

MACHEREY-NAGEL

Analysenvorschriften für Brauereien

Analysis instructions for breweries

Water analysis



- Methodenhandbuch
- Methods manual

MACHEREY-NAGEL

www.mn-net.com



1. α -Säuren (MEBAK-Methode)	3
2. Anthocyanogene n. Harris und Ricketts	5
3. Bierfarbe, Photometrisch (MEBAK-Methode)	7
4. Bittereinheiten Würze (MEBAK-Methode)	8
5. Bittereinheiten Bier (REF 918172)	9
6. Gesamtkarotinoide Fraktion 1 – 4 (MEBAK-Methode)	10
7. Gesamtkarotinoide in Karottensaft (MEBAK-Methode)	13
8. Gesamtpolyphenole (MEBAK-Methode)	15
9. Kupfer Cuprethol (MEBAK-Methode)	17
10. Nickel (MEBAK-Methode)	18
11. Thiobarbitursäurezahl (MEBAK-Methode)	20
12. Vicinale Diketone (REF 985010)	22
13. Cyclamat (MEBAK-Methode)	23
14. Eisen (MEBAK-Methode)	25
15. Freier Amino-Stickstoff (FAN, MEBAK-Methode)	27
16. Gesamtkarotinoide Fa. Wesergold (MEBAK-Methode)	29
17. Iso- α -Säuren (MEBAK-Methode)	30
18. Kupfer ZDBT (MEBAK-Methode)	32
19. Photometrische Iodprobe (MEBAK)	34
20. Gesamt Kohlenhydrate in Bier (MEBAK)	36
20. Hop Storage Index (HSI) von Doldenhopfen und Hopfenprodukten (MEBAK-Methode)	38
21. Kontakt	39

Contents

1. α -acids (MEBAK-method)	40
2. Anthocyanogens acc. to Harris and Ricketts	42
3. Beer color, photometric (MEBAK method)	44
4. Bitterness units in wort (MEBAK method)	45
5. Bitterness units in beer (REF 918172)	46
6. Total carotenoids fraction 1 – 4 (MEBAK method)	47
7. Total carotenoids in carrot juice (MEBAK method)	50
8. Total polyphenols (MEBAK method)	52
9. Copper Cuprethol (MEBAK method)	54
10. Nickel (MEBAK-method)	56
11. Thiobarbituric acid index (MEBAK method)	58
12. Vicinal diketones (REF 985010)	60
13. Cyclamate (MEBAK method)	61
14. Iron (MEBAK method)	63
15. Free amino nitrogen (FAN, MEBAK method)	65
16. Total carotenoids Wesergold (MEBAK method)	67
17. Iso- α -acids (MEBAK method)	68
18. Copper ZDBT (MEBAK method)	70
19. Photometric iodine assay (MEBAK)	72
20. Total carbohydrates in beer (MEBAK)	74
21. Hop Storage Index (HSI) in Whole Hops and Hop Products (MEBAK method)	76
22. Contact	77

1. α -Säuren (MEBAK-Methode)

1.1 Hintergrund

Beim Bierbrauen entstehen aus den zunächst unlöslichen Alphasäuren im Hopfen während des Kochens Iso-Alphasäuren, die dem Bier Bitterkeit verleihen - ein Prozess namens Isomerisierung. Die Bittereinheiten (BE) im Bier werden aus dem Alphasäuregehalt abgeleitet und beeinflussen Geschmack, Haltbarkeit der Schaumkrone und weisen bakteriostatische Eigenschaften auf.

1.2 Methode

In einer angesäuerten Probe werden die Bitterstoffe durch Iso-Octan extrahiert. Störungen können durch Ausspülen des Auszugs mit saurem Methanol entfernt werden. Anschließend wird die Konzentration spektralphotometrisch ermittelt.

1.3 Messbereich

0–60 mg/L α -Säuren

1.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 360 nm

1.5 Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmitteldichtem Schraubverschluss, 100–110 mL Inhalt Schüttelmaschine
- Zentrifuge, 3000 Upm
- Spektralphotometer, 360 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvetten QS, z. B. REF 91933

1.6 Reagenzien

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

1.7 Probenvorbereitung

- Würze oder trübes Bier durch Zentrifugieren bei 3000 Upm während 15 min klären (nicht filtrieren)
- Würze oder Bier ohne Schaumverlust vom Kohlendioxid befreien

1.8 Durchführung

Blindwertvorbereitung:

- 5 mL Iso-Octan in einen 25 mL Messkolben pipettieren
- mit alkalischer Methanollösung bis zur Marke auffüllen und mischen

Hauptwert:

- 50 mL der auf 20 °C temperierten Probe in ein Zentrifugenglas pipettieren
- 3,0 mL 6N Salzsäure und 25 mL Iso-Octan zugeben
- Zentrifugenglas verschließen und 30 min bei optimaler Mischintensität maschinell schütteln
- zum Trennen der Phasen und Brechen der Emulsion 5 min bei 3000 Upm zentrifugieren
- die untere wässrige Phase durch Absaugen mit einer Pipette abnehmen und verwerfen. Die Iso-Octanphase mit so viel Natriumsulfat versetzen, dass diese nach kurzem kräftigen Schütteln klar ist
- 10 mL der Iso-Octanphase in einen 25 mL Mischzylinder pipettieren
- 10 mL saure Methanollösung zugeben, den Inhalt durch 100-maliges drehen des Zylinders mischen
- 5 mL der überstehenden klaren Iso-Octanphase in einen 25 mL Messkolben pipettieren
- mit alkalischer Methanollösung bis zur Marke auffüllen und mischen
- Extinktion der Iso-Octanlösung gegen den Blindwert bei 360 nm messen

1.9 Messung

Methode 3–40 aufrufen und messen

1.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.18.2, Seite 116ff

2. Anthocyanogene n. Harris und Ricketts

2.1 Hintergrund

Anthocyanogene sind phenolische Verbindungen, die je nach Verarbeitung aus Hopfen und Malz in das Bier gelangen. Dadurch kann es zu Veränderungen von Farbe, Geschmack(-sstabilität), Schaum oder chemisch-physikalischer Stabilität des Bieres kommen. Durch Polymerisation oder Kondensation kann es zu unerwünschten Nebenprodukten kommen (z. B. Eiweiße).

Methode

Zuerst erfolgt eine Adsorption der Anthocyanogene an Polyamid. Das daraus entstehende Adsorbat wird in einer Butanol-Salzsäure-Lösung gelöst und erhitzt, sodass eine rote Lösung entsteht, die anschließend spektralphotometrisch gemessen wird.

2.2 Messbereich

1 – 100 mg/L Anthocyanogene

2.3 Küvette und Wellenlänge

10 mm Rechteckküvette / 550 nm

2.4 Zubehör

- Schüttelmaschine
- Zentrifuge
- Mischzylinder mit Schliffstopfen, 50 mL
- Fritte 1 G4
- Saugflasche
- Reagenzgläser mit Schliffstopfen, 30 mL, Graduierung bis 25 mL
- Vakuumpumpe
- Spektralphotometer, 550 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette OS, z. B. REF 91933

2.5 Reagenzien

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

2.6 Probenvorbereitung

- Würzen und Jungbiere 10 min bei 3000 Upm zentrifugieren

2.7 Durchführung

Blindwertvorbereitung:

- 10 mL dest. Wasser (Blindwert) in einen 50 mL Mischzylinder pipettieren
- Blindwert wie Hauptprobe ab Stichpunkt 2 weiterbehandeln.

Hauptwert

- 5 mL Bier (oder Würze) + 5 mL dest. H₂O in einen 50 mL Mischzylinder pipettieren
- je 0,5 g Polyamid-Pulver mit 10 mL destilliertem Wasser in den Mischzylinder spülen
- Mischzylinder 40 min maschinell schütteln
- Suspension durch je eine 1 G4-Fritte filtrieren und zweimal mit ca. 20 mL H₂O nachspülen
- Fritten und Polyamid-Pulver trocken saugen, Rückstand jeweils mit einem Spatel quantitativ in Reagenzglas überführen und mit 15 mL Lösung 1 nachspülen
- je 0,5 mL Lösung 2 zugeben und das Reagenzglas 30 min im siedenden Wasserbad erhitzen (während der ersten 5 min mit einem Glasstab gut rühren)
- Glasstab herausnehmen, mit wenig Lösung 1 spülen, Reagenzglas auf 20 °C temperieren, mit Lösung 1 jeweils auf 25 mL auffüllen

2.8 Messung

Methode 3–41 aufrufen und messen

2.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.17.2, Seite 109ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-42-111/anthocyanogene-methode-harris-und-ricketts/843>

3. Bierfarbe, Photometrisch (MEBAK-Methode)

3.1 Hintergrund

Die Farbe des Biers ist ebenfalls ein Qualitätsmerkmal, welches im Brauprozess überprüft wird. Helle Biere weisen einen niedrigen EBC-Wert auf, dunkle Biere hingegen einen höheren Wert.

3.2 Methode

Die Extinktion der Probe wird bei 430 nm gemessen und mit einem hinterlegten Faktor umgerechnet.

3.3 Messbereich

1 – 60 EBC Units

3.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 430 nm

3.5 Zubehör

- Spektralphotometer, 430 nm ($\pm 0,5$ nm), z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvetten OS, z. B. REF 91933

3.6 Störungen

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

3.7 Probenvorbereitungen und Durchführung

- Probe so verdünnen, dass die Extinktion innerhalb der Linearität des Spektralphotometers liegt
- Probe durch einen Membranfilter filtrieren. Die Filtration kann unterbleiben, wenn die Trübung der verdünnten Probe unter 1 EBC-Trübungseinheiten liegt.
- Bei Bedarf die Probe durch Zusatz von 0,1 % Kieselgur und einer der Membranfiltration vorgeschalteten Filtration klären.
- Probe in 10 mm-Rechteckküvette überführen und gegen dest. Wasser (Blindwert) messen.

3.8 Messung

Methode 3–42 aufrufen und messen

3.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.13.2, Seite 88ff

4. Bittereinheiten Würze (MEBAK-Methode)

4.1 Hintergrund

Die vorherrschenden bitteren Verbindungen in Würze und Bier sind die sogenannten iso- α -Säuren. In Würze lassen sich zusätzlich auch β - und δ -Säuren nachweisen. Weiterhin gibt es Oxidationsprodukte der Hopfenbittersäure, die ebenfalls zum Bittergeschmack beitragen.

4.2 Methode

Die Probe wird angesäuert und anschließend mit Iso-Octan extrahiert. Die im Iso-Octanauszug extrahierten Bitterstoffe werden spektralphotometrisch gemessen.

4.3 Messbereich

20–60 BE

4.4 Küvette und Wellenlängen

10 mm-Rechteckküvette / 275 nm

4.5 Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmitteldichten Verschlüssen, 35 mL
- Glaskugeln
- Schüttelmaschine
- Zentrifuge, 3000 Upm
- Spektralphotometer, 275 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette QS, z.B REF 919120

4.6 Reagenzien

- Salzsäure, 6N
- Iso-Octan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein (Extinktion gemessen in 10 mm QS Rechteckküvette bei 275 nm gegen $H_2O < 0,010$) (z. B. Uvasol)

4.7 Probenvorbereitung

- Würze durch Zentrifugieren bei 3000 Upm während 15 min klären (Probe nicht filtrieren)
- Probe ohne Schaumverlust von Kohlendioxid befreien

4.8 Durchführung

- 10 mL (bzw. 5 mL Würze + 5 mL dest H_2O) der auf 20 °C temperierten Probe in ein Zentrifugenglas pipettieren
- 0,5 mL 6N Salzsäure, 20 mL Iso-Octan und 3 Glaskugeln zugeben
- Zentrifugenglas verschließen und 15 min bei 20 °C maschinell schütteln
- Zum Trennen der Phasen und Brechen der Emulsion 3 min bei 3000 Upm zentrifugieren
- Extinktion des Iso-Octanauszugs in 10 mm Rechteckküvette bei 275 nm gegen Iso-Octan der gleichen Qualität messen (Blindwert)

4.9 Messung

Methode 3–43 aufrufen und messen

4.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.18.1, Seite 114ff

5. Bittereinheiten Bier (REF 918172)

5.1 Hintergrund

(Siehe 4.1)

5.2 Methode

(Siehe 4.2)

5.3 Messbereich

2,0 – 80,0 BE

5.4 Küvette und Wellenlängen

10 mm-Rechteckküvette / 275 nm

5.5 Zubehör

- Spektralphotometer, 275 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette QS, z.B REF 919120
- Pipette

5.6 Reagenzien

- Reagenzien aus der Testbox

5.7 Durchführung

- Ein Teil des Iso-Octans (obere Phase) in die Rechteckküvette pipettieren. Photometer nullen. Iso-Octan zurückpipettieren.
- 1 mL Probe über Innenwand der Küvette zugeben. 20 Sekunden kräftig schütteln, 1 min Phasentrennung abwarten.
- 2,5 mL der Iso-Octan-Phase in die Rechteckküvette pipettieren und messen.

