



DOC022.98.90373

# LZV936 Brewery Analysis Software

01/2017, Edition 4

**User Manual**  
**Bedienungsanleitung**

English.....	3
Deutsch.....	34

# Table of contents

General information on page 3

Accessories on page 9

Colorimetric Procedures on page 9

## General information

In no event will the manufacturer be liable for direct, indirect, special, incidental or consequential damages resulting from any defect or omission in this manual. The manufacturer reserves the right to make changes in this manual and the products it describes at any time, without notice or obligation. Revised editions are found on the manufacturer's website.

## Safety information

### NOTICE

The manufacturer is not responsible for any damages due to misapplication or misuse of this product including, without limitation, direct, incidental and consequential damages, and disclaims such damages to the full extent permitted under applicable law. The user is solely responsible to identify critical application risks and install appropriate mechanisms to protect processes during a possible equipment malfunction.

Please read this entire manual before unpacking, setting up or operating this equipment. Pay attention to all danger and caution statements. Failure to do so could result in serious injury to the operator or damage to the equipment.

Make sure that the protection provided by this equipment is not impaired. Do not use or install this equipment in any manner other than that specified in this manual.

### Use of hazard information

#### ▲ DANGER

Indicates a potentially or imminently hazardous situation which, if not avoided, will result in death or serious injury.

#### ▲ WARNING

Indicates a potentially or imminently hazardous situation which, if not avoided, could result in death or serious injury.

#### ▲ CAUTION

Indicates a potentially hazardous situation that may result in minor or moderate injury.

### NOTICE

Indicates a situation which, if not avoided, may cause damage to the instrument. Information that requires special emphasis.

## Precautionary labels

Read all labels and tags attached to the instrument. Personal injury or damage to the instrument could occur if not observed. A symbol on the instrument is referenced in the manual with a precautionary statement.




This symbol, if noted on the instrument, references the instruction manual for operation and/or safety information.



Electrical equipment marked with this symbol may not be disposed of in European domestic or public disposal systems. Return old or end-of-life equipment to the manufacturer for disposal at no charge to the user.

## Chemical and Biological Safety

<b>▲ DANGER</b>	
	Chemical or biological hazards. If this instrument is used to monitor a treatment process and/or chemical feed system for which there are regulatory limits and monitoring requirements related to public health, public safety, food or beverage manufacture or processing, it is the responsibility of the user of this instrument to know and abide by any applicable regulation and to have sufficient and appropriate mechanisms in place for compliance with applicable regulations in the event of malfunction of the instrument.

Normal operation of this device may require the use of chemicals or samples that are biologically unsafe.

- Observe all cautionary information printed on the original solution containers and safety data sheets prior to their use.
- Dispose of all consumed solutions in accordance with the local and national regulations and laws.
- Select the type of protective equipment suitable to the concentration and quantity of the dangerous material being used.

## Product overview

The Brewery Analysis software is a set of spectrophotometric procedures that are relevant for brewery analysis. The procedures agree with the MEBAK user manual, the 1st edition published in 2012 or with the American Society of Brewing Chemists (ASBC), AACC International Approved Methods of Analysis, 11th Edition.

## Install instrument updates

1. Select **SYSTEM CHECKS>INSTRUMENT UPDATE**.
2. Connect the USB flash drive to a USB connection (type A) of the instrument to install the Brewery Analysis Software.
3. Push **OK**.  
Wait until the software is installed.
4. Set the instrument to off.
5. Wait at least 20 seconds, then set the instrument to on.

## Select a test

1. Select **STORED PROGRAMS**.  
The programs are shown alphabetically. The procedures of the Brewery Analysis Software are at the end of the list, with the test numbers 2001 to 2026.
2. Push **SELECT BY NUMBER** and enter the number.
3. Push **START**.

## Use the SIP 10 sipper

Use the SIP 10 sipper module and a Pour-Thru cell for a fast and easy measurement. Refer to SIP 10 documentation for installation, configuration and information about sample insertion.

## Sample collection and storage of beer

Correct sampling and storage are critical for accurate testing. Whether the analysis will be chemical, physical or microbiological, make sure to get a representative sample. It is necessary to prevent contamination during microbiological analyses.

In most procedures for chemical and physical analyses, it is necessary to degas the beer sample. Refer to [Degassing methods and alternatives](#) on page 6 or [Degas with a rotary shaker](#) on page 5 to degas the sample.

## Degas with a rotary shaker

The rotary shaker method is a thorough, consistent method of beer decarbonation. This method standardizes decarbonation variables such as temperature, shaking velocity and time. The decarbonated beer is then measured by the standard method.

Based on a collaborative study<sup>1</sup>, repeatability coefficients of variation for original gravity, alcohol and real extract in beer samples showed ranges of 0.1–0.4, 0.1–0.5 and 0.1–0.2%, which were judged acceptable. Reproducibility coefficients of variation for original gravity, alcohol and real extract showed ranges of 0.6–1.0, 0.8–1.6 and 0.4–1.0%, which were judged acceptable.

For nonalcoholic beer samples decarbonated by the rotary shaker method, repeatability coefficients of variation for original gravity, alcohol and real extract were 0.3, 1.7 and 0.5%. Reproducibility coefficients of variation for original gravity, alcohol and real extract were 1.0, 6.4 and 0.8%.

**Note:** Beers degassed with the rotary shaker method had significantly lower original gravity and real extract determinations, as compared to beer degassed according to [Degassing methods and alternatives](#) on page 6. This difference was anticipated, as Constant and Collier<sup>2</sup> found that the rotary shaker method gives more complete decarbonation of beer samples, which ameliorates the influence of residual CO<sub>2</sub> on specific gravity determinations.

### Items to collect

#### Reagent

- Tributyl phosphate (TBP)

#### Accessories

- Water bath, 20°C (±1°C) (68°F)
- Rotary shaker, approved up to 300 rpm
- Platform for the rotary shaker
- Erlenmeyer flasks, 500-mL wide-mouth baffled flask, premark to 250-mL
- Aluminum foil
- Pipetter, 10–100 µl
- Pipet tips, 10–100 µl

### Sample preparation

1. Modify the beer sample temperature to 20°C (68°F).
2. Use a pipet to add 10 µl of TBP into a 500-mL wide-mouth baffled Erlenmeyer flask.
3. Fill to the 250-mL mark with sample.
4. Add 10 µl of TBP again.
5. Make a 10-mm diameter hole in the center of the aluminium foil.
6. Put the aluminum foil over the flask. Crimp the aluminum foil cover over the mouth of the flask.
7. Put the flask on the rotary shaker and shake for exactly 12 minutes at 190 rpm. The beer sample is now ready for analysis.

---

<sup>1</sup> American Society of Brewing Chemists, *Report of Subcommittee on Beer Decarbonation by a Rotary Shaker Method*, Journal 56:196, 1998

<sup>2</sup> Constant, M. D., and Collier, J. E., *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 51:1, 1993, 1998

## Degassing methods and alternatives

Method	Procedure	Time	Residual CO <sub>2</sub>	Pros and Cons
Beer-1 A	Add the sample to a 500-mL Erlenmeyer flask. Shake by hand until there is no more gas in the sample.	5 to 20 minutes	Moderate to low (0.2 to 0.06)	The quantity of residual CO <sub>2</sub> depends on time and vigor of shaking.
Beer-1 D (Rotary shaker)	Add the sample to a 500-mL wide-mouth baffled Erlenmeyer flask. Put the sample in a rotary shaker for 12 minutes.	12 minutes	Low	Very specific in procedure with uniform results.
Pouring <sup>3</sup>	Pour the sample back and forth between two 500-mL beakers until there is no more gas in the sample.	5 to 20 minutes	Moderate to low (0.2 to 0.01)	The quantity of residual CO <sub>2</sub> depends on time and amount of pouring.
Ultrasonic bath <sup>1</sup>	Put the sample in the ultrasonic bath until there is no more gas in the sample.	15 minutes	Higher (0.56 vol)	The least effective of all methods, but the easiest to process a large number of samples.
Filtration	Filter the sample with fluted filter paper.	10 to 15 minutes	Higher (0.529 vol)	—
Ultrasonic bath and filtration <sup>1</sup>	Put the sample in the ultrasonic bath, then filter the sample with fluted filter paper.	10 minutes ultrasonic bath 10 to 15 minutes filtration	Moderate (0.41)	More effective than ultrasonic bath or filtration alone, still higher.
Gas purging	The sample has other inert gas bubbled through it to remove CO <sub>2</sub> .	25 minutes	None	Not automated and is time consuming.
Membrane degassing <sup>1</sup>	The sample goes through an instrument that contains a semi-permeable membrane with negative pressure on one side to remove CO <sub>2</sub> .	30 to 40 mL/min (5 to 10 minutes for a complete sample)	None	Not automated.

<sup>3</sup> These degassing methods are usually used in the industry and found in literature. However these methods have not been validated through normal ASBC protocols.

Method	Procedure	Time	Residual CO <sub>2</sub>	Pros and Cons
Water vacuum pump <sup>1</sup>	Put the sample under a water vacuum pump to remove CO <sub>2</sub> from negative pressure.	5 to 10 minutes	None	Not automated, removes other volatiles.
Microwave	Put the sample in a microwave to remove CO <sub>2</sub> .	15 to 20 seconds	Low	Faster and more effective than filtration and ultrasonic bath.

## Sample collection and storage of wort

### NOTICE

Do not let wort samples stay at ambient temperature for any length of time. It is necessary to prevent contaminations. Put foil (or a similar covering) over the sample, then refrigerate immediately. Keep the samples cold until brought to the laboratory.

All worts are not fully stable and are subject to microbial, physical and chemical deterioration. The form and the color of the precipitates are time and temperature dependent. Make sure that the cooling rates, clarification procedures and handling of wort samples are standardized before the comparison of analytical results can start.

1. Get a sufficient sample of plant wort for analysis.
2. Keep the wort in a refrigerator or fill the wort in beer bottles and pasteurize it.
3. Mix the sample well before portions are removed for analysis.
4. Modify the wort temperature to 5–8°C (41–46°F).
5. Decant the wort from any sludge.
6. Filter the wort at 5–8°C (41–46°F) through filter paper.
7. If the wort filtrate is not brilliant, filter it again.

**Note:** Do not use a filter aid, except for the portion of the filtrate that will be processed again for color determination.

## List of abbreviations

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

Abbreviation	Definition
s	Standard deviation
r	Repeatability (95 %)
R	Comparability (95 %)
V <sub>K</sub>	Variation coefficient
m	Mean value

## Literature

Literature	Description
ASBC literature	<i>AACC International Approved Methods of Analysis</i> , 11th Edition Published by: American Society of Brewing Chemists (ASBC) 3340 Pilot Knob RoadSt. Paul, MN 55121 USA
MEBAK brew-technical analysis methods	<i>Methods collection of the Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission</i> (MEBAK, Central European brew-technical analysis commission), 1st edition, 2012 Published by the Chairman Dr. Heinrich Pfenninger, Self-publication of the MEBAK, D-85350 Freising-Weißenstephan

## Procedure overview

Procedure	Range	Program	Wavelength	Zero	Vial
MEBAK Anthocyanogens	0–100 mg/L	2005	550	reagent blank	10 mm OS
MEBAK Beer color	0–60 EBC units	2006	430	distilled water	10 mm OS
ASBC Beer color (Beer-10A)	0–40°	2020	430	distilled water	10 mm OS
MEBAK Bitter units beer	10–40 BU	2001	275	iso-octane	10 mm QS
MEBAK Bitter units wort	20–60 BU	2003	275	iso-octane	10 mm QS
ASBC Bitter units beer (Beer-23)	10–100 IBU	2021	275	alcohol blank	10 mm QS
ASBC Bitter units wort (Wort-24)	20–200 IBU	2022	275	alcohol blank	10 mm QS
MEBAK FAN light wort	0–400 mg/L	2007	570	reagent blank	10 mm OS
MEBAK FAN light beer	0–400 mg/L	2008	570	reagent blank	10 mm OS
ASBC FAN beer (Beer-31)	0–400 mg/L	2024	570	reagent blank	10 mm OS
MEBAK FAN dark wort	0–400 mg/L	2015	570	reagent blank	10 mm OS
MEBAK FAN dark beer	0–400 mg/L	2016	570	reagent blank	10 mm OS
ASBC FAN wort (Wort-12)	0–400 mg/L	2025	570	reagent blank	10 mm OS
MEBAK Iron	0–1 mg/L	2017	560	sample blank	40 mm OS
MEBAK Iso- $\alpha$ and $\alpha$ acids	0–60 mg/L	2013	255 + 360	reagent blank	10 mm QS



Procedure	Range	Program	Wavelength	Zero	Vial
MEBAK Photometric iodine sample	0–1 iodine value	2010	578	reagent blank	40 mm OS
MEBAK Thiobaburic acid number TAN c-wort	0–100	2011	448	distilled water	10 mm OS
MEBAK Thiobaburic acid number TAN beer/wort	0–100	2012	448	distilled water	10 mm OS
MEBAK Total polyphenols	0–800 mg/L	2002	600	sample blank	10 mm OS
ASBC Total polyphenols (Beer-35)	0–800 mg/L	2026	600	sample blank	10 mm OS
MEBAK Vicinal diketones	0–1 mg/kg	2014	335	reagent blank	20 mm QS
ASBC Diacetyl (Beer-25B)	0–1 mg/L	2023	530	reagent blank	10 mm OS
MEBAK Reducibility	0–100%	2004	520	sample blank	10 mm OS

## Accessories

Description	Item no.
Rectangular cuvettes set OS, (light pass = 10 mm, aligned pair)	2095100
Rectangular cuvette QS, light pass = 10 mm (3.5 mL)	2624410
Rectangular cuvette QS, light pass = 20 mm	LZV008
Rectangular cuvette OS, light pass = 20 mm	LZP331
Rectangular cuvette QS, light pass = 50 mm (17.5 mL)	2624450
Rectangular cuvette OS, light pass = 50 mm	LZP167
Pour-Thru cell QS, light pass = 50 mm	SM01X176501040
Pour-Thru cell QS, light pass = 10 mm	LZV510
SIP 10 sipper module set for the DR 6000 comes with a tray, tube set and a 1 cm quartz glass Pour-Thru cell	EU: LQV157.99.30001 US: LQV157.99.30002

## Colorimetric Procedures

### Anthocyanogens

#### Items to collect

#### 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 of solution 1

### Accessories

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

### Sample preparation

1. Centrifuge worts and young beers for 10 minutes at 3000 rpm.
2. Add 5 mL of beer (or wort) and 5 mL of distilled water to a 50-mL mixing flask.
3. **Prepare the blank:** Add 10 mL of distilled water to a 50-mL mixing flask.
4. Add 0.5 g of polyamide powder rinsed in 10 mL of distilled water in both mixing flasks (sample and blank mixing flasks).
5. Mechanically shake both mixing flasks for 40 minutes.
6. Filter each suspensions through a 1 G4 frit. Rinse twice with approximately 20 mL of distilled water.
7. Vacuum both frits (sample and blank frits) and polyamide powder dry. Then transfer the residue respectively with a spatula quantitatively into two reagent flasks (sample and blank) and purge both frits with 15 mL of solution 1.
8. Add 0.5 mL of solution 2 to both reagent flasks.
9. Put both reagent flasks in a boiling water bath for 30 minutes.
10. During the first 5 minutes of the boiling water bath, stir each flask well with a glass rod.
11. Remove the glass rods and rinse with a little of solution 1.
12. Keep both reagent flasks at 20 °C (68 °F) and then fill both reagent flasks to the 25-mL mark with solution 1.
13. Fill the prepared sample and prepared blank in two 10-mm rectangular cuvettes.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

### Principle

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

The anthocyanogens are adsorbed to polyamide. The adsorbate is dissolved in butanol-hydrochloric acid and heated. A red solution forms, whose intensity is measured photometrically.

## More information

Option	Description
Results specifications	mg/L without decimals
Accuracy	r = 9
Standard values	50–70 mg/L (depending on raw materials and technological measures, a stabilization with PVPP correspondingly less)

## Beer color (EBC)

### Items to collect

#### Reagents

- 0.1 % diatomaceous earth

#### Accessories

- Spectrophotometer, 430 nm ( $\pm 0.5$  nm)
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Membrane filter

### Sample preparation

1. Dilute the sample so that the extinction is within the linearity of the spectrophotometer.
2. Filter the sample through a membrane filter. Filtration is not necessary if the turbidity of the diluted sample is below 1 EBC turbidity unit.
3. Clarify the beer as necessary by addition of 0.1 % diatomaceous earth and a filter upstream of the membrane filter.
4. Fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette.
5. **Prepare the blank:** Fill distilled water in a 10-mm rectangular cuvette.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

### Principle

This method prevents 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.

