode)

Prinzip

Die Bitterstoffe, hauptsächlich Iso- α -Säuren, werden mit Iso-Oktan aus der angesäuerten Probe extrahiert und die Konzentration im Auszug spektralphotometrisch bestimmt.

Anwendungsbereich

Bier, Würzen

Messbereich

10–40 BE (Bier)
20–60 BE (Würze)

Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmitteldichten Verschlüssen, 35 mL
- Glaskugeln
- Schüttelmaschine
- Zentrifuge, 3000 Upm
- Spektralphotometer, 275 nm
- 10 mm-Rechteckküvette QS

Reagenzien

- Salzsäure, 6N
- Iso-Oktan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein (Extinktion gemessen in 10 mm-Rechteckküvette QS bei 275 nm gegen dest. H₂O <0,010) (z.B. Uvasol)

Probenvorbereitung

1. Klären Sie Würze und trübes Bier durch Zentrifugieren bei **3000 Upm** in **15 min** (Probe nicht filtrieren)
2. Befreien Sie die Probe ohne Schaumverlust vom Kohlendioxid.
3. Pipettieren Sie **10 mL** (bzw. 5 mL Würze + 5 mL dest. H₂O) der auf **20 °C** (68 °F) temperierten Probe in ein Zentrifugenglas.
4. Geben Sie **0,5 mL** 6N Salzsäure, **20 mL** Iso-Oktan und **3** Glaskugeln zu.
5. Verschließen Sie das Zentrifugenglas und **15 min** bei **20 °C** (68 °F) maschinell schütteln lassen.
6. Zentrifugieren Sie **3 min** bei **3000 Upm**.
7. Messen Sie die Extinktion des Iso-Oktanauszuges in 10 mm-Rechteckküvette bei **275 nm** gegen Iso-Oktan der gleichen Qualität (Blindwert).

Angabe der Ergebnisse

Bittereinheiten (BE) ohne Dezimalen

Genauigkeit

$r = -0,36 + 0,05 m$
 $R = 0,72 + 0,14 m$

Normwerte

Bier: 10–40 BE, je nach Art, Sorte, Typ und Herkunft
Würze: 20–60 BE, je nach Bier und Bitterstoffausbeute

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden
4. Auflage 2002, Band II, S. 114ff

Arbeitsgang Bittereinheiten

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2001** ein für das Programm „Bittereinheiten Bier“. Bestätigen Sie mit **OK**.
Geben Sie die Nummer **2003** ein für das Programm „Bittereinheiten Würz“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit dem vorbereiteten Iso-Oktan ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.

Gesamtpolyphenole (EBC-Methode)

Prinzip

Polyphenole reagieren mit Eisen(III)-Ionen in alkalischer Lösung unter Bildung gefärbter Eisenkomplexe; die entstehende bräunliche Färbung wird spektralphotometrisch gemessen.

Anwendungsbereich

Bier, Würzen

Messbereich

0–800 mg/L

Zubehör

- Zentrifuge
- Spektralphotometer, 600 nm
- 10 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

- Carboxymethylcellulose-Ethylendiamintetraessigsäurelösung (CMC-EDTA-Na):
 - a. **10 g** CMC (niederviskos) und 2 g EDTA-Na₂ einwiegen
 - b. Die Substanzen unter Rühren in ca. **500 mL** H₂O lösen, nach vollständiger Lösung mit H₂O auf **1 L** auffüllen, falls erforderlich, durch Zentrifugieren klären.
- Ammoniumeisen(III)-citrat, 3,5 %:
 - a. **3,5 g** Ammoniumeisen(III)-citrat, grün (16 % Fe) in H₂O auf **100 mL** lösen; die Lösung muss vollkommen klar sein und ist etwa 1 Woche haltbar
 - b. Ammoniak, verdünnt:
1 Teil Ammoniak konzentriert (d = 0,91) mit **2 Teilen** H₂O verdünnen

Probenvorbereitung

1. Entfernen Sie durch Schütteln das Kohlendioxid aus dem Bier.
2. Klären Sie trübe Würze oder Biere durch Zentrifugieren.
3. Dosieren Sie **10 mL** Probe + **8 mL** CMC-EDTA-Lösung in einem 25 mL Messkolben und mischen Sie gründlich.
4. Geben Sie **0,5 mL** Eisen(III)-Lösung zu und mischen Sie **gründlich**.
5. Geben Sie **0,5 mL** verdünnte Ammoniaklösung zu und mischen Sie **gründlich**.
6. Füllen Sie mit H₂O auf **25 mL** auf und mischen Sie **gründlich**.
7. Messen Sie nach **10 min** die Extinktion in einer 10 mm-Rechteckküvette bei **600 nm** gegen einen Blindwert.
8. **Herstellung des Blindwerts**
 - a. Dosieren Sie **10 mL** Probe (Bier durch Schütteln von Kohlendioxid befreien, trübe Würze oder Biere durch Zentrifugieren klären) in einen 25 mL Messkolben.
 - b. Geben Sie **8 mL** CMC-EDTA-Lösung zu und mischen Sie **gründlich**.
 - c. Geben Sie **0,5 mL** verdünnte Ammoniaklösung zu und mischen Sie **gründlich**.
 - d. Füllen mit H₂O auf **25 mL** auf und mischen Sie **gründlich**.

Hinweis: Mischen Sie nach jedem Zusatz der einzelnen Reagenzien die Lösungen gründlich.

Angabe der Ergebnisse

In mg/L ohne Dezimalen

Genauigkeit

$s = \pm 9$

Normwerte

Bier: 150–200 mg/L

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden
4. Auflage 2002, Band II, S. 107ff

Arbeitsgang Gesamtpolyphenole

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2002** ein für das Programm „Gesamtpolyphenole“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.

Reduktionsvermögen (Spektralphotometrische Methode)

Das Reduktionsvermögen ist ein Maß für die im Bier vorhandenen, schnell reduzierenden Substanzen. Reduktone kommen im Bier in relativ geringer Menge vor, haben jedoch eine große Bedeutung für die chemisch-physikalische, die biologische und die geschmackliche Stabilität.

Prinzip

Reduktone reduzieren innerhalb einer gewissen Zeitspanne eine bestimmte Menge von Tillmanns-Reagenz (2,6-Dichlorphenol-Indophenol, DPI). Die Entfärbung des Reagenzes wird spektralphotometrisch gemessen und berechnet.

Messbereich

0–100

Zubehör

- Spektralphotometer, 520 nm
- 10 mm-Rechteckküvette OS
- Stoppuhr
- Wasserstrahlpumpe

Reagenzien

- 2,6-Dichlorphenol-Indophenol, 0,005 M (DPI-Lösung, Molekulargewicht des Natriumsalzes 290,08):
 - a. Wiegen Sie in ein Becherglas ca **100 mg** DPI ein, ca. **25 mL** dest. H₂O zufügen und unter Erwärmen (auf etwa **60 °C** (140 °F)) lösen.
 - b. Überspülen Sie den Inhalt nach dem Abkühlen in einen 50 mL Messkolben und füllen Sie auf **50 mL** auf. Filtrieren Sie durch einen Weißbandfilter.
 - c. Geben Sie **10 mL** Filtrat, **1 g** KJ und **2 mL** H₂SO₄ (1+6) in einen 150 mL Erlenmeyerkolben und titrieren Sie mit 0,01 N Natriumthiosulfat bis zum Farbumschlag gegen Stärkekleister.

- d. Berechnen Sie den Indikatorgehalt:
verbrauchte mL x 14,5 = mg Indikator in 100 mL
- e. Verdünnen Sie das restliche Filtrat so, dass 100 mL Lösung 145 mg Indikator enthalten.
- f. Die Lösung ist in randvollen, braunen Flaschen bei **+4 °C** (39 °F) ca. 1 Woche haltbar.
- Phosphat-Citrat-Puffer, pH = 4,35:
- Lösen Sie **31,60 g** Dinatriumhydrogenphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$) und **11,75 g** Citronensäure ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$) in dest. H_2O und verdünnen Sie auf **1 L**.

Probenvorbereitung

1. Temperieren Sie das Bier auf **20 °C** (68 °F) und entfernen Sie unter Vakuum (Wasserstrahlpumpe) das Kohlendioxid.
2. Pipettieren Sie in ein Reagenzglas mit Glasstopfen **10 mL** entkohlensäueretes Bier und lassen Sie bei **leicht geneigtem** Glas **0,25 mL** 0,005 M DPI-Lösung zufließen.
3. Verschließen Sie **unverzüglich** das Reagenzglas und mischen Sie durch **zweimaliges** Umkippen. Setzen Sie nach erstem Umkippen die Stoppuhr in Gang.
4. Befüllen Sie mit der Mischung **sofort** eine 10 mm-Rechteckküvette und messen Sie **60 sec.** nach Zugabe des Reagenzes die Extinktion bei **520 nm** gegen den Blindwert (entkohlensäueretes Bier ohne Zusatz des Reagenzes).

Angabe der Ergebnisse

Anteil der vorgelegten DPI-Menge in %, der von 10 mL Bier in 60 sec. reduziert wird.

Genauigkeit

$$V_{kr} = \pm 1 \%$$

Normwerte

> 60	sehr gut
50–60	gut
45–50	befriedigend
< 45	schlecht

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden
4. Auflage 2002 Band II, Seite 104ff

Arbeitsgang Reduktionsvermögen

1. Bereiten Sie die Blindwerte und Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2004** ein für das Programm „Reduktionsvermögen“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein. Nach 60 sec tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

***Hinweis:** Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 5, das heißt, jede Probe erfordert einen spezifischen Blindwert.*

Anthocyanogene (Methode Harris und Ricketts)

Die Anthocyanogene (Leukoanthocyanidine) sind phenolische Verbindungen, die durch heiße Salzsäure in rotgefärbte Anthocyanidine übergeführt werden. Menge und Kondensations- bzw.

Polymerisationsgrad dieser Verbindungen nehmen Einfluss auf die Ausbildung kolloidaler Trübungen im Bier. Stabilisierungsmaßnahmen mit PVPP korrelieren mit einer Abnahme des Anthocyanogengehaltes.

Prinzip

Die Anthocyanogene werden an Polyamid adsorbiert, das Adsorbat in Butanol-Salzsäure gelöst und erhitzt, wobei eine rotgefärbte Lösung entsteht, deren Intensität photometrisch gemessen wird.

Anwendungsgebiet

Bier, Würze

Messbereich

0–100 mg/L

Zubehör

- Schüttelmaschine
- Zentrifuge
- Mischzylinder mit Schliffstopfen, 50 mL
- Fritte 1 G4
- Saugflasche
- Reagenzgläser mit Schliffstopfen, 30 mL, Graduierung bis 25 mL
- Vakuumpumpe
- Spektralphotometer, 550 nm
- 10 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

- MN-Polyamid SC 6
- **Lösung 1:** n-Butanol / 37%ige Salzsäure 5+1 (V/V)
- **Lösung 2:** 120 mg Eisen(II)-sulfat ($\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$) in 100 mL Lösung 1 auflösen

Probenvorbereitung

1. Zentrifugieren Sie Würzen und Jungbiere **10 min** bei **3000 Upm**.
2. Pipettieren Sie **5 mL** Bier (oder Würze) + **5 mL** dest. H_2O in einen 50 mL-Mischzylinder.
3. Pipettieren Sie **10 mL** dest. H_2O (Blindwert) in einen 50 mL-Mischzylinder.
4. Spülen Sie je **0,5 g** Polyamid-Pulver mit **10 mL** dest. H_2O in die Mischzylinder.
5. Schütteln Sie beide Mischzylinder **40 min** maschinell.
6. Filtrieren Sie die Suspensionen durch je eine 1 G4-Fritte und spülen Sie **zweimal** mit ca. **20 mL** dest. H_2O nach.
7. Saugen Sie Fritten und Polyamid-Pulver trocken, überführen Sie den Rückstand jeweils mit einem Spatel quantitativ in das Reagenzglas und spülen Sie mit **15 mL** Lösung 1 nach.
8. Geben Sie je **0,5 mL** Lösung 2 zu und erhitzen beide Reagenzgläser **30 min** im siedenden Wasserbad (während der ersten 5 min mit einem Glasstab gut rühren).
9. Nehmen Sie die Glasstäbe heraus, spülen Sie mit wenig Lösung 1, temperieren Sie die Reagenzgläser auf 20 °C (68 °F) und füllen mit Lösung 1 jeweils auf 25 mL auf.
10. Messen Sie die Extinktion der Lösung in 10 mm-Rechteckküvette bei **550 nm** gegen einen gleichbehandelten Blindwert (10 mL dest. H_2O anstelle von Bier).