5.8 Messung

Methode 1 – 72 aufrufen und messen

5.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.18.1, Seite 114ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-17-110/bittereinheiten/663>

6. Gesamtkarotinoide Fraktion 1 – 4 (MEBAK-Methode)

6.1 Hintergrund

Carotinoide sind pflanzliche Farbpigmente, die in vielen Früchten vorkommen und für deren gelbe bis rötliche Färbung verantwortlich sind. Im menschlichen Körper werden Carotinoide unter anderem in Vitamin A umgewandelt. In Getränken z. B. in Vitaminsäften wird die Konzentration von Carotinoiden nachgewiesen.

6.2 Methode

Die Probe wird mit Carrez-Lösung versetzt und anschließend mit Aceton und Petrolether extrahiert. Gemessen wird mit einem Spektralphotometer.

6.3 Messbereich

0,1 – 8,0 mg/L Carotinoide

6.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 450 nm

6.5 Zubehör

- Zentrifugengläser, 60 bis 100 mL Fassungsvermögen
- Zentrifuge
- Schütteltrichter, 200 mL
- Rundkolben, 250 mL
- Chromatographiesäule: H = 25 – 30 cm, I. D. = 2 cm
- Rotationsverdampfer
- Photometer, Wellenlänge 450 nm, z. B. REF 919600.1
- Glasküvetten, 10 mm, z. B. REF 91933

6.6 Reagenzien

- Carrez-I-Lösung: wässrige Kaliumhexacyanoferrat(II)-Lösung, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$, 150 g/L
- Carrez-II-Lösung: wässrige Zinksulfatlösung, $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$, 300 g/L Aceton reinst.
- Petrolether reinst., Siedebereich 40 – 60 °C
- Natriumsulfat wasserfrei, reinst.
- Toluol p. a.
- Elutionsgemisch A: Petrolether + Toluol = 4 Teile + 1 Teil
- Elutionsgemisch B: Petrolether + Toluol = 2 Teile + 1 Teil
- Aluminiumoxid 90 aktiv, neutral (Merck-Nr.: 101077), teilweise deaktiviert:
- 100 g Al_2O_3 mit 12 g H_2O versetzen und solange schütteln, bis alle Klumpen zerfallen sind (verschlossen aufbewahren).

6.7 Probenvorbereitung und Durchführung

A: Bestimmung der Gesamtkarotinoide

- Getränk durch kräftiges Schütteln homogenisieren - Konzentrate auf Saftstärke verdünnen
- in Zentrifugenglas je nach Untersuchungsmaterial 5 bis 50 mL des Getränkes pipettieren
- bei Bedarf mit Wasser auf 50 mL ergänzen
- mit je 1 mL Carrez-I- und Carrez-II-Lösung versetzen
- mit einem Glasstab die Lösung gut vermischen und nach ca. 2 minütigem Stehen zentrifugieren (etwa 5 min)
- eingesetzte Menge an Untersuchungsmaterial so wählen, dass die Extinktion des auf 100 mL aufgefüllten Petroletherextraktes nicht über 0,5 Einheiten liegt (beispielsweise: Orangensaft: 25 mL; Orangen-Nektar: 50 mL; Maracujasaft: 5 bis 20 mL; Maracuja-Nektar: 25 mL; Tangarinensaft: 20 mL)
- die überstehende nur noch schwach gefärbte bis farblose Flüssigkeit nach vorsichtigem Abdekantieren vom Niederschlag verwerfen
- aus dem Niederschlag mit 40 mL Aceton die adsorbierten Carotinoide extrahieren. Hierzu Niederschlag zusammen mit dem Aceton zunächst mit einem Glasstab kräftig aufwirbeln und danach für etwa 3 min rühren erneut (etwa 5 min) zentrifugieren und das nun kräftig gelb gefärbte Aceton in einen Schütteltrichter, in den zuvor 50 mL (Messzylinder) Petrolether gegeben wurde, gießen
- kräftig schütteln und die sich abscheidende Wasserphase (etwa 10 mL) nach kurzem Stehen von der organischen Phase trennen
- zur Entfernung noch anhaftender Carotinoide den mit dem Aceton behandelten Niederschlag erneut mit etwa 20 mL Aceton in der oben beschriebenen Weise extrahieren
- nach dem Zentrifugieren diese zweite Extraktion durch vorsichtiges Abdekantieren der organischen Phase im Schütteltrichter zufügen
- mit 50 mL H₂O durch kurzes Schütteln die organische Phase waschen
- nachdem sich die geringe Emulsion zurückgebildet hat, Wasserphase verwerfen
- zur Trocknung die carotinoidhaltige Petroletherphase in ein Zentrifugenglas geben, in das zuvor 2 g wasserfreies Natriumsulfat eingewogen wurden
- kurz mit einem Glasstab rühren und zentrifugieren
- die Petroletherphase vorsichtig in einen 100 mL-Messkolben spülen
- den am Zentrifugenglas haftenden Natriumsulfat-Niederschlag zur Entfernung noch anhaftender Carotinoide wieder mit etwa 30 mL Petrolether versetzen und nach vorherigem Umrühren mit einem Glasstab zentrifugieren.
- diesen schwach gefärbten Petrolether mit der ersten Fraktion vereinigen und den Messkolben mit Petrolether zur Marke auffüllen
- Petroletherextrakt bei 450 nm in 10 mm-Küvetten gegen Petrolether messen

B: Bestimmung der einzelnen Carotinoid-Fraktionen

Vorbereitung der Chromatographiesäule

- 28–30 g teilweise desaktiviertes Aluminiumoxid in einem Becherglas mit etwa 30 mL Petrolether aufschlämmen
- in die mit etwas Petrolether beschickte und mit wenig Glaswolle gestopfte Chromatographiesäule füllen und Petrolether bis kurz über das Aluminiumoxid ablassen
- darauf achten, dass der Petrolether und das Aluminiumoxid keine größeren Temperaturunterschiede aufweisen, um eine blasenfreie Füllung der Säule zu gewährleisten. Die Füllhöhe soll 8 cm betragen.

Fraktionierung der Carotinoide

- den aus der Bestimmung der Gesamtkarotinoide erhaltenen Petroletherextrakt
- quantitativ in einen 250 mL Rundkolben geben und Petrolether am Rotationsverdampfer
- bei etwa 40 °C im Vakuum abdampfen
- Rückstand sofort in wenigen Millilitern Petrolether aufnehmen und zweckmäßigerweise mit einer Pipette (z. B. Eppendorf) auf die Chromatographiesäule geben
- mit kleinen Portionen (insgesamt etwa 10 mL) Petrolether nachspülen
- beim Aufgeben der Probelösung ein Aufwirbeln des Aluminiumoxids vermeiden,
- jeweils gerade einziehen lassen
- mit einer Elutionsgeschwindigkeit von etwa 2 Tropfen pro Sekunde eluieren
- 4 Fraktionen eluieren und in einem entsprechenden Messkolben gesondert auffangen:

Fraktion I (sog. Carotin-Fraktion): Petrolether

Fraktion II (sog. Kryptoxanthinester-Fraktion): Elutionsgemisch A

Fraktion III (sog. Xanthophyllester-Fraktion): Elutionsgemisch B

Fraktion IV (Apocarotinal und andere): Aceton

- Fraktionen gegen Petrolether bei 450 nm messen

6.8 Messung

Methode 3–45 aufrufen und messen

6.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 3.7.2.1, Seite 276ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-46-110/gesamtkarotin-photometrisch/851>

7. Gesamtcarotinoide in Karottensaft (MEBAK-Methode)

7.1 Hintergrund

Carotinoide sind pflanzliche Farbpigmente, die in vielen Früchten vorkommen und für deren gelbe bis rötliche Färbung verantwortlich sind. Im menschlichen Körper werden Carotinoide unter anderem in Vitamin A umgewandelt. In Getränken z. B. Vitaminsäfte wird die Konzentration von Carotinoiden nachgewiesen.

7.2 Methode

Die Carotinoide werden aus der Probe extrahiert und die Extraktlösung mehrfach gewaschen. Anschließend findet die spektralphotometrische Messung statt.

7.3 Messbereich

0,1 – 8,0 mg/L Carotinoide

7.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 450 nm

7.5 Zubehör

- Scheidetrichter 250 mL, Braunglas
- 50 mL-Messkolben, Braunglas
- 100 mL-Messkolben, Braunglas
- 20 mL-Messkolben
- 50 mL-Messkolben
- Spektralphotometer, Wellenlänge 450 nm, z. B. REF 919600.1
- Glasküvetten, 1 cm Schichtdicke, z. B. REF 91933

7.6 Reagenzien

- Aceton, p. a.
- *n*-Hexan, p.a.
- Methanol, p.a.
- Extraktionslösung: Aceton/*n*-Hexan (50:50, v/v)
- NaCl-Lösung, 10 %
- Natriumsulfat, wasserfrei, p. a.

7.7 Durchführung

- 10 mL homogenisierte Probe in 50 mL-Messkolben pipettieren und mit H₂O
- auffüllen (bei ACE-Getränken: 10 mL in 20 mL-Messkolben)
- 5 mL der verdünnten Probe mit 50 mL Extraktionslösung in Scheidetrichter geben und schütteln
- 100 mL NaCl-Lösung zugeben, schütteln, Phasentrennung abwarten und die meist nicht völlig klare Wasserphase verwerfen
- wenn die wässrige Phase noch deutlich gelb gefärbt ist, Probenlösung mit 50 mL Methanol versetzen, schütteln, weitere 50 mL Extraktionslösung zugeben und wie oben beschrieben weiterverfahren
- carotinoidhaltige organische Phase zweimal mit je 50 mL NaCl-Lösung waschen
- organische Phase in ein Becherglas mit 2 – 3 g Na₂SO₄ geben, kurz verrühren und Hexanphase in 100 mL-Messkolben dekantieren (bei ACE-Getränken: 50 mL-Messkolben)
- am Na₂SO₄ anhaftende Carotinoide mehrmals mit 5 mL Hexan waschen bis nahezu farblos (meist genügt dreimal), Hexan jeweils dekantieren und zur Probe geben, mit Hexan zur Marke auffüllen
- in mit 1 g Na₂SO₄ beschickten 10 mm-Küvetten bei 450 nm gegen *n*-Hexan messen, sobald das Salz abgesunken ist

7.8 Messung

Methode 3–46 aufrufen und messen

7.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 3.7.2.2, Seite 280ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-46-110/gesamtcarotin-photometrisch/851>

8. Gesamtpolyphenole (MEBAK-Methode)

8.1 Hintergrund

Je nach Verarbeitung gelangen phenolische Verbindungen aus Hopfen und Malz in das Bier, wodurch es zu Veränderungen von Farbe, Geschmack(-sstabilität), Schaum oder chemisch-physikalischer Stabilität des Bieres kommen kann. Durch Polymerisation oder Kondensation kann es zu unerwünschten Nebenprodukten kommen (z. B. Eiweiße).