### 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.

## Results specifications

EBC units with two indicative numerals.

## Beer color (ASBC)

### Items to collect

#### Accessories

- Spectrophotometer, 430 nm ( $\pm$  0.5 nm), 700 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Membrane filter
- Centrifuge

### Sample preparation

1. Decarbonate the sample.
2. Fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette and measure the absorbance at 430 nm and 700 nm.

Option	Description
<b>Absorbance at 700 nm is <math>\leq 0.039</math> times absorbance at 430 nm</b>	Beer is "free of turbidity". Refer to Procedure to measure the color.
<b>Absorbance at 700 nm is <math>&gt; 0.039</math> times absorbance at 430 nm</b>	The turbidity is too high. Clarify the sample by centrifugation or filtration. Repeat the absorbance measurement at 430 nm and 700 nm. Report the filtration or centrifugation of the sample with the color value.

3. Fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette.
4. **Prepare the blank:** Fill distilled water in a 10-mm rectangular cuvette.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

### Principle

The sample must be free of turbidity to measure the beer color. The extinction is measured in a 10-mm rectangular cuvette at a wavelength of 430 nm and 700 nm. If absorbance at 700 nm is less or equal 0.039 times absorbance at 430 nm, beer is "free of turbidity" and color of beer is determined from the absorbance at 430 nm. Clarify the sample by centrifugation or filtration if the turbidity is too high. Report the filtration or centrifugation of the sample with the color value. The color is reported as degrees to one decimal place.

## Results specifications

Report beer color as degrees to one decimal place.

## Bitter units (MEBAK)

### Items to collect

#### Reagents

- Hydrochloric acid, 6N
- Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane), spectroscopic pure (extinction measured in 10-mm rectangular cuvette QS at 275 nm against distilled water less than 0.010)

#### Accessories

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

### Sample preparation

1. Separate wort and cloudy beer with a centrifuge at 3000 rpm for 15 minutes.  
*Note: Do not use a filter.*
2. Remove carbon dioxide from the beer.  
*Note: Do not remove the foam.*
3. Modify the sample temperature to 20 °C (68 °F).
4. Add 10 mL of the sample (or 5 mL of wort and 5 mL of distilled water) in a centrifuge glass.
5. Add 0.5 mL 6N hydrochloric acid, 20 mL iso-octane and three glass beads to the sample.
6. Seal the centrifuge glass. Shake the centrifuge glass for about 15 minutes at 20 °C (68 °F).
7. Centrifuge the centrifuge glass for about 3 minutes at 3000 rpm.
8. Fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette.
9. **Prepare the blank:** Fill iso-octane in a 10-mm rectangular cuvette.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
2001	ASBC Bitter units beer
2003	Bitter units wort

4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Push **Read**.  
The results show in BU.

## Principle

Bitter substances, mainly iso- $\alpha$  acids, are removed with iso-octane from the acidified sample. Measure the concentration of the iso-octane extract in 10-mm rectangular cuvette at 275 nm against iso-octane of the same quality (blank value).

**Note:** *Certain preservatives, such as n-heptyl p-hydroxybenzoate, sorbates and some brewing adjuncts or coloring agents, could contribute to absorbance at the wavelengths specified in this procedure. The possibility to catch ultraviolet-absorbing extraneous substances is greater in the BU procedure than in the IAA procedure. The possible effects of such materials must be examined before the measurement of bitter units.*

## More information

Option	Description
Results specifications	Bitter units (BU) without decimals
Accuracy	$r = -0.36 + 0.05 m$ ; $R = 0.72 + 0.14 m$
Standard values	<b>Beer:</b> 10–40 BU, depending on nature, sort, type and origin; <b>Wort:</b> 20–60 BU, depending on beer and bitters yield

## Bitter units (ASBC)

### Items to collect

#### Reagents

- Hydrochloric acid, 3N
- Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane), spectroscopic pure (extinction measured in 10-mm rectangular cuvette QS at 275 nm against distilled water < 0.010)

#### Accessories

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

### Sample preparation

1. Modify the sample temperature to 10 °C (50 °F).
2. Fill 10 mL of the sample in a 50-mL centrifuge glass.
3. Add 1 drop octyl alcohol, 1 mL 3N hydrochloric acid and 20 mL iso-octane to the sample.
4. Seal the centrifuge glass. Centrifuge the centrifuge glass for about 15 minutes.
5. Fill the upper, clear layer (prepared sample) in a 10-mm rectangular cuvette.
6. **Prepare the blank:** Add 1 drop octyl alcohol to 20 mL of iso-octane. Fill the solution (prepared blank) in a 10-mm rectangular cuvette.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.

3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
2001	ASBC Bitter units beer
2003	Bitter units wort

4. Push **Start**.

5. Install the prepared blank. Push **Zero**.

6. Install the prepared sample. Push **Read**.  
The results show in BU.

## Principle

Bitter substances, mainly iso- $\alpha$  acids, are removed with iso-octane from the acidified sample. Measure the concentration of the iso-octane extract in 10-mm rectangular cuvette at 275 nm against iso-octane of the same quality (blank value).

*Note: Certain preservatives, such as n-heptyl p-hydroxybenzoate, sorbates and some brewing adjuncts or coloring agents, could contribute to absorbance at the wavelengths specified in this procedure. The possibility to catch ultraviolet-absorbing extraneous substances is greater in the BU procedure than in the IAA procedure. The possible effects of such materials must be examined before the measurement of bitter units.*

## Results specifications

International bitter units (IBU) to nearest one-half unit.

## Free amino nitrogen (EBC)

### Items to collect

#### Reagents

- **Color reagent**

1. Add 10.0 g of di-sodium-hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ ), 6.0 g of potassium di-hydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0.5 g of ninhydrin and 0.3 g of fructose in a 100-mL volumetric flask.
2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water. Keep this solution for a maximum of 2 weeks in a dark flask. The pH value must be between 6.6–6.8.

- **Thinner**

1. Dissolve 2 g of potassium iodate in 600 mL of distilled water and add 400 mL of 96 % ethanol. Keep this thinner solution at 5 °C (41 °F).

- **Parent solution**

1. Dissolve 107.2 mg of glycine in 100 mL of distilled water. Keep this parent solution at 0 °C (32 °F).

- **Standard solution**

1. Add 1 mL of parent solution in a 100-mL volumetric flask.
2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water. This standard solution contains 2 mg/L of amino nitrogen.

#### Accessories

- Spectrophotometer, 570 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Reagent flasks with ground-in stoppers, 16 × 150 mm
- Variable pipette 1.0–5.0 mL

- Pipette tips
- Boiling water bath
- Water bath at 20 °C (68 °F)
- Volumetric flask, 100-mL

### Sample preparation for light beer and wort

1. Dilute the wort 100 times and the beer 50 times (1–3 mg/L amino nitrogen).
2. Analyze the sample, standard solution and the blank value three times each.
3. Add 2 mL of diluted sample or standard solution or distilled water into a reagent flask.
4. Add 1 mL of color reagent in each reagent flask. Swirl the flasks to mix.
5. Loosely seal the reagent flasks with glass stoppers to prevent loss due to evaporation.
6. Put the reagent flasks for exactly 16 minutes in a boiling water bath.
7. Put the reagent flasks for 20 minutes in a water bath of 20 °C (68 °F).
8. Add 5 mL of thinner in each reagent flask.
9. Fill the prepared sample, standard and blank in a 10-mm rectangular cuvette. Measure the extinction within 30 minutes at 570 nm.

### Sample preparation for dark beer and wort

1. Dilute the wort 100 times and the beer 50 times (1–3 mg/L amino nitrogen).
2. Analyze the sample, correction solution, standard solution and the blank value three times each.
3. Add 2 mL of diluted sample or standard solution or distilled water into a reagent flask.
4. **Prepare sample, standard solution and blank value:** Add 1 mL of color reagent in each reagent flask. Swirl the flasks to mix.
5. **Prepare correction solution:** Add 1 mL of distilled water in each reagent flask and mix.
6. Loosely seal the reagent flasks with glass stoppers to prevent loss due to evaporation.
7. Put the reagent flasks for exactly 16 minutes in a boiling water bath.
8. Put the reagent flasks for 20 minutes in a water bath of 20 °C (68 °F).
9. Add 5 mL of thinner in each reagent flask.
10. Fill the prepared sample, correction solution, standard solution and blank value in a 10-mm rectangular cuvette. Measure the extinction within 30 minutes at 570 nm.

### Procedure for light beer and wort

The procedure that follow shows a triplicate determination of blank values, standard solution and samples without correction of light beer and worts.

1. Prepare the zero solution (distilled water), blank value, standard solution and sample each three times.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
2024	ASBC FAN beer
2025	ASBC FAN wort

4. Push **Start**.
5. Install the zero solution. Push **Zero**.  
Z1 shows in the display.
6. Install the blank value. Push **Read**.  
R1 shows in the display.  
*Note: Do step 6 for the blank value cuvettes 2 and 3. R2 and R3 show in the display.*



7. Install the standard solution. Push **Read**.  
R4 shows in the display.  
*Note: Do step 7 for the standard solution cuvettes 2 and 3. R5 and R6 show in the display.*
8. Install the prepared sample. Push **Read**.  
R7 shows in the display.  
*Note: Do step 8 for the prepared sample cuvettes 2 and 3. R8 and the result show in the display.*
9. The FAN result shown in mg/L.

### Procedure for dark beer and wort

The procedure that follow shows a triplicate determination of blank values, standard solution, correction and samples for dark beer and worts.

1. Prepare the zero solution (distilled water), blank value, standard solution, correction solution and sample each three times.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
2016	FAN dark beer
2015	FAN dark wort

4. Push **Start**.
5. Install the zero solution. Push **Zero**.  
Z1 shows in the display.
6. Install the blank value. Push **Read**.  
R1 shows in the display.  
*Note: Do step 6 for the blank value cuvettes 2 and 3. R2 and R3 show in the display.*
7. Install the standard solution. Push **Read**.  
R4 shows in the display.  
*Note: Do step 7 for the standard solution cuvettes 2 and 3. R5 and R6 show in the display.*
8. Install the correction solution. Push **Read**.  
R7 shows in the display.  
*Note: Do step 8 for the correction solution cuvettes 2 and 3. R8 and R9 show in the display.*
9. Install the prepared sample. Push **Read**.  
R10 shows in the display.  
*Note: Do step 9 for the prepared sample cuvettes 2 and 3. R11 and the result show in the display.*
10. The FAN results show in mg/L.

### Principle

The examination solution must have the pH value 6.7 with ninhydrin. Measure the resultant color 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-butanoic acid, which occurs in worts, also develops a color with ninhydrin.

## Interferences

Since this test measures small quantities of amino acids, make sure to prevent contaminations. Clean the flasks carefully. Only touch the external surface of cleaned flasks. Only use tweezers to move ground-in stoppers.

## More information

Option	Description
Results specifications	In mg/L without decimals
Standard value	Cast wort (12 %): 200–250 mg/L; Beer (12 %): 10–120 mg/L Approximately 220–250 mg/L of free amino nitrogen in the engaged wort are necessary for a satisfactory primary and secondary fermentation.

## Free amino nitrogen (ASBC)

### Before starting

Since the quantities of amino nitrogen reacting in this method are very small, it is necessary to prevent contaminations. Carefully clean glassware and only touch the external surfaces. Use suction bulbs for pipets and forceps to move glass marbles.
It is necessary to follow the times and temperatures for this procedure. A standard and blank sample must be included in each test to compensate for temperature variations in the boiling-water bath.
Suggested dilutions given for wort and beer are applicable for samples to contain 1–3 mg amino N/L after dilution. Examples given are for 65% malt and 12°P wort. For other malt-adjunct ratios and other °P values, make the necessary dilution adjustments.

### Items to collect

#### Reagents

##### • Color reagent

1. Add 10.0 g of di-sodium-hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ ), 6.0 g of potassium di-hydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0.5 g of ninhydrin and 0.3 g of fructose in a 100-mL volumetric flask.
2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water. Keep this solution for a maximum of 2 weeks in a dark flask. The pH value must be between 6.6–6.8.

##### • Thinner

1. Dissolve 2 g of potassium iodate in 600 mL of distilled water and add 400 mL of 96 % ethanol. Keep this thinner solution at 5 °C (41 °F).

##### • Parent solution

1. Dissolve 107.2 mg of glycine in 100 mL of distilled water. Keep this parent solution at 0 °C (32 °F).

##### • Standard solution

1. Add 1 mL of parent solution in a 100-mL volumetric flask.
2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water. This standard solution contains 2 mg/L of amino nitrogen.

### Accessories

- Spectrophotometer, 570 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Reagent flasks with ground-in stoppers, 16 × 150 mm
- Variable pipette 1.0–5.0 mL
- Pipette tips
- Boiling water bath
- Water bath at 20 °C (68 °F)
- Volumetric flask, 100-mL

### Sample preparation for light beer and wort

1. Dilute the wort 100 times and the beer 50 times (1–3 mg/L amino nitrogen).
2. Analyze the sample, standard solution and the blank value three times each.
3. Add 2 mL of diluted sample or standard solution or distilled water into a reagent flask.
4. Add 1 mL of color reagent in each reagent flask. Swirl the flasks to mix.
5. Loosely seal the reagent flasks with glass stoppers to prevent loss due to evaporation.
6. Put the reagent flasks for exactly 16 minutes in a boiling water bath.
7. Put the reagent flasks for 20 minutes in a water bath of 20 °C (68 °F).
8. Add 5 mL of thinner in each reagent flask.
9. Fill the prepared sample, standard and blank in a 10-mm rectangular cuvette. Measure the extinction within 30 minutes at 570 nm.

### Procedure for light beer and wort

The procedure that follow shows a triplicate determination of blank values, standard solution and samples without correction of light beer and worts.

1. Prepare the zero solution (distilled water), blank value, standard solution and sample each three times.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
2024	ASBC FAN beer
2025	ASBC FAN wort

4. Push **Start**.
5. Install the zero solution. Push **Zero**.  
Z1 shows in the display.
6. Install the blank value. Push **Read**.  
R1 shows in the display.  
*Note: Do step 6 for the blank value cuvettes 2 and 3. R2 and R3 show in the display.*
7. Install the standard solution. Push **Read**.  
R4 shows in the display.  
*Note: Do step 7 for the standard solution cuvettes 2 and 3. R5 and R6 show in the display.*
8. Install the prepared sample. Push **Read**.  
R7 shows in the display.  
*Note: Do step 8 for the prepared sample cuvettes 2 and 3. R8 and the result show in the display.*
9. The FAN result shown in mg/L.

### Principle

Use the ninhydrin method to determine the quantity of free amino nitrogen in wort or beer. The method provides information about the quantity of amino nitrogen available to yeast during fermentation or the quantity of amino nitrogen that remains in beer after fermentation. The method

measures amino acids, ammonia and to some extent end-group  $\alpha$ -amino nitrogen in peptides and proteins. The method is not specific for  $\alpha$ -amino nitrogen since  $\gamma$ -aminobutyric acid, which is present in both wort and beer, yields substantial color with ninhydrin.

### Result specifications

Wort: In mg/L without decimals

Beer: In mg/L with one decimals

## Iron

### Items to collect

#### Reagents

Prepare all solutions with iron-free distilled water.

- **Buffer solution**, pH 4.3
  1. Dissolve 75 g of ammonium acetate and 150 g of concentrated acetic acid in approximately 800 mL distilled water.
  2. Control the pH value and fill the volumetric flask to the 1-L mark with distilled water.
- **Ferrozine reagent**
  1. Dissolve 0.257 g of ferrozine or ferrospectral in 50 mL buffer. Keep this solution for a maximum of 2 weeks.
- **Ascorbic acid**, 2.5 % (prepare fresh daily)
- **Hydrochloric acid**, concentrated
- **Iron(III) standard solution** for determination of the calibration curve
  1. Add 863.4 mg of ammonium iron(III) sulfate  $[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12 \text{H}_2\text{O}]$  in a 1-L volumetric flask.
  2. Add 0.1 mL of concentrated hydraulic acid and fill the volumetric flask to the 1-L mark with distilled water.
  3. Add 50 mL of this solution in a 1-L volumetric flask. Fill the volumetric flask to the 1-L mark with distilled water. The standard solution contains 5 mg/mL  $\text{Fe}^{3+}$ .

#### Accessories

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

#### 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. Add 40 mL of beer into four 50-mL volumetric flasks.
2. Add 0.40 mL, 0.80 mL, 1.60 mL and 3.20 mL of the iron(III) standard solution into each volumetric flask.
3. Add 2 mL of ferrozine reagent and 1 mL of ascorbic acid solution into each volumetric flask.
4. Fill the volumetric flask to the 50-mL mark with distilled water.
5. Measure the extinction of the solution in a 40-mm rectangular cuvette at 560 nm against a corresponding blank value.
6. Subtract the results of the un-spiked sample from the spiked samples.