Angabe der Ergebnisse

In mg/L ohne Dezimalen

Genauigkeit

r = 9

Normwerte

50–70 mg/L je nach Rohstoffen und technologischen Maßnahmen; bei Stabilisierung mit PVPP entsprechend weniger.

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden 4. Auflage 2002, Band II, Seite 109ff

Arbeitsgang Anthocyanogene

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2005** ein für das Programm „Anthocyanogene“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.

Bierfarbe (Spektralphotometrische EBC-Methode)

Prinzip

Bei dieser Methode versucht man subjektive Einflüsse des menschlichen Auges sowie Unterschiede im Farbeindruck beim Vergleich der Bierproben mit der Farbscheibe zu eliminieren. Diese apparative Methode gilt als **offizielle Bezugsmethode**.

Die Extinktion wird in einer 10 mm-Rechteckküvette bei einer Wellenlänge von 430 nm gemessen. Die Farbe in EBC-Einheiten ergibt sich durch Umrechnung mit einem geeigneten Faktor.

Anwendungsbereich

Betriebswürze, Bier, flüssige Malz-Ersatzstoffe jeglicher Art

Messbereich

0–60 units

Zubehör

- Spektralphotometer, 430 nm ($\pm 0,5$ nm)
- 10 mm-Rechteckküvette OS

Probenvorbereitung

1. Verdünnen Sie die Probe so, dass die Extinktion innerhalb der Linearität des Spektralphotometers liegt.
2. Filtrieren Sie die Probe durch einen Membranfilter. Die Filtration kann unterbleiben, wenn die Trübung der verdünnten Probe unter 1 EBC-Trübungseinheiten liegt.
3. Klären Sie die Probe bei Bedarf durch Zusatz von 0,1 % Kieselgur und einer, der Membranfiltration vorgeschalteten Filtration.
4. Messen Sie die Extinktion (E) bei **430 nm** gegen dest. H₂O (Blindwert).

Angabe der Ergebnisse

In EBC-Einheiten mit 2 bezeichnenden Ziffern

Störungen

Eine spektrometrische Absorptionskurve gibt nicht den Farbeindruck des menschlichen Auges wieder, da Licht von gleicher Intensität in verschiedenen Teilen des Spektrums das Auge unterschiedlich beeinflusst. Außerdem sind die Extinktionskurven bei 430 nm sehr steil, so dass leichte Messfehler vorkommen können. Weiterhin sind Unterschiede gegeben beim Vergleich heller Biere mit verdünnten dunklen Bieren.

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysemethoden 4. Auflage 2002, Band II, Seite 88ff

Arbeitsgang Bierfarbe

1. Bereiten Sie die Nulllösung und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2006** ein für das Programm „Bierfarbe“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie die Nulllösung (dest. H₂O) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.

Freier Amino-Stickstoff (Ninhydrin-Methode nach EBC)

Prinzip

Die Untersuchungslösung wird bei pH 6,7 mit Ninhydrin erhitzt und die entstehende Farbe bei 570 nm gemessen. Die Methode erfasst die Aminosäuren, Ammoniak und zusätzlich die endständigen Alpha-Amino-Gruppen der Peptide und Proteine. Prolin wird bei der verwendeten Wellenlänge teilweise mitbestimmt. Die Methode ist für Alpha-Amino-Stickstoff nicht spezifisch, weil Gamma-Amino-Buttersäure, welche in Würzen vorkommt, mit Ninhydrin ebenfalls eine Färbung ergibt.

Anwendungsbereiche

Bier, Würzen

Messbereich

0–400 mg/L

Zubehör

- Reagenzgläser mit Schliffstopfen, 16 x 150 mm
- Variable Pipette 1,0–5,0 mL (BBP065)
- Pipettenspitzen für Pipette (BBP068)
- Kochendes Wasserbad
- Wasserbad von 20 °C (68 °F)
- Spektralphotometer, 570 nm
- 10 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

- **Farbreagenz:** **10,0 g** Dinatrium-Hydrogenphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$), **6,0 g** Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4), **0,5 g** Ninhydrin, **0,3 g** Fructose in dest. H_2O lösen und auf 100 mL auffüllen (Diese Lösung ist 2 Wochen in einer dunklen Flasche haltbar. Der pH -Wert muss 6,6–6,8 betragen).
- **Verdünnungslösung:** **2 g** Kaliumjodat in **600 mL** dest. H_2O auflösen und **400 mL** 96 %iges Ethanol zusetzen
- **Stammlösung:** **107,2 mg** Glycin in 100 mL dest. H_2O lösen. Diese Stammlösung bei 0 °C (32 °F) aufbewahren.
- **Standardlösung:** **1 mL** Stammlösung mit dest. H_2O auf **100 mL** auffüllen. Diese Standardlösung enthält 2 mg/L Aminostickstoff.

Probenvorbereitung

1. Verdünnen Sie Würze 100-fach, Bier 50-fach (1–3 mg/L Aminostickstoff).
2. Analysieren Sie die Probe, Standardlösung und den Blindwert jeweils dreifach.
3. Pipettieren Sie **2 mL** der verdünnten Probe bzw. der Standardlösung bzw. dest. H_2O in ein Reagenzglas.
4. Geben Sie **1 mL** Farbreagenz zu und mischen Sie.
5. Verschließen Sie die Reagenzgläser locker mit Glasstopfen, um Verdampfungsverluste zu vermeiden.
6. Erhitzen Sie die Reagenzgläser exakt **16 min** in kochendem Wasserbad, anschließend **20 min** im Wasserbad von 20 °C (68 °F) abkühlen lassen.
7. Geben Sie **5 mL** Verdünnungslösung zu.
8. Messen Sie die Extinktion innerhalb von 30 min in einer 10 mm-Rechteckküvette bei **570 nm** gegen den gleichermaßen behandelten Blindwert (dest. H_2O + Farbreagenz).
9. **Korrektur für dunkle Würzen und Biere (dreifach vornehmen)**
 - a. Geben Sie **2 mL** der verdünnten Probe in ein Reagenzglas.
 - b. Geben Sie anstelle des Farbreagenz **1 mL** dest. H_2O zu und verfahren Sie wie oben beschrieben weiter.
 - c. Messen Sie nach Zugabe von **5 mL** Verdünnungslösung gegen dest. H_2O .

Angabe der Ergebnisse

In mg/L ohne Dezimale

Genauigkeit

$r = 17$

$R = 28$

Normwerte

Ausschlagwürze (12 %ig): 200–250 mg/L

Bier (12 %ig): 100–120 mg/L

Für eine befriedigende Haupt- und Nachgärung sollten etwa 220–250 mg/L freier Aminostickstoff in der Anstellwürze vorhanden sein.

Störungen

Die Aminosäuren liegen bei dieser Untersuchung in sehr geringen Mengen vor, so dass Kontaminationen unbedingt zu vermeiden sind. Die sorgfältig gereinigten Gläser dürfen nur an ihrer Außenseite berührt werden. Schliffstopfen etc. sind mit Pinzetten anzufassen.

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden 4. Auflage 2002
Band II, S. 62ff

Bemerkung

Die im Anschluss vorgestellten Arbeitsvorschriften sehen für helle Biere und Würzen eine Dreifach-Bestimmung der Blindwerte, Standardlösung und Probe ohne Korrektur vor.

Für dunkle Biere und Würzen enthält die Arbeitsvorschrift eine Dreifach-Bestimmung von Blindwert, Standardlösung, Korrektur und Probe.

Arbeitsgang Freier Amino Stickstoff (FAN) in hellen Würzen und hellen Bieren

1. Bereiten Sie die Nulllösung, Blindwerte, Standardlösungen und Probe jeweils dreimal entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2007** ein für das Programm „FAN helle Würze“. Bestätigen Sie mit **OK**.

Geben Sie die Nummer **2008** ein für das Programm „FAN helles Bier“. Bestätigen Sie mit **OK**.

4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie die Nulllösung (dest. H₂O) ein und tippen Sie auf **NULL**.
Im Display wird **Z1** angezeigt.
6. Setzen Sie die Blindwertküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R1** angezeigt.
*Hinweis: Mit den Blindwertküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog. Anzeige im Display: **R2** bzw. **R3**.*
7. Setzen Sie die Standardküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R4** angezeigt.
*Hinweis: Mit den Standardküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog. Anzeige im Display: **R5** bzw. **R6**.*
8. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R7** angezeigt.
*Hinweis: Mit den Analysenküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog. Anzeige Display: **R8** bzw. nach der letzten Messung wird das Ergebnis angezeigt.*

Das Ergebnis FAN wird in mg/L angezeigt.
Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 8.

Arbeitsgang Freier Amino Stickstoff (FAN) in dunklen Würzen und dunklen Bieren

1. Bereiten Sie die Nulllösung, Blindwerte, Standardlösungen, Korrekturlösungen und Probe jeweils dreimal entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2015** ein für das Programm „FAN dunkle Würze“. Bestätigen Sie mit **OK**.

Geben Sie die Nummer **2016** ein für das Programm „FAN dunkles Bier“. Bestätigen Sie mit **OK**.

4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie die Nulllösung (dest. H₂O) ein und tippen Sie auf **NULL**.
Im Display wird **Z1** angezeigt.

6. Setzen Sie die Blindwertküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R1** angezeigt.

Hinweis: Mit den Blindwertküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog.
Anzeige im Display: **R2** bzw. **R3**.

7. Setzen Sie die Standardküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R4** angezeigt.

Hinweis: Mit den Standardküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog.
Anzeige im Display: **R5** bzw. **R6**.

8. Setzen Sie die Korrekturküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R7** angezeigt.

Hinweis: Mit den Korrekturküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog.
Anzeige im Display: **R8** bzw. **R9**.

9. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteter Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R10** angezeigt.

Hinweis: Mit den Analysenküvetten 2 und 3, verfahren Sie analog.
Anzeige Display: **R11** bzw. nach der letzten Messung wird das Ergebnis angezeigt.

Das Ergebnis FAN wird in mg/L angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 9.

Wasserdampfflüchtige Phenole

Der Grad der Räucherung von Whisky-Malzen wird durch die Bestimmung von wasserdampfflüchtigen Phenolen ermittelt. Für die Bierherstellung werden Rauchmalze nur in geringem Umfang für Rauchbiere, eine fränkische Spezialität, benötigt. Technische Störungen während des Darrprozesses können aber dazu führen, dass Malze, die für normale Biere zur Verarbeitung gelangen, einen Rauchgeschmack aufweisen, der dann im fertigen Bier festzustellen ist, und vom Käufer beanstandet wird.