8.2 Methode

Polyphenole reagieren in alkalischem Milieu mit Eisen(III)-Ionen zu gefärbten Komplexen. Die Konzentration wird spektralphotometrisch gemessen.

8.3 Messbereich

1 – 800 mg/L Polyphenole

8.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 600 nm

8.5 Zubehör

- Zentrifuge
- Spektralphotometer, 600 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette OS, z. B. REF 91933

8.6 Reagenzien

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

8.7 Probenvorbereitung

- Bier durch Schütteln von Kohlendioxid befreien
- Trübe Würze oder Biere durch Zentrifugieren klären

8.8 Durchführung

Blindwertvorbereitung:

- 10 mL Probe (Bier durch Schütteln von Kohlendioxid befreien trübe Würze oder Biere durch Zentrifugieren klären) in einen 25 mL Messkolben dosieren
- 8 mL CMC-EDTA-Lösung zufügen und gut mischen
- 0,5 mL verdünnte Ammoniaklösung zufügen und gut mischen
- Auffüllen mit H₂O auf 25 mL und nochmals mischen.

Hauptwert:

- 10 mL Untersuchungsprobe + 8 mL CMC-EDTA-Lösung in einem 25 mL Messkolben gut durchmischen
- 0,5 mL Eisen(III)-lösung zufügen und wiederum gut mischen
- 0,5 mL verdünnte Ammoniaklösung zusetzen, gründlich durchmischen
- mit H₂O auf 25 mL auffüllen und mischen
- nach 10 min Extinktion in 10 mm-Rechteckküvette bei 600 nm gegen Blindprobe messen

Hinweis:

- nach Zusatz der einzelnen Reagenzien die Lösungen immer gut mischen

8.9 Messung

Methode 3–47 aufrufen und messen

8.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.17.1, Seite 107ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-42-111/anthocyanogene-methode-harris-und-ricketts/843>

9. Kupfer Cuprethol (MEBAK-Methode)

9.1 Hintergrund

Kupfer ist in Spritzmitteln enthalten und kann somit über die Rohstoffe in den Brauereiprozess gelangen. Es findet sich jedoch auch in Apparaten oder Leitungen, die beim Brauen verwendet werden. Schwermetallionen wie Kupfer haben eine negative Auswirkung auf den Geschmack und die kolloidale Stabilität von Bier.

9.2 Methode

Das Kupfer formt mit Diethanolamin und Schwefelkohlenstoff einen Farbkomplex. Dieser wird spektralphotometrisch gemessen.

9.3 Messbereich

0,10–5,00 mg/L Cu

9.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 445 nm

9.5 Zubehör

- Spektralphotometer, 445 nm, z. B. REF 919600.1
- Küvetten, 10 mm-Schichtdicke, z. B. REF 91933

9.6 Reagenzien

- Lösung 1: 4 g Diethanolamin in 200 mL Methanol lösen (haltbar)
- Lösung 2: 1 g Schwefelkohlenstoff in 200 mL Methanol lösen (haltbar)
- Lösung 3: 1 Volumenteil Methanol mit 1 Volumenteil Lösung 1 mischen (haltbar)
- Lösung 4: (Cuprethol- Reagenz): 3 Volumenteile Lösung 1 mit 1 Volumenteil Lösung 2 mischen (diese Lösung jeden Tag frisch zubereiten)
- Acetat-Puffer, pH 4,6: 105 g Natriumacetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) in ca. 800 mL H_2O lösen, 65 mL konzentrierte Essigsäure zusetzen und mit H_2O auf 1 L auffüllen

9.7 Probenvorbereitung

- 50 mL von Kohlendioxid befreites Bier (Bierschaum zusammenfallen lassen)
- in 100 mL-Erlenmeyerkolben pipettieren
- 25 mL Acetatpuffer zugeben und mischen

9.8 Durchführung

Blindwertvorbereitung:

- von der gepufferten Bierlösung 20 mL in einen 50 mL-Erlenmeyerkolben pipettieren
- 2 mL der Lösung 3 zugeben und vermischen

Hauptwert:

- von der gepufferten Bierlösung 20 mL in einen 50 mL-Erlenmeyerkolben pipettieren
- 2 mL der Lösung 4 zugeben und vermischen
- Messung muss innerhalb von 10 min nach Zugabe der Lösung 4 in einer 10 mm Rechteckküvette erfolgen (gegen den Blindwert)

9.9 Messung

Methode 3–48 aufrufen und messen

9.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.29.4, Seite 152ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-37-009/kupfer-cuprethol/2261>

10. Nickel (MEBAK-Methode)

10.1 Hintergrund

Wie Kupfer und andere Schwermetalle beeinträchtigt Nickel die kolloidale Stabilität des Biers, sowie die Schaumhaltbarkeit.

In das Bier gelangt Nickel über Bierschaum-Stabilisierungsmittel oder Kontakt mit Edelstahl.

10.2 Methode

Die Probe wird extrahiert und anschließend mit Dimethylglyoxim versetzt, sodass sich ein farbiger Komplex bildet. Die Messung erfolgt spektralphotometrisch.

10.3 Messbereich

0,03–5,00 mg/L Ni

10.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 530 nm

10.5 Zubehör

- Spektralphotometer, 530 nm, z. B. REF 919600.1
- Küvetten, 10 mm-Schichtdicke, z. B. REF 91933
- Kjeldahlkolben
- Scheidetrichter, 125 mL

10.6 Reagenzien

- Salpetersäure, 65 % (d = 1,40)
- Perchlorsäure, 70 % (d = 1,67)
- Hydroxylamin-hydrochlorid, 10 %
- Natriumcitrat, 20 %: 20 g Trinatriumcitrat-2-hydrat mit H₂O zu 100 mL lösen
- Ammoniak, 25 % (d = 0,91)
- Dimethylglyoxim, 1 % in Ethanol
- Chloroform
- Ammoniak, verdünnt: 1 Teil 25 %-iges Ammoniak mit 49 Teilen H₂O verdünnen
- Salzsäure, 0,33 N
- Natriumtartrat, 20 %: 20 g Natriumtartrat-2-hydrat mit H₂O zu 100 mL lösen
- Kaliumperoxodisulfat, 4 %
- Natronlauge, 5 N
- Dimethylglyoxim: 1 g Dimethylglyoxim in 5 mL 5 N Natronlauge lösen und mit H₂O auf 100 mL auffüllen
- Phenolphthalein, 1 % in Ethanol

10.7 Probenvorbereitung

- 100 mL Bier im Kjeldahlkolben weitgehend einengen
- drei Mal mit 65 %iger Salpetersäure eindampfen
- hierauf zweimal mit 70 %iger Perchlorsäure eindampfen, um alle organischen Substanzen zu zerstören
- Rückstand in 125 mL-Scheidetrichter überspülen

10.8 Durchführung

Blindwert:

- 15 mL 0,33 N Salzsäure, 2 mL Natriumtartat, 10 mL Kaliumperoxodisulfat, 0,6 mL Dimethylglyoxim-Natronlauge und 2,5 mL 5 N Natronlauge in 50 mL-Messkolben mit dest. Wasser zur Marke auffüllen.

Hauptwert:

- Rückstand aus Vorbereitung 2 mL Hydroxylamin-hydrochloridlösung, 5 mL Natriumcitratlösung und 3 Tropfen Phenolphthalein zusetzen
- 25 %-iges Ammoniak zutropfen bis zum Auftreten einer Rosafärbung
- weitere 4 Tropfen Ammoniak und 2 mL alkoholische Dimethylglyoximlösung zugeben
- mit H₂O auf ca. 60 mL bringen
- dreimal mit je 5 mL Chloroform jeweils 30 sek ausschütteln (evtl. vorhandene störende Kupferverbindungen können durch einminütiges Schütteln mit 5 mL verdünnter Ammoniaklösung (1 + 49) aus dem Chloroform-extrakt entfernt werden)
- Chloroformphase mit 10 mL 0,33 N Salzsäure 1 min extrahieren
- nochmals mit 5 mL 0,33 N Salzsäure extrahieren (Nickel geht in die Salzsäurelösung über, dabei darauf achten, dass kein Chloroformrest in den vereinigten Salzsäure-Extrakten verbleibt)
- Salzsäure-Extrakte in 50 mL-Messkolben sammeln, 2 mL Natriumtartratlösung, 10 mL Kaliumperoxodisulfatlösung, 0,6 mL Dimethylglyoxim-Natronlauge-Lösung und 2,5 mL 5 N Natronlauge zufügen
- mit H₂O auf 50 mL auffüllen und mind. 30 min stehen lassen (aber nicht länger als 2 h)
- Extinktion der Farblösung in 10 mm-Küvette bei 530 nm gegen Blindwert messen

10.9 Messung

Methode 3–49 aufrufen und messen

10.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.29.6, Seite 156ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-72-111/nickel-ni-spektralphotometrisch/3212>

11. Thiobarbitursäurezahl (MEBAK-Methode)

11.1 Hintergrund

Die Thiobarbitursäurezahl lässt Aussagen zur thermischen Belastung von Malz und Würze zu. Bei der Malz- und Würzebereitung kommt es mindestens zweimal zu erhöhter thermischer Belastung, die die Aromastabilität gefährden kann.

11.2 Methode

Die Probe wird mit Thiobarbitursäure versetzt und die entstehende Gelbfärbung spektralphotometrisch gemessen.

11.3 Messbereich

1 – 100 TBZ

11.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette OS/ 448 nm

11.5 Zubehör

- Wasserbad, 70 °C
- Braune Reaktionsgläser mit Schliff, 20 mL oder 25 mL
- Spektralphotometer, 448 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvetten OS, z. B. REF 91933

11.6 Reagenzien

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

11.7 Probenvorbereitung

- Trübe Untersuchungslösungen durch Filtration über Kieselgur klären.
- **Verdünnung**
- Würzen und Biere 10-fach mit H₂O verdünnen
- Kongresswürzen 5-fach mit H₂O verdünnen
- **Leerwert**
- 10 mL der verdünnten Probe mit 5 mL 90 %-iger Essigsäure versetzen, schütteln und wie beim Hauptwert weiterverfahren.

11.8 Durchführung

Hauptwert:

- 10 mL der verdünnten Probe mit 5 mL Thiobarbitursäure versetzen und schütteln.
- 70 min in ein Wasserbad von 70 °C stellen (direktes Sonnenlicht vermeiden, darauf achten, dass beim Einstellen der Reagenzgläser die Temperatur im Bad nur kurzfristig um 1 – 2 °C absinkt).
- Nach Ablauf der Reaktionszeit Reagenzgläser rasch auf 20 °C abkühlen (stark fließendes kaltes Wasser oder Kältebad).
- Gelbfärbung sofort in 10 mm Rechteckküvetten bei 448 nm gegen H₂O messen.

Hinweis

- Analysenvorschrift exakt einhalten, da sie einem empirischen Charakter hat.

11.9 Messung und Ergebnis

- Methode 3–50 aufrufen und messen
- Berechnung des Ergebnisses: $TBZ = (EH - EL) * F$
- EH = Extinktion des Hauptwertes
- EL = Extinktion des Leerwertes
- F = Verdünnungsfaktor

11.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.4, Seite 35ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-05-111/thiobarbitursaeurezahl-tbz/646>

12. Vicinale Diketone (REF 985010)

12.1 Hintergrund

Diacetyl (= 2,3-Butandion) bildet sich aus durch oxidative Decarboxylierung von Zwischenprodukten bei der Hauptgärung von Hefe. Eine Konzentration über 0,10 mg/L führt bei Bier zu einem schlechten Geschmack.

12.2 Methode

Diacetyl (und Derivate) reagieren zu einem Chinoxalin-Derivat. Die Auswertung erfolgt spektralphotometrisch bei 335 nm.