## Sample preparation

1. Degas the beer and let the foam subside completely.
2. Add 40 mL of beer, 2 mL of ferrozine reagent and 1 mL of ascorbic acid solution into a 50-mL volumetric flask.
3. Fill the volumetric flask to the 50-mL mark with distilled water.
4. **Prepare the blank value:** Add 40 mL of beer and 1 mL of ascorbic acid solution into a 50-mL volumetric flask. Fill the volumetric flask to the 50-mL mark with distilled water.  
*Note: 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.

## Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

## Principle

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

Bivalent iron forms a violet color 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). It is necessary to reduce trivalent iron to bivalent iron before measurement. The color intensity is measured spectrometrically.

## More information

Option	Description
Results specifications	In mg/L with three decimals
Accuracy	$r = 0.0080$
Target value	$< 0.200$ mg/L

## Iso-a and $\beta$ acids

### Items to collect

#### 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** (prepare fresh daily)
  1. Mix 64 mL of methanol and 36 mL of 4N hydrochloric acid.
- **Alkali methanol solution** (prepare fresh daily)
  1. Add 0.2 mL of 6N sodium hydroxide into a 100-mL volumetric flask and fill to the 100-mL mark with methanol.

### Accessories

- Spectrophotometer, 225 nm and 360 nm
- 10-mm rectangular cuvette QS
- Centrifuge, 3000 rpm
- Centrifuge flasks with solvent-proof screw closure, 100–110 mL capacity
- Shaking machine

### Sample preparation

1. Separate wort and cloudy beer with a centrifuge at 3000 rpm for 15 minutes.  
*Note: Do not use a filter.*
2. Remove carbon dioxide from the beer.  
*Note: Do not remove the foam.*
3. Modify the sample temperature to 20 °C (68 °F).
4. Add 50 mL of the sample into a centrifuge flask.
5. Add 3 mL of 6N hydrochloric acid and 25 mL of iso-octane.
6. Seal the centrifuge flask and shake it mechanically for 30 minutes at optimal mixing intensity.
7. Centrifuge to separate the phases and break up the emulsion for 5 minutes at 3000 rpm.
8. Remove the lower aqueous phase through suction with a pipette and discard it. Displace the iso-octane phase with enough sodium sulfate that the solution is clear after brief vigorous shaking.
9. Add 10 mL of the iso-octane phase into a 25-mL volumetric flask.
10. Add 10 mL of acidic methanol solution.
11. Seal the flask and invert the flask 100 times.
12. Add 5 mL of the excess clear iso-octane phase into a 25-mL volumetric flask.
13. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with alkali methanol solution.
14. Measure the extinction of the iso-octane solution against a blank value at 255 nm and 360 nm.
15. **Prepare blank value:** Add 5 mL of iso-octane into a 25-mL volumetric flask. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with alkali methanol solution.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

## 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- $\alpha$  acids and  $\beta$  acids is determined through measuring of the extinction in alkali methanol at 255 nm and 360 nm.

## More information

Option	Description
Results specifications	In mg/L without decimals
Accuracy	$V_{kr} = \pm 5\%$
Standard value	Beer: 10–40 mg/L iso- $\alpha$ acids, depending on nature, sort, type and origin; < 2mg/L $\beta$ acids Wort: 15–50 mg/L iso- $\alpha$ acids, depending on beer and bitters yield; 1–15 mg/L $\beta$ acids depending on degree of isomerization

## Photometric iodine sample

### Items to collect

#### 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
  1. Adjust 0.1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution with 0.1M phosphoric acid to pH 3.5.

#### Accessories

- Spectrophotometer, 578 nm
- 40-mm rectangular cuvette OS
- "Plumper" or plastic spatula
- Centrifuge
- Centrifuge flasks with ground-in stoppers, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Pipettes, 0.5, 2, 10, 20 and 40 mL

### Sample preparation

1. Add 10.0 mL of centrifuged wort or decarbonated beer into a centrifuge flask.
2. Add 40.0 mL of ethanol and shake mechanically for 10 minutes.
3. Centrifuge for 5 minutes at 2500 rpm.
4. Decant the clear phase as carefully and completely as possible.
5. Add 20.0 mL of phosphate buffer solution and shake mechanical for 10 minutes to loose the residue.
6. Centrifuge the solution for 5 minutes at 2500 rpm.
7. Add 2 mL of the excess and 8 mL of phosphate buffer solution into a 40-mm rectangular cuvette and measure at 578 nm against phosphate buffer solution.

- Add 0.5 mL of 0.02N iodine solution and mix immediately the contents with the plumper. Measure after 30 seconds.
- Prepare iodine blank value:** Add 10 mL of phosphate buffer solution and 0.5 mL of 0.02N iodine solution into a 40-mm rectangular cuvette and mix. Measure the extinction at 578 nm against phosphate buffer solution.

## Procedure

- Prepare the blank value (phosphate buffer), the iodine blank value and the sample.
- Select **STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER**.
- Enter the number 2010. Push **OK**.
- Push **Start**.
- Install the blank value (phosphate buffer). Push **Zero**.  
**Z1** shows in the display.
- Install the iodine blank value. Push **Read**.  
**R1** shows in the display.
- Install the prepared sample. Push **Read**.  
**R2** shows in the display.
- Remove the analysis cuvette and add 0.5 mL of 0.02N iodine solution to the analysis cuvette.
- Mix the content immediately with the "plumper".
- Install the analysis cuvette after 30 seconds. Push **Read**.

The result shown in the display.

## 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 erythro-dextrin and starch, a red to blue color forms, that is read photometrically.

## More information

Option	Description
Results specifications	Extinction to two decimals
Accuracy	$V_{kr} = \pm 3\%$
Standard value	$< 0.45$ (wort)

## Thiobarbituric acid numer (TAN)

### Items to collect

#### Reagents

- Acetic acid**, 90 %
  - Dilute 225 g of acetic acid 100 % (glacial acetic acid) with distilled water to 250 g.
- Thiobarbituric acid**, 0.02 mol/L (prepare fresh daily)
  - Add 0.288 g of 2-thiobarbituric acid ( $M = 144.15$  g/mol) and 90% acetic acid in 100-mL volumetric flask. Increase the temperature with a water bath to dilute the suspension.
  - Modify the solution temperature to 20 °C (68 °F).
  - Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with 90% acetic acid.
- Diatomaceous Earth**



## Accessories

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

## Sample preparation

For the best accuracy, prepare the sample as follows:

1. Clarify cloudy examination solutions through filtration over diatomaceous earth.
2. Dilute the sample.

Option	Description
<b>Wort and beer</b>	Dilute 10 times with distilled water.
<b>Congress wort</b>	Dilute 5 times with distilled water.

3. Prepare the empty value as follows:
  - a. Add 10 mL of the diluted sample and 5 mL of 90% acetic acid in a reagent flask.
  - b. Shake the solution and proceed as for the main value.
4. Prepare the main value as follows:
  - a. Add 10 mL of the diluted sample and 5 mL of thiobarbituric acid in a reagent flask and shake.
  - b. Put the reagent flasks in a water bath of 70 °C (158 °F) for 70 minutes, prevent exposure to direct sunlight. Make sure that the temperature of the reagent flasks in the bath only temporarily decreases by 1–2 °K.
  - c. After reaction time, quickly decrease the temperature of the reagent flasks to 20 °C (68 °F) (fast-flowing cold water or cold bath).
  - d. Measure immediately the extinction of the solution in a 10-mm rectangular cuvette at 448 nm against distilled water.

## Procedure

1. Prepare the zero solution (distilled water), empty value and sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number. Push **OK**.

Number	Programm
<b>2011</b>	TAN C-wort
<b>2012</b>	TAN beer/wort

4. Push **Start**.
5. Install the zero solution (distilled water). Push **Zero**.  
Z1 shows in the display.
6. Install the empty value. Push **Read**.  
R1 shows in the display.
7. Install the prepared sample. Push **Read**.  
The results show in the display.

## Principle

The thiobarbituric acid number is a 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.

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

### More information

Option	Description
Results specifications	Thiobarbituric acid number (TAN), dimensionless number
Standard value	Light cast wort < 45 Light cold wort (after wort cooling) < 60

## Total polyphenols (MEBAK)

### Items to collect

#### Reagents

- **Carboxymethylcellulose-ethylenediaminetetraacetic acid solution (CMC-EDTA-Na):**
  1. Add 10 g of CMC (low-viscosity), 2 g of EDTA-Na<sub>2</sub> and 500 mL of distilled water in a 1-L volumetric flask.
  2. Stir the solution until complete dissolution.
  3. Fill the volumetric flask to the 1-L mark with distilled water.
  4. If necessary, use a centrifuge to clear the solution.
- **Ammonium iron(III) citrate, 3.5%:**
  1. Add 3.5 g of ammonium iron(III) citrate, green (16 % Fe) in a 100-mL volumetric flask.
  2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water.
  3. Stir the solution until completely dissolved. The solution must be completely clear. Keep the solution for a maximum of 1 week.
- **Ammonia, diluted:**
  1. Dilute one part of concentrated ammonia (d = 0.91) with two parts of distilled water.

#### Accessories

- Spectrophotometer, 600 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Centrifuge
- Volumetric flask, 1-L
- Volumetric flask, 25-mL
- Volumetric flask, 100-mL

### Sample preparation

1. Shake the beer to remove carbon dioxide.
2. Clarify the cloudy wort or beer with a centrifuge.
3. Add 10 mL of sample and 8 mL of CMC/EDTA reagent in a 25-mL volumetric flask. Fully mix the solution.
4. Add 0.5 mL of ferric reagent to the solution. Fully mix the solution.
5. Add 0.5 mL of ammonia, diluted to the solution. Fully mix the solution.
6. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with distilled water. Fully mix the solution.

7. Wait for 10 minutes. Then fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette.
8. Prepare the blank as follows:
  - a. Add 10 mL of sample (clear and with no carbon dioxide) and 8 mL of CMC-EDTA-Na solution in a 25-mL volumetric flask. Fully mix the solution.
  - b. Add 0.5 mL of ammonia, diluted to the solution. Fully mix the solution.
  - c. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with distilled water. Fully mix the solution.

## Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

## Principle

Polyphenols react with iron(III) ions in alkali solution to a colored iron complexes. Measure the brown color in 10 mm rectangular cuvette at 600 nm against prepared blank value.

## More information

Option	Description
Accuracy	$r = 4.1$
Standard values	<b>Beer:</b> 150—200 mg/L

## Total polyphenols (ASBC)

### Items to collect

#### Reagents

- **Carboxymethylcellulose (CMC/EDTA) reagent** (1% solution of sodium salt of CMC (low viscosity) with addition of 0.2% ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA))
  1. Add 10 g of CMC (low-viscosity), 2 g of EDTA- $\text{Na}_2$  and 500 mL of distilled water in a 1-L volumetric flask.
  2. Stir the solution until completely dissolved (1 to 3 hours).
  3. Fill the volumetric flask to the 1-L mark with distilled water.
  4. If necessary, use a centrifuge to clarify the solution.
  5. Keep the solution for a maximum of 1 month.
- **Ferric reagent**
  1. Add 3.5 g of ammonium iron (III) citrate, green (16 % Fe) in a 100-mL volumetric flask.
  2. Fill the volumetric flask to the 100-mL mark with distilled water.
  3. Stir the solution until completely dissolved. The solution must be completely clear.
  4. Keep the solution for a maximum of 1 week.
- **Ammonia**, diluted
  1. Dilute 1 part of concentrated ammonia ( $d = 0.91$ ) with 2 parts of water.

## Accessories

- Spectrophotometer, 600 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Centrifuge
- Volumetric flask, 25-mL, wide-necked, with ground glass stoppers.
- Volumetric flask, 100-mL
- Volumetric flask, 1-L
- Pipets

## Sample preparation

1. Shake the beer to remove carbon dioxide.
2. Clarify the cloudy wort or beer with a centrifuge.
3. Add 10 mL of sample and 8 mL of CMC/EDTA reagent in a 25-mL volumetric flask. Fully mix the solution.
4. Add 0.5 mL of ferric reagent to the solution. Fully mix the solution.
5. Add 0.5 mL of ammonia, diluted to the solution. Fully mix the solution.
6. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with distilled water. Fully mix the solution.
7. Wait for 10 minutes. Then fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette.
8. Prepare the blank as follows:
  - a. Add 10 mL of sample (clear and with no carbon dioxide) and 8 mL of CMC-EDTA-Na solution in a 25-mL volumetric flask. Fully mix the solution.
  - b. Add 0.5 mL of ammonia, diluted to the solution. Fully mix the solution.
  - c. Fill the volumetric flask to the 25-mL mark with distilled water. Fully mix the solution.

## Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

## Principle

Evidence that polyphenols are implicated in the complex phenomena of beer oxidation and haze formation prompted a collaborative study by the European Brewery Convention of a method for their evaluation, resulting in subsequent publication in *Analytica* III (Ref. 2). The same method was subjected to a collaborative investigation by ASBC using ales, regular lager beers and low-calorie beers, resulting in acceptance of the procedure as an International Method.

The polyphenols are reacted with ferric iron in alkaline solution and the red color produced is measured photometrically.

## More information

Option	Description
Results specifications	mg/L without decimals
Accuracy	Sr = 2.17 to 3.28; Sc = 5.58 to 11.61 (with the highest values in each instance being for the high-polyphenol ales)
Standard values	Beer: 150–200 mg/L

## Vicinal diketones

### Items to collect

#### Reagents

- **Hydrochloric acid, 4N**
- **1,2-phenylenediamine, 1 %** in 4N hydrochloric acid  
*Note: Prepare solutions daily and keep in the dark. 1,2-phenylenediamine is toxic and an allergen; it must be handled carefully, work with gloves.*
- **Anti-foam emulsion** (no diketones)

#### Accessories

- Spectrophotometer, 335 nm
- 20-mm rectangular cuvette QS
- Appliance for nitrogen determination with heating jacket, macro execution. Replace the supplied cooler by a larger one if the distillate is not sufficiently cooled. Other similar appliances are also applicable.

### Test preparation

1. Add 100 g of 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 minutes, approximately 25 mL of distillate transfers.
4. Collect 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. **Prepare blank value:** Add 2.5 mL of 4N hydrochloric acid.
7. **Prepare main value:** Add 0.5 mL of 1,2-phenylenediamine solution, mix and put in the dark for 30 minutes. Add 2 mL of 4N hydrochloric acid.
8. Measure the extinction of the main value against the blank value within 20 minutes at 335 nm in a 20-mm rectangular cuvette.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

## Principle

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 also occur as a characteristic metabolic product of certain micro-organisms. When there is more than the threshold value, the beer has a bad aroma.

The photometric determination method in operation control is recommended as an alternative over the gas chromatographic methods, because photometric determination is performed quickly and without great equipment expense. This method does not let the preferable differentiation between diacetyl and pentanedione.

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

## More information

Option	Description
Results specifications	In mg/kg with two decimals
Accuracy	r = 0.03
Target value	For light full beer <0.15 mg/kg
Comments	It is not necessary to clean or purge the distillation appliance between tests. The distillation appliance can be immediately refilled between tests. After testing is complete, remove the adherent residues with diluted sodium hydroxide or another suitable cleaning agent. Acetohydroxy acids present in bottled beer are oxidized in the presence of oxygen to diketones. Analyze the total diketone content before this analysis. Keep the beer sample for a maximum of 1.5 hour at 70 °C (158 °F) for diketone content analysis.

## Diacetyl

### Items to collect

### Reagents

- **α-Naphthol solution** (C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>OH)
  1. Dissolve 4 g of α-Naphthol solution in 100 mL of isopropanol, 99.6%.
  2. Add ca. 0.5 g vegetable carbon and shake mixture for about 0.5 hours, then filter. Keep the filtrate in the dark in an amber bottle.
- **KOH-creatine solution**
  1. Dissolve 0.3 g of creatine in 80 mL 40% KOH solution (aqueous) and filter. Keep in a polyethylene container under refrigeration.
- **Diacetyl, stock solution**
  1. Prepare an aqueous solution containing 500 mg/L. Keep the stock solution in an amber bottle in refrigerator.
- **Diacetyl, working solution**
  1. Prepare immediately before use. Dilute 1 mL of stock solution to 100 mL with distilled water; concentration: 5.0 mg/L diacetyl.