Neben der organoleptischen Prüfung hat sich hier am besten die spektralphotometrische Bestimmung der wasserdampfflüchtigen Phenole bewährt, um festzustellen, welche Malzlieferung den unerwünschten Rauchgeschmack einbringt, und inwieweit Tankbiere oder abgefüllte Biere damit belastet sind.

Prinzip

Die durch Wasserdampf gewonnene Phenolfraction wird mit 4-Amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on (4-Aminophenazon) im alkalischen Milieu und unter der Oxidationswirkung von Kaliumhexacyanoferrat(III) zu einem Farbkörper umgesetzt, der nach Chloroformextraktion spektralphotometrisch vermessen werden kann.

Anwendungsbereiche

Malz, Bier

Messbereich

0–20 mg/kg

Bemerkungen

Weizenbiere können nach dieser Methode nicht analysiert werden, da sie durch die Tätigkeit der obergärigen Hefe eine hohe Menge an wasserdampfflüchtigen Phenolen, die aber keinen Rauchgeschmack aufweisen, enthalten.

Zubehör

- DLFU-Mühle, Mahlsplatt 1 mm
- Wasserdampf-Destillationsanlage
- Scheidetrichter, 1 L

- Spektralphotometer, 460 nm
- 40 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

- Chloroform, reinst
- Silicon Antischaum-Emulsion
- Phosphorsäure, konz. ($d=1,71$)
- Kupfersulfat, $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$, 10 %
- Ammoniumchlorid, 5 %
- 4-Amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on, 2 %: täglich frisch ansetzen
- Kaliumhexacyanoferrat(III), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 8 %: täglich frisch ansetzen
- Phenolstandardlösung:
1,000 g Phenol in dest. H_2O zu 1000 mL lösen (1 mL=1 mg). Die Lösung muss klar und farblos sein. Von dieser Lösung Verdünnungen zum Aufstellen der Kalibrierkurve 0,02–0,1 mg/L bei Bedarf frisch zubereiten.
- Ammoniak, verdünnt (1+4):
1 Teil konz. Ammoniak ($d=0,91$) mit 4 Teilen dest. H_2O verdünnen.

Probenvorbereitung

1. Wasserdampfdestillation

- Geben Sie **50 g** Malzgrobschrot mit **500 mL** dest. H_2O (bei Untersuchungen von Bier 300 mL) in einen Destillationskolben.
- Geben Sie **3 mL** Kupfersulfatlösung zu.
- Stellen Sie den pH-Wert durch Zugabe von Phosphorsäure auf $\text{pH}<4$ ein.
- Geben Sie die Silicon Antischaum-Emulsion zu.
- Führen Sie die Wasserdampfdestillation durch bis 300 mL gewonnen sind.

2. Farbreaktion

- Geben Sie zum ganzen Destillat (bei echten Rauchmalzen oder Whiskymalzen entsprechend weniger, z.B. 100 mL) **10 mL** Ammoniumchloridlösung zu.
Zur Herstellung des Blindwertes setzen Sie 300 mL dest. H_2O ein statt Destillat und fügen ebenfalls **10 mL** Ammoniumchloridlösung zu.
- Schütteln Sie die Lösung.
- Stellen Sie jeweils (Destillat und Blindwert) den pH-Wert mit Ammoniak auf $\text{pH } 10,2 \pm 0,1$ ein.
- Überführen Sie die Lösungen in je einen 1 L-Scheidetrichter.
- Geben Sie je **3 mL** 4-Amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on und je **3 mL** Kaliumhexacyanoferrat(III) zu.
- Schütteln Sie die Lösung.
- Lassen Sie die Lösungen **3 min** ruhen.
- Schütteln Sie jeden Scheidetrichter **3 mal** mit je **10 mL** Chloroform aus (jeweils 1 min).
- Warten Sie zur Phasentrennung jeweils **10 min**.
- Filtern Sie die Chloroformextrakte durch Papierfilter in jeweils 25 mL-Messkolben.
- Waschen Sie die Filter mit etwas Chloroform nach.
- Füllen Sie mit Chloroform jeweils bis zur Marke auf.
- Messen Sie den Chloroformextrakt (vorbereitetes Destillat) in 40 mm-Rechteckküvette bei **460 nm** gegen vorbereiteten Blindwert.

3. Kalibrierwerte

- Mit Phenolstandardlösungen von 0,02–0,1 mg/L (300 mL einsetzen) Wasserdampfdestillation durchführen und wie oben beschrieben umsetzen.

Angabe der Ergebnisse

In mg/kg mit zwei Dezimalen (bzw. mg/L bei Bier)

Genauigkeit

$V_k = \pm 5 \%$ (Wiederholfehler)

Sollwerte

Malze: < 0,2 mg/kg; kein Rauchgeschmack zu erwarten
Biere: < 0,03 mg/L: in den meisten Fällen unbedenklich
Das Durchschlagen des Rauchgeschmackes ist von der
Bierzusammensetzung abhängig, weshalb die genannte Untergrenze
nur mit Einschränkungen gilt.

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden 3. Auflage, Band I

Arbeitsgang wasserdampfflüchtige Phenole

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2009** ein für das Programm „Wasserd.flü.Phenole“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

***Hinweis:** Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.*

Photometrische Jodprobe

Photometrische Jodprobe nach der neuen Methode (MEBAK ab 1993)

Prinzip

Höhermolekulare Dextrine und Stärke werden durch Zugabe von Ethanol zu Würze und Bier ausgefällt, abzentrifugiert, in Phosphatpuffer gelöst und mit Jodlösung versetzt. Je nach Molekulargewicht und Verzweigungsgrad der Erythrodextrine und Stärke bildet sich eine rote bis blaue Farbe, deren Intensität photometrisch gemessen wird.

Anwendungsbereich

Würze, Bier (Proben mit einem Jodwert > 0,8 müssen verdünnt werden.)
0–1 Jodwert

Zubehör

- Zentrifuge
- Zentrifugengläser mit Schliffstopfen, 100–110 mL Inhalt
- Schüttelmaschine
- Pipetten, 0,5 mL, 2 mL, 10 mL, 20 mL, 40 mL
- Spektralphotometer, 578 nm
- 40 mm-Rechteckküvette OS
- "Plumper" oder Kunststoffspatel
- Reagenzien
- Ethanol, 95 %
- Jodlösung, 1N (Stammlösung)
- Jodlösung, 0,02N (täglich neu aus der Stammlösung herstellen)
- Phosphatpufferlösung, 0,1M, pH 3,5: 0,1M KH₂PO₄-Lösung mit 0,1M Phosphorsäure auf pH 3,5 einstellen

Probenvorbereitung

1. Pipettieren Sie **10,0 mL** zentrifugierte Würze oder von Kohlendioxid befreites Bier in ein Zentrifugenglas.
2. Geben Sie **40,0 mL** Ethanol zu und schütteln Sie **10 min** maschinell.
3. Zentrifugieren Sie **5 min** bei **2500 Upm**.
4. Dekantieren Sie vorsichtig und möglichst vollständig die klare Phase ab.
5. Lösen Sie den Rückstand mit **20,0 mL** Phosphatpufferlösung durch **10 min** maschinelles Schütteln.
6. Zentrifugieren Sie die Lösung **5 min** bei **2500 Upm**.
7. Pipettieren Sie **2 mL** des Überstandes und **8 mL** Phosphatpufferlösung in eine 40 mm-Rechteckküvette und messen Sie bei **578 nm** gegen Phosphatpufferlösung.

8. Geben Sie **0,5 mL** 0,02N Jodlösung zu, mischen Sie **sofort** den Inhalt mit dem „Plumper“, nach **30 sec** messen.

9. Jodblindwert

- a. Pipettieren Sie **10 mL** Phosphatpufferlösung und **0,5 mL** 0,02N Jodlösung in eine 40 mm-Rechteckküvette und mischen Sie.
- b. Messen Sie die Extinktion bei **578 nm** gegen Phosphatpufferlösung.

Angabe der Ergebnisse

Extinktion auf 2 Dezimalen

Genauigkeit

$V_{kr} = \pm 3\%$

Normwerte

$< 0,3$ (Würze)

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden 4. Auflage 2002, Band II, Seite 34ff

Arbeitsgang photometrische Jodprobe

1. Bereiten Sie den Blindwert (Phosphatpuffer), den Jodblindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2010** ein für das Programm „Fotom. Jodprobe“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (Phosphatpuffer) ein und tippen Sie auf **NULL**.
Im Display wird **Z1** angezeigt.
6. Setzen Sie die Jodblindwertküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R1** angezeigt.
7. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R2** angezeigt.
8. Entnehmen Sie die Analysenküvette und dosieren Sie **0,5 mL** 0,02N Jodlösung in die Analysenküvette.
9. Mischen Sie den Inhalt **sofort** mit dem "Plumper" und setzen Sie die Analysenküvette nach 30 sec ein. Tippen Sie auf **MESSEN**.
Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 7. Die vorbereitete Jodblindwert-Lösung kann für die komplette Messreihe verwendet werden.

Thiobarbitursäurezahl (TBZ)

Die Thiobarbitursäurezahl gilt als summarische Kenngröße für die thermische Belastung von Malz und Würze. Sie ist eine Kennzahl, die außer 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) eine Vielzahl von Produkten der Maillard-Reaktion und andere organische Verbindungen erfasst.

Prinzip

Die Untersuchungsprobe wird mit essigsaurer Thiobarbitursäurelösung in Reaktion gebracht und die entstandene Gelbfärbung spektralphotometrisch gemessen.

Anwendungsbereich

Bier, Würze, Kongresswürze oder Malzauszug

Messbereich

0–100

Zubehör

- Wasserbad, 70 °C (158 °F)
- Braune Reaktionsgläser mit Schliff, 20 mL oder 25 mL
- Spektralphotometer, 448 nm
- 10 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

- Essigsäure, 90 %:
225 g Essigsäure 100 % (Eisessig) mit dest. H₂O auf 250 g verdünnen.
- Thiobarbitursäure, 0,02 mol/L:
0,288 g 2-Thiobarbitursäure (M = 144,15 g/mol) in 100 mL Messkolben mit 90 %iger Essigsäure unter Erwärmen im Wasserbad lösen und nach Abkühlen auf 20 °C (68 °F) mit 90 %iger Essigsäure zur Marke auffüllen. Täglich frisch herstellen.
- Kieselgur

Probenvorbereitung

Hinweis: Analysenvorschrift exakt einhalten, da sie einen empirischen Charakter hat.

1. Klären Sie trübe Untersuchungslösungen durch Filtration über Kieselgur.
2. **Verdünnung**
 - Würzen und Biere 10-fach mit dest. H₂O verdünnen
 - Kongresswürzen 5-fach mit dest. H₂O verdünnen
3. **Leerwert**
 - a. **10 mL** der verdünnten Probe mit **5 mL** 90 %iger Essigsäure versetzen, schütteln und wie beim Hauptwert weiterverfahren.
4. **Hauptwert**
 - a. **10 mL** der verdünnten Probe mit **5 mL** Thiobarbitursäure versetzen und schütteln.
 - b. **70 min** in ein Wasserbad von 70 °C (158 °F) stellen (direktes Sonnenlicht vermeiden, darauf achten, dass beim Einstellen der Reagenzgläser die Temperatur im Bad nur kurzfristig um 1–2 ° absinkt).
 - c. Nach Ablauf der Reaktionszeit Reagenzgläser rasch auf 20 °C (68 °F) abkühlen (stark fließendes kaltes Wasser oder Kältebad).
 - d. Gelbfärbung **sofort** in einer 10 mm-Rechteckküvette bei **448 nm** gegen dest. H₂O messen.