12.3 Messbereich

0,015–0,600 mg/kg Diacetyl

12.4 Küvette und Wellenlänge

Rundküvette / 335 nm

12.5 Zubehör

- Zubehör für eine Wasserdampfdestillation (siehe Sondervorschrift)
- Kolbenhubpipette für 4 mL und passende Pipettenspitze
- Spektralphotometer, 335 nm, z. B. REF 919600.1

12.6 Reagenzien

- Antischaum-Emulsion (frei von Diketonen)
- Reagenzien aus der Testbox

12.7 Probenvorbereitung

Wasserdampfdestillation notwendig, siehe Sondervorschrift

12.8 Durchführung

Blindwert:

- 4 mL Probe in die Küvette pipettieren
- Kräftig schütteln und Photometer nullen

Hauptwert:

- Nach Blindwert-Messung wird 1 *NANOFIX*[®] zu der Lösung gegeben
- Kräftig schütteln
- 5 min warten und dann messen

12.9 Messung

Methode 0–10 aufrufen und messen

12.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.23, Seite 134ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-21-111/vicinale-diketone-photometrisch/731>

13. Cyclamat (MEBAK-Methode)

13.1 Hintergrund

Cyclamat ist ein Süßungsmittel, welches z. B. energiereduzierten/zuckerfreien nichtalkoholischen Getränken auf Fruchtbasis zugesetzt wird. Zulässig ist jedoch nur eine Menge von max. 250 mg/L.

13.2 Methode

Cyclamat wird in eine Dichlorverbindung umgewandelt und mit Heptan extrahiert. Die Messung erfolgt spektralphotometrisch.

13.3 Messbereich

0–400 mg/L Cyclamat

13.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm Rechteckküvette QS/314 nm

13.5 Zubehör

- Spektralphotometer, 314 nm, z. B. REF 919600.1
- Rechteckküvette QS, 10 mm, z. B. REF 919120
- Scheidetrichter, 100 mL
- Rundfilter (z. B. MN 640w)

13.6 Reagenzien

- Heptan, p. a.
- Schwefelsäure, 50 % (v/v)
- Natriumhypochlorit, Gehalt an freiem Chlor 1,5 % (Zur Überprüfung des Gehaltes an freiem Chlor kann VISOCOLOR® ECO freies Chlor 2, REF 931016 benutzt werden)
- Natriumhydroxidlösung, 200 g/L
- Natriumsulfat, wasserfrei p. a.
- Natriumcyclamat bzw. *N*-Cyclohexylsulfaminsäure
- Kaliumhexacyanoferrat, p. a.
- Carrez-I-Lösung:
 - 150 g Kaliumhexacyanoferrat(II) mit H₂O zu 1000 mL lösen
- Zinksulfat, p. a.
- Carrez-II-Lösung:
 - 300 g Zinksulfat Mit H₂O zu 1000 mL lösen
- Cyclohexylsulfaminsäure – Stammlösung:
 - Ca. 1 g Cyclohexylsulfaminsäure auf 0,1 mg genau in H₂O lösen und in
 - 1 L-Messkolben mit H₂O zur Marke auffüllen
- Cyclohexylsulfaminsäure – Standardlösung:
 - Jeweils 5 mL, 10 mL, 20 mL und 30 mL der Stammlösung in 100 mL-Messkolben pipettieren und mit H₂O zur Marke auffüllen. Die Konzentrationen der Standardlösungen betragen 50, 100, 200 und 300 mg/l

13.7 Probenvorbereitung und Durchführung

- Der Gehalt an Cyclamat in der Probenlösung sollte 300 mg/L nicht überschreiten, flüssige Lebensmittel entsprechend verdünnen.
- feste Lebensmittel in Messkolben einwiegen und Cyclamat durch Extraktion mit H₂O in Lösung bringen
- trübe Proben mit Carrez-I- und Carrez-II-Lösung klären
- hierzu 50 mL Probenlösung in 100 mL-Messkolben pipettieren, mit je 1 mL Carrez-I- und Carrez-II-Lösung versetzen, mit H₂O zur Marke auffüllen und filtrieren
- 10 mL Probe bzw. Standardlösungen im Scheidetrichter mit 2 mL H₂SO₄ (50 %-ig) ansäuern
- mit 20,0 mL *n*-Heptan und 5 mL Natriumhypochloritlösung versetzen und 1 min kräftig schütteln
- untere wässrige Phase ablassen und verwerfen. Eine eventuell vorhandene Emulsion verbleibt im Scheidetrichter
- Heptanphase zweimal mit je 10 mL NaOH-Lösung (20 %-ig) und dreimal mit je 50 mL H₂O chlorfrei waschen (Heptanphase darf nicht mehr nach Chlor riechen). Von der Zugabe der Natriumhypochloritlösung bis zum Erhalt der
- chlorfreien Heptanphase zügig arbeiten
- organische Phase über 1 – 2 g Na₂SO₄ trocknen und über Schwarzbandfilter filtrieren
- Extinktion der Probenlösung und der Standardlösungen bei 314 nm in 10 mm Küvette gegen *n*-Heptan als Blindwert messen

13.8 Messung

Methode 3–52 aufrufen und messen

13.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 3.11.4, Seite 302ff

14. Eisen (MEBAK-Methode)

14.1 Hintergrund

Wie Kupfer und andere Schwermetalle beeinträchtigt Eisen die kolloidale Stabilität des Biers, sowie die Schaumhaltbarkeit.

Eisen kann über viele Wege in das Bier gelangen, z. B. über die verwendeten Rohstoffe, Leitungen, Bierschaumstabilisierungsmittel oder Filtrierhilfen.

14.2 Methode

Fe^{3+} wird zu Fe^{2+} reduziert und mit Ferrozin in einen Komplex gebunden. Die Konzentration wird spektralphotometrisch ermittelt.

14.3 Messbereich

0–1 mg/L Fe

14.4 Küvette und Wellenlänge

40 mm Rechteckküvette / 560 nm

14.5 Zubehör

- Analysenwaage, Ablesbarkeit 0,1 mg
- Pipetten, 0,1 mL, 2 mL, 5 mL
- Spektralphotometer, 560 nm, z. B. REF 919600.1
- 40 mm Rechteckküvette

14.6 Reagenzien

- Alle Lösungen mit eisenfreiem H_2O bereiten.
- Pufferlösung, pH 4,3:
 - 75 g Ammoniumacetat und 150 g konz. Essigsäure in etwa 800 mL H_2O lösen, pH kontrollieren und auf 1 L auffüllen.
- Ferrozin-Reagenz:
 - 0,257 g Ferrozin oder Ferrospectral in 50 mL Puffer lösen (Lösung 2 Wochen haltbar)
 - Ascorbinsäure, 2,5 % (täglich frisch bereiten)
 - Salzsäure, konz.
- Eisen(III)-Standardlösung zur Ermittlung der Eichgeraden:
 - 863,4 mg Ammoniumeisen(III)-sulfat $[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}]$ im 1 L-Messkolben in H_2O lösen und nach Zusatz von 0,1 mL konz. Salzsäure mit H_2O zur Marke auffüllen. Nach Verdünnen von 50 mL dieser Lösung mit H_2O auf 1 L erhält man eine Standardlösung, die 5 mg/mL Fe^{3+} enthält.

14.7 Probenvorbereitung

- Bier von Kohlendioxid befreien und Schaum vollständig zusammenfallen lassen.

14.8 Durchführung

- In 50 mL Messkolben 40 mL Bier pipettieren und 2 mL Ferrozin-Reagenz sowie 1 mL Ascorbinsäurelösung zugeben.
- Mit H_2O zur Marke auffüllen.
- Blindwert genau gleich ansetzen, jedoch ohne Zusatz von Ferrozin-Reagenz, für jedes Bier einen eigenen Blindwert herstellen.
- Extinktion der Lösung in 40 mm Rechteckküvette bei 560 nm gegen entsprechenden Blindwert messen.

14.9 Messung

Methode 3–53 aufrufen und messen

14.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.29.3, Seite 149ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-71-111/eisen-fe-spektralphotometrisch/3208>

15. Freier Amino-Stickstoff (FAN, MEBAK-Methode)

15.1 Hintergrund

Aminosäuren und andere niedermolekulare Stickstoffverbindungen haben einen Einfluss auf den Ablauf der Gärung. Durch sie kann es zu unerwünschten Nebenprodukten bei der Gärung kommen. Darüber hinaus kann es zu Reaktionen mit reduzierenden Zuckern kommen, deren Produkte Einfluss auf Aroma, Farbe und Redoxpotential des Bieres haben.

15.2 Methode

Die Probe wird mit einem ninhydrinhaltigen Farbreagenz versetzt und erhitzt. Die entstandene Färbung wird spektralphotometrisch gemessen.

15.3 Messbereich

0–400 mg/L N

15.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm Rechteckküvette / 570 nm

15.5 Zubehör

- Reagenzgläser mit Schliffstopfen, 16 × 150 mm
- Variable Pipette 1.0–5.0 mL
- Pipettenspitzen für Pipette
- Kochendes Wasserbad
- Wasserbad von 20 °C
- Spektralphotometer, 570 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette OS, z. B. REF 91933

15.6 Reagenzien

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

15.7 Probenvorbereitung

- Würze 100-fach, Bier 50-fach verdünnen (1 – 3 mg/L Aminostickstoff)

15.8 Durchführung

- Probe, Standardlösung bzw. Blindwert jeweils dreifach analysieren.
- 2 mL der verdünnten Probe bzw. der Standardlösung bzw. H_2O in ein Reagenzglas pipettieren.
- 1 mL Farbreagenz zusetzen, vermischen.
- Reagenzglas mit Glasstopfen locker verschließen, um Verdampfungsverluste zu vermeiden.
- Exakt 16 min in kochendem Wasserbad erhitzen, anschließend 20 min im Wasserbad von 20 °C abkühlen.
- 5 mL Verdünnungslösung zugeben.
- Extinktion innerhalb von 30 min in einer 10 mm Rechteckküvette bei 570 nm gegen den gleichermaßen behandelten Blindwert (H_2O + Farbreagenz) messen.

Korrektur für dunkle Würzen und Biere (dreifach vornehmen):

- 2 mL der verdünnten Probe in ein Reagenzglas bringen
- anstelle des Farbreagens 1 mL H₂O zugeben und wie oben beschrieben weiter verfahren
- nach Zugabe von 5 mL Verdünnungslösung gegen H₂O messen

15.9 Messung

Methode 3 – 54 aufrufen und messen

15.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.8.4.1, Seite 62ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-11-111/freier-amino-stickstoff-fan-ninhydrin-methode-spektral-photometrisch/655>

16. Gesamtcarotinoide Fa. Wesergold (MEBAK-Methode)

16.1 Hintergrund

Carotinoide sind pflanzliche Farbpigmente, die in vielen Früchten vorkommen und für deren gelbe bis rötliche Färbung verantwortlich sind. Im menschlichen Körper werden Carotinoide unter anderem in Vitamin A umgewandelt. In Getränken z. B. Vitaminsäfte wird die Konzentration von Carotinoiden nachgewiesen.

16.2 Methode

Die Probe wird mit THF versetzt, anschließend mithilfe von Aceton filtriert und spektralphotometrisch gemessen.