### Accessories

- Spectrophotometer, 530 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Distillation equipment, preferably all glass
- Volumetric flasks, 10-mL
- Graduated cylinders, 50-mL
- Heat mantle for boiling flask
- Boiling flask, two-neck, 500-mL
- Distilling tube, mounted vertically on boiling flask
- Condenser, water-cooled, connected (by a 75° adapter if necessary) to distilling tube so that it slopes downward
- Curved tapered tube adapter, connected to condenser, delivery tip to dip below liquid level in receiver
- Receiver, such as 50-mL beaker, marked at 15 and 33-mL levels

### Sample preparation

1. Distill 100 mL of decarbonated beer into a 50-mL graduated cylinder that contains 5 mL of distilled water.
2. Collect ca. 15 mL distillate and fill to the 25-mL mark with distilled water.
3. Pipet a 5 mL aliquot into a 10-mL volumetric flask.
4. Add 1 mL of  $\alpha$ -Naphthol solution to each flask and swirl.
5. Add 0.5 mL of KOH-creatine solution to a maximum of 4 or 5 flasks at a time.
6. Fill the volumetric flasks to the 10-mL mark with distilled water.
7. Shake vigorously for exactly 1 minute.
8. Wait 5 minutes. Then measure absorbance at 530 nm against the reagent blank.
9. Do step 6 for all samples to measure.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

### Principle

Spectrophotometric methods determine vicinal diketones (VDKs). All methods are affected by sample treatment before and during analysis. VDK precursors will convert to free compounds, partially or completely, depending on the pH, extent of exposure to air and temperature.

### Reducibility

#### Items to collect

#### Reagents

- **2,6-dichlorophenol-indophenol**, 0.005 M (DPI solution, molecular weight of the sodium salt 290.08):

1. Weigh into a beaker approximately 100 mg of DPI solution and add approximately 25 mL of distilled water. Use heat to dissolve the solution ( approximately 60 °C (140 °F)).
  2. Let the temperature of the solution decrease and rinse the contents into a 50-mL volumetric flask. Fill the volumetric flask to the 50-mL mark. Filter through a fiberglass filter.
  3. Add 10 mL of filtrate, 1 g of KJ and 2 mL of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1+6) into a 150-mL volumetric flask and titrate with 0.01 N sodium thiosulfate until the color changes to starch paste.
  4. Calculate the indicator content: used mL × 14.5 = mg indicator in 100 mL
  5. Dilute the remaining filtrate so that 100 mL solution contains 145 mg indicator.
  6. Keep the solution in brim-full brown bottles at 4 °C (39 °F) for approximately 1 week.
- **Phosphate-citrate buffer**, pH =4.35
    1. Dissolve 31.60 g of di-sodium hydrogen phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 12 H<sub>2</sub>O) and 11.75 g of citric acid (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> × H<sub>2</sub>O) in distilled water and dilute to 1 L.

### Accessories

- Spectrophotometer, 520 nm
- 10-mm rectangular cuvette OS
- Stop watch
- Water jet pump
- Breaker, 100-mL
- Volumetric flask, 50-mL
- Volumetric flask, 150-mL

### Test preparation

1. Keep the beer at 20 °C (68 °F) and remove the carbon dioxide under vacuum (water jet pump).
2. Add the decarbonated beer into a 10-mL reagent flask with glass stopper. Pour 0.25 mL of (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.
4. Fill the prepared sample in a 10-mm rectangular cuvette immediately.
5. **Prepare the blank:** Decarbonated beer without the added reagent.

### Procedure

1. Prepare the blank and the sample.
2. Select STORED PROGRAMS>SELECT BY NUMBER.
3. Enter the number 2026. Push **OK**.
4. Push **Start**.
5. Install the prepared blank. Push **Zero**.
6. Install the prepared sample. Wait 60 seconds. Push **Read**.  
The results show in mg/L.

### Principle

Reducibility is a measure for the fast-reducing substances give 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.

Reducers decrease 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.



## More information

Option	Description
Results specifications	Proportion of the supplied DPI quantity in %, which is reduced by 10 mL beer in 60 seconds
Accuracy	$V_{kr} = \pm 1\%$
Standard values	> 60 very good; 50–60 good; 45–50 satisfactory; < 45 poor

# Inhaltsverzeichnis

Allgemeine Informationen auf Seite 34

Zubehör auf Seite 40

Kolorimetrische Verfahren auf Seite 41

## Allgemeine Informationen

Der Hersteller ist nicht verantwortlich für direkte, indirekte, versehentliche oder Folgeschäden, die aus Fehlern oder Unterlassungen in diesem Handbuch entstanden. Der Hersteller behält sich jederzeit und ohne vorherige Ankündigung oder Verpflichtung das Recht auf Verbesserungen an diesem Handbuch und den hierin beschriebenen Produkten vor. Überarbeitete Ausgaben der Bedienungsanleitung sind auf der Hersteller-Webseite erhältlich.

## Sicherheitshinweise

### HINWEIS

Der Hersteller ist nicht für Schäden verantwortlich, die durch Fehlanwendung oder Missbrauch dieses Produkts entstehen, einschließlich, aber ohne Beschränkung auf direkte, zufällige oder Folgeschäden, und lehnt jegliche Haftung im gesetzlich zulässigen Umfang ab. Der Benutzer ist selbst dafür verantwortlich, schwerwiegende Anwendungsrisiken zu erkennen und erforderliche Maßnahmen durchzuführen, um die Prozesse im Fall von möglichen Gerätefehlern zu schützen.

Bitte lesen Sie dieses Handbuch komplett durch, bevor Sie dieses Gerät auspacken, aufstellen oder bedienen. Beachten Sie alle Gefahren- und Warnhinweise. Nichtbeachtung kann zu schweren Verletzungen des Bedieners oder Schäden am Gerät führen.

Stellen Sie sicher, dass die durch dieses Messgerät bereitgestellte Sicherheit nicht beeinträchtigt wird. Verwenden bzw. installieren Sie das Messsystem nur wie in diesem Handbuch beschrieben.

## Bedeutung von Gefahrenhinweisen

### ▲ GEFAHR

Kennzeichnet eine mögliche oder drohende Gefahrensituation, die, wenn sie nicht vermieden wird, zum Tod oder zu schweren Verletzungen führt.

### ▲ WARNUNG

Kennzeichnet eine mögliche oder drohende Gefahrensituation, die, wenn sie nicht vermieden wird, zum Tod oder zu schweren Verletzungen führen kann.

### ▲ VORSICHT



Kennzeichnet eine mögliche Gefahrensituation, die zu geringeren oder moderaten Verletzungen führen kann.

### HINWEIS



Kennzeichnet eine Situation, die, wenn sie nicht vermieden wird, das Gerät beschädigen kann. Informationen, die besonders beachtet werden müssen.

## Warnhinweise

Lesen Sie alle am Gerät angebrachten Aufkleber und Hinweise. Nichtbeachtung kann Verletzungen oder Beschädigungen des Geräts zur Folge haben. Im Handbuch werden auf die am Gerät angebrachten Symbole in Form von Warnhinweisen verwiesen.

	<p>Dieses Symbol am Gerät weist auf Betriebs- und/oder Sicherheitsinformationen im Handbuch hin.</p>
	<p>Elektrogeräte, die mit diesem Symbol gekennzeichnet sind, dürfen nicht im normalen öffentlichen Abfallsystem entsorgt werden. Senden Sie Altgeräte an den Hersteller zurück. Dieser entsorgt die Geräte ohne Kosten für den Benutzer.</p>

## Chemische und biologische Sicherheit

 <b>GEFAHR</b>	
	<p>Chemische und biologische Risiken. Wird das Gerät dazu verwendet, ein Verfahren und/oder eine chemische Zuleitung zu überwachen, für das vorgeschriebene Grenzwerte und Überwachungsvorschriften im Bereich der öffentlichen Sicherheit, der Gesundheit oder im Bereich der Lebensmittel- oder Getränkeherstellung bestimmt wurden, so unterliegt es der Verantwortung des Benutzers des Geräts, alle solche Bestimmungen zu kennen und diese einzuhalten und für ausreichende und entsprechende Vorsorgemaßnahmen zur Einhaltung der für den Fall einer Fehlfunktion des Geräts bestehenden Bestimmung zu sorgen.</p>

Beim normalen Betrieb dieses Geräts kann die Nutzung von gesundheitsgefährdenden Chemikalien oder biologisch schädlichen Proben erforderlich sein.

- Beachten Sie vor dem Umgang mit diesen Stoffen alle, auf den Gebinden der Originallösungen und im Sicherheitsdatenblatt gedruckten Gefahrenhinweise und Sicherheitsinformationen.
- Entsorgen Sie sämtliche verbrauchte Lösungen in Übereinstimmung mit den nationalen Vorschriften und Gesetzen.
- Wählen Sie die Art der Schutzausrüstung entsprechend der Konzentration und Menge des gefährlichen Stoffs am jeweiligen Arbeitsplatz.

## Produktübersicht

Die Brauereianalysesoftware ist ein Satz spektralphotometrischer Verfahren für die brautechnische Analyse. Die Verfahren stimmen mit dem MEBAK-Benutzerhandbuch (der im Jahr 2012 veröffentlichten 1. Version) oder mit den AACC International Approved Methods of Analysis, 11. Ausgabe, der American Society of Brewing Chemists (ASBC) überein.

## Installation von Geräteaktualisierungen

1. Wählen Sie „System Prüfungen“ > „Geräte-Update“.
2. Schließen Sie den USB-Stick an einen USB-Anschluss (Typ A) des Geräts an, um die Brauereianalysesoftware zu installieren.
3. Drücken Sie **OK**.  
Warten Sie, bis die Software installiert ist.
4. Schalten Sie das Gerät aus.
5. Warten Sie mindestens 20 Sekunden, und schalten Sie das Gerät dann ein.

## Auswahl eines Tests

1. Wählen Sie **Gespeicherte Programme**.  
Die Programme werden alphabetisch angezeigt. Die Verfahren der Brauereianalysesoftware befinden sich am Ende der Liste (Testnummern 2001 bis 2026).
2. Tippen Sie auf **Auswahl nach Nr.**, und geben Sie die Nummer ein.
3. Drücken Sie **START**.

## Verwendung des SIP-10-Sippers

Verwenden Sie das SIP-10-Sippermodul und eine Durchflusszelle für einfache und schnelle Messungen. Informationen zu Installation, Konfiguration und das Einlegen von Proben finden Sie in der SIP-10-Dokumentation.

## Probennahme und Lagerung von Bier

Die ordnungsgemäße Probennahme und Lagerung sind für präzise Messungen unerlässlich. Stellen Sie sicher, dass Sie eine repräsentative Probe erhalten, ganz gleich, ob es sich um eine chemische, physikalische oder mikrobiologische Analyse handelt. Bei mikrobiologischen Analysen muss Kontaminierung verhindert werden.

Für die meisten chemischen und physikalischen Analyseverfahren muss die Bierprobe entgast werden. Informationen hierzu finden Sie unter [Entgasungsmethoden und Alternativen](#) auf Seite 37 oder [Entgasung mit einem Orbitalschüttler](#) auf Seite 36.

### Entgasung mit einem Orbitalschüttler

Die Methode mit Orbitalschüttler ist ein gründliches, konsistentes Verfahren zur Austreibung von Kohlensäure in Bier. Bei dieser Methode werden Variablen für das Austreiben von Kohlensäure wie Temperatur, Schüttelgeschwindigkeit und Dauer standardisiert. Das entkohlensäuerte Bier wird anschließend gemäß der Standardmethode gemessen.

In einer Ringstudie<sup>1</sup>wiesen die Variationskoeffizienten für Wiederholbarkeit für den Gehalt an Stammwürze, Alkohol und wirklichem Extrakt in Bierproben Bereiche zwischen 0,1–0,4, 0,1–0,5 und 0,1–0,2 % auf, die als akzeptabel erachtet wurden. Die Variationskoeffizienten für Reproduzierbarkeit für den Gehalt an Stammwürze, Alkohol und wirklichem Extrakt wiesen Bereiche zwischen 0,6–1,0, 0,8–1,6 und 0,4–1,0 % auf, die als akzeptabel erachtet wurden.

Für nichtalkoholische Bierproben, die mit der Methode mit Orbitalschüttler entsäuert wurden, betragen die Variationskoeffizienten für Wiederholbarkeit 0,3, 1,7 und 0,5 %. Die Variationskoeffizienten für Reproduzierbarkeit für den Gehalt an Stammwürze, Alkohol und wirklichem Extrakt betragen 1,0, 6,4 und 0,8 %.

**Hinweis:** Mit der Methode mit Orbitalschüttler entgaste Biere wiesen im Vergleich zu Bier, das nach [Entgasungsmethoden und Alternativen](#) auf Seite 37 entgast wurde, signifikant geringere Werte für den Gehalt an Stammwürze und wirklichem Extrakt auf. Dieser Unterschied war zu erwarten; Constant und Collier<sup>2</sup> fanden heraus, dass die Methode mit Orbitalschüttler zu einer vollständigeren Austreibung von Kohlensäure in Bierproben führt, was die Auswirkungen von Rest-CO<sub>2</sub> auf die Werte des Stammwürzegehalts vermindert.

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenz

- Tributylphosphat (TBP)

#### Zubehör

- Wasserbad, 20 °C (± 1 °C) (68 °F)
- Orbitalschüttler, bis zu 300 U/min zulässig
- Plattform für den Orbitalschüttler
- Erlenmeyerkolben, 500-ml-Kolben mit weiter Öffnung und Schikanen, bei 250 ml vormarkieren
- Aluminiumfolie
- Pipettierer, 10–100 µl
- Pipettenspitzen, 10–100 µl

<sup>1</sup> American Society of Brewing Chemists, *Report of Subcommittee on Beer Decarbonation by a Rotary Shaker Method*, Journal 56:196, 1998

<sup>2</sup> Constant, M. D., und Collier, J. E., *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 51:1, 1993, 1998

## Vorbereitung von Proben

1. Passen Sie die Probentemperatur auf 20 °C (68 °F) an.
2. Geben Sie mit einer Pipette 10 µl TBP in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben mit weiter Öffnung und Schikanen.
3. Bis zur 250-ml-Linie mit der Probe füllen.
4. Geben Sie erneut 10 µl TBP zu.
5. Stanzen Sie ein Loch mit einem Durchmesser von 10 mm in die Mitte der Aluminiumfolie.
6. Decken Sie den Kolben mit der Aluminiumfolie ab. Kräuseln Sie die Aluminiumfolie um die Kolbenöffnung herum fest.
7. Geben Sie den Kolben in den Orbitalschüttler, und schütteln Sie ihn für exakt 12 Minuten bei 190 U/min. Die Bierprobe kann nun analysiert werden.

## Entgasungsmethoden und Alternativen

Methoden	Verfahren	Dauer	Rest-CO <sub>2</sub>	Vor- und Nachteile
Bier-1 A	Geben Sie die Probe in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben. Schütteln Sie die Probe von Hand, bis sich kein Gas mehr in der Probe befindet.	5 bis 20 Minuten	Mittel bis gering (0,2 bis 0,06)	Die Menge an Rest-CO <sub>2</sub> hängt von der Dauer und Stärke des Schüttelvorgangs ab.
Bier-1 D (Orbitalschüttler)	Geben Sie die Probe in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben mit weiter Öffnung und Schikanen. Geben Sie die Probe für 12 Minuten in einen Orbitalschüttler.	12 Minuten	Niedrig	Sehr spezifisches Verfahren mit einheitlichen Ergebnissen.
Gießen <sup>3</sup>	Gießen Sie die Probe von einem 500-ml-Becherglas in ein zweites, bis sich kein Gas mehr in der Probe befindet.	5 bis 20 Minuten	Mittel bis gering (0,2 bis 0,01)	Die Menge an Rest-CO <sub>2</sub> hängt von der Dauer und Häufigkeit des Gießvorgangs ab.
Ultraschallbad <sup>1</sup>	Geben Sie die Probe in das Ultraschallbad, bis sich kein Gas mehr in der Probe befindet.	15 Minuten	Höher (0,56 vol)	Die am wenigsten wirkungsvolle Methode, aber die einfachste Methode für eine große Anzahl an Proben.
Filtrierung	Filtern Sie die Probe mit Faltenfilterpapier.	10 bis 15 Minuten	Höher (0,529 vol)	—
Ultraschallbad und Filtrierung <sup>1</sup>	Geben Sie die Probe in das Ultraschallbad, und filtern Sie die Probe anschließend mit Faltenfilterpapier.	10 Minuten Ultraschallbad 10 bis 15 Minuten Filtrierung	Mittel (0,41)	Wirksamer als Ultraschallbad oder Filtrierung allein, dennoch höher.

<sup>3</sup> Diese Entgasungsmethoden werden in der Industrie verwendet und sind in der Literatur zu finden, wurden jedoch nicht nach den üblichen ASBC-Protokollen validiert.