Angabe der Ergebnisse

Thiobarbitursäurezahl (TBZ), dimensionslose Zahl

Normwerte

Helle Ausschlagwürze < 45

Helle Kaltwürze (nach Würzekühlen) < 60

Literatur

MEBAK, Brautechnische Analysenmethoden 4. Auflage 2002, Band II, Seite 35ff

Arbeitsgang Thiobarbitursäurezahl in Bier/Würze und Kongresswürze

1. Bereiten Sie die Nulllösung, Leerwerte und Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2011** ein für das Programm „TBZ K-Würze“. Bestätigen Sie mit **OK**.
Geben Sie die Nummer **2012** ein für das Programm „TBZ Bier/Würze“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie die Nulllösung (dest. H₂O) ein und tippen Sie auf **NULL**.
Im Display wird **Z1** angezeigt.
6. Setzen Sie die Leerwertküvette (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Im Display wird **R1** angezeigt.
7. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Das Ergebnis wird im Display angezeigt.
Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6.

Iso- α - und α -Säuren

Prinzip

Die Bitterstoffe werden mit Iso-Oktan aus der angesäuerten Probe extrahiert, gewisse Störsubstanzen durch Waschen des Auszuges mit saurem Methanol entfernt und die Konzentration von Iso- α -Säuren sowie α -Säuren durch Messen der Extinktion in alkalischem Methanol bei 255 nm und 360 nm bestimmt.

Anwendungsbereich

Bier, Würze

Messbereich

0–60 mg/L

Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmitteldichtem Schraubverschluss, 100–110 mL Inhalt
- Schüttelmaschine
- Zentrifuge, 3000 Upm
- Spektralphotometer, 255 nm und 360 nm
- 10 mm-Rechteckküvette QS

Reagenzien

- Salzsäure, 6N
- Iso-Oktan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein
- Natriumsulfat, wasserfrei
- Methanol
- Salzsäure, 4N
- Natriumhydroxid, 6N, carbonatfrei
- saure Methanollösung:
64 mL Methanol und 36 mL 4N Salzsäure mischen (täglich neu herstellen)
- alkalische Methanollösung:
0,2 mL 6N Natriumhydroxid mit Methanol auf 100 mL auffüllen (täglich frisch herstellen)

Probenvorbereitung

1. Klären Sie Würze oder trübes Bier durch Zentrifugieren bei **3000 Upm** während **15 min** (nicht filtrieren).
2. Entfernen Sie das Kohlendioxid im Bier ohne Schaumverlust.
3. Pipettieren Sie **50 mL** der auf 20 °C (68 °F) temperierten Probe in ein Zentrifugenglas.
4. Geben Sie **3 mL** 6N Salzsäure und **25 mL** Iso-Oktan zu.
5. Verschließen Sie das Zentrifugenglas und schütteln Sie es **30 min** bei optimaler Mischintensität maschinell.
6. Zentrifugieren Sie zum Trennen der Phasen und Brechen der Emulsion **5 min** bei **3000 Upm**.
7. Nehmen Sie die untere wässrige Phase durch Absaugen mit einer Pipette ab und werfen Sie sie. Die Iso-Oktanphase mit so viel Natriumsulfat versetzen, dass diese nach kurzem kräftigen Schütteln klar ist.
8. Pipettieren Sie **10 mL** der Iso-Oktanphase in einen 25 mL Mischzylinder.
9. Geben Sie **10 mL** saure Methanollösung zu, verschließen Sie den Zylinder und mischen Sie den Inhalt durch 100maliges drehen des Zylinders.
10. Pipettieren Sie **5 mL** der überstehenden klaren Iso-Oktanphase in einen 25 mL-Messkolben.
11. Füllen Sie mit alkalischer Methanollösung bis zur Marke auf und mischen Sie die Lösung.
12. Messen Sie die Extinktion der Iso-Oktanlösung gegen einen Blindwert bei **255 nm** und **360 nm**.
13. **Blindwertvorbereitung**
 - a. Pipettieren Sie **5 mL** Iso-Oktan in einen 25 mL- Messkolben.
 - b. Füllen Sie mit alkalischer Methanollösung bis zur Marke auf und mischen Sie die Lösung.

Angabe der Ergebnisse

In mg/L ohne Dezimalen

Genauigkeit

Vkr = ± 5%

Normwerte

Bier: 10–40 mg/L Iso- α -Säuren, je nach Art, Sorte, Typ und Herkunft (< 2mg/L α -Säuren)

Würze: 15–50 mg/L Iso- α -Säuren, je nach Bier und Bitterstoffausbeute
1–15 mg/L α -Säuren je nach Isomerisationsgrad

Literatur

Brautechnische Analysemethoden 4. Auflage 2002, Band II, S. 116ff

Arbeitsgang Iso- α - und α -Säuren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2013** ein für das Programm „Iso- α - und α -Säuren“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Probe ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

***Hinweis:** Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 6. Der vorbereitete Blindwert kann für die komplette Messreihe verwendet werden.*

Vicinale Diketone (Diacetyl, 2,3-Pentandion)

Beim Hefestoffwechsel entstehen im Verlauf der Gärung 2-Acetylacetyl und 2-Acetylhydroxybutyrat. Durch Oxidation erfolgt eine Umwandlung in die vicinale Diketone Diacetyl (2,3-Butandion) und 2,3-Pentandion. Diacetyl kann aber auch als charakteristisches Stoffwechselprodukt bestimmter Mikroorganismen auftreten. Sobald der Schwellenwert überschritten ist, erhält das Bier ein Fehl aroma.

Die photometrische Bestimmungsmethode wird in der Betriebskontrolle häufig der gaschromatographischen Methode vorgezogen, da sie schnell und ohne großen apparativen Aufwand durchgeführt werden kann. Sie erlaubt aber nicht die wünschenswerte Differenzierung zwischen Diacetyl und Pentandion.

Prinzip

Die Grundlage der Methode ist die Reaktion zwischen Diacetyl bzw. 2,3-Pentandion und 1,2-Phenylendiamin unter Bildung von 2,3-Dimethylchinoxalin, das eine spezifische Absorption bei 335 nm aufweist.

Anwendungsbereich

Bier

Messbereich

0–1 mg/kg

Zubehör

- Apparat zur Stickstoffbestimmung mit Heizmantel, Makro-Ausführung (z.B. von Schott). Der mitgelieferte Kühler muss möglicherweise durch einen größeren ersetzt werden, wenn das Destillat nicht ausreichend gekühlt wird. Andere, ähnliche Apparate, z.B. von Büchi, sind ebenso geeignet.
- Spektralphotometer, 335 nm
- 20 mm-Rechteckküvette QS

Reagenzien

- Salzsäure, 4N
- 1,2-Phenylendiamin, 1 % in 4N Salzsäure (Lösung jeweils am Tag der Anwendung frisch herstellen und im Dunkeln aufbewahren). 1,2-Phenylendiamin ist giftig und ein Allergen; es ist vorsichtig zu handhaben, mit Handschuhen arbeiten
- Antischaum-Emulsion (frei von Diketonen)

Probenvorbereitung

1. Geben Sie **100 g** nicht entkohlensäueretes Bier in eine vorgeheizte Destillationsapparatur.
2. Fügen Sie einen Tropfen Antischaum-Emulsion zu.
3. Regeln Sie die Dampfzufuhr so, dass innerhalb von 2 min ca. 25 mL Destillat übergehen.
4. Fangen Sie das Destillat in einem 25 mL- Messkolben auf.
5. Pipettieren Sie je **10 mL** des durchmischten Destillates in zwei 50 mL-Erlenmeyerkolben (Hauptwert, Blindwert).
6. **Blindwert**
 - Dosieren Sie **2,5 mL** 4N Salzsäure hinzu.
7. **Hauptwert**
 - Dosieren Sie **0,5 mL** 1,2-Phenylendiaminlösung hinzu, mischen und **30 min** im Dunkeln stehen lassen.
 - Dosieren Sie **2 mL** 4N Salzsäure hinzu.
8. Messen Sie innerhalb von **20 min** die Extinktion des Hauptwertes gegen den Blindwert bei **335 nm** in einer 20 mm-Rechteckküvette.

Angabe der Ergebnisse

In mg/kg mit zwei Dezimalen

Genauigkeit

$s = \pm 0,01$

Sollwert

Für helles Vollbier $<0,15$ mg/kg

Bemerkungen

Bei Serienanalysen braucht die Apparatur zwischen den einzelnen Bestimmungen nicht gereinigt oder gespült, sondern kann, nach dem selbsttätigen Entleeren, sofort wieder mit Bier befüllt werden. Nach einer Reihe von Destillationen sollten die anhaftenden Rückstände mit verdünnter Natronlauge oder einem anderen geeigneten Reinigungsmittel entfernt werden.

Vorhandene Acetohydroxysäuren im abgefüllten Bier werden bei Anwesenheit von Sauerstoff zu Diketonen oxidiert. Die Bierprobe kann zur Analyse des Gesamt-Diketongehaltes vor der eigentlichen Analyse 1,5 h bei 70 °C (158 °F) temperiert werden.

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysemethoden 4. Auflage 2002
Band II, Seite 134ff

Arbeitsgang vicinale Diketone

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2014** ein für das Programm „Vicinale Diketone“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den **Blindwert** (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit dem vorbereiteten Hauptwert ein und tippen Sie auf **MESSEN**.

Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 5.

Eisen

Eisen kann durch die Rohstoffe sowie durch Filterhilfsmittel bzw. Klärmittel ins Bier gelangen und aus Apparaten, Leitungen oder Dosen aufgenommen werden sowie in Bierschaumstabilisierungsmitteln enthalten sein. Eisen wirkt sich nachteilig auf die kolloidale Stabilität, den Geschmack und die Gushing-Neigung des Bieres aus.

Prinzip

Zweiwertiges Eisen bildet mit dem Dinatriumsalz von 5,6-Diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazin-4,4-disulfonsäuren (Ferrozin) einen violett gefärbten Komplex mit einem sehr hohen molaren Extinktionskoeffizienten. Dreiwertiges Eisen muss vor der Bestimmung zu zweiwertigem reduziert werden. Die Farbintensität misst man spektralphotometrisch.

Messbereich

0–1 mg/L

Zubehör

- Analysenwaage, Ablesbarkeit 0,1 mg
- Pipetten, 0,1 mL, 2 mL, 5 mL
- Spektralphotometer, 560 nm
- 40 mm-Rechteckküvette OS

Reagenzien

Alle Lösungen mit eisenfreiem dest. H₂O bereiten.

- Pufferlösung, pH 4,3:
75 g Ammoniumacetat und **150 g** konz. Essigsäure in etwa **800 mL** dest. H₂O lösen, pH kontrollieren und auf 1 L auffüllen.
- Ferrozin-Reagenz:
0,257 g Ferrozin oder Ferrospectral in **50 mL** Puffer lösen (Lösung 2 Wochen haltbar)
- Ascorbinsäure, 2,5 % (täglich frisch bereiten)
- Salzsäure, konz.
- Eisen(III)-Standardlösung zur Ermittlung der Kalibriergeraden:
863,4 mg Ammoniumeisen(III)-sulfat [NH₄Fe(SO₄)₂ x 12 H₂O] im 1 L-Messkolben in dest. H₂O lösen und nach Zusatz von **0,1 mL**

konz. Salzsäure mit dest. H₂O zur Marke auffüllen. Nach Verdünnen von 50 mL dieser Lösung mit dest. H₂O auf 1 L, erhält man eine Standardlösung, die 5 mg/mL Fe³⁺ enthält.