16.3 Messbereich

12–60 mg/L Carotin

16.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm-Rechteckküvette / 450 nm und 550 nm

16.5 Zubehör

- Reagenzgläser mit Gewindeverschluss Glasküvetten, 1 cm Schichtdicke
- Membranfilter, 0,20 µm, z. B. MN Chromafil xtra RC-20/25 (729230) oder PTFE-20/25 (729207)
- Spektralphotometer, 450 nm und 550 nm, z. B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvetten QS, z. B. REF 919120

16.6 Reagenzien

- Tetrahydrofuran (THF), stabilisiert 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (Merck 109731)
- Aceton

16.7 Probenvorbereitung und Durchführung

- Karottensaft mit Wasser 1 + 4 verdünnen (ACE-Getränke/Multivitamin mit 50 RDA unverdünnt einsetzen)
- 0,50 mL verdünnte Probe in Reagenzglas pipettieren, 0,5 mL THF-Lösung zu geben, mischen und 3 min stehen lassen
- 4,0 mL Aceton zugeben, mischen und membranfiltrieren
- Probe jeweils gegen gleichbehandelten Blindwert (H₂O statt Saft) bei 450 nm (E1) und bei 550 nm (E2) messen

16.8 Messung

Methode 3–55 aufrufen und messen

16.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 3.7.2.3, Seite 282ff

17. Iso- α -Säuren (MEBAK-Methode)

17.1 Hintergrund

Beim Bierbrauen entstehen aus den zunächst unlöslichen Alphasäuren im Hopfen während des Kochens Iso-Alphasäuren, die dem Bier Bitterkeit verleihen - ein Prozess namens Isomerisierung. Die Bittereinheiten (BE) im Bier werden aus dem Alphasäuregehalt abgeleitet und beeinflussen Geschmack, Haltbarkeit der Schaumkrone und weisen bakteriostatische Eigenschaften auf. Iso-Alphasäuren sind lichtempfindlich, daher schützt man das Bier durch dunkle Flaschen.

17.2 Methode

In einer angesäuerten Probe werden die Bitterstoffe durch Iso-Octan extrahiert. Störungen können durch Ausspülen des Auszugs mit saurem Methanol entfernt werden. Anschließend wird die Konzentration spektrophotometrisch ermittelt.

17.3 Messbereich

0–60 mg/L

17.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm Quarzglasküvette / 255 nm und 360 nm

17.5 Zubehör

- Zentrifugengläser mit lösungsmitteldichtem Schraubverschluss, 100–110 mL Inhalt
- Schüttelmaschine
- Zentrifuge, 3000 Upm
- Spektralphotometer, 255 und 360 nm, z. B. REF 919600.1
- Quarzküvetten, 10 mm-Schichtdicke, z. B. REF 919120

17.6 Reagenzien

- Salzsäure, 6 N
- Iso-Octan (2,2,4-Trimethylpentan), spektroskopisch rein (Extinktion gemessen in 1 cm-Küvette bei 275 nm gegen H₂O < 0,005).
- Natriumsulfat, wasserfrei
- Methanol
- Salzsäure, 4 N
- Natriumhydroxid, 6 N, carbonatfrei
- saure Methanollösung: 64 mL Methanol und 36 mL 4 N Salzsäure mischen (täglich frisch herstellen)
- alkalische Methanollösung: 0,2 mL 6 N Natriumhydroxid mit Methanol auf 100 mL auffüllen (täglich frisch herstellen)

17.7 Probenvorbereitung

- Würze oder trübes Bier durch Zentrifugieren bei 3000 Upm während 15 min klären (Probe nicht filtrieren)
- Bier ohne Schaumverlust vom Kohlendioxid befreien

17.8 Durchführung

- 50,0 mL der auf 20 °C temperierten Probe in Zentrifugenglas pipettieren
- 3,0 mL 6 N Salzsäure und 25,0 mL Iso-Octan zugeben
- Zentrifugenglas verschließen und 30 min bei optimaler Mischintensität maschinell schütteln
- zum Trennen der Phasen und Brechen der Emulsion 5 min bei 3000 Upm zentrifugieren
- untere wässrige Phase durch Absaugen mit einer Pipette entfernen zur verbleibenden, meist etwas emulgierten Iso-Octanphase so viel Natriumsulfat zusetzen, dass diese nach kurzem kräftigem manuellem Schütteln klar ist
- davon 10,0 mL in einen 25 mL-Mischzylinder pipettieren
- 10,0 mL saure Methanollösung zugeben und den Inhalt 3 min schütteln
- 5,0 mL der überstehenden klaren Iso-Octanphase in einen 25 mL-Messkolben pipettieren
- mit alkalischer Methanollösung zur Marke auffüllen und Inhalt mischen
- Extinktion der Iso-Octanlösung gegen eine Blindlösung aus 5,0 mL Iso-Octan und 20,0 mL alkalischer Methanollösung bei 255 nm und 360 nm messen

17.9 Messung

Methode 356 aufrufen und messen

17.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.18.2, Seite 116ff

18. Kupfer ZDBT (MEBAK-Methode)

18.1 Hintergrund

Kupfer ist in Spritzmitteln enthalten und kann somit über die Rohstoffe in den Brauereiprozess gelangen. Es findet sich jedoch auch in Apparaten oder Leitungen, die beim Brauen verwendet werden. Schwermetallionen wie Kupfer haben eine negative Auswirkung auf den Geschmack und die kolloidale Stabilität von Bier.

18.2 Methode

Kupfer wird mithilfe von ZDBT in einen Komplex gebunden und mit Trichlorethan extrahiert. Die Messung erfolgt spektralphotometrisch.

18.3 Messbereich

0–3 mg/L Kupfer

18.4 Küvette und Wellenlänge

10 mm Rechteckküvette / 435 nm

18.5 Zubehör

- Zentrifugengläser, 100 mL, mit lösungsmitteldichten Verschlüssen. Spektralphotometer, 435 nm, z. B. REF 919600.1
- n Quarzküvetten, 10 mm-Schichtdicke, z. B. REF 91933

Vor Gebrauch:

- Gläser durch Ausschütteln mit 15 mL H₂O, 3 mL verdünnter Schwefelsäure und 5 mL ZDBT Reagenz kupferfrei machen, Spüllösung verwerfen und Gläser auslaufen lassen.
- Reagenzgläser, ebenso behandelt
- Zentrifuge
- Spektralphotometer, 435 nm
- Küvetten, 10 mm-Schichtdicke

18.6 Reagenzien

- H₂O, kupferfrei (z. B. Ionenaustauscherwasser mit 0,5 %-iger ZDBT Lösung extrahieren)
- Standard-Kupferlösung, 0,01 mg/mL: 3,9295 g Kupfersulfat (CuSO₄ × 5 H₂O)
- Mit H₂O zu 1 L lösen und unmittelbar vor Gebrauch 100-fach verdünnen
- 1,1,1 – Trichlorethan
- Zinkdibenzylthiocarbamat (ZDBT), 0,5 % in Trichlorethan
- Schwefelsäure, verdünnt: 1 Teil konz. Schwefelsäure + 3 Teile H₂O
- Wasserstoffperoxid, 30 %
- Hexanol-1 (Antischaummittel)

18.7 Probenvorbereitung

- Bier entkohlensäuern und Schaum vollständig zusammenfallen lassen

18.8 Durchführung

Blindwert:

- 25 mL dest. H₂O statt Probe nehmen und gleich behandeln wie Hauptwert
- gegen Trichlorethan messen (Blindwert)

Hauptwert:

- 25 mL Bier in Zentrifugenglas pipettieren
- 1 mL H₂O₂ und 3 mL verdünnte Schwefelsäure zugeben
- 30 min in kochendes Wasserbad bringen
- nach Abkühlen 5 oder 10 mL Farbreagenz zufügen
- Glas verschließen und 10 min auf Schüttelmaschine schütteln - 2 min bei 2500 Upm zentrifugieren
- einen Teil der unteren Phase vorsichtig mit Pipette entnehmen und langsam in schräg gehaltenes Reagenzglas einlaufen lassen, um evtl. mitgerissene wässrige Phase an der Wand abzuscheiden
- aus dem Reagenzglas 10 mm-Küvette befüllen und bei 435 nm Extinktion gegen reines Trichlorethan messen (Hauptwert)

Korrekturwert:

- Zur Korrektur von mit Trichlorethan extrahierten absorbierenden Bierinhaltsstoffen das Verfahren mit reinem Trichlorethan (ohne ZDBT) durchführen und gegen Trichlorethan als Referenz messen (Korrekturwert). Hierfür keine mit ZDBT Lösung behandelten Glaswaren verwenden, da sonst durch Verschleppen von ZDBT zu hohe Resultate entstehen.

Zur Ermittlung der Eichkurve:

- in 6 Zentrifugengläser je 25 mL entkohlensäueretes Bier pipettieren
- jeweils 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 und 5,0 mL der verdünnten Kupferstandardlösung hinzufügen (entsprechend 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 und 2,0 mg Kupfer pro Liter Bier)
- 1 mL H₂O₂ und 3 mL verdünnte H₂SO₄ zusetzen und weiter verfahren wie oben beschrieben
- aus dem bekannten Kupfergehalt der Eichlösungen in mg/L dividiert durch die jeweilig ermittelte zugehörige Extinktion (vermindert um den Extinktionswert des Ansatzes ohne Kupferzugabe) Umrechnungsfaktor F ($F = \text{mg Cu}^{2+}/\Delta E$) errechnen oder aus Eichgeraden ermitteln

18.9 Messung und Ergebnis

Methode 3–57 aufrufen und messen

Berechnung des Ergebnisses: $\text{Kupfer (mg/L)} = (\text{EH} - \text{EB} - \text{EK}) * F$

EH = Extinktion des Hauptwertes

EB = Extinktion des Blindwertes

EK = Extinktion des Korrekturwertes

F = Umrechnungsfaktor von Extinktion in mg/L

18.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.29.5, Seite 153ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-37-009/kupfer-cuprethol/2261>

19. Photometrische Iodprobe (MEBAK)

19.1 Hintergrund

Iod wird für den Nachweis von Stärke verwendet. Amylose und Amylopektion sind Bestandteile von Stärke und werden im Brauprozess zu Zuckern und kleineren Polysacchariden abgebaut. Sind noch Helixstrukturen der Stärke vorhanden, lagert sich Iod ein und färbt die Lösung dunkelviolett.

19.2 Methode

Stärke und höhermolekulare Stärkeabbauprodukte werden mit Ethanol ausgefällt und zentrifugiert. Der Rückstand wird in Phosphatpuffer gelöst und anschließend mit Iodlösung versetzt. Die entstehende Färbung wird spektralphotometrisch gemessen.

19.3 Messbereich

0 – 1 Iodwert

19.4 Küvette und Wellenlänge

40 mm Rechteckküvette / 578 nm

19.5 Zubehör

- Zentrifuge
- Zentrifugengläser mit Schliffstopfen, 100 – 110 mL Inhalt
- Schüttelmaschine
- Pipetten, 0,5 mL, 2 mL, 10 mL, 20 mL, 40 mL
- Spektralphotometer, 578 nm, z. B. REF 919600.1
- 40 mm Rechteckküvette OS
- „Plumper“ oder Kunststoffspatel

19.6 Reagenzien

- Ethanol, 95 %
- Iodlösung, 1N (Stammlösung)

19.7 Durchführung

- Iodlösung, 0,02 N (täglich neu aus der Stammlösung herstellen)
- Phosphatpufferlösung, 0,1 M, pH 3,5: 0,1M KH₂PO₄-Lösung mit
- 0,1 M Phosphorsäure auf pH 3,5 einstellen

Blindwert:

- 10 mL Phosphatpufferlösung und 0,5 mL 0,02 N Jodlösung in 40 mm Rechteckküvette pipettieren und mischen
- Extinktion bei 578 nm gegen Phosphatpufferlösung messen (EI)

Hauptwert:

- 10,0 mL zentrifugierte Würze oder von Kohlendioxid befreites Bier in Zentrifugenglas pipettieren
- 40,0 mL Ethanol zugeben und 10 min maschinell schütteln
- 5 min bei 2500 Upm zentrifugieren
- Vorsichtig und möglichst vollständig die klare Phase abdekantieren
- Rückstand mit 20,0 mL Phosphatpufferlösung durch 10 min maschinelles Schütteln lösen
- Lösung 5 min bei 2500 Upm zentrifugieren
- 2 mL des Überstandes und 8 mL Phosphatpufferlösung in 40 mm Rechteckküvette pipettieren und bei 578 nm gegen Phosphatpufferlösung messen (EZ)
- 0,5 mL 0,02 N Iodlösung zugeben, Inhalt mit dem „Plumper“ sofort mischen, nach 30 sek messen (EH)

19.8 Messung und Ergebnis

Methode 3 – 58 aufrufen und messen

Berechnung des Ergebnisses: $(EH - EI - 0,952 * EZ) * 5$

EH = Extinktion der Messlösung aus dem Hauptversuch

EI = Extinktion der Iodlösung (Blindversuch)

EZ = Extinktion des Zentrifugationsüberstandes

0,952 = Volumenänderungsfaktor (10,0 mL → 10,5 mL)

5 = Verdünnungsfaktor (2 + 8 Teile)

19.9 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.3.2, Seite 34ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-04-110/photometrische-iodprobe/645>

20. Gesamt Kohlenhydrate in Bier (MEBAK)

20.1 Hintergrund

Mengenmäßig haben Kohlenhydrate den größten Anteil als Nährstoff in Bier.