Methode	Verfahren	Dauer	Rest-CO <sub>2</sub>	Vor- und Nachteile
Spülung mit Gas	Es werden andere Inertgase durch die Probe geleitet, um CO <sub>2</sub> zu entfernen.	25 Minuten	Keine	Nicht automatisiert und zeitintensiv.
Membranentgasung <sup>1</sup>	Die Probe wird durch ein Instrument mit einer semipermeablen Membran mit Unterdruck auf einer Seite geleitet, um CO <sub>2</sub> zu entfernen.	30 bis 40 ml/min (5 bis 10 Minuten für eine vollständige Probe)	Keine	Nicht automatisiert.
Wasservakuumpumpe <sup>1</sup>	Geben Sie die Probe unter eine Wasservakuumpumpe, um CO <sub>2</sub> durch Unterdruck zu entfernen.	5 bis 10 Minuten	Keine	Nicht automatisiert, entfernt andere flüchtige Stoffe.
Mikrowelle	Geben Sie die Probe in ein Mikrowellengerät, um CO <sub>2</sub> zu entfernen.	15 bis 20 Sekunden	Niedrig	Schneller und wirksamer als Filtrierung und Ultraschallbad.

## Probennahme und Lagerung von Würze

### HINWEIS

Würzeproben dürfen nicht auf Raumtemperatur verbleiben. Dies ist erforderlich, um Kontamination zu verhindern. Decken Sie die Probe mit Folie (oder einer ähnlichen Abdeckung) ab, und kühlen Sie sie unmittelbar. Bewahren Sie die Proben gekühlt auf, bis sie in das Labor gebracht werden.

Alle Würzen sind nicht vollständig stabil und unterliegen mikrobieller, physikalischer und chemischer Zersetzung. Form und Farbe der Ausfällung hängen von Dauer und Temperatur ab. Stellen Sie sicher, dass die Kühltemperaturen, Klärungs- und Handhabungsverfahren für Würzeproben standardisiert sind, bevor die Messergebnisse verglichen werden.

1. Nehmen Sie eine für die Analyse ausreichende Probe an pflanzlicher Würze.
2. Bewahren Sie sie gekühlt auf, oder füllen Sie die Würze in Bierflaschen, und pasteurisieren Sie sie.
3. Mischen Sie die Probe gut, bevor Teile für die Analyse entnommen werden.
4. Passen Sie die Würzetemperatur auf 5–8 °C (41–46 °F) an.
5. Dekantieren Sie ggf. die Würze vom Rückstand.
6. Filtern Sie die Würze bei 5–8 °C (41–46 °F) durch Filterpapier.
7. Wenn das Würzefiltrat nicht klar ist, wiederholen Sie den Filtervorgang.

**Hinweis:** Verwenden Sie keine Filterhilfsmittel, außer für den Teil des Filtrats, der zur Farbestimmung erneut bearbeitet wird.

## Liste der Abkürzungen

Reagenzien sind von technischer Reinheit, soweit nicht anders genannt. Lösungen sind wässrig, soweit nicht anders genannt.

Abkürzung	Definition
s	Standardabweichung
r	Wiederholbarkeit (95 %)

Abkürzung	Definition
R	Vergleichbarkeit (95 %)
V <sub>K</sub>	Variationskoeffizient
m	Mittelwert

## Literatur

Literatur	Beschreibung
ASBC-Literatur	<i>AACC International Approved Methods of Analysis</i> , 11. Ausgabe Veröffentlicht von: American Society of Brewing Chemists (ASBC) 3340 Pilot Knob Road St. Paul, MN 55121, USA
MEBAK Brautechnische Analysemethoden	<i>Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK)</i> , 1. Ausgabe, 2012 Veröffentlicht vom Vorsitzenden Dr. Heinrich Pfenninger, Eigenveröffentlichung der MEBAK, D-85350 Freising-Weihenstephan

## Verfahrensübersicht

Verfahren	Messbereich	Programm	Wellenlänge	Null	Küvette
MEBAK-Anthocyanogene	0–100 mg/L	2005	550	Reagenzienblindwert	10 mm OS
MEBAK-Bierfarbe	0–60 EBC-Einheiten	2006	430	destilliertes Wasser	10 mm OS
ASBC-Bierfarbe (Bier-10A)	0–40°	2020	430	destilliertes Wasser	10 mm OS
MEBAK-Bittereinheiten Bier	10–40 BU	2001	275	Isooctan	10 mm QS
MEBAK-Bittereinheiten Würze	20–60 BU	2003	275	Isooctan	10 mm QS
ASBC-Bittereinheiten Bier (Bier-23)	10–100 IBU	2021	275	Alkoholblindwert	10 mm QS
ASBC-Bittereinheiten Würze (Würze-24)	20–200 IBU	2022	275	Alkoholblindwert	10 mm QS
MEBAK FAN helle Würze	0–400 mg/L	2007	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS
MEBAK FAN helles Bier	0–400 mg/L	2008	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS
ASBC FAN Bier (Bier-31)	0–400 mg/L	2024	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS
MEBAK FAN dunkle Würze	0–400 mg/L	2015	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS

Verfahren	Messbereich	Programm	Wellenlänge	Null	Küvette
MEBAK FAN dunkles Bier	0–400 mg/L	2016	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS
ASBC FAN Würze (Würze-12)	0–400 mg/L	2025	570	Reagenzienblindwert	10 mm OS
MEBAK Eisen	0–1 mg/L	2017	560	Probenblindwert	40 mm OS
MEBAK Iso- $\alpha$ - und $\alpha$ -Säuren	0–60 mg/L	2013	255 + 360	Reagenzienblindwert	10 mm QS
MEBAK photometrische Jodprobe	Jodwert 0–1	2010	578	Reagenzienblindwert	40 mm OS
MEBAK Thiobarbitursäurezahl TAN c-Würze	0–100	2011	448	destilliertes Wasser	10 mm OS
MEBAL Thiobarbitursäurezahl TAN Bier/Würze	0–100	2012	448	destilliertes Wasser	10 mm OS
MEBAK Gesamtpolyphenole	0–800 mg/L	2002	600	Probenblindwert	10 mm OS
ASBC Polyphenole gesamt (Bier-35)	0–800 mg/L	2026	600	Probenblindwert	10 mm OS
MEBAL vicinale Diketone	0–1 mg/kg	2014	335	Reagenzienblindwert	20 mm QS
ASBC-Diacetyl (Bier-25B)	0–1 mg/L	2023	530	Reagenzienblindwert	10 mm OS
MEBAK-Reduktionsvermögen	0–100 %	2004	520	Probenblindwert	10 mm OS

## Zubehör

Beschreibung	Bestellnr.
Rechteckküvettenset OS, (Schichtdicke = 10 mm, abgeglichenes Paar)	2095100
Rechteckküvette QS, Schichtdicke = 10 mm (3,5 ml)	2624410
Rechteckküvette QS, Schichtdicke = 20 mm	LZV008
Rechteckküvette OS, Schichtdicke = 20 mm	LZP331
Rechteckküvette QS, Schichtdicke = 50 mm (17,5 ml)	2624450
Rechteckküvette OS, Schichtdicke = 50 mm	LZP167
Durchflusszelle QS, Schichtdicke = 50 mm	SM01X176501040



Beschreibung	Bestellnr.
Durchflussszelle QS, Schichtdicke = 10 mm	LZV510
SIP 10 Sipper-Modulset für DR 6000 mit Halter, Schlauchset und einer 1-cm-Durchflussszelle aus Quarzglas	EU: LQV157.99.30001 USA: LQV157.99.30002

## Kolorimetrische Verfahren

### Anthocyanogene

#### Zusätzlich erforderliche Artikel

##### Reagenzien

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

##### Zubehör

- Spektralphotometer, 550 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Schüttler
- Zentrifuge
- Unterdruckpumpe
- Mischzylinder, 50 ml, mit eingeschliffenem Stopfen
- Glaskolben, 30 ml, Graduierung max. 25 ml, mit eingeschliffenem Stopfen
- Fritte 1 G4
- Saugflasche

#### Vorbereitung von Proben

1. Zentrifugieren Sie Würzen und trübe Biere für 20 Minuten bei 3000 U/min.
2. Geben Sie 5 ml Bier (oder Würze) und 5 ml destilliertes Wasser in einen 50-ml-Mischzylinder.
3. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Geben Sie 10 ml destilliertes Wasser in einen 50-ml-Mischzylinder.
4. Geben Sie 0,5 g in 10 ml destilliertem Wasser geschwenktes Polyamidpulver in beide Mischzylinder (Mischzylinder für Probe und Blindwert).
5. Schütteln Sie beide Mischzylinder mechanisch für 40 Minuten.
6. Filtern Sie jede Suspension durch eine 1 G4-Fritte. Spülen Sie sie zweimal mit ca. 20 ml destilliertem Wasser.
7. Legen Sie Vakuum an beide Fritten (für Probe und Blindwert) an, und trocknen Sie mit Polyamidpulver. Transferieren Sie dann die Rückstände mit einem Spatel quantitativ in zwei Glaskolben (Probe und Blindwert), und spülen Sie beide Fritten mit 15 ml Lösung 1.
8. Geben Sie 0,5 ml Lösung 2 in beide Glaskolben.
9. Geben Sie beide Glaskolben für 30 Minuten in ein siedendes Wasserbad.
10. Rühren Sie den Inhalt jedes Kolbens während der ersten 5 Minuten des Wasserbads mit einem Glasstab um.
11. Entfernen Sie die Glasstäbe, und spülen Sie mit etwas Lösung 1.
12. Halten Sie beide Glaskolben auf 20 °C (68 °F), und füllen Sie dann beide Glaskolben bis zur 25-ml-Markierung mit Lösung 1.
13. Füllen Sie die vorbereitete Probe und den Blindwert in zwei 10-mm-Rechteckküvetten.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Anthocyanogene (Leucoanthocyanidine) sind phenolhaltige Verbindungen, die durch heiße Salzsäure zu rotfarbenen Anthocyanidinen werden. Menge und Kondensation oder Polymerisierungsgrad dieser Verbindungen haben Auswirkungen auf die Bildung von kolloidalen Trübungen im Bier. Stabilisierungsmaßnahmen mit PVPP korrelieren mit einer Reduktion des Anthocyanogengehalts.

Die Anthocyanogene werden an Polyamide adsorbiert. Das Adsorbat wird in Butanolsalzsäure aufgelöst und erhitzt. Es bildet sich eine rote Lösung, deren Intensität photometrisch gemessen wird.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/L ohne Dezimalstellen
Genauigkeit	$r = 9$
Standardwerte	50–70 mg/L (in Abhängigkeit von den Rohstoffen und technischen Maßnahmen, Stabilisierung mit entsprechend geringerem PVPP)

## Bierfarbe (EBC)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- Kieselgur, 0,1 %

#### Zubehör

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

## Vorbereitung von Proben

1. Verdünnen Sie die Proben, sodass die Extinktion innerhalb der Linearität des Spektralphotometers liegt.
2. Filtern Sie die Probe durch einen Membranfilter. Filtern ist nicht erforderlich, wenn die Trübung der verdünnten Probe unter 1 EBC-Trübungseinheit liegt.
3. Klären Sie das Bier nach Bedarf durch Hinzufügen von 0,1 % Kieselgur und einen dem Membranfilter vorgeschalteten Filter.
4. Füllen Sie die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette.
5. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Füllen Sie das destillierte Wasser in eine 10-mm-Rechteckküvette.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Diese Methode verhindert die subjektiven Einflüsse des menschlichen Auges und Unterschiede im Farbeindruck durch den Vergleich der Proben mit einem Farbstandard. Diese technische Methode ist als offizielle Referenzmethode anerkannt.

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

## Störeinflüsse

Eine spektrometrische Absorptionskurve gibt nicht den Farbeindruck des menschlichen Auges wieder, da Licht gleicher Intensität verschiedener Bereiche des Spektrums auf das Auge unterschiedlich wirkt. Außerdem sind die Extinktionskurven bei 430 nm sehr steil, sodass geringfügige Messfehler auftreten können. Es gibt auch Unterschiede beim Vergleich heller Biere mit verdünnten dunklen Bieren.

## Ergebnisspezifikationen

EBC-Einheiten mit zwei kennzeichnenden Ziffern.

## Bierfarbe (ASBC)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Zubehör

- Spektralphotometer, 430 nm ( $\pm 0,5$  nm), 700 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Membranfilter
- Zentrifuge

### Vorbereitung von Proben

1. Entgasen Sie die Probe.
2. Füllen Sie die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette, und messen Sie die Extinktion bei 430 nm und 700 nm.

Optionen	Beschreibung
<b>Extinktion bei 700 nm ist <math>\leq 0,039</math> Mal der Extinktion bei 430 nm</b>	Bier ist „frei von Trübungen“. Siehe Verfahren zur Farbmessung.
<b>Extinktion bei 700 nm ist <math>&gt; 0,039</math> Mal der Extinktion bei 430 nm</b>	Die Trübung ist zu stark. Klären Sie die Probe durch Zentrifugieren oder Filtern. Wiederholen Sie die Extinktionsmessung bei 430 nm und 700 nm. Dokumentieren Sie die Filtrierung oder Zentrifugierung der Probe mit dem Farbwert.

3. Füllen Sie die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette.
4. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Füllen Sie das destillierte Wasser in eine 10-mm-Rechteckküvette.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Die Probe muss zur Messung der Bierfarbe frei von Trübungen sein. Die Extinktion wird in einer 10-mm-Rechteckküvette bei Wellenlängen von 430 nm und 700 nm gemessen. Wenn die Extinktion bei 700 nm kleiner oder gleich 0,039 Mal der Extinktion bei 430 nm ist, ist das Bier „frei von Trübungen“, und die Bierfarbe wird über die Extinktion bei 430 nm ermittelt. Klären Sie die Probe durch Zentrifugieren oder Filtern, falls die Trübung zu stark ist. Dokumentieren Sie die Filtrierung oder Zentrifugierung der Probe mit dem Farbwert. Die Farbe wird als Grad auf eine Dezimalstelle dokumentiert.

## Ergebnisspezifikationen

Dokumentieren Sie die Bierfarbe als Grad auf eine Dezimalstelle.

## Bittereinheiten (MEBAK)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- Salzsäure, 6 N
- Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein (in einer 10-mm-Rechteckküvette QS bei 275 nm gegen destilliertes Wasser gemessene Extinktion kleiner als 0,010)

#### Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmittelfesten Verschlüssen, 35 ml
- Glasperlen
- Schüttler
- Zentrifuge, 3000 U/min
- Spektralphotometer, 275 nm
- 10-mm-Rechteckküvette QS

## Vorbereitung von Proben

1. Klären Sie Würze und trübes Bier mit einer Zentrifuge bei 3000 U/min für 15 Minuten.  
*Hinweis: Verwenden Sie keinen Filter.*
2. Entfernen Sie Kohlendioxid aus dem Bier.  
*Hinweis: Entfernen Sie nicht den Schaum.*
3. Passen Sie die Probentemperatur auf 20 °C (68 °F) an.
4. Geben Sie 10 ml Probe (oder 5 ml Würze und 5 ml destilliertes Wasser) in ein Zentrifugenglas.
5. Fügen Sie der Probe 0,5 ml 6-N-Salzsäure, 20 ml Isooctan und drei Glasperlen zu.
6. Verschließen Sie das Zentrifugenglas. Schütteln Sie das Zentrifugenglas für ca. 15 Minuten bei 20 °C (68 °F).
7. Zentrifugieren Sie das Zentrifugenglas für ca. 3 Minuten bei 3000 U/min.

8. Füllen Sie die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette.
9. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Füllen Sie Isooctan in eine 10-mm-Rechteckküvette.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2021	ASBCBitter units beer
2022	Bitter units wort

4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.  
Die Ergebnisse werden in BU angezeigt.

## Prinzip

Bitterstoffe, hauptsächlich Iso- $\alpha$ -Säuren, werden mit Isooctan aus der angesäuerten Probe entfernt. Messen Sie die Konzentration des Isooctanextrakts in einer 10-mm-Rechteckküvette bei 275 nm gegen Isooctan derselben Qualität (Blindwert).