Probenvorbereitung

1. Entfernen Sie das Kohlendioxid im Bier und lassen Sie den Schaum vollständig zusammenfallen.
2. Pipettieren Sie in einen 50 mL-Messkolben **40 mL Bier**, **2 mL Ferrozin-Reagenz** sowie **1 mL Ascorbinsäurelösung** zugeben.
3. Füllen Sie mit dest. H₂O bis zur Marke auf.
4. Setzen Sie den Blindwert analog an, jedoch ohne Zusatz von Ferrozin-Reagenz. Stellen Sie für jedes Bier einen eigenen Blindwert her.
5. Messen Sie die Extinktion der Lösung in einer 40 mm-Rechteckküvette bei **560 nm** gegen entsprechenden Blindwert.

Angabe der Ergebnisse

In mg/L mit drei bezeichnenden Stellen

Genauigkeit

r = 0,008

Sollwert

< 0,200 mg/L

Literatur

MEBAK Brautechnische Analysenmethoden 4. Auflage 2002
Band II, Seite 149ff

Arbeitsgang Eisen

1. Bereiten Sie die Blindwerte und Proben entsprechend der Arbeitsvorschrift vor.
2. Wählen Sie **GESPEICHERTE PROGRAMME > AUSWAHL NACH NR.**
3. Geben Sie die Nummer **2017** ein für das Programm „Eisen“. Bestätigen Sie mit **OK**.
4. Tippen Sie auf **START**, um das Programm zu starten.
5. Setzen Sie den Blindwert (siehe Probenvorbereitung) ein und tippen Sie auf **NULL**.
6. Setzen Sie die Analysenküvette mit der vorbereiteten Hauptwert ein und tippen Sie auf **MESSEN**.
Das Ergebnis wird im Display angezeigt.

Hinweis: Um weitere Proben zu analysieren wiederholen Sie den Arbeitsgang ab Punkt 5.

Ermittlung der Kalibriergerade

Der Faktor 1 = 0,037 ist eine empirische Größe und muss durch eine Kalibriergerade individuell bestimmt werden. Der Faktor ist die Steigung der Kalibriergeraden.

1. Pipettieren Sie in vier 50 mL-Messkolben je **40 mL Bier**.
2. Pipettieren Sie in die Messkolben je **0,40 mL**, **0,80 mL**, **1,60 mL** und **3,20 mL** der Eisenstandardlösung (5 mg Fe³⁺/mL).
3. Geben Sie in jeden Messkolben **2 mL Ferrozin-Reagenz** und **1 mL Ascorbinsäurelösung**.
4. Füllen Sie mit dest. H₂O bis zur Marke auf.
5. Messen Sie die Extinktion der Lösung in einer 40 mm-Rechteckküvette bei 560 nm gegen einen entsprechenden Blindwert.

Vermindern Sie die Extinktionen der Standardlösungen um die Extinktion der Probe.

Durchführung der Programme mit dem Sipper SIP 10

Informationen zur Installation, Konfigurationen und Probenaufgabe des Sipper SIP 10 entnehmen Sie der „*Bedienungsanleitung SIP 10*“.

Zubehör

Beschreibung	Best.- Nr.
Rechteckküvetten-Set (SD = 10 mm, abgeglichenes Paar)	2095100
Rechteckküvette QS, SD = 10 mm (3,5 mL)	2624410
Rechteckküvette OS, SD = 10 mm (3 Stück)	LZP045
Rechteckküvette QS, SD = 20 mm	LZV008
Rechteckküvette OS, SD = 20 mm	LZP331
Rechteckküvette QS, SD = 50 mm (17,5 mL)	2624450
Rechteckküvette OS, SD = 50 mm	LZP167
Durchflussküvette QS, SD = 3 mm, ZH = 10 mm, Höhe = 40 mm	LZV638
Durchflussküvette QS, SD = 50 mm, ZH = 10 mm, Höhe = 40 mm	LZV649
Durchflussküvette QS, SD = 10 mm, ZH = 10 mm, Höhe = 40 mm	LZV510
SIP 10 Sipper Modul Set für DR 6000 komplett mit Tablett, Schlauch-Set und 1 cm Quarzglas-Durchflussküvette, EU	LQV157.99.30001


General information

Safety notes

Read through the entire user manual carefully before you unpack the device, set up and put into operation. Observe all danger and warning notes. Non-observance could lead to serious injury of the operator or to damage to the device.

To ensure safety when using the instrument, the DR6000 may not be used in any manner that is not described in this user manual.

Danger notes in this user manual

 DANGER
Indicates a potentially or imminently dangerous situation that, if it is not avoided, leads to death or to serious injuries.

 WARNING
Indicates a potentially or imminently dangerous situation that, if it is not avoided, can lead to death or to serious injuries.



 CAUTION
Indicates a possible dangerous situation that can have minor or moderate injuries as the result.

NOTICE
Indicates a situation that, if it is not avoided, can lead to damage to the device. Information that particularly should be emphasized.

Note: Information that supplements aspects from the main text.

Warning labels

Observe all marks and labels that are attached to the device. Non-observance may result in personal injury or damage to the device. For symbols attached to the instrument, corresponding warning notes are found in the user manual.

	This symbol may be attached to the device and references the operation- and/or safety notes in the user manual.
	Electrical equipment marked with this symbol may as of August 12, 2005 Europe-wide no longer be disposed of in unsorted house or industrial waste. According to valid provisions (EU Directive 2002/96/EC), from this point consumers in the EU must return old electrical devices to the manufacturer for disposal. This is free for the consumer. Note: Contact the manufacturer or supplier to find out how you can return worn out devices, electrical accessories supplied by the manufacturer and all auxiliary articles for correct disposal or recycling.

Installation notes

1. Select **SYSTEM CHECKS > INSTRUMENT UPDATE**.
2. Connect the USB stick with the additional software "Brewery Analysis LZV936" to a USB connection (type A) of the DR 6000.
3. Confirm with **OK**.
The software is installed.
4. Switch the DR 6000 off after the complete installation at the power source and start it again.
Note: Wait at least **20 seconds** before restarting the instrument in order to avoid damaging its electronics.

Chemical and biological safety

⚠ DANGER

Working with chemical samples, standards and reagents is linked with danger. It is recommended that the user of these products familiarize himself before the work with safe procedures and the correct use of the chemicals and to read all relevant safety data sheets carefully.

During the analysis of the samples, the use of toxic, highly flammable or corrosive chemicals can be required.

- Please observe safety information present on the packaging and material safety data sheets.
- All consumed solutions must be disposed of in accordance with the local and national regulations and laws.

Introduction

The additional Brewery Analysis software LZV936 is a compilation of all spectrophotometric applications that are relevant for brewery analysis. The methods are taken from the MEBAK user manuals and refer to the 4th edition published in 2002. For many analyses, the SIP 10 sipper offers the comfortable execution of the test with a pour-through cuvette.

Selection of a stored test

1. Select **STORED PROGRAMS**. An alphabetically arranged list of all available programs is shown. The methods of the additional Brewery Analysis software LZV936 are located at the end of the list.
2. Select a program, by choosing the corresponding test.
Note: *The programs of the Brewery Analysis have the numbers 2001 to 2017. Select **SELECT BY NUMBER** and confirm the entry with **OK**.*
3. Press **START** to start the program.

List of abbreviations

General notes

Reagents, if not otherwise noted, are of analytical purity.
Solutions, if not otherwise noted, are aqueous.

dist. H₂O	Distilled or demineralized water
sec	Seconds
min	Minutes
h	Hours
s	Standard deviation
r	Repeatability (95 %)
R	Comparability (95 %)
V_k	Variation coefficient
m	Mean value

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods

Methods collection of the Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK, Central European brew-technical analysis commission)

Published by the Chairman Dr. Heinrich Pfenninger

Self-publication of the MEBAK

D-85350 Freising-Weihenstephan

4th edition, 2002

Work procedures

Bitter units (EBC method)

Principle

Bitter substances, mainly iso- α acids, are extracted with iso-octane from the acidified sample and the concentration in the extract is determined spectrophotometrically.

Application area

Beer, worts

Measurement range

10–40 bitter units (beer)

20–60 bitter units (wort)

Accessories

- Centrifuge glasses with solvent-proof seals, 35 mL
- Glass beads
- Shaking machine
- Centrifuge, 3000 rpm
- Spectrophotometer, 275 nm
- 10 mm rectangular cuvette QS

Reagents

- Hydrochloric acid, 6N
- Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane), spectroscopic pure (extinction measured in 10 mm rectangular cuvette QS at **275 nm** against dist. H₂O <0.010) (e.g. Uvasol)

Sample preparation

1. Separate wort and cloudy beer through centrifuging at **3000 rpm** for **15 min** (do not filter sample)
2. Remove carbon dioxide from the beer without removing any foam.
3. Pipette **10 mL** (or 5 mL wort + 5 mL dist. H₂O) of the sample maintained at **20 °C** (68 °F) into a centrifuge glass.
4. Add **0.5 mL** 6N hydrochloric acid, **20 mL** iso-octane and **three** glass beads.
5. Seal the centrifuge glass and leave to shake mechanically for **15 min** at **20 °C** (68 °F).
6. Centrifuge for **3 min** at **3000 rpm**.
7. Measure the extinction of the iso-octane extract in 10 mm rectangular cuvette at **275 nm** against iso-octane of the same quality (blank value).

Results specifications

Bitter units (BU) without decimals

Accuracy

$r = -0.36 + 0.05 m$

$R = 0.72 + 0.14 m$

Standard values

Beer: 10–40 BU, depending on nature, sort, type and origin

Wort: 20–60 BU, depending on beer and bitters yield

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods
4th edition 2002, Volume II, P. 114 et seq

Procedure for bitter units

1. Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2001** for the program "Beer bitter units". Confirm with **OK**.
Enter the number **2003** for the program "Wort bitter units". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared iso-octane and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.

Total polyphenols (EBC method)

Principle

Polyphenols react with iron(III) ions in alkali solution under formation of colored iron complexes; the ensuing brownish coloring is measured spectrophotometrically.

Application area

Beer, worts

Measurement range

0–800 mg/L

Accessories

- Centrifuge
- Spectrophotometer, 600 nm
- 10 mm rectangular cuvette OS

Reagents

- Carboxymethylcellulose-ethylenediaminetetraacetic acid solution (CMC-EDTA-Na):
 - a. **Weigh out 10 g** CMC (low-viscosity) and 2 g EDTA-Na₂
 - b. Dissolve the substances by stirring in approximately **500 mL** H₂O, after complete dissolution fill with H₂O to **1 L**, if necessary, clear through centrifuging.
- Ammonium iron(III) citrate, 3.5%:
 - a. **Dissolve 3.5 g** ammonium iron(III) citrate, green (16 % Fe) in H₂O to **100 mL**; the solution must be completely clear and can be stored for approximately 1 week
 - b. Ammonia, diluted: dilute **1 part** concentrated ammonia (d = 0.91) with **2 parts** H₂O

Sample preparation

1. Remove carbon dioxide from the beer by shaking.
2. Clear the cloudy wort or beers through centrifuging.
3. Measure out **10 mL** sample + **8 mL** CMC-EDTA solution into a 25 mL volumetric flask and mix thoroughly.
4. Add **0.5 mL** iron(III) solution and mix **thoroughly**.
5. Add **0.5 mL** diluted ammonia solution and mix **thoroughly**.
6. Fill with H₂O to **25 mL** and mix **thoroughly**.
7. Measure the extinction after **10 min** in a 10 mm rectangular cuvette at **600 nm** against a blank value.
8. **Production of the blank value**
 - a. Measure out **10 mL** of sample (remove carbon dioxide in the beer with shaking, remove cloudiness of wort or beer with centrifuging) into a 25 mL volumetric flask.
 - b. Add **8 mL** CMC-EDTA solution and mix **thoroughly**.
 - c. Add **0.5 mL** diluted ammonia solution and mix **thoroughly**.
 - d. Fill with H₂O to **25 mL** and mix **thoroughly**.