20.2 Methode

Die Probe wird hydrolysiert und dehydriert und reagiert anschließend mit Anthron. Die entstehende Färbung wird mit einem Spektralphotometer gemessen.

20.3 Messbereich

0–5 g/L Kohlenhydrat

20.4 Küvette und Wellenlängen

10 mm Rechteckküvette / 625 nm

20.5 Zubehör

- Reagenzgläser mit Schliffstopfen (20 × 150 mm)
- Wasserbad, 95 °C ± 0,5 °C
- Kältebad
- Spektralphotometer, 625 nm, z. B. REF 919600.1
- Glasküvetten, 10 mm-Schichtdicke, z. B. REF 91933

20.6 Reagenzien

- Schwefelsäure, 85 vol %: Zu 150 mL H₂O vorsichtig und unter Kühlen 850 mL konz. H₂SO₄, d = 1,84 g/mL, geben und nach vollständiger Abkühlung auf Zimmertemperatur und Mischen mit H₂O auf 1 L einstellen
- Anthronreagenz: 1 g Anthron (Merck 101468) in 85 % H₂SO₄ lösen und mit der Säure auf 1 L auffüllen. Frisch bereiten.
- *D*-Glucose-Standard: Reine wasserfreie *D*-Glucose bei vermindertem Druck im Vakuumtrockenschrank 4 h bei 100 °C und 100 mbar trocknen.
- *D*-Glucose-Stammlösung: 0,4 g *D*-Glucose wasserfrei in H₂O lösen und auf 1 L auffüllen.
- *D*-Glucose-Standardlösung: 10 mL Stammlösung mit H₂O auf 100 mL verdünnen. Frisch bereiten.

20.7 Probenvorbereitung

- Bier entkohlensäuern, Schaum zusammenfallen lassen - 2 mL Bier mit H₂O
- auf 500 mL verdünnen

20.8 Durchführung

- 2 mL Bier mit H₂O auf 500 mL verdünnen
- 3 mL verdünntes Bier in Reagenzglas pipettieren, auf 2–4 °C abkühlen
- 10 mL gekühltes (2–4 °C) Anthronreagenz zufügen und unter Abkühlen gut mischen
- Gläser für genau 20 min in Wasserbad 95 ± 0,5 °C bringen - rasch auf 20 °C abkühlen
- Extinktion bei 625 nm gegen gleichermaßen behandelten Blindwert, bei dem anstelle der verdünnten Bierprobe 3 mL H₂O angewandt werden, messen (EP)
- bei jeder Analysenserie 3 Glucose-Standardlösungen mitlaufen lassen, wobei anstelle der verdünnten Bierprobe jeweils 3 mL Glucose-Standardlösung eingesetzt und gleichermaßen behandelt werden (ES)

20.9 Messung und Berechnung

Methode 3–59 aufrufen und messen

Berechnung des Ergebnisses: Gesamtkohlendydrate g/100 mL = EP : ES

EP = Extinktion der Probe (gegen Blindwert gemessen)

ES = Mittelwert der Extinktionswerte der Glucose-Standardlösungen (gegen Blindwert gemessen)

20.10 Literatur

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 2.11, Seite 85ff

21. Hop Storage Index (HSI) von Doldenhopfen und Hopfenprodukten (MEBAK-Methode)

21.1 Hintergrund

Hopfen und Hopfenprodukte sind je nach Umwelt- und Lagereinflüssen Alterungsprozessen unterworfen. Um die Frische von Hopfenprodukten zu beurteilen, werden Analysemethoden benötigt, die Alterungskomponenten erfassen. Bei frischen Hopfen liegt der HSI üblicherweise unter 0,40. Er kann aber auch unter normalen Bedingungen bereits erntefrisch darüberliegen. Bei der Beurteilung von Hopfen und Hopfenpellets erlaubt der HSI allein keine qualitative Aussage über die Art der Veränderung. Eine HSI-Zunahme (Delta-HSI) kann jedoch als Merkmal der natürlichen Veränderung während der Lagerung dienen.

21.2 Methode

Messung des Absorptionsverhältnisses bei 275 nm bis 325 nm des Hopfenextrakts in einer alkalischen Methanollösung.

21.3 Messbereich

0,25 – 0,51 HSI

21.4 Küvetten und Wellenlänge

10-mm-Messküvette / 275 nm und 325 nm

21.5 Zubehör

- Waage, Genauigkeit 0,05 g
- Glasflaschen, 250 mL, mit lösungsmitteldichtem Schraubverschluss
- Messkolben, 10, 25, 50, 100, 500 mL
- Pipetten, 1, 2, 5, 100 mL (nur Vollpipetten aus Glas nutzen!)
- Schüttelmaschine
- Zentrifuge (optional)
- Spektralphotometer (UV), z.B. REF 919600.1
- 10 mm Rechteckküvette QS, z.B. REF 919120

21.6 Reagenzien

- Methanol (Extinktion bei 275 nm in 10 mm Rechteckküvette gegen H₂O kleiner als 0,060)
- bidestilliertes Wasser
- Natronlauge, 6 N
- Alkalisches Methanol (1 mL 6 N Natronlauge in 500 mL Methanol; täglich frisch ansetzen)
- Toluol (Extinktion bei 275 nm in 10 mm Rechteckküvette gegen H₂O kleiner als 0,800 nach Verdünnung mit alkalischem Methanol im Verhältnis 1:100)

21.7 Probenvorbereitung

- Entsprechende Menge Doldenhopfen oder Hopfenprodukt mit der Hammermühle unter Einsatz eines Siebes mit runden Löchern zerkleinern
- Das im Inneren der Mühle haftende Hopfenpulver sorgfältig auspinseln und quantitativ dem Mahlgut zugeben
- Es ist stets das gesamte verfügbare Mahlgut zu teilen
- Becher in MEBAK-Probenteiler im Gegenuhrzeigersinn einsetzen
- Verstaubungsschutzring aufsetzen und richtigen Sitz der Becher kontrollieren
- Gerät einschalten und Hopfenpulver langsam in den Trichter geben
- Wurden 80 g Hopfen eingesetzt, resultieren nach der Probenteilung Becherinhalte von ca. 10 g, die komplett für die nachfolgende Analyse zu verwenden sind.

21.8 Durchführung

- 5 g Hopfenpulver oder vermahlene Hopfenpellets auf 0,05 g genau in 250-mL-Glasflasche einwiegen
- 100 mL Toluol zugeben
- Glasflasche fest verschließen und während 30 min kräftig schütteln (z.B. bei 240 U/min)
- 5 min bei 1.000 g zentrifugieren oder sedimentieren lassen, bis sich die Feststoffe so weit abgesetzt haben, dass ein klares Aliquot entnommen werden kann. Dies sollte nicht länger als 1 Stunde dauern.
- 5 mL geklärte Lösung mit 100 mL Methanol verdünnen
- Anschließend geeignete Menge dieser Lösung mit alkalischem Methanol weiter verdünnen (Extinktion bei 325 nm soll in linearem Messbereich liegen)
- Messen der Extinktionen bei 325 und 275 nm gegen in gleicher Weise wie die Probe verdünntes Toluol (rasch messen, Einfluss von UV-Licht vermeiden)

21.9 Messung

Methode 3–61 aufrufen und messen

21.10 Literatur

<https://www.mebak.org/methode/r-300-12-110/hop-storage-index-hsi-von-doldenhopfen-und-hopfenprodukten/2069>

22. Kontakt



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Wenn Sie noch Fragen haben oder technische Hilfe benötigen, wenden Sie sich bitte an:

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland

Tel: +49 24 21 969-333

e-mail: support@mn-net.com

www.mn-net.com

1. α-acids (MEBAK-method)

1.1 Background

When beer is brewed, iso-alpha acids are formed from the initially insoluble alpha acids in the hops during boiling, which give the beer bitterness – a process called isomerization. The bitterness units (BU) in beer are derived from the alpha acid content and influence the taste, durability of the froth and have bacteriostatic properties.

1.2 Method

The bitter substances are extracted from an acidified sample using iso-octane. Interferences can be removed by rinsing the extract with acidic methanol. The concentration is then determined spectrophotometrically

1.3 Measuring range

0–60 mg/L α-acids

1.4 Cuvette and wavelenght

10 mm rectangular cuvette / 360 nm

1.5 Accessoires

- Centrifuge tubes with solvent-tight screw cap, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Centrifuge, 3000 rpm
- Spectrophotometer, 360 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes QS, e.g. REF 91933

1.6 Reagents

- Hydrochloric acid, 6N
- Iso-octane (2,2,4-Trimethylpentan), spectroscopically pure
- Sodium sulphate, anhydrous
- Methanol
- Hydrochloric acid, 4N
- Sodium hydroxide, 6N, carbonate-free
- Acidic methanol solution: mix 64 mL methanol and 36 mL 4N hydrochloric acid (prepare daily)
- Alkaline methanol solution: make up 0.2 mL 6N sodium hydroxide with methanol to 100 mL (prepare daily)

1.7 Sample preparation

- Clarify wort or cloudy beer by centrifuging at 3000 rpm for 15 min (do not filter)
- Remove carbon dioxide from wort or beer without loss of foam.

1.8 Procedure

Blank preparation:

- 5 mL iso-octane into a 25 mL volumetric flask
- Fill up to the mark with alkaline methanol solution and mix

Main value:

- Pipette 50 mL of the sample tempered to 20 °C into a centrifuge tube
- Add 3.0 mL of 6N hydrochloric acid and 25 mL of iso-octane
- Close the centrifuge tube and shake mechanically for 30 min at optimum mixing intensity
- Centrifuge for 5 min at 3000 rpm to separate the phases and break the emulsion
- remove the lower aqueous phase by aspiration with a pipette and discard. Add enough sodium sulphate to the iso-octane phase so that it is clear after brief vigorous shaking
- Pipette 10 mL of the iso-octane phase into a 25 mL mixing cylinder
- Add 10 mL of acidic methanol solution, mix the contents by rotating the cylinder 100 times
- Pipette 5 mL of the supernatant clear iso-octane phase into a 25 mL volumetric flask
- Fill up to the mark with alkaline methanol solution and mix
- Measure the absorbance of the iso-octane solution against the blank at 360 nm

1.9 Measurement

Call up and measure method 3–40

1.10 Literature

Brautechnische Analysemethoden, volume II, 4. edition, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, chapter 2.18.2, page 116ff

2. Anthocyanogens acc. to Harris and Ricketts

2.1 Background

Anthocyanogens are phenolic compounds that enter the beer from hops and malt depending on the processing. This can lead to changes in the color, taste (stability), foam or chemical-physical stability of the beer. Polymerization or condensation can lead to undesirable by-products (e.g. proteins).

2.2 Method

First, the anthocyanogens are adsorbed onto polyamide. The resulting adsorbate is dissolved in a butanol-hydrochloric acid solution and heated to produce a red solution, which is then measured spectrophotometrically.