*Hinweis: Bestimmte Konservierungsmittel, wie n-Heptyl-p-hydroxybenzoat, Sorbate und einige Rohfrüchte oder Farbstoffe können zur Extinktion bei den in diesem Verfahren spezifizierten Wellenlängen beitragen. Die Wahrscheinlichkeit, UV-absorbierende Fremdstoffe einzufangen, ist beim BU-Verfahren höher als beim IAA-Verfahren. Die möglichen Auswirkungen solcher Stoffe müssen vor der Messung der Bittereinheiten untersucht werden.*

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	Bittereinheiten (BU) ohne Dezimalstellen
Genauigkeit	$r = -0,36 + 0,05 m$ ; $R = 0,72 + 0,14 m$
Standardwerte	<b>Bier:</b> 10–40 BU, je nach Art, Sorte, Typ und Herkunft; <b>Würze:</b> 20–60 BU, je nach Bier und Bitterstoffgehalt

## Bittereinheiten (ASBC)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- Salzsäure, 3 N
- Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein (in einer 10-mm-Rechteckküvette QS bei 275 nm gegen destilliertes Wasser gemessene Extinktion < 0,010)

#### Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmittelfesten Verschlüssen, 35 ml
- Glasperlen
- Schüttler
- Zentrifuge, 3000 U/min
- Spektralphotometer, 275 nm
- 10-mm-Rechteckküvette QS

## Vorbereitung von Proben

1. Passen Sie die Probentemperatur auf 10 °C (50 °F) an.
2. Füllen Sie 10 ml Probe in ein 50-ml-Zentrifugenglas.
3. Fügen Sie der Probe 1 Tropfen Octylalkohol, 1 ml 3-N-Salzsäure und 20 ml Isooctan hinzu.
4. Verschließen Sie das Zentrifugenglas. Zentrifugieren Sie das Zentrifugenglas für ca. 15 Minuten.
5. Füllen Sie die obere, klare Schicht (vorbereitete Probe) in eine 10-mm-Rechteckküvette.
6. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Geben Sie 1 Tropfen Octylalkohol zu 20 ml Isooctan. Füllen Sie die Lösung (vorbereiteter Blindwert) in eine 10-mm-Rechteckküvette.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2021	ASBCBitter units beer
2022	Bitter units wort

4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.  
Die Ergebnisse werden in BU angezeigt.

## Prinzip

Bitterstoffe, hauptsächlich Iso- $\alpha$ -Säuren, werden mit Isooctan aus der angesäuerten Probe entfernt. Messen Sie die Konzentration des Isooctanextrakts in einer 10-mm-Rechteckküvette bei 275 nm gegen Isooctan derselben Qualität (Blindwert).

*Hinweis: Bestimmte Konservierungsmittel, wie n-Heptyl-p-hydroxybenzoat, Sorbate und einige Rohfrüchte oder Farbstoffe können zur Extinktion bei den in diesem Verfahren spezifizierten Wellenlängen beitragen. Die Wahrscheinlichkeit, UV-absorbierende Fremdstoffe einzufangen, ist beim BU-Verfahren höher als beim IAA-Verfahren. Die möglichen Auswirkungen solcher Stoffe müssen vor der Messung der Bittereinheiten untersucht werden.*

## Ergebnisspezifikationen

International Bitter Units (IBU) auf die nächste halbe Einheit.

## Freier Amino-Stickstoff (EBC)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

##### • Farbreagenz

1. Geben Sie 10,0 g Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ ), 6,0 g Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0,5 g Ninhydrin und 0,3 g Fructose in einen 100-ml-Messkolben.
2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Bewahren Sie diese Lösung maximal 2 Wochen in einem dunklen Kolben auf. Der pH-Wert muss zwischen 6,6 und 6,8 liegen.

### • Verdünnungslösung

1. Lösen Sie 2 g Kaliumjodat in 600 ml destilliertem Wasser auf, und geben Sie 400 ml Ethanol 96 % hinzu. Bewahren Sie diese Verdünnungslösung bei 5 °C (41 °F) auf.

### • Stammlösung

1. Lösen Sie 107,2 mg Glycin in 100 ml destilliertem Wasser auf. Bewahren Sie diese Stammlösung bei 0 °C (32 °F) auf.

### • Standardlösung

1. Geben Sie 1 ml Stammlösung in einen 100-ml-Messkolben.
2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Diese Standardlösung enthält 2 mg/L Amino-Stickstoff.

### Zubehör

- Spektralphotometer, 570 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Glaskolben mit eingeschliffenen Stopfen, 16 × 150 mm
- Variable Pipette 1,0–5,0 ml
- Pipettenspitzen
- kochendes Wasserbad
- Wasserbad bei 20 °C (68 °F)
- Messkolben, 100 ml

### Probenvorbereitung für helles Bier und helle Würze

1. Verdünnen Sie die Würze um den Faktor 100 und das Bier um den Faktor 50 (1–3 mg/L Amino-Stickstoff).
2. Analysieren Sie die Probe, Standardlösung und den Blindwert je drei Mal.
3. Geben Sie 2 ml verdünnte Probe oder Standardlösung oder destilliertes Wasser in einen Glaskolben.
4. Geben Sie 1 ml Farbreagenz in jeden Glaskolben. Schwenken Sie die Kolben zum Mischen.
5. Verschließen Sie die Glaskolben mit Glasstopfen, um Verluste durch Verdunstung zu vermeiden.
6. Geben Sie die Glaskolben für exakt 16 Minuten in ein siedendes Wasserbad.
7. Geben Sie die Glaskolben für 20 Minuten in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 20 °C (68 °F).
8. Geben Sie 5 ml Verdünnungsmittel in jeden Glaskolben.
9. Füllen Sie die vorbereitete Probe, Standardlösung und den Blindwert in eine 10-mm-Rechteckküvette. Messen Sie die Extinktion in 30 Minuten bei 570 nm.

### Probenvorbereitung für dunkles Bier und dunkle Würze

1. Verdünnen Sie die Würze um den Faktor 100 und das Bier um den Faktor 50 (1–3 mg/L Amino-Stickstoff).
2. Analysieren Sie die Probe, Korrekturlösung, Standardlösung und den Blindwert je drei Mal.
3. Geben Sie 2 ml verdünnte Probe oder Standardlösung oder destilliertes Wasser in einen Glaskolben.
4. **Bereiten Sie Probe, Standardlösung und den Blindwert vor:** Geben Sie 1 ml Farbreagenz in jeden Glaskolben. Schwenken Sie die Kolben zum Mischen.
5. **Bereiten Sie die Korrekturlösung vor:** Geben Sie 1 ml destilliertes Wasser in jeden Glaskolben, und mischen Sie.
6. Verschließen Sie die Glaskolben mit Glasstopfen, um Verluste durch Verdunstung zu vermeiden.
7. Geben Sie die Glaskolben für exakt 16 Minuten in ein siedendes Wasserbad.

- Geben Sie die Glaskolben für 20 Minuten in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 20 °C (68 °F).
- Geben Sie 5 ml Verdünnungslösung in jeden Glaskolben.
- Füllen Sie die vorbereitete Probe, Korrekturlösung, Standardlösung und den Blindwert in eine 10-mm-Rechteckküvette. Messen Sie die Extinktion in 30 Minuten bei 570 nm.

### Verfahren für helles Bier und helle Würze

Das nachfolgende Verfahren zeigt eine dreifache Bestimmung der Blind-, Standard- und Probenlösung ohne Korrekturlösung für helles Bier und helle Würzen.

- Bereiten Sie die Nulllösung (destilliertes Wasser), Blindwert, Standardlösung und Probe jeweils in dreifacher Ausführung vor.
- Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
- Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2008	FAN helles Bier
2007	FAN helle Würze

- Drücken Sie **Start**.
- Setzen Sie die Nulllösung ein. Drücken Sie **Null**.  
Auf dem Display wird „Z1“ angezeigt.
- Setzen Sie die Blindwert ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R1“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 6 für die Blindwertküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R2“ und „R3“ angezeigt.*
- Setzen Sie die Standardlösung ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R4“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 7 für die Standardlösungsküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R5“ und „R6“ angezeigt.*
- Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R7“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 8 für die vorbereiteten Probenküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R8“ und das Ergebnis angezeigt.*
- Das FAN-Ergebnis wird in mg/L angezeigt.

### Verfahren für dunkles Bier und dunkle Würze

Das nachfolgende Verfahren zeigt eine dreifache Bestimmung der Blind-, Standard-, Korrektur- und Probenlösung für dunkles Bier und dunkle Würzen.

- Bereiten Sie die Nulllösung (destilliertes Wasser), Blindwert, Standardlösung, Korrekturlösung und Probe jeweils in dreifacher Ausführung vor.
- Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
- Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2016	FAN dunkles Bier
2015	FAN dunkle Würze

- Drücken Sie **Start**.
- Setzen Sie die Nulllösung ein. Drücken Sie **Null**.  
Auf dem Display wird „Z1“ angezeigt.
- Setzen Sie den Blindwert ein. Drücken Sie **Messen**.



Auf dem Display wird „R1“ angezeigt.

**Hinweis:** Wiederholen Sie Schritt 6 für die Blindwertküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R2“ und „R3“ angezeigt.

7. Setzen Sie die Standardlösung ein. Drücken Sie **Messen**.

Auf dem Display wird „R4“ angezeigt.

**Hinweis:** Wiederholen Sie Schritt 7 für die Standardlösungsküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R5“ und „R6“ angezeigt.

8. Setzen Sie die Korrekturlösung ein. Drücken Sie **Messen**.

Auf dem Display wird „R7“ angezeigt.

**Hinweis:** Wiederholen Sie Schritt 8 für die Korrekturlösungsküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R8“ und „R9“ angezeigt.

9. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.

Auf dem Display wird „R10“ angezeigt.

**Hinweis:** Wiederholen Sie Schritt 9 für die vorbereiteten Probenküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R11“ und das Ergebnis angezeigt.

10. Das FAN-Ergebnis wird in mg/L angezeigt.

## Prinzip

Die Prüflösung muss über den pH-Wert 6,7 mit Ninhydrin verfügen. Messen Sie die resultierende Farbe bei 570 nm. Die Methode erfasst die Aminosäuren-, Ammoniak- und die terminalen Alpha-Aminogruppen von Peptiden und Proteinen. Prolin wird bei der verwendeten Wellenlänge teilweise mitbestimmt. Die Methode ist nicht spezifisch für Alpha-Amino-Stickstoff, da die Gammaaminobuttersäure, die in Wurzeln enthalten ist, mit Ninhydrin ebenfalls eine Farbe entwickelt.

## Störeinflüsse

Da dieser Test geringe Mengen an Aminosäuren misst, müssen Kontaminierungen verhindert werden. Reinigen Sie die Kolben sorgfältig. Berühren Sie nur die Außenflächen gereinigter Kolben. Bewegen Sie eingeschlifene Stopfen ausschließlich mit Pinzetten.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/L ohne Dezimalstellen
Standardwert	Ausschlagwürze (12 %): 200–250 mg/L; Bier (12 %): 10–120 mg/L Für eine zufriedenstellende primäre und sekundäre Gärung sind ca. 220–250 mg/L freier Amino-Stickstoff in der Anstellwürze erforderlich.

## Freier Amino-Stickstoff (ASBC)

### Vor dem Start

Da die Mengen an reagierendem Amino-Stickstoff bei dieser Methode sehr gering sind, müssen Kontaminierungen verhindert werden. Reinigen Sie Glaskomponenten sorgfältig, und berühren Sie nur die Außenflächen. Verwenden Sie Saugkolben für Pipetten und Pinzetten, um Glasperlen zu bewegen.
Die vorgegebenen Zeiten und Temperaturen für dieses Verfahren müssen eingehalten werden. Wegen der Temperaturschwankungen im siedenden Wasserbad muss jeder Test eine Standard- und eine Blindprobe beinhalten.
Die für Würze und Bier angegebenen Verdünnungen gelten für Proben, die nach Verdünnung 1–3 mg Amino-N/-L enthalten. Die angegebenen Beispiele gehen von 65 % Malz und 12 °P Würze aus. Nehmen Sie für andere Malz-Rohfrucht-Verhältnisse und °P-Werte die erforderlichen Verdünnungsanpassungen vor.

## Zusätzlich erforderliche Artikel

### Reagenzien

#### • Farbreagenz

1. Geben Sie 10,0 g Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ ), 6,0 g Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0,5 g Ninhydrin und 0,3 g Fructose in einen 100-ml-Messkolben.
2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Bewahren Sie diese Lösung maximal 2 Wochen in einem dunklen Kolben auf. Der pH-Wert muss zwischen 6,6 und 6,8 liegen.

#### • Verdünnungslösung

1. Lösen Sie 2 g Kaliumjodat in 600 ml destilliertem Wasser auf, und geben Sie 400 ml Ethanol 96 % hinzu. Bewahren Sie diese Verdünnungslösung bei 5 °C (41 °F) auf.

#### • Stammlösung

1. Lösen Sie 107,2 mg Glycin in 100 ml destilliertem Wasser auf. Bewahren Sie diese Stammlösung bei 0 °C (32 °F) auf.

#### • Standardlösung

1. Geben Sie 1 ml Stammlösung in einen 100-ml-Messkolben.
2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Diese Standardlösung enthält 2 mg/L Amino-Stickstoff.

### Zubehör

- Spektralphotometer, 570 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Glaskolben mit eingeschliffenen Stopfen, 16 × 150 mm
- Variable Pipette 1,0–5,0 ml
- Pipettenspitzen
- kochendes Wasserbad
- Wasserbad bei 20 °C (68 °F)
- Messkolben, 100 ml

### Probenvorbereitung für helles Bier und helle Würze

1. Verdünnen Sie die Würze um den Faktor 100 und das Bier um den Faktor 50 (1–3 mg/L Amino-Stickstoff).
2. Analysieren Sie die Probe, Standardlösung und den Blindwert je drei Mal.
3. Geben Sie 2 ml verdünnte Probe oder Standardlösung oder destilliertes Wasser in einen Glaskolben.
4. Geben Sie 1 ml Farbreagenz in jeden Glaskolben. Schwenken Sie die Kolben zum Mischen.
5. Verschließen Sie die Glaskolben mit Glasstopfen, um Verluste durch Verdunstung zu vermeiden.
6. Geben Sie die Glaskolben für exakt 16 Minuten in ein siedendes Wasserbad.
7. Geben Sie die Glaskolben für 20 Minuten in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 20 °C (68 °F).
8. Geben Sie 5 ml Verdünnungsmittel in jeden Glaskolben.
9. Füllen Sie die vorbereitete Probe, Standardlösung und den Blindwert in eine 10-mm-Rechteckküvette. Messen Sie die Extinktion in 30 Minuten bei 570 nm.

## Verfahren für helles Bier und helle Würze

Das nachfolgende Verfahren zeigt eine dreifache Bestimmung der Blind-, Standard- und Probenlösung ohne Korrekturlösung für helles Bier und helle Würzen.

1. Bereiten Sie die Nulllösung (destilliertes Wasser), Blindwert, Standardlösung und Probe jeweils in dreifacher Ausführung vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2008	FAN helles Bier
2007	FAN helle Würze

4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die Nulllösung ein. Drücken Sie **Null**.  
Auf dem Display wird „Z1“ angezeigt.
6. Setzen Sie die Blindwert ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R1“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 6 für die Blindwertküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R2“ und „R3“ angezeigt.*
7. Setzen Sie die Standardlösung ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R4“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 7 für die Standardlösungsküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R5“ und „R6“ angezeigt.*
8. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R7“ angezeigt.  
*Hinweis: Wiederholen Sie Schritt 8 für die vorbereiteten Probenküvetten 2 und 3. Auf dem Display werden „R8“ und das Ergebnis angezeigt.*
9. Das FAN-Ergebnis wird in mg/L angezeigt.

## Prinzip

Verwenden Sie die Ninhydrinmethode zur Bestimmung der Menge an freiem Amino-Stickstoff in der Würze oder im Bier. Diese Methode bietet Informationen zur Menge an Amino-Stickstoff, die der Hefe während der Gärung zur Verfügung steht, bzw. der Menge an Amino-Stickstoff, die nach der Gärung im Bier verbleibt. Die Methode misst Aminosäuren, Ammoniak und in gewissem Ausmaß Endgruppen- $\alpha$ -Amino-Stickstoff in Peptiden und Proteinen. Die Methode ist nicht spezifisch für  $\alpha$ -Amino-Stickstoff, da  $\gamma$ -Aminobuttersäure, die in Würze und Bier vorhanden ist, mit Ninhydrin erheblich Farbe ausbildet.

## Ergebnisspezifikationen

Würze: mg/L ohne Dezimalstellen

Bier: mg/L auf eine Dezimalstelle

## Eisen

## Zusätzlich erforderliche Artikel

### Reagenzien

Bereiten Sie alle Lösungen mit eisenfreiem, destilliertem Wasser vor.

- **Pufferlösung**, pH 4,3
1. Lösen Sie 75 g Ammoniumacetat und 150 g konzentrierte Essigsäure in ca. 800 ml destilliertem Wasser auf.
  2. Kontrollieren Sie den pH-Wert, und füllen Sie den Messkolben bis zur 1-l-Markierung mit destilliertem Wasser auf.