Note: Mix the solution thoroughly after the addition of each individual reagent..

Results specifications

In mg/L without decimals

Accuracy

$s = \pm 9$

Standard values

Beer: 150–200 mg/L

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods
4th edition 2002, Volume II, P. 107 et seq

Procedure for total polyphenols

1. Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2002** for the program "Total polyphenols". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: *In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.*

Reducibility (spectrophotometric method)

Reducibility is a measure for the fast-reducing substances present in the beer. Reducers occur in the beer in relatively small quantities, but have great significance in the chemical, physical, and biological properties as well as the taste stability of the beer.

Principle

Reducers reduce a certain amount of Tillmann's reagent (2,6-dichlorophenol indophenol, DPI) within a certain time span. The decoloration of the reagent is spectrophotometrically measured and calculated.

Measurement range

0–100

Accessories

- Spectrophotometer, 520 nm
- 10 mm rectangular cuvette OS
- Stop watch
- Water jet pump

Reagents

- 2,6-dichlorophenol-indophenol, 0.005 M (DPI solution, molecular weight of the sodium salt 290.08):
 - a. Weigh into a beaker approximately **100 mg** DPI, add approximately **25 mL** dist. H₂O and dissolve by heating (to approximately **60 °C** (140 °F)).
 - b. Rinse the contents after cooling into a 50 mL volumetric flask and fill to **50 mL**. Filter through a fiberglass filter.
 - c. Add **10 mL** filtrate, **1 g** KJ and **2 mL** H₂SO₄ (1+6) to a 150 mL Erlenmeyer flask and titrate with 0.01 N sodium thiosulfate until the color changes toward starch paste.
 - d. Calculate the indicator content:
used mL × 14.5 = mg indicator in 100 mL
 - e. Dilute the remaining filtrate so that 100 mL solution contains 145 mg indicator.
 - f. The solution can be stored in brim-full brown bottles at **+4 °C** (39 °F) for approximately 1 week.
- Phosphate-citrate buffer, pH =4.35:
- Dissolve **31.60 g** di-sodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄ × 12 H₂O) and **11.75 g** citric acid (C₆H₈O₇ × H₂O) in dist. H₂O and dilute to **1 L**.

Sample preparation

1. Maintain the beer at **20 °C** (68 °F) and remove the carbon dioxide under vacuum (water jet pump)
2. Pipette the decarbonated beer into a **10 mL** reagent flask with glass stopper. **Pour** the **0.25 mL** 0.005 M DPI solution slowly into the flask.
3. Seal the reagent flask **immediately** and invert the flask **two times**. Start the stop watch after the first inversion. After the first tip start the stop watch.
4. Fill a 10 mm rectangular cuvette with the mixture **immediately**. Measure the extinction against the blank value (decarbonated beer without the added reagent) at **520 nm** 60 seconds after the addition of the reagent.

Results specifications

Proportion of the supplied DPI quantity in %, which is reduced by 10 mL beer in 60 sec.

Accuracy

$$V_{kr} = \pm 1 \%$$

Standard values

> 60	very good
50–60	good
45–50	satisfactory
< 45	poor

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods
4th edition 2002, Volume II, P. 104 et seq

Procedure for reducibility

1. Prepare the blank values and samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2004** for the program "Reducibility". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample. After 60 sec press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: To analyze further samples, repeat the procedure from step 5, that means each sample requires a specific blank value.

Anthocyanogens (Harris and Ricketts method)

Anthocyanogens (leucoanthocyanidins) are phenolic compounds that are transformed by hot hydrochloric acid into red-colored anthocyanidins. Amount and condensation- or polymerization degree of these compounds have an influence on the formation of colloidal turbidities in the beer. Stabilization measures with PVPP correlate to a reduction of the anthocyanogen content.

Principle

The anthocyanogens are adsorbed to polyamide, the adsorbate dissolved in butanol-hydrochloric acid and heated, whereby a red-colored solution ensues, whose intensity is measured photometrically.

Application area

Beer, wort

Measurement range

0–100 mg/L

Accessories

- Shaking machine
- Centrifuge
- Mixing flask with ground-in stopper, 50 mL
- Frit 1 G4
- Filter flask
- Reagent flasks with ground-in stopper, 30 mL, graduation up to 25 mL
- Vacuum pump
- Spectrophotometer, 550 nm
- 10 mm rectangular cuvette OS

Reagents

- MN-polyamide SC 6
- **Solution 1:** n-Butanol / 37 % hydrochloric acid 5+1 (V/V)
- **Solution 2:** Dissolve **120 mg** iron(II) sulfate ($\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$) in 100 mL solution 1

Sample preparation

1. Centrifuge worts and young beers for **10 min** at **3000 rpm**.
2. Pipette **5 mL** beer (or wort) + **5 mL** dist. H_2O in a 50 mL mixing flask.
3. Pipette **10 mL** dist. H_2O (blank value) in a 50 mL mixing flask.
4. Rinse **0.5 g** polyamide powder with **10 mL** dist. H_2O in the mixing flask.
5. Mechanically shake the two mixing flasks for **40 min**.
6. Filter each of the suspensions through a 1 G4 frit and rinse **twice** with approximately **20 mL** dist. H_2O .
7. Vacuum the frits and polyamide powder dry, transfer the residue respectively with a spatula quantitatively into the reagent flask and purge with **15 mL** of solution 1.

8. Add **0.5 mL** of solution 2 to each flask and heat both reagent flasks for **30 min** in a boiling water bath (during the first 5 min stir well with a glass rod).
9. Take out the glass rods, rinse with a little solution 1, maintain the reagent flasks at 20 °C (68 °F) and fill with solution 1 to 25 mL.
10. Measure the extinction of the solution in a 10 mm rectangular cuvette at **550 nm** against an equivalently treated blank value (10 mL dist. H₂O instead of beer).

Results specifications

In mg/L without decimals

Accuracy

r = 9

Standard values

50–70 mg/L depending on raw materials and technological measures; with stabilization with PVPP correspondingly less.

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002, Volume II, P. 109 et seq

Procedure for anthocyanogens

1. Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2005** for the program "Anthocyanogens". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.

Beer color (spectrophotometric EBC method)

Principle

This method eliminates the subjective influences of the human eye and differences in color impression with comparison of samples with a color standard. This technical method is considered the **official reference method**.

The extinction is measured in a 10 mm rectangular cuvette at a wavelength of 430 nm. The color in EBC units is derived by converting with a suitable factor.

Application area

Operating worts, beer, liquid malt substitutes of any type

Measurement range

0–60 units

Accessories

- Spectrophotometer, 430 nm (± 0.5 nm)
- 10 mm rectangular cuvette OS

Sample preparation

1. Dilute the sample so that the extinction lies within the linearity of the spectrophotometer.
2. Filter the sample through a membrane filter. The filtration can be omitted if the turbidity of the diluted sample is below 1 EBC turbidity unit.
3. Clarify the beer as required by addition of 0.1 % diatomaceous earth and a filter upstream of the membrane filter.
4. Measure the extinction (E) at **430 nm** against dist. H₂O (blank value).

Results specifications

In EBC units with 2 indicative numerals

Interferences

A spectrometric absorption curve does not reflect the color impression of the human eye, as light of equal intensity in various parts of the spectrum influences the eye differently. Also the extinction curves are at 430 nm very steep, so that slight measuring errors can occur. There are also differences during comparison of light beers with diluted dark beers.

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002, Volume II, P. 88 et seq

Procedure for beer color

1. Prepare the zero solution and the samples accordance to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2006** for the program "Beer color". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the zero solution (dist. H₂O) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.

Free amino nitrogen (ninhydrin method according to EBC)

Principle

The examination solution is heated at pH 6.7 with ninhydrin and the resultant color measured at 570 nm. The method records the amino acids, ammonia and also the terminal alpha amino groups of peptides and proteins. Prolin is partially co-determined at the applied wavelength. The method is not specific to alpha-amino-nitrogen, because gamma-amino-butyric acid, which occurs in worts, also develops a color with ninhydrin.

Application areas

Beer, worts

Measurement range

0–400 mg/L

Accessories

- Reagent flasks with ground-in stoppers, 16 × 150 mm
- Variable pipette 1.0–5.0 mL (BBP065)
- Pipette tips for pipettes (BBP068)
- Boiling water bath
- Water bath at 20 °C (68 °F)
- Spectrophotometer, 570 nm
- 10 mm rectangular cuvette OS

Reagents

- **Color reagent:** Dissolve **10.0 g** di-sodium-hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$), **6.0 g** potassium di-hydrogen phosphate (KH_2PO_4), **0.5 g** ninhydrin, **0.3 g** fructose in dist. H_2O and fill up to 100 mL (This solution can be stored for 2 weeks in a dark flask. The pH value must be 6.6–6.8).
- **Thinner:** Dissolve **2 g** potassium iodate in **600 mL** dist. H_2O and add **400 mL** 96 % ethanol
- **Parent solution:** Dissolve **107.2 mg** glycine in 100 mL dist. H_2O . Store this parent solution at 0 °C (32 °F).
- **Standard solution:** Fill up **1 mL** parent solution with dist. H_2O to **100 mL**. This standard solution contains 2 mg/L amino nitrogen.

Sample preparation

1. Dilute wort 100 times, beer 50 times (1–3 mg/L amino nitrogen).
2. Analyze the sample, standard solution and the blank value three times each.
3. Pipette **2 mL** of the diluted sample or the standard solution or the dist. H_2O into a reagent flask.
4. Add **1 mL** color reagent and mix.
5. Loosely seal the reagent flasks with glass stoppers to prevent loss due to evaporation.
6. Heat the reagent flasks for exactly **16 min** in a boiling water bath, then allow to cool for **20 min** in the water bath of 20 °C (68 °F).

7. Add **5 mL** of thinner.
8. Measure the extinction within 30 min in a 10 mm rectangular cuvette at **570 nm** against the equivalently treated blank value (dist. H_2O + color reagent).
9. **Correction for dark worts and beers (carry out three times)**
 - a. Add **2 mL** of the diluted sample to a reagent flask.
 - b. Add **1 mL** dist. H_2O instead of the color reagent and proceed as described above.
 - c. After adding **5 mL** of thinner measure against dist. H_2O .

Results specifications

In mg/L without decimals

Accuracy

$r = 17$
 $R = 28$

Standard values

Cast wort (12 %): 200–250 mg/L

Beer (12 %): 100–120 mg/L

For a satisfactory primary and secondary fermentation approximately 220–250 mg/L of free amino nitrogen should be present in the engaged wort.

Interferences

Because this test measures small amounts of amino acids, contamination must be avoided. The carefully cleaned flasks must only be touched on the outside. Ground-in stoppers etc. must be handled with tweezers.

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002
Volume II, P. 62 et seq

Comment

The following procedures describe a triplicate determination of blank values, standard solution, and samples without correction of light beer and worts.

For dark beers and worts, the work procedure contains a triplicate determination of blank value, standard solution, correction and sample.