2.3 Measuring range

1 – 100 mg/L Anthocyanogens

2.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 550 nm

2.5 Accessories

- Shaking machine
- Centrifuge
- Mixing cylinder with ground-glass stopper, 50 mL
- Frit 1 G4
- Suction flask
- Test tubes with ground-glass stopper, 30 mL, graduation up to 25 mL
- Vacuum pump
- Spectrophotometer, 550 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes OS, e.g. REF 91933

2.6 Reagents

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

2.7 Sample preparation

- Wort and centrifuge green beers for 10 min at 3000 rpm

2.8 Procedure

Blank preparation:

- Pipette 10 mL dist. water (blank value) into a 50 mL mixing cylinder
- Treat blank as main sample from step 2.

Main value

- 5 mL beer (or wort) + 5 mL distilled water into a 50 mL mixing cylinder
- Rinse each 0.5 g polyamide powder with 10 mL distilled water into the mixing cylinder
- Shake the mixing cylinder mechanically for 40 minutes
- Filter each suspension through a 1 G4 frit and rinse twice with approx. 20 mL H₂O
- Suck the frits and polyamide powder dry, transfer the residue quantitatively into a test tube using a spatula and rinse with 15 mL of solution 1
- Add 0.5 mL of solution 2 to each and heat the test tube in a boiling water bath for 30 min (stir well with a glass rod during the first 5 min)
- Remove the glass rod, rinse with a little solution 1, temper the test tube to 20 °C, and fill up to 25 mL with solution 1.

2.9 Measurement

Call up and measure method 3–41

2.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.17.2, page 109ff

https://www.mebak.org/methode/b-590_42_111/anthocyanogenic-method-harris-and-ricketts/843

3. Beer color, photometric (MEBAK method)

3.1 Background

The color of the beer is also a quality feature that is checked during the brewing process. Pale beers have a low EBC value, dark beers have a higher value.

3.2 Method

The absorbance of the sample is measured at 430 nm and converted using a specified factor.

3.3 Measuring range

1 – 60 EBC units

3.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 430 nm

3.5 Accessories

- Spectrophotometer, 430 nm (± 0.5 nm), e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes OS, e.g. REF 91933

3.6 Interferences

A spectrometric absorption curve does not reflect the color impression of the human eye, as light of the same intensity in different parts of the spectrum affects the eye differently. In addition, the absorbance curves at 430 nm are very steep, so that slight measurement errors can occur. There are also differences when comparing light-colored beers with diluted dark beers.

3.7 Sample preparation and procedure

- Dilute the sample so that the absorbance is within the linearity of the spectrophotometer
- Filter the sample through a membrane filter. Filtration can be omitted if the turbidity of the diluted sample is below 1 EBC turbidity unit.
- If necessary, clarify the sample by adding 0.1 % diatomaceous earth and filtering upstream of the membrane filtration.
- Transfer the sample to a 10 mm rectangular cell and measure against dist. Water (blank value).

3.8 Measurement

Call up and measure method 3 – 42

3.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.13.2, page 88ff

4. Bitterness units in wort (MEBAK method)

4.1 Background

The predominant bitter compounds in wort and beer are the so-called iso- α -acids. In wort, β - and δ -acids can also be detected. There are also oxidation products of hop bitterness, which also contribute to the bitter taste.

4.2 Method

The sample is acidified and then extracted with iso-octane. The bitter substances extracted in the iso-octane extract are measured spectrophotometrically.

4.3 Measuring range

20–60 BU

4.4 Cuvette and wavelengths

10 mm rectangular cuvette / 275 nm

4.5 Accessories

- Centrifuge tubes with solvent-tight caps, 35 mL
- Glass beads
- Shaking machine
- Centrifuge, 3000 rpm
- Spectrophotometer, 275 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvette QS, e.g. REF 919120

4.6 Reagents

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

4.7 Sample preparation

- Clarify wort by centrifuging at 3000 rpm for 15 min (do not filter the sample)
- Remove carbon dioxide from the sample without loss of foam

4.8 Procedure

- Pipette 10 mL (or 5 mL wort + 5 mL distilled H₂O) of the sample tempered to 20 °C into a centrifuge tube
- Add 0.5 mL 6N hydrochloric acid, 20 mL iso-octane and 3 glass beads
- Close the centrifuge tube and shake mechanically for 15 min at 20 °C
- Centrifuge for 3 min at 3000 rpm to separate the phases and break the emulsion
- Measure the absorbance of the iso-octane extract in a 10 mm rectangular cuvette at 275 nm against iso-octane of the same quality (blank value)

4.9 Measurement

Call up and measure method 3–43

4.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.18.1, page 114ff

5. Bitterness units in beer (REF 918172)

5.1 Background

(See 4.1)

5.2 Method

(See 4.2)

5.3 Measuring range

2.0–80.0 BE

5.4 Cuvette and wavelengths

10 mm rectangular cuvette / 275 nm

5.5 Accessories

- Spectrophotometer, 275 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes QS, e.g. REF 919120
- pipette

5.6 Reagents

- Reagents from the test box

5.7 Procedure

- Pipette a portion of the iso-octane (upper phase) into the rectangular cuvette. Zero the photometer. Pipette back the iso-octane.
- Add 1 mL sample via the inner wall of the cuvette. Shake vigorously for 20 seconds, wait 1 min for phase separation.
- Pipette 2.5 mL of the iso-octane phase into the rectangular cuvette and measure.

5.8 Measurement

Call up and measure method 1 – 72

5.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.18.1, page 114ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-17-110/bittereinheiten/663>

6. Total carotenoids fraction 1 – 4 (MEBAK method)

6.1 Background

Carotenoids are plant color pigments that occur in many fruits and are responsible for their yellow to reddish color. In the human body, carotenoids are converted into vitamin A, among other things. The concentration of carotenoids is detected in drinks such as vitamin juices.

6.2 Method

The sample is mixed with Carrez solution and then extracted with acetone and petroleum ether. Measurements are made with a spectrophotometer.

6.3 Measuring range

0.1 – 8.0 mg/L carotenoids

6.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 450 nm

6.5 Accessories

- Centrifuge tubes, 60 to 100 mL capacity
- Centrifuge
- Shaking funnel, 200 mL
- Round bottom flask, 250 mL
- Chromatography column: H = 25 – 30 cm, I. D. = 2 cm
- Rotary evaporator
- Photometer, wavelength 450 nm, e.g. REF 919600.1
- Glass cuvettes, 10 mm, e.g. REF 91933

6.6 Reagents

- Carrez I solution: aqueous potassium ferricyanide(II) solution, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$, 150 g/L
- Carrez-II solution: aqueous zinc sulphate solution, $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$, 300 g/L acetone pur.
- Petroleum ether pure, boiling range 40 – 60 °C
- Sodium sulphate anhydrous, pure.
- Toluene p. a.
- Elution mixture A: Petroleum ether + toluene = 4 parts + 1 part
- Elution mixture B: Petroleum ether + toluene = 2 parts + 1 part
- Aluminum oxide 90 active, neutral (Merck No.: 101077), partially deactivated:
- Add 12 g H_2O to 100 g Al_2O_3 and shake until all lumps have disintegrated (keep sealed).

6.7 Sample preparation and procedure

A: Determination of total carotenoids

- Homogenize the beverage by shaking vigorously - Dilute concentrates to juice strength
- Pipette 5 to 50 mL of the beverage into the centrifuge tube, depending on the test material
- if necessary, add water to 50 mL
- add 1 mL each of Carrez I and Carrez II solution
- Mix the solution well with a glass rod and centrifuge after standing for approx. 2 minutes (approx. 5 min)
- Select the amount of test material used so that the extraction of the petroleum ether extract made up to 100 mL does not exceed 0.5 units (for example: Orange juice: 25 mL; orange nectar: 50 mL; passion fruit juice: 5 to 20 mL; passion fruit nectar: 25 mL; tangerine juice: 20 mL).
- Discard the supernatant, only weakly colored to colorless liquid after carefully decanting off the precipitate
- Extract the adsorbed carotenoids from the precipitate with 40 mL acetone. To do this, first swirl the precipitate together with the acetone vigorously with a glass rod and then centrifuge again for about 3 min (about 5 min) and pour the now bright yellow colored acetone into a shaking funnel into which 50 mL (measuring cylinder) of petroleum ether has previously been added
- Shake vigorously and separate the separating water phase (approx. 10 mL) from the organic phase after allowing it to stand for a short time
- Extract the precipitate treated with the acetone again with approx. 20 mL acetone in the manner described above to remove any carotenoids still adhering to it.
- after centrifugation, add this second extraction by carefully decanting the organic phase in the shaking funnel
- wash the organic phase with 50 mL H₂O by shaking briefly
- discard the water phase after the small emulsion has formed again
- For drying, place the carotenoid-containing petroleum ether phase in a centrifuge tube into which 2 g anhydrous sodium sulphate has previously been weighed.
- stir briefly with a glass rod and centrifuge
- carefully rinse the petroleum ether phase into a 100 mL volumetric flask
- Add approx. 30 mL of petroleum ether to the sodium sulphate precipitate adhering to the centrifuge tube to remove any carotenoids still adhering and centrifuge with a glass rod after stirring.
- combine this weakly colored petroleum ether with the first fraction and fill the volumetric flask to the mark with petroleum ether
- Measure the petroleum ether extract at 450 nm in 10 mm cuvettes against petroleum ether

B: Determination of the individual carotenoid fractions

Preparation of the chromatography column

- Slurry 28–30 g partially deactivated aluminum oxide in a beaker with approx. 30 mL petroleum ether
- Fill the chromatography column charged with a little petroleum ether and stuffed with a little glass wool and drain the petroleum ether to just above the aluminum oxide
- Make sure that the petroleum ether and the aluminum oxide do not exhibit any major temperature differences in order to ensure bubble-free filling of the column. The filling height should be 8 cm.

Fractionation of the carotenoids

- The petroleum ether extract obtained from the determination of the total carotenoids
- quantitatively into a 250 mL round bottom flask and evaporate petroleum ether on the rotary evaporator
- at about 40 °C in a vacuum
- Take up the residue immediately in a few milliliters of petroleum ether and transfer to the chromatography column using a pipette (e.g. Eppendorf).
- rinse with small portions (approx. 10 mL in total) of petroleum ether
- Avoid swirling up the aluminum oxide when adding the sample solution,
- allow to soak in straight
- Elute at an elution rate of about 2 drops per second
- Elute 4 fractions and collect them separately in an appropriate volumetric flask:

Fraction I (so-called carotene fraction): Petroleum ether

Fraction II (so-called cryptoxanthin ester fraction): Elution mixture A

Fraction III (so-called xanthophyll ester fraction): Elution mixture B

Fraction IV (apocarotene and others): Acetone

- Measure fractions against petroleum ether at 450 nm

6.8 Measurement

Call up and measure method 3 – 45

6.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 3.7.2.1, page 276ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-46-110/gesamtcarotin-photometrisch/851>

7. Total carotenoids in carrot juice (MEBAK method)

7.1 Background

Carotenoids are plant color pigments that occur in many fruits and are responsible for their yellow to reddish color. In the human body, carotenoids are converted into vitamin A, among other things. The concentration of carotenoids is detected in drinks such as vitamin juices.

7.2 Method

The carotenoids are extracted from the sample and the extract solution is washed several times. The spectrophotometric measurement then takes place.

7.3 Measuring range

0.1 – 8.0 mg/L carotenoids

7.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 450 nm

7.5 Accessories

- Separating funnel 250 mL, amber glass
- 50 mL volumetric flask, amber glass
- 100 mL volumetric flask, amber glass
- 20 mL volumetric flask
- 50 mL volumetric flask
- Spectrophotometer, wavelength 450 nm, e.g. REF 919600.1
- Glass cuvettes, 1 cm path length, e.g. REF 91933

7.6 Reagents

- Acetone, p.a.
- *n*-hexane, p.a.
- Methanol, p.a.
- Extraction solution: acetone/*n*-hexane (50:50, v/v)
- NaCl solution, 10 %
- Sodium sulphate, anhydrous, p.a.