## • Ferrozinreagenz

1. Lösen Sie 0,257 g Ferrozin oder Ferrospectral in 50 ml Pufferlösung auf. Bewahren Sie die Lösung maximal 2 Wochen auf.

## • Ascorbinsäure, 2,5 % (täglich frisch vorbereiten)

## • Salzsäure, konzentriert

## • Eisen(III)-Standardlösung zur Ermittlung der Kalibrierkurve

1. Geben Sie 863,4 mg Ammoniumeisen(III)-sulfat  $[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12 \text{H}_2\text{O}]$  in einen 1-l-Messkolben.
2. Geben Sie 0,1 ml konzentrierte Salzsäure zu, und füllen Sie den Messkolben bis zur 1-l-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
3. Geben Sie 50 ml dieser Lösung in einen 1-l-Messkolben. Füllen Sie den Messkolben bis zur 1-l-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Die Standardlösung enthält 5 mg/ml  $\text{Fe}^{3+}$ .

## Zubehör

- Spektralphotometer, 560 nm
- 40-mm-Rechteckküvette OS
- Waage, Präzision 0,1 mg
- Pipetten, 0,1 ml, 2 ml, 5 ml

## Ermittlung der Kalibrierkurve

Der Faktor 1 = 0,037 ist ein empirischer Faktor und muss über eine Kalibrierkurve individuell bestimmt werden. Der Faktor ist die Steilheit der Kalibrierkurven.

1. Geben Sie 40 ml Bier in vier 50-ml-Messkolben.
2. Geben Sie 0,40 ml, 0,80 ml, 1,60 ml und 3,20 ml der Eisen(III)-Standardlösung in jeden Messkolben.
3. Geben Sie 2 ml Ferrozinreagenz und 1 ml Ascorbinsäurelösung in jeden Messkolben.
4. Füllen Sie den Messkolben bis zur 50-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
5. Messen Sie die Extinktion der Lösung in einer 40-mm-Rechteckküvette bei 560 nm gegen einen entsprechenden Blindwert.
6. Subtrahieren Sie die Ergebnisse der nicht mit Reagenz versetzten Probe von den mit Reagenz versetzten Proben.

## Vorbereitung von Proben

1. Entgasen Sie das Bier, und warten Sie, bis der Schaum vollständig verschwunden ist.
2. Geben Sie 40 ml Bier, 2 ml Ferrozinreagenz und 1 ml Ascorbinsäurelösung in einen 50-ml-Messkolben.
3. Füllen Sie den Messkolben bis zur 50-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
4. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Geben Sie 40 ml Bier und 1 ml Ascorbinsäurelösung in einen 50-ml-Messkolben. Füllen Sie den Messkolben bis zur 50-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.  
*Hinweis: Verwenden Sie für jedes einzelne Bier einen separaten Blindwert.*
5. Messen Sie die Extinktion der Lösung in einer 40-mm-Rechteckküvette bei 560 nm gegen einen entsprechenden Blindwert.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.

4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**.  
Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

### Prinzip

Eisen kann durch Rohstoffe, Filterzusätze und Klärstoffe in das Bier gelangen. Eisen kann aus Vorrichtungen, Leitungen, Behältern und bierschaumstabilisierenden Mitteln absorbiert werden. Eisen hat eine negative Auswirkung auf die kolloidale Stabilität, den Geschmack und die Gushing-Tendenz des Bieres.

Zweiwertiges Eisen bildet eine violette Farbe mit einem sehr hohen molaren Extinktionskoeffizienten mit dem Dinatriumsalz von 5,6-Diphenyl-3-(2-Pyridyl)-1,2,4-Triazin-4,4-Disulfonsäuren (Ferrozin) aus. Vor der Messung muss dreiwertiges zu zweiwertigem Eisen reduziert werden. Die Farbintensität wird spektrometrisch gemessen.

### Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/L auf drei Dezimalstellen
Genauigkeit	$r = 0,0080$
Zielwert	$< 0,200 \text{ mg/L}$

## Iso- $\alpha$ - und $\beta$ -Säuren

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **Salzsäure**, 6 N
- **Isooctan** (2,2,2-Trimethylpentan), spektroskopisch rein
- **Natriumsulfat**, wasserfrei
- **Methanol**
- **Salzsäure**, 4 N
- **Natriumhydroxid**, 6 N, entgast
- **Saure Methanollösung** (täglich frisch vorbereiten)
  1. Mischen Sie 64 ml Methanol und 36 ml 4-N-Salzsäure.
- **Alkali-Methanollösung** (täglich frisch vorbereiten)
  1. Geben Sie 0,2 ml 6-N-Natriumhydroxid in einen 100-ml-Messkolben, und füllen Sie ihn bis zur 100-ml-Markierung mit Methanol.

#### Zubehör

- Spektralphotometer, 225 nm und 360 nm
- 10-mm-Rechteckküvette QS
- Zentrifuge, 3000 U/min
- Zentrifugenkolben mit lösungsmittelfestem Schraubverschluss, Kapazität 100–110 ml
- Schüttler

## Vorbereitung von Proben

1. Klären Sie Würze und trübes Bier mit einer Zentrifuge bei 3000 U/min für 15 Minuten.  
*Hinweis: Verwenden Sie keinen Filter.*
2. Entfernen Sie Kohlendioxid aus dem Bier.  
*Hinweis: Entfernen Sie nicht den Schaum.*
3. Passen Sie die Probentemperatur auf 20 °C (68 °F) an.
4. Geben Sie 50 ml Probe in einen Zentrifugenkolben.
5. Geben Sie 3 ml 6-N-Salzsäure und 25 ml Isooctan zu.
6. Verschließen Sie den Zentrifugenkolben, und schütteln Sie ihn mechanisch für 30 Minuten bei optimaler Mischstärke.
7. Zentrifugieren Sie den Kolben für 5 Minuten bei 3000 U/min, um die Phasen zu trennen und die Emulsion aufzubrechen.
8. Entfernen Sie die untere wässrige Phase mit einer Pipette, und entsorgen Sie sie. Ersetzen Sie die Isooctanphase mit ausreichend Natriumsulfat, sodass die Lösung nach kurzem, starkem Schütteln klar ist.
9. Geben Sie 10 ml der Isooctanphase in einen 25-ml-Messkolben.
10. Geben Sie 10 ml saure Methanollösung zu.
11. Verschließen Sie den Kolben, und wenden Sie ihn 100 Mal.
12. Geben Sie 5 ml der überschüssigen klaren Isooctanphase in einen 25-ml-Messkolben.
13. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit alkalischer Methanollösung auf.
14. Messen Sie die Extinktion der Isooctanlösung bei 255 nm und 360 nm gegen einen Blindwert.
15. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Geben Sie 5 ml Isooctan in einen 25-ml-Messkolben. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit alkalischer Methanollösung auf.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Bitterstoffe werden mit Isooctan aus der angesäuerten Probe extrahiert, und bestimmte disruptive Stoffe werden durch Waschen des Extrakts mit saurem Methanol entfernt. Die Konzentration von Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\beta$ -Säuren wird durch Messen der Extinktion in alkalischem Methanol bei 255 nm und 360 nm bestimmt.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/L ohne Dezimalstellen
Genauigkeit	$V_{kr} = \pm 5 \%$
Standardwert	Bier: 10–40 mg/L Iso- $\alpha$ -Säuren, je nach Art, Sorte, Typ und Herkunft; < 2 mg/L $\beta$ -Säuren Würze: 15–50 mg/L Iso- $\alpha$ -Säuren, je nach Bier und Bitterstoffgehalt; 1–15 mg/L $\beta$ -Säuren, je nach dem Isomerisierungsgrad

# Photometrische Jodprobe

## Zusätzlich erforderliche Artikel

### Reagenzien

- Ethanol, 95 %
- Jodlösung, 1 N (Stammlösung)
- Jodlösung, 0,02 N (täglich frisch aus Stammlösung vorbereiten)
- Phosphatpufferlösung, 0,1 M, pH 3,5
  1. Bringen Sie 0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Lösung mit 0,1 M Phosphorsäure auf den pH-Wert 3,5.

### Zubehör

- Spektralphotometer, 578 nm
- 40-mm-Rechteckküvette OS
- Rührlöffel oder Kunststoffspatel
- Zentrifuge
- Zentrifugenkolben mit eingeschliffenen Stopfen, Kapazität 100–110 ml
- Schüttler
- Pipetten, 0,5, 2, 10, 20 und 40 ml

### Vorbereitung von Proben

1. Geben Sie 10,0 ml zentrifugierte Würze oder entgastes Bier in einen Zentrifugenkolben.
2. Geben Sie 40,0 ml Ethanol zu, und schütteln Sie den Kolben mechanisch für 10 Minuten.
3. Zentrifugieren Sie den Kolben für 5 Minuten bei 2500 U/min.
4. Dekantieren Sie die klare Phase so sorgfältig und vollständig wie möglich.
5. Geben Sie 20,0 ml Phosphatpufferlösung zu, und schütteln Sie den Kolben mechanisch für 10 Minuten, um die Rückstände zu lösen.
6. Zentrifugieren Sie die Lösung für 5 Minuten bei 2500 U/min.
7. Geben Sie 2 ml des Überschusses und 8 ml Phosphatpufferlösung in eine 40-mm-Rechteckküvette, und führen Sie bei 578 nm eine Messung gegen Phosphatpufferlösung durch.
8. Geben Sie 0,5 ml Jodlösung 0,02 N zu, und mischen Sie den Inhalt unmittelbar mit dem Rührlöffel. Führen Sie nach 30 Sekunden eine Messung durch.
9. **Bereiten Sie den Jodblindwert vor:** Geben Sie 10 ml Phosphatpufferlösung und 0,5 ml Jodlösung 0,02 N in eine 40-mm-Rechteckküvette, und mischen Sie den Inhalt. Messen Sie die Extinktion bei 578 nm gegen Phosphatpufferlösung.

### Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert (Phosphatpuffer), Jodblindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie **Gespeicherte Programme > Auswahl nach Nr.**
3. Geben Sie die Nummer 2010 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie den Blindwert (Phosphatpuffer) ein. Drücken Sie **Null**. Auf dem Display wird **Z1** angezeigt.
6. Setzen Sie den Jodblindwert ein. Drücken Sie **Messen**. Auf dem Display wird **R1** angezeigt.
7. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**. Auf dem Display wird **R2** angezeigt.

8. Entnehmen Sie die Analysenküvette, und geben Sie ihr 0,5 ml Jodlösung 0,02 N zu.
9. Mischen Sie den Inhalt unmittelbar mit dem Rührlöffel.
10. Setzen Sie die Analysenküvette nach 30 Sekunden ein. Drücken Sie **Messen**.

Auf dem Display wird das Ergebnis angezeigt.

### Prinzip

Dextrine und Stärken mit einem hohen Molekulargewicht werden durch die Addition von Ethanol zu Würze und Bier ausgefällt, herauszentrifugiert, in Phosphatpufferlösung aufgelöst und mit Jodlösung displaziert. Je nach Molekulargewicht und Verzweigungsfaktor des Erythrodextrins und der Stärke bildet sich eine rote bis blaue Farbe aus, die photometrisch gemessen wird.

### Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	Extinktion auf zwei Dezimalstellen
Genauigkeit	$V_{kr} = \pm 3 \%$
Standardwert	< 0,45 (Würze)

## Thiobarbitursäurezahl (TAN)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **Essigsäure**, 90 %
  1. Verdünnen Sie 225 g Essigsäure 100 % (Eisessig) mit destilliertem Wasser auf 250 g.
- **Thiobarbitursäure**, 0,02 mol/l (täglich frisch vorbereiten)
  1. Geben Sie 0,288 g 2-Thiobarbitursäure ( $M = 144,15 \text{ g/mol}$ ) und Essigsäure 90 % in einen 100-ml-Messkolben. Erhöhen Sie die Temperatur mit einem Wasserbad, um die Suspension zu verdünnen.
  2. Passen Sie die Temperatur der Lösung auf 20 °C (68 °F) an.
  3. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit Essigsäure 90 % auf.
- **Kieselgur**

#### Zubehör

- Spektralphotometer, 448 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Wasserbad, 70 °C (158 °F)
- Braune Glaskolben mit eingeschliffenem Stopfen, 20 ml oder 25 ml

### Sample preparation

For the best accuracy, prepare the sample as follows:

1. Clarify cloudy examination solutions through filtration over diatomaceous earth.
2. Dilute the sample.

Option	Description
<b>Wort and beer</b>	Dilute 10 times with distilled water.
<b>Congress wort</b>	Dilute 5 times with distilled water.



3. Prepare the empty value as follows:
  - a. Add 10 mL of the diluted sample and 5 mL of 90% acetic acid in a reagent flask.
  - b. Shake the solution and proceed as for the main value.
4. Prepare the main value as follows:
  - a. Add 10 mL of the diluted sample and 5 mL of thiobarbituric acid in a reagent flask and shake.
  - b. Put the reagent flasks in a water bath of 70 °C (158 °F) for 70 minutes, prevent exposure to direct sunlight. Make sure that the temperature of the reagent flasks in the bath only temporarily decreases by 1–2 °K.
  - c. After reaction time, quickly decrease the temperature of the reagent flasks to 20 °C (68 °F) (fast-flowing cold water or cold bath).
  - d. Measure immediately the extinction of the solution in a 10-mm rectangular cuvette at 448 nm against distilled water.

## Verfahren

1. Bereiten Sie die Nulllösung (destilliertes Wasser), Blindwert und Hauptwert vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer ein. Drücken Sie **OK**.

Nummer	Programm
2011	TAN C-Würze
2012	TAN Bier/Würze

4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die Nulllösung (destilliertes Wasser) ein. Drücken Sie **Null**.  
Auf dem Display wird „Z1“ angezeigt.
6. Setzen Sie den Blindwert ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display wird „R1“ angezeigt.
7. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Drücken Sie **Messen**.  
Auf dem Display werden die Ergebnisse angezeigt.

## Prinzip

Die Thiobarbitursäurezahl ist eine Summenvariable für die thermische Last von Malz und Würze. Sie ist ein Indikator, der zusätzlich zu 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) viele Produkte der Maillard-Reaktion und andere organische Verbindungen erfasst.

Die Prüflösung wird mit saurer Thiobarbitursäurelösung in Reaktion versetzt, und die Gelbfärbung wird spektralphotometrisch gemessen.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	Thiobarbitursäurezahl (TAN), dimensionslose Zahl
Standardwert	Helle Ausschlagwürze < 45 Helle Kaltwürze (nach der Kühlung der Würze) < 60

## Polyphenole gesamt (MEBAK)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- Carboxymethylcellulose-Ethylendiamintetraessigsäurelösung (CMC-EDTA-Na):

1. Geben Sie 10 g CMC (mit geringer Viskosität), 2 g EDTA-Na<sub>2</sub> und 500 ml destilliertes Wasser in einen 1-l-Messkolben.
  2. Rühren Sie die Lösung bis zur vollständigen Auflösung um.
  3. Füllen Sie den Messkolben bis zur 1-l-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
  4. Verwenden Sie ggf. eine Zentrifuge zur Klärung der Lösung.
- **Ammoniumeisen(III)-citrat**, 3,5 %:
    1. Geben Sie 3,5 g Ammoniumeisen(III)-citrat, grün (16 % Fe) in einen 100-ml-Messkolben.
    2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
    3. Rühren Sie die Lösung bis zur vollständigen Auflösung um. Die Lösung muss vollkommen klar sein. Bewahren Sie die Lösung maximal 1 Woche auf.
  - **Ammoniak**, verdünnt:
    1. Verdünnen Sie einen Teil konzentriertes Ammoniak (d = 0,91) mit zwei Teilen destilliertem Wasser.

### Zubehör

- Spektralphotometer, 600 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Zentrifuge
- Messkolben, 1 l
- Messkolben, 25 ml
- Messkolben, 100 ml

### Vorbereitung von Proben

1. Schütteln Sie das Bier, um Kohlendioxid zu entfernen.
2. Klären Sie trübe Würze oder trübes Bier mit einer Zentrifuge.
3. Geben Sie 10 ml Probe und 8 ml CMC/EDTA-Reagenz in einen 25-ml-Messkolben. Mischen Sie die Lösung vollständig.
4. Geben Sie 0,5 ml Eisen(III)-Reagenz zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.
5. Geben Sie 0,5 ml verdünntes Ammoniak zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.
6. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Mischen Sie die Lösung vollständig.
7. Warten Sie 10 Minuten. Füllen Sie anschließend die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette.
8. Bereiten Sie den Blindwert wie folgt vor:
  - a. Geben Sie 10 ml Probe (klar und ohne Kohlendioxid) und 8 ml CMC-EDTA-Na-Lösung in einen 25-ml-Messkolben. Mischen Sie die Lösung vollständig.
  - b. Geben Sie 0,5 ml verdünntes Ammoniak zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.
  - c. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Mischen Sie die Lösung vollständig.

### Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Polyphenole reagieren mit Eisen(III)-ionen in Alkalilösung zu farbigen Eisenkomplexen. Messen Sie die braune Farbe in einer 10-mm-Rechteckküvette bei 600 nm gegen einen vorbereiteten Blindwert.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Genauigkeit	$r = 4,1$
Standardwerte	<b>Bier:</b> 150–200 mg/L

## Polyphenole gesamt (ASBC)

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **Carboxymethylcellulose-Reagenz (CMC/EDTA)** (1%ige Lösung aus Natriumsalz aus CMC (mit geringer Viskosität) und Zusatz von 0,2%iger Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA))
  1. Geben Sie 10 g CMC (mit geringer Viskosität), 2 g EDTA- $\text{Na}_2$  und 500 ml destilliertes Wasser in einen 1-l-Messkolben.
  2. Rühren Sie die Lösung bis zur vollständigen Auflösung um (1 bis 3 Stunden).
  3. Füllen Sie den Messkolben bis zur 1-l-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
  4. Verwenden Sie ggf. eine Zentrifuge zur Klärung der Lösung.
  5. Bewahren Sie die Lösung maximal 1 Monat auf.
- **Eisenreagenz**
  1. Geben Sie 3,5 g Ammoniumeisen(III)-citrat, grün (16 % Fe) in einen 100-ml-Messkolben.
  2. Füllen Sie den Messkolben bis zur 100-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
  3. Rühren Sie die Lösung bis zur vollständigen Auflösung um. Die Lösung muss vollkommen klar sein.
  4. Bewahren Sie die Lösung maximal 1 Woche auf.
- **Ammoniak**, verdünnt
  1. Verdünnen Sie 1 Teil konzentriertes Ammoniak ( $d = 0,91$ ) mit 2 Teilen destilliertem Wasser.

#### Zubehör

- Spektralphotometer, 600 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Zentrifuge
- Messkolben, 25 ml, weiter Hals, mit geschliffenen Glasstopfen
- Messkolben, 100 ml
- Messkolben, 1 l
- Pipetten

#### Vorbereitung von Proben

1. Schütteln Sie das Bier, um Kohlendioxid zu entfernen.
2. Klären Sie trübe Würze oder trübes Bier mit einer Zentrifuge.
3. Geben Sie 10 ml Probe und 8 ml CMC/EDTA-Reagenz in einen 25-ml-Messkolben. Mischen Sie die Lösung vollständig.
4. Geben Sie 0,5 ml Eisen(III)-Reagenz zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.
5. Geben Sie 0,5 ml verdünntes Ammoniak zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.

6. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Mischen Sie die Lösung vollständig.
7. Warten Sie 10 Minuten. Füllen Sie anschließend die vorbereitete Probe in eine 10-mm-Rechteckküvette.
8. Bereiten Sie den Blindwert wie folgt vor:
  - a. Geben Sie 10 ml Probe (klar und ohne Kohlendioxid) und 8 ml CMC-EDTA-Na-Lösung in einen 25-ml-Messkolben. Mischen Sie die Lösung vollständig.
  - b. Geben Sie 0,5 ml verdünntes Ammoniak zur Lösung. Mischen Sie die Lösung vollständig.
  - c. Füllen Sie den Messkolben bis zur 25-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf. Mischen Sie die Lösung vollständig.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Hinweise, dass Polyphenole in das komplexe Phänomen der Bieroxidation und Weißschleierbildung verwickelt sind, führten zu einer Ringstudie durch die European Brewery Convention für ihre Beurteilungsmethode, die wiederum zu einer nachfolgenden Veröffentlichung in *Analytica III* (Ref. 2) führte. Dieselbe Methode wurde einer Gemeinschaftsstudie durch ASBC mit Ales, herkömmlichen Lagerbieren und kalorienreduzierten Bieren unterzogen, was zur Akzeptanz des Verfahrens als internationale Methode führte.

Die Polyphenole reagieren mit dem Eisen(III) in alkalischer Lösung, und die entstehende rote Farbe wird photometrisch gemessen.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/L ohne Dezimalstellen
Genauigkeit	Sr = 2,17 bis 3,28; Sc = 5,58 bis 11,61 (wobei die höchsten Werte jeder Instanz die der Ales mit hohem Polyphenolgehalt sind)
Standardwerte	Bier: 150–200 mg/L

## Vicinale Diketone

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **Salzsäure**, 4 N
- **1,2-Phenylendiamin**, 1 % in 4-N-Salzsäure  
*Hinweis: Bereiten Sie die Lösungen täglich frisch vor, und bewahren Sie sie an einem dunklen Ort auf. 1,2-Phenylendiamin ist giftig und ein Allergen; es muss mit Vorsicht gehandhabt werden. Arbeiten Sie mit Handschuhen.*
- **Antischaum-Emulsion** (keine Diketone)

## Zubehör

- Spektralphotometer, 335 nm
- 20-mm-Rechteckküvette QS
- Vorrichtung zur Stickstoffbestimmung mit Heizmantel, Makroausführung. Ersetzen Sie den mitgelieferten Kühler durch einen größeren, falls das Destillat nicht ausreichend gekühlt wird. Andere ähnliche Vorrichtungen können auch geeignet sein.

## Testvorbereitung

1. Geben Sie 100 g nicht entgastes Bier in eine vorgewärmte Destillationsvorrichtung.
2. Geben Sie einen Tropfen Antischaum-Emulsion zu.
3. Steuern Sie die Dampfzufuhr so, dass innerhalb von 2 Minuten ca. 25 ml Destillat übergehen.
4. Sammeln Sie das Destillat in einem 25-ml-Messkolben.
5. Pipettieren Sie 10 ml des gemischten Destillats in zwei 50-ml-Erlenmeyerkolben (Hauptwert und Blindwert).
6. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Geben Sie 2,5 ml 4-N-Salzsäure zu.
7. **Bereiten Sie den Hauptwert vor:** Geben Sie 0,5 ml 1,2-Phenylendiaminlösung zu, mischen Sie den Inhalt, und stellen Sie ihn für 30 Minuten an einen dunklen Ort. Geben Sie 2 ml 4-N-Salzsäure zu.
8. Messen Sie die Extinktion des Hauptwerts innerhalb von 20 Minuten bei 335 nm in einer 20-mm-Rechteckküvette gegen den Blindwert.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Während des Hefestoffwechsels werden durch Gärung 2-Acetylactat und 2-Acetoxybutyrat gebildet. Oxidation führt zu einer Umwandlung in die vicinalen Diketone Diacetyl (2,3-Butandion) und 2,3-Pentandion. Diacetyl kann auch als charakteristisches Stoffwechselprodukt bestimmter Mikroorganismen auftreten. Wenn mehr als ein Schwellenwert vorhanden ist, hat das Bier kein gutes Aroma.

Die photometrische Bestimmungsmethode bei der Betriebskontrolle wird als Alternative mit Vorzug gegenüber Gaschromatographiemethoden empfohlen, da die photometrische Bestimmung schnell und ohne großen technischen Aufwand durchgeführt werden kann. Diese Methode lässt die wünschenswerte Differenzierung zwischen Diacetyl und Pentandion nicht zu.

Die Methode verwendet die Reaktion zwischen Diacetyl und/oder 2,3-Pentandion und 1,2-Phenylendiamin mit Bildung von 2,3-Dimethylquinoxalin, das eine spezifische Absorption bei 335 nm aufweist.

## Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	mg/kg auf zwei Dezimalstellen
Genauigkeit	r = 0,03

Optionen	Beschreibung
Zielwert	Für helles Vollbier < 0,15 mg/kg
Hinweise	<p>Die Destillationsvorrichtung muss zwischen Tests nicht gereinigt oder gespült werden. Die Destillationsvorrichtung kann zwischen Tests unmittelbar erneut befüllt werden. Nachdem alle Tests abgeschlossen wurden, entfernen Sie die anhaftenden Rückstände mit verdünntem Natriumhydroxid oder einem anderen geeigneten Reinigungsmittel.</p> <p>In Flaschenbier vorhandene Acetohydroxysäuren werden in der Gegenwart von Sauerstoff in Diketone oxidiert. Messen Sie den Gesamt-Diketongehalt vor dieser Analyse. Halten Sie die Bierprobe zur Diketongehaltsanalyse für maximal 1,5 Stunden auf 70 °C (158 °F).</p>

## Diacetyl

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **$\alpha$ -Naphthollösung** ( $C_{10}H_7OH$ )
  1. Lösen Sie 4 g  $\alpha$ -Naphthollösung in 100 ml Isopropanol 99,6 % auf.
  2. Geben Sie ca. 0,5 g pflanzlichen Kohlenstoff zu, schütteln Sie die Mischung ca. 0,5 Stunden, und filtern Sie sie anschließend. Bewahren Sie das Filtrat an einem dunklen Ort in einer braunen Flasche auf.
- **KOH-Kreatinlösung**
  1. Lösen sie 0,3 g Kreatin in 80 ml KOH-Lösung 40 % (wässrig) auf, und filtern Sie sie. Bewahren Sie das Filtrat in einem Polyethylenbehälter gekühlt auf.
- **Diacetyl**, Stammlösung
  1. Bereiten Sie eine wässrige Lösung (500 mg/L) vor. Bewahren Sie die Stammlösung gekühlt in einer braunen Flasche auf.
- **Diacetyl**, Arbeitslösung
  1. Bereiten Sie die Arbeitslösung direkt vor dem Gebrauch vor. Verdünnen Sie 1 ml Stammlösung mit destilliertem Wasser auf 100 ml; Konzentration: 5,0 mg/L Diacetyl.

#### Zubehör

- Spektralphotometer, 530 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Destillierungsvorrichtungen, vorzugsweise ausschließlich aus Glas
- Messkolben, 10 ml
- Graduierte Zylinder, 50 ml
- Heizmantel für Heizkolben
- Heizkolben, zwei Hälse, 500 ml
- Destillierkolben, vertikal auf dem Heizkolben montiert
- Kondensator, wassergekühlt, so an den Destillierkolben angeschlossen (ggf. mit einem 75°-Vorstoß), dass er schräg nach unten abfällt
- Gebogener, verjüngter Destilliervorstoß, an den Kondensator angeschlossen, Spitze muss in die Flüssigkeit im Vorlagegefäß eintauchen

- Vorlagegefäß, z. B. 50-ml-Becherglas, bei 15 und 33 ml markiert

## Vorbereitung von Proben

1. Destillieren Sie 100 ml entgastes Bier in einen graduierten 50-ml-Zylinder, der 5 ml destilliertes Wasser enthält.
2. Sammeln Sie ca. 15 ml Destillat, und füllen Sie den Zylinder bis zur 25-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
3. Pipettieren Sie ein Aliquot von 5 ml in einen 10-ml-Messkolben.
4. Geben Sie 1 ml  $\alpha$ -Naphthollösung in jeden Kolben, und schwenken Sie die Kolben.
5. Geben Sie 0,5 ml KOH-Kreatinlösung in jeweils max. 4 oder 5 Kolben.
6. Füllen Sie die Messkolben bis zur 10-ml-Markierung mit destilliertem Wasser auf.
7. Schütteln Sie sie exakt 1 Minute stark.
8. Warten Sie 5 Minuten. Messen Sie anschließend die Extinktion bei 530 nm gegen den Reagenzienblindwert.
9. Wiederholen Sie Schritt 6 für alle zu messenden Proben.

## Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

## Prinzip

Spektralphotometrische Methoden bestimmen vicinale Diketone (VDK). Alle Methoden werden durch die Probenbehandlung vor und während der Analyse beeinflusst. VDK-Vorprodukte werden in freie Verbindungen umgewandelt, teilweise oder vollständig, je nach pH, Ausmaß der Luftexposition und Temperatur.

## Reduktionsvermögen

### Zusätzlich erforderliche Artikel

#### Reagenzien

- **2,6-Dichlorphenolindophenol**, 0,005 M (DPI-Lösung, Molekulargewicht Natriumsalz 290,08):
1. Wiegen Sie ca. 100 mg DPI-Lösung in ein Becherglas, und geben Sie ca. 25 ml destilliertes Wasser zu. Lösen Sie die Lösung mit Wärme auf (ca. 60 °C (140 °F)).
  2. Lassen Sie die Lösung abkühlen, und spülen Sie den Inhalt in einen 50-ml-Messkolben. Füllen Sie den Messkolben bis zur 50-ml-Markierung auf. Filtern Sie den Inhalt mit einem Glasfaserfilter.
  3. Geben Sie 10 ml Filtrat, 1 g KJ und 2 ml  $H_2SO_4$  (1+6) in einen 150-ml-Messkolben, und titrieren Sie mit 0,01-N-Natriumthiosulfat, bis sich die Farbe in die von Stärkekleister ändert.
  4. Berechnen Sie den Indikatorinhalt: verwendete ml  $\times$  14,5 = mg Indikator in 100 ml
  5. Verdünnen Sie das verbleibende Filtrat so, dass 100 ml Lösung 145 mg Indikator enthalten.
  6. Bewahren Sie die Lösung in bis zum Rand gefüllten, braunen Flaschen ca. 1 Woche bei 4 °C (39 °F) auf.

- **Phosphatcitratpuffer**, pH = 4,35

1. Lösen Sie 31,60 g Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ ) und 11,75 g Zitronensäure ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$ ) in destilliertem Wasser auf, und verdünnen Sie auf 1 l.

### Zubehör

- Spektralphotometer, 520 nm
- 10-mm-Rechteckküvette OS
- Stoppuhr
- Wasserstrahlpumpe
- Becherglas, 100 ml
- Messkolben, 50 ml
- Messkolben, 150 ml

### Testvorbereitung

1. Halten Sie das Bier auf 20 °C (68 °F), und entfernen Sie das Kohlendioxid unter Vakuum (Wasserstrahlpumpe).
2. Geben Sie das entgaste Bier in einen 10-ml-Glaskolben mit Glasstopfen. Gießen Sie langsam 0,25 ml DPI-Lösung (0,005 M) in den Kolben.
3. Verschließen Sie den Glaskolben unmittelbar, und wenden Sie ihn zwei Mal. Starten Sie die Stoppuhr nach dem ersten Wenden.
4. Füllen Sie die vorbereitete Probe unmittelbar in eine 10-mm-Rechteckküvette.
5. **Bereiten Sie den Blindwert vor:** Entgastes Bier ohne hinzugefügtes Reagenz.

### Verfahren

1. Bereiten Sie den Blindwert und die Probe vor.
2. Wählen Sie „Gespeicherte Programme“ > „Auswahl nach Nr.“.
3. Geben Sie die Nummer 2014 ein. Drücken Sie **OK**.
4. Drücken Sie **Start**.
5. Setzen Sie die vorbereitete Blindprobe ein. Drücken Sie **Null**.
6. Setzen Sie die vorbereitete Probe ein. Warten Sie 60 Sekunden. Drücken Sie **Messen**. Die Ergebnisse werden im mg/kg angezeigt.

### Prinzip

Reduktionsvermögen ist ein Maß für das Wirken der schnell reduzierenden Stoffe im Bier. Reduzierende Stoffe sind im Bier in relativ geringen Mengen vorhanden, haben jedoch eine große Bedeutung für die chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften wie auch die Geschmacksstabilität des Bieres.

Reduzierende Stoffe bauen einen gewissen Anteil an Tillmanns Reagenz (2,6-Dichlorphenolindophenol, DPI) innerhalb eines bestimmten Zeitraums ab. Die Entfärbung des Reagenzes wird spektralphotometrisch gemessen und berechnet.

### Weitere Informationen

Optionen	Beschreibung
Ergebnisspezifikationen	Anteil der ursprünglich vorhandenen DPI-Menge in %, die von 10 ml Bier in 60 Sekunden reduziert wird
Genauigkeit	$V_{kr} = \pm 1 \%$
Standardwerte	> 60 sehr gut; 50–60 gut; 45–50 zufriedenstellend; < 45 schlecht







**HACH COMPANY World Headquarters**

P.O. Box 389, Loveland, CO 80539-0389 U.S.A.  
Tel. (970) 669-3050  
(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, Germany  
Tel. +49 (0) 2 11 52 88-320  
Fax +49 (0) 2 11 52 88-210  
info-de@hach.com  
www.de.hach.com

**HACH LANGE Sàrl**

6, route de Compois  
1222 Vézenaz  
SWITZERLAND  
Tel. +41 22 594 6400  
Fax +41 22 594 6499