Procedure for free amino nitrogen (FAN) in light worts and light beers

1. Prepare the zero solution, blank values, standard solutions and sample each three times according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2007** for the program "FAN light wort". Confirm with **OK**.
Enter the number **2008** for the program "FAN light beer". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the zero solution (dist. H₂O) and press **ZERO**.
Z1 is shown on the display.
6. Insert the blank value cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R1 is shown on the display.
*Note: Proceed similarly with the blank value cuvettes 2 and 3. **R2** or **R3** are shown on the display.*
7. Insert the standard cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R4 is shown on the display.
*Note: Proceed similarly with the standard cuvettes 2 and 3. **R5** or **R6** are shown on the display.*

8. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

R7 is shown on the display.

*Note: Proceed similarly with the analysis cuvettes 2 and 3. **R8** or the result will be shown on the display.*

The FAN result is shown in mg/L.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 8.

Procedure for free amino nitrogen (FAN) in dark worts and dark beers

1. Prepare the zero solution, blank values, standard solutions, correction solutions and sample each three times according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2015** for the program "FAN dark wort". Confirm with **OK**.
Enter the number **2016** for the program "FAN dark beer". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the zero solution (dist. H₂O) and press **ZERO**.
Z1 is shown on the display.
6. Insert the blank value cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R1 is shown on the display.
*Note: Proceed similarly with the blank value cuvettes 2 and 3. **R2** or **R3** are shown on the display.*
7. Insert the standard cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R4 is shown on the display.
*Note: Proceed similarly with the standard cuvettes 2 and 3. **R5** or **R6** are shown on the display.*

8. Insert the correction cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R7 is shown on the display.

Note: Proceed similarly with the correction cuvettes 2 and 3. **R8** or **R9** will be shown on the display.

9. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

R10 is shown on the display.

Note: Proceed similarly with the analysis cuvettes 2 and 3. **R11** or the result will be shown on the display.

The FAN result is shown in mg/L.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 9.

Steam-volatile phenols

The degree of smoking of whiskey malts is determined through the measurement of steam-volatile phenols. For beer production smoke malts are required only in small quantities for smoked beers, a Franconian specialty. Technical malfunctions during the drying process can however cause the malts, which for normal beers are used for processing, to demonstrate a smoky taste. The smoky taste can be detected by customers in beers that should not have that taste.

Next to the organoleptic test, the spectrophotometric determination of the steam-volatile phenols has proved the best method to establish which malt delivery produces the undesirable smoke taste, and to what extent this effects tank or bottled beers.

Principle

The phenol fraction extracted through steam is transformed with 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one (4-aminophenazone) in the alkali environment and under the oxidation effect of potassium hexacyanoferrate(III) into a pigment, which can be measured after chloroform extraction spectrophotometrically.

Application areas

Malt, beer

Measurement range

0–20 mg/kg

Comments

Wheat beers cannot be analyzed using this method because, due to the activity of the top-fermented yeast, they contain a high quantity of steam-volatile phenols but no smoke flavor.

Accessories

- DLFU mill, mill gap 1 mm
- Steam distillation unit
- Separatory funnel, 1 L
- Spectrophotometer, 460 nm
- 40 mm rectangular cuvette OS

Reagents

- Chloroform, high purity
- Silicone anti-foam emulsion
- Phosphoric acid, concentrated (d=1.71)
- Copper sulfate, $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$, 10 %
- Ammonium chloride, 5 %
- 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one, 2 %: prepare fresh daily
- Potassium hexacyanoferrate(III), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 8 %: prepare fresh daily

- Phenol standard solution: Dissolve 1.000 g phenol in dist. H₂O to 1000 mL (1 mL=1 mg). The solution must be clear and colorless. From this solution freshly prepare thinners for constructing the calibration curve 0.02–0.1 mg/L as required.
- Dilute ammonia, diluted (1+4): 1 part concentrated ammonia (d=0.91) with 4 parts dist. H₂O.

Sample preparation

1. Steam distillation

- Add **50 g** coarse malt with **500 mL** dist. H₂O (for tests of 300 mL of beer) to a distillation flask.
- Add **3 mL** copper sulfate solution.
- Adjust the pH value through addition of phosphoric acid to pH<4.
- Add the silicone anti-foam emulsion.
- Perform steam distillation until 300 mL have been recovered.

2. Color reaction

- Add **10 mL** of Ammonium Chloride solution to the distillate. For real smoke malts or whiskey malts, use correspondingly less distillate (for example 100 mL).
To produce the blank value, introduce 300 mL dist. H₂O instead of distillate and also add **10 mL** ammonium chloride solution.
- Shake the solution.
- In each case (distillate and blank value) adjust the pH value with ammonia to pH 10.2 ± 0.1.
- Transfer each solution to a 1 L separatory funnel.
- Add to each **3 mL** 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one and **3 mL** potassium hexacyanoferrate(III).
- Shake the solution.
- Allow the solutions to rest for **3 min**.
- Shake each separatory funnel **3 times at one minute each** with **10 mL** chloroform to extract.
- Wait **10 min** each for the phase separation.

- Filter the chloroform extracts through paper filters into 25 mL volumetric flasks.
- Rinse the filters with some chloroform.
- Fill with chloroform respectively up to the mark.
- Measure the chloroform extract (prepared distillate) in 40 mm rectangular cuvette at **460 nm** against the prepared blank value.

3. Calibration values

- With phenol standard solutions of 0.02–0.1 mg/L (introduce 300 mL) carry out steam distillation and convert as described above.

Results specifications

In mg/kg with two decimals (or mg/L for beer)

Accuracy

Vk = ± 5 % (repeat error)

Target values

Malts: < 0.2 mg/kg: no smoke taste expected

Beers: < 0.03 mg/L: harmless in most cases

The penetration of the smoke taste depends on the beer composition, which is why the named lower limit applies only with reservations.

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 3rd edition, Volume I

Procedure for steam-volatile phenols

- Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
- Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
- Enter the number **2009** for the program "Steam-volatile phenols". Confirm with **OK**.
- Press **START** to start the program.
- Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.

6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: *In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.*

Photometric iodine sample

Photometric iodine sample according to the new method (MEBAK from 1993)

Principle

High-molecular dextrans and starches are precipitated through addition of ethanol to wort and beer, centrifuged out, dissolved in phosphate buffer and displaced with iodine solution. Depending on molecular weight and branching factor of the erythrodextrin and starch, a red to blue color forms, whose intensity is measured photometrically.

Application area

Wort, beer (samples with an iodine value > 0.8 must be diluted.)

0–1 iodine value

Accessories

- Centrifuge
- Centrifuge flasks with ground-in stoppers, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Pipettes, 0.5 mL, 2 mL, 10 mL, 20 mL, 40 mL
- Spectrophotometer, 578 nm
- 40 mm rectangular cuvette OS
- "Plumper" or plastic spatula
- Reagents
- Ethanol, 95 %
- Iodine solution, 1N (parent solution)
- Iodine solution, 0.02N (prepare fresh daily from the parent solution)

- Phosphate buffer solution, 0.1M, pH 3.5: adjust 0.1M KH_2PO_4 solution with 0.1M phosphoric acid to pH 3.5

Sample preparation

1. Pipette **10.0 mL** centrifuged wort or decarbonated beer into a centrifuge flask.
2. Add **40.0 mL** ethanol and shake mechanically for **10 min**.
3. Centrifuge for **5 min** at **2500 rpm**.
4. Decant the clear phase as carefully and completely as possible.
5. Loosen the residue with **20.0 mL** phosphate buffer solution by mechanically shaking for **10 min**.
6. Centrifuge the solution for **5 min** at **2500 rpm**.
7. Pipette **2 mL** of the excess and **8 mL** phosphate buffer solution into a 40 mm rectangular cuvette and measure at **578 nm** against phosphate buffer solution.
8. Add **0.5 mL** 0.02N iodine solution, **immediately** mix the contents with the "spatula", measure after **30 sec**.
9. **Iodine blank value**
 - a. Pipette **10 mL** phosphate buffer solution and **0.5 mL** 0.02N iodine solution into a 40 mm rectangular cuvette and mix.
 - b. Measure the extinction at **578 nm** against phosphate buffer solution.

Results specifications

Extinction to 2 decimals

Accuracy

$V_{kr} = \pm 3 \%$

Standard values

< 0.3 (wort)

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002, Volume II, P. 34 et seq

Procedure for photometric iodine sample

1. Prepare the blank value (phosphate buffer), the iodine blank value and the samples in accordance with the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2010** for the program "Photometric iodine sample". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (phosphate buffer) and press **ZERO**.
Z1 is shown on the display.
6. Insert the iodine blank value cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R1 is shown on the display.
7. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.
R2 is shown on the display.
8. Remove the analysis cuvette and dispense **0.5 mL** 0.02N iodine solution into the analysis cuvette.
9. Mix the content **immediately** with the "spatula" and insert the analysis cuvette after 30 sec. Press **READ**.
The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 7. The prepared iodine blank value solution can be used for the complete measurement series.

Thiobarbituric acid number (TAN)

The thiobarbituric acid number applies as the summary variable for the thermal load of malt and wort. It is an indicator that in addition to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) records a multitude of products of the Maillard reaction and other organic compounds.

Principle

The examination sample is used with acetic thiobarbituric acid solution in reaction and the resulting yellow coloration is measured spectrophotometrically.

Application area

Beer, wort, congress wort or malt extract

Measurement range

0–100

Accessories

- Water bath, 70 °C (158 °F)
- Brown reaction flasks with ground-in stopper, 20 mL or 25 mL
- Spectrophotometer, 448 nm
- 10 mm rectangular cuvette OS

Reagents

- Acetic acid, 90 %:
dilute 225 g acetic acid 100 % (glacial acetic acid) with dist. H₂O to 250 g.
- Thiobarbituric acid, 0.02 mol/L: Dissolve **0.288 g** 2-thiobarbituric acid (M = 144.15 g/mol) in 100 mL volumetric flask with 90 % acetic acid by warming in the water bath and after cooling to 20 °C (68 °F) fill up to the mark with 90 % acetic acid. Prepare fresh daily.
- Diatomaceous Earth

Sample preparation

Note: Follow procedure carefully as accuracy can affect final results.

1. Clear cloudy examination solutions through filtration over diatomaceous earth.

2. Dilution

- Dilute worts and beers 10 times with dist. H₂O.
- Dilute congress worts 5 times with dist. H₂O.

3. Empty value

- a. **Displace 10 mL** of the diluted sample with **5 mL** 90 % acetic acid, shake and proceed as for the main value.

4. Main value

- a. **Displace 10 mL** of the diluted sample with **5 mL** thiobarbituric acid and shake.
- b. **Place** in a water bath of 70 °C for 70 min (158 °F) (avoid direct sunlight, make sure that when positioning the reagent flasks the temperature in the bath only temporarily sinks by 1–2 °).
- c. After elapse of the reaction time quickly cool down reagent flasks to 20 °C (68 °F) (fast-flowing cold water or cold bath).
- d. Measure yellow coloration **immediately** in a 10 mm rectangular cuvette at **448 nm** against dist. H₂O.

Results specifications

Thiobarbituric acid number (TAN), dimensionless number

Standard values

Light cast wort < 45

Light cold wort (after wort cooling) < 60

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002, Volume II, P. 35 et seq

Procedure for thiobarbituric acid number in beer/wort and congress wort

1. Prepare the zero solution, empty values and samples in accordance with the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2011** for the program "TAN C-wort". Confirm with **OK**.
Enter the number **2012** for the program "TAN beer/wort". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the zero solution (dist. H₂O) and press **ZERO**.
Z1 is shown on the display.
6. Insert the empty value cuvette (see sample preparation) and press **READ**.
R1 is shown on the display.
7. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6.

Iso- α and α acids

Principle

Bitters are extracted with iso-octane from the acidified sample and certain disruptive substances removed through washing of the extract with acidic methanol. The concentration of iso- α acids and α acids is determined through measuring of the extinction in alkali methanol at 255 nm and 360 nm.

Application area

Beer, wort

Measurement range

0–60 mg/L

Accessories

- Centrifuge flasks with solvent-proof screw closure, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Centrifuge, 3000 rpm
- Spectrophotometer, 255 nm and 360 nm
- 10 mm rectangular cuvette QS

Reagents

- Hydrochloric acid, 6N
- Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane), spectroscopic purity
- Sodium sulfate, anhydrous
- Methanol
- Hydrochloric acid, 4N
- Sodium hydroxide, 6N, decarbonated
- Acidic methanol solution: mix 64 mL methanol and 36 mL 4N hydrochloric acid (prepare fresh daily)
- Alkali methanol solution: top up 0.2 mL 6N sodium hydroxide with methanol to 100 mL (prepare fresh daily)

Sample preparation

1. Clear wort or cloudy beer through centrifuging at **3000 rpm** for **15 min** (do not filter).
2. Remove the carbon dioxide from the beer without foam loss.
3. Pipette **50 mL** of the sample maintained at 20 °C (68 °F) into a centrifuge flask.
4. Add **3 mL** 6N hydrochloric acid and **25 mL** iso-octane.
5. Seal the centrifuge flask and shake it mechanically for **30 min** at optimal mixing intensity.
6. Centrifuge to separate the phases and break up the emulsion for **5 min** at **3000 rpm**.

7. Remove the lower aqueous phase through suction with a pipette and discard it. Displace the iso-octane phase with enough sodium sulfate so that the solution is clear after brief vigorous shaking.
8. Pipette **10 mL** of the iso-octane phase into a 25 mL volumetric flask.
9. Add **10 mL** acidic methanol solution, seal the flask and mix the contents by inverting the flask 100 times.
10. Pipette **5 mL** of the excess clear iso-octane phase into a 25 mL volumetric flask.
11. Fill to the mark with alkali methanol solution and mix.
12. Measure the extinction of the iso-octane solution against a blank value at **255 nm** and **360 nm**.
13. **Blank value preparation**
 - a. Pipette **5 mL** iso-octane into a 25 mL volumetric flask.
 - b. Fill to the mark with alkali methanol solution and mix.

Results specifications

In mg/L without decimals

Accuracy

$V_{kr} = \pm 5 \%$

Standard values

Beer: 10–40 mg/L iso- α acids, depending on nature, sort, type and origin (< 2mg/L α acids)

Wort: 15–50 mg/L iso- α acids, depending on beer and bitters yield
1–15 mg/L α acids depending on degree of isomerization

Literature

Brew-technical analysis methods, 4th edition 2002, Volume II, P. 116 et seq

Procedure for iso- α and α acids

1. Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2013** for the program "Iso- α and α acids". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared sample and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: In order to analyze further samples, repeat the procedure from step 6. The prepared blank value can be used for the complete measuring series.

Vicinal diketones (diacetyl, 2,3-pentanedione)

During yeast metabolism, fermentation causes 2-acetolactate and 2-acetohydroxy butyrate to emerge. Oxidation causes a conversion into the vicinal diketones diacetyl (2,3 butanedione) and 2,3-pentanedione. Diacetyl can however also occur as a characteristic metabolic product of certain micro-organisms. As soon as the threshold value is exceeded, the beer obtains a bad aroma.

The photometric determination method in operation control is frequently preferred over the gas chromatographic methods, as it can be performed quickly and without great equipment expense. It does not however permit the preferable differentiation between diacetyl and pentanedione.

Principle

The basis of the method is the reaction between diacetyl and/or 2,3-pentanedione and 1,2-phenylenediamine under formation of 2,3-dimethylquinoxaline, which exhibits a specific absorption at 335 nm.

Application area

Beer

Measurement range

0–1 mg/kg

Accessories

- Appliance for nitrogen determination with heating jacket, macro execution (for example from Schott). The supplied cooler must possibly be replaced by a larger one if the distillate is not sufficiently cooled. Other similar appliances, for example from Büchi, are also suitable.
- Spectrophotometer, 335 nm
- 20 mm rectangular cuvette QS

Reagents

- Hydrochloric acid, 4N
- 1,2-phenylenediamine, 1 % in 4N hydrochloric acid (prepare solution fresh on the day of application and store in the dark). 1,2-phenylenediamine is toxic and an allergen; it must be handled carefully, work with gloves
- Anti-foam emulsion (free from diketones)

Sample preparation

1. Add **100 g** non-decarbonated beer into a pre-heated distillation appliance.
2. Add a drop of anti-foam emulsion.
3. Control the steam supply so that within 2 min approximately 25 mL distillate transfers.
4. Catch the distillate in a 25 mL volumetric flask.
5. Pipette **10 mL** of the mixed distillate into two 50 mL Erlenmeyer flasks (main value, blank value).
6. **Blank value**
 - Add **2.5 mL** 4N hydrochloric acid.

7. Main value

- Add **0.5 mL** 1,2-phenylenediamine solution, mix and place in the dark for **30 min**.
- Add **2 mL** 4N hydrochloric acid.

8. Measure the extinction of the main value against the blank value within **20 min** at **335 nm** in a 20 mm rectangular cuvette.

Results specifications

In mg/kg with two decimals

Accuracy

s = ± 0.01

Target value

For light full beer <0.15 mg/kg

Comments

The distillation appliance does not need to be cleaned or purged between individual tests and can be immediately refilled between tests. After testing is complete, the adherent residues should be removed with dilute sodium hydroxide or another suitable cleaning agent.

Acetohydroxy acids present in bottled beer are oxidized in the presence of oxygen to diketones. The beer sample can, for analysis of the total diketone content before the actual analysis, be maintained for 1.5 h at 70 °C (158 °F).

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002
Volume II, P. 134 et seq

Procedure for vicinal diketones

1. Prepare the blank value and the samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2014** for the program "Vicinal diketones". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared main value and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: To analyze further samples, repeat the procedure from step 5.

Iron

Iron can dissolve into beer through raw materials, filter additives, and clarifiers. It can also be absorbed from appliances, lines, containers, and beer foam stabilizing agents. Iron negatively effects the colloidal stability, the taste and the gushing tendency of the beer.

Principle

Bivalent iron forms a violet colored complex with a very high molar extinction coefficient with the di-sodium salt of 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine-4,4-disulfonic acids (ferrozine). Trivalent iron must be reduced to bivalent iron before measurement. The color intensity is measured spectrometrically.

Measurement range

0–1 mg/L

Accessories

- Weighing balances, reading precision 0.1 mg
- Pipettes, 0.1 mL, 2 mL, 5 mL
- Spectrophotometer, 560 nm
- 40 mm rectangular cuvette OS

Reagents

Prepare all solutions with iron-free dist. H₂O.

- Buffer solution, pH 4.3: dissolve **75 g** ammonium acetate and **150 g** concentrated acetic acid in approx. **800 mL** dist. H₂O, check pH and top up to 1 L.
- Ferrozine reagent: dissolve **0.257 g** ferrozine or ferrospectral in **50 mL** buffer (solution can be stored for 2 weeks)
- Ascorbic acid, 2.5 % (prepare fresh daily)
- Hydrochloric acid, concentrated
- Iron(III) standard solution for determination of the calibration curve: dissolve **863.4 mg** ammonium iron(III) sulfate [NH₄Fe(SO₄)₂ × 12 H₂O] in the 1 L volumetric flask in dist. H₂O and after addition of **0.1 mL** concentrated hydraulic acid top up with dist. H₂O to the mark. After dilution of 50 mL of this solution with dist. H₂O to 1 L, the resulting standard solution contains 5 mg/mL Fe³⁺.

Sample preparation

1. Remove the carbon dioxide in the beer and allow the foam to subside completely.
2. Pipette **40 mL** beer, **2 mL** ferrozine reagent, and **1 mL** ascorbic acid solution into a 50 mL volumetric flask.
3. Fill to the mark with dist. H₂O.
4. Prepare the blank value without addition of ferrozine reagent. Use a separate blank for each individual beer.
5. Measure the extinction of the solution in a 40 mm rectangular cuvette at **560 nm** against a corresponding blank value.

Results specifications

In mg/L with three significant places

Accuracy

r = 0.0080

Target value

< 0.200 mg/L

Literature

MEBAK brew-technical analysis methods, 4th edition 2002
Volume II, P. 149 et seq

Procedure for iron

1. Prepare the blank values and samples according to the work procedure.
2. Select **STORED PROGRAMS > SELECT BY NUMBER**.
3. Enter the number **2017** for the program "Iron". Confirm with **OK**.
4. Press **START** to start the program.
5. Enter the blank value (see sample preparation) and press **ZERO**.
6. Insert the analysis cuvette with the prepared main value and press **READ**.

The result is shown on the display.

Note: To analyze further samples, repeat the procedure from step 5.

Determination of the calibration curve

The factor $1 = 0.037$ is an empirical factor and must be individually determined through a calibration curve. The factor is the slope of the calibration curves.

1. Pipette **40 mL** of beer into four individual 50 mL volumetric flasks.
2. Pipette into the volumetric flasks each **0.40 mL**, **0.80 mL**, **1.60 mL** and **3.20 mL** of the iron standard solution (5 mg Fe^{3+} /mL).
3. Add to each volumetric flask **2 mL** ferrozine reagent and **1 mL** ascorbic acid solution.
4. Fill to the mark with dist. H_2O .
5. Measure the extinction of the solution in a 40 mm rectangular cuvette at 560 nm against a corresponding blank value.

Subtract the results of the un-spiked sample from the spiked samples.

Using these programs with the SIP 10 sipper

Information on the installation, configuration, and sample insertion when using the SIP 10 sipper can be found in the *SIP 10 user manual*.

Accessories

Description	Order no.
Rectangular cuvettes set (standard deviation = 10 mm, aligned pair)	2095100
Rectangular cuvette QS, standard deviation = 10 mm (3.5 mL)	2624410
Rectangular cuvette OS, standard deviation = 10 mm (3 units)	LZP045
Rectangular cuvette QS, standard deviation = 20 mm	LZV008
Rectangular cuvette OS, standard deviation = 20 mm	LZP331
Rectangular cuvette QS, standard deviation = 50 mm (17.5 mL)	2624450
Rectangular cuvette OS, standard deviation = 50 mm	LZP167
Pour-through cuvette QS, Standard deviation = 3 mm, center height = 10 mm, height = 40 mm	LZV638
Pour-through cuvette QS, Standard deviation = 50 mm, center height = 10 mm, height = 40 mm	LZV649
Pour-through cuvette QS, Standard deviation = 10 mm, center height = 10 mm, height = 40 mm	LZV510
SIP 10 sipper module set for DR 6000 complete with tray, tube set and 1 cm quartz glass pour-through cuvette, EU	LQV157.99.30001

**HACH Company
World Headquarters**

P.O. Box 389
Loveland, Colorado
80539-0389 U.S.A.
Tel (800) 227-HACH
(800) -227-4224
(U.S.A. only)
Fax (970) 669-2932
orders@hach.com
www.hach.com

HACH LANGE GMBH

Willstätterstraße 11
D-40549 Düsseldorf
Tel. +49 (0)2 11 52 88-320
Fax +49 (0)2 11 52 88-210
info@hach-lange.de
www.hach-lange.de