7.7 Procedure

- Pipette 10 mL of homogenized sample into a 50 mL volumetric flask and fill with H₂O
- (for ACE beverages: 10 mL in 20 mL volumetric flask)
- Add 5 mL of the diluted sample with 50 mL extraction solution to the separating funnel and shake
- Add 100 mL NaCl solution, shake, wait for phase separation and discard the usually not completely clear water phase
- if the aqueous phase is still clearly yellow in color, add 50 mL methanol to the sample solution, shake, add another 50 mL extraction solution and proceed as described above
- Wash the carotenoid-containing organic phase twice with 50 mL NaCl solution each time
- Place the organic phase in a beaker with 2–3 g Na₂SO₄, stir briefly and decant the hexane phase into a 100 mL volumetric flask (for ACE beverages: 50 mL volumetric flask)
- Wash carotenoids adhering to the Na₂SO₄ several times with 5 mL hexane until almost colorless (usually three times is sufficient), decant hexane each time and add to the sample, make up to the mark with hexane
- measure in 10 mm cuvettes loaded with 1 g Na₂SO₄ at 450 nm against *n*-hexane as soon as the salt has sunk

7.8 Measurement

Call up and measure method 3–46

7.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 3.7.2.2, page 280ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-46-110/gesamtcarotin-photometrisch/851>

8. Total polyphenols (MEBAK method)

8.1 Background

Depending on the processing, phenolic compounds from hops and malt enter the beer, which can lead to changes in the color, taste (stability), foam or chemical-physical stability of the beer. Polymerization or condensation can lead to undesirable by-products (e.g. proteins).

8.2 Method

Polyphenols react in an alkaline environment with iron(III) ions to form colored complexes. The concentration is measured spectrophotometrically.

8.3 Measuring range

1 – 800 mg/L Polyphenols

8.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 600 nm

8.5 Accessories

- Centrifuge
- Spectrophotometer, 600 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvette OS, e.g. REF 91933

8.6 Reagents

- Carboxymethylcellulose-ethylenediaminetetraacetic acid solution (CMC-EDTANa):
 - c. Weigh in 10 g CMC (low viscosity) and 2 g EDTA-Na₂
 - d. Dissolve the substances in approx. 500 mL H₂O while stirring. solution with H₂O to 1 L, if necessary, clarify by centrifugation.
- Ammonium iron(III) citrate, 3.5 %:
 - c. Dissolve 3.5 g ammonium iron(III) citrate, green (16 % Fe) in H₂O to 100 mL; the solution must be completely clear and can be kept for about 1 week
 - d. Ammonia, diluted:
Dilute 1 part concentrated ammonia (d = 0.91) with 2 parts H₂O

8.7 Sample preparation

- Remove carbon dioxide from beer by shaking
- Clarify cloudy wort or beers by centrifugation

8.8 Procedure

Blank value preparation:

- Dose 10 mL sample (remove carbon dioxide from beer by shaking cloudy wort or clarify beer by centrifuging) into a 25 mL volumetric flask
- Add 8 mL CMC-EDTA solution and mix well
- Add 0.5 mL diluted ammonia solution and mix well
- Top up with H₂O to 25 mL and mix again.

Main Value:

- Mix well 10 mL test sample + 8 mL CMC-EDTA solution in
- a 25 mL volumetric flask
- Add 0.5 mL iron(III) solution and mix well again
- Add 0.5 mL diluted ammonia solution, mix thoroughly
- Fill up to 25 mL with H₂O and mix
- after 10 min measure absorbance in 10 mm rectangular cuvette at 600 nm against blank sample

Note:

- Always mix the solutions well after adding the individual reagents

8.9 Measurement

Call up and measure method 3–47

8.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.17.1, page 107ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-42-111/anthocyanogene-methode-harris-und-ricketts/843>

9. Copper Cuprethol (MEBAK method)

9.1 Background

Copper is contained in spraying agents and can therefore enter the brewing process via the raw materials. However, it is also found in equipment or pipes used in the brewing process. Heavy metal ions such as copper have a negative effect on the taste and colloidal stability of beer.

9.2 Method

The copper forms a color complex with diethanolamine and carbon disulfide. This is measured spectrophotometrically.

9.3 Measuring range

0.10–5.00 mg/L Cu

9.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 445 nm

9.5 Accessories

- Spectrophotometer, 445 nm, e.g. REF 919600.1
- Cuvettes, 10 mm pathlength, e.g. REF 91933

9.6 Reagents

- Solution 1: Dissolve 4 g diethanolamine in 200 mL methanol (stable)
- Solution 2: Dissolve 1 g carbon disulphide in 200 mL methanol (stable)
- Solution 3: Mix 1 part by volume of methanol with 1 part by volume of solution 1 (stable)
- Solution 4: (cuprethol reagent): mix 3 parts by volume of solution 1 with 1 part by volume of solution 2
- Solution 2 (prepare this solution fresh every day)
- Acetate buffer, pH 4.6: Dissolve 105 g sodium acetate ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} - 3 \text{H}_2\text{O}$) in approx. 800 mL H_2O , add 65 mL concentrated acetic acid and make up to 1 L with H_2O

9.7 Sample preparation

- 50 mL of beer free of carbon dioxide (allow beer foam to collapse)
- Pipette into 100 mL conical flask
- Add 25 mL acetate buffer and mix

9.8 Procedure

Blank preparation:

- Pipette 20 mL of the buffered beer solution into a 50 mL Erlenmeyer flask
- Add 2 mL of solution 3 and mix

Main value:

- Pipette 20 mL of the buffered beer solution into a 50 mL conical flask
- Add 2 mL of solution 4 and mix
- Measurement must be carried out within 10 min after addition of solution 4 in a 10 mm rectangular cuvette (against the blank value)

9.9 Measurement

Call up and measure method 3–48

9.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.29.4, page 152ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-37-009/kupfer-cuprethol/2261>

10. Nickel (MEBAK-method)

10.1 Background

Like copper and other heavy metals, nickel impairs the colloidal stability of beer as well as the foam stability. Nickel gets into the beer via beer foam stabilizers or contact with stainless steel.

10.2 Method

The sample is extracted and then mixed with dimethylglyoxime to form a colored complex. The measurement is carried out spectrophotometrically.

10.3 Measuring range

0.03–5.00 mg/L Ni

10.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 530 nm

10.5 Accessories

- Spectrophotometer, 530 nm, e.g. REF 919600.1
- Cells, 10 mm path length, e.g. REF 91933
- Kjeldahl flask
- Separating funnel, 125 mL

10.6 Reagents

- Nitric acid, 65 % (d = 1.40)
- Perchloric acid, 70 % (d = 1.67)
- Hydroxylamine hydrochloride, 10 %
- Sodium citrate, 20 %: dissolve 20 g trisodium citrate-2-hydrate with H₂O to 100 mL
- Ammonia, 25 % (d = 0.91)
- Dimethylglyoxime, 1 % in ethanol
- chloroform
- Ammonia, diluted: Dilute 1 part 25 % ammonia with 49 parts H₂O
- Hydrochloric acid, 0.33 N
- Sodium tartrate, 20 %: dissolve 20 g sodium tartrate-2-hydrate with H₂O to 100 mL
- Potassium peroxodisulphate, 4 %
- Sodium hydroxide solution, 5 N
- Dimethylglyoxime: dissolve 1 g dimethylglyoxime in 5 mL 5 N sodium hydroxide solution and mix with H₂O to 100 mL
- Phenolphthalein, 1 % in ethanol

10.7 Sample preparation

- Condense 100 mL beer in a Kjeldahl flask to a large extent
- evaporate three times with 65 % nitric acid
- then evaporate twice with 70 % perchloric acid to destroy all organic substances
- Transfer the residue to a 125 mL separating funnel

10.8 Procedure

Blank value:

- 15 mL 0.33 N hydrochloric acid, 2 mL sodium tartate, 10 mL potassium peroxy-disulphate, 0.6 mL dimethylglyoxime sodium hydroxide solution and 2.5 mL 5 N sodium hydroxide solution in a 50 mL volumetric flask with distilled water. Fill up to the mark with distilled water.

Main value:

- Residue from preparation Add 2 mL hydroxylamine hydrochloride solution, 5 mL sodium citrate solution and 3 drops of phenolphthalein
- add 25 % ammonia until a pink coloration appears
- add a further 4 drops of ammonia and 2 mL of alcoholic dimethylglyoxime solution
- Bring to approx. 60 mL with H₂O
- Shake out three times with 5 mL chloroform for 30 seconds each time (any interfering copper compounds can be removed from the chloroform extract by shaking for one minute with 5 mL diluted ammonia solution (1 + 49)).
- Extract the chloroform phase with 10 mL of 0.33 N hydrochloric acid for 1 min.
- Extract again with 5 mL 0.33 N hydrochloric acid (nickel passes into the hydrochloric acid solution, making sure that no chloroform residue remains in the combined hydrochloric acid extracts)
- Collect the hydrochloric acid extracts in a 50 mL volumetric flask, add 2 mL sodium tartrate solution, 10 mL potassium peroxodisulphate solution, 0.6 mL dimethylglyoxime sodium hydroxide solution and 2.5 mL 5 N sodium hydroxide solution
- Make up to 50 mL with H₂O and leave to stand for at least 30 min (but no longer than 2 h)
- Measure the absorbance of the color solution in a 10 mm cuvette at 530 nm against the blank value

10.9 Measurement

Call up and measure method 3–49

10.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.29.6, page 156ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-72-111/nickel-ni-spektralphotometrisch/3212>

11. Thiobarbituric acid index (MEBAK method)

11.1 Background

The thiobarbituric acid index provides information on the thermal stress of malt and wort. During malt and wort preparation, increased thermal stress occurs at least twice, which can jeopardize aroma stability.

11.2 Method

Thiobarbituric acid is added to the sample and the resulting yellow coloration is measured spectrophotometrically.

11.3 Measuring range

1 – 100 TBI

11.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette OS / 448 nm

11.5 Accessories

- Water bath, 70 °C
- Brown reaction tubes with ground joint, 20 mL or 25 mL
- Spectrophotometer, 448 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes OS, e.g. REF 91933

11.6 Reagents

- Acetic acid, 90 %:
Dilute 225 g acetic acid 100 % (glacial acetic acid) with H₂O to 250 g.
- Thiobarbituric acid, 0.02 mol/L:
Dissolve 0.288 g 2-thiobarbituric acid (M = 144.15 g/mol) in 100 mL volumetric flask with 90 % acetic acid while heating in a water bath and, after cooling to 20 °C, make up to the mark with 90 % acetic acid. Prepare fresh daily.
- Diatomaceous earth

11.7 Sample preparation

- Clarify turbid test solutions by filtration over diatomaceous earth.

Dilution

- Dilute condiments and beers 10-fold with H₂O
- Dilute condiments 5-fold with H₂O

Blank value

- Add 5 mL of 90 % acetic acid to 10 mL of the diluted sample, shake and proceed as for the main value.

11.8 Procedure

Main value:

- Add 5 mL of thiobarbituric acid to 10 mL of the diluted sample and shake.
- Place in a water bath at 70 °C for 70 min (avoid direct sunlight, make sure that the temperature in the bath only drops by 1 – 2 °C for a short time when adjusting the test tubes).
- After the reaction time has elapsed, quickly cool the test tubes down to 20 °C (strong running cold water or cold bath).
- Measure the yellow coloration immediately in 10 mm rectangular cuvettes at 448 nm against H₂O.

Note

- Follow the analysis instructions exactly, as they are of an empirical nature.

11.9 Measurement and result

- Method 3 - Call up 50 and measure
- Calculate the result: $TBI = (EH - EL) * F$
- EH = Absorbance of the main value
- EL = Absorbance of the blank value
- F = Dilution factor

11.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5-4, Chapter 2.4, page 35ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-05-111/thiobarbitursaeurezahl-tbz/646>

12. Vicinal diketones (REF 985010)

12.1 Background

Diacetyl (= 2,3-butanedione) is formed by oxidative decarboxylation of intermediate products during the primary fermentation of yeast. A concentration above 0.10 mg/L leads to a bad taste in beer.

12.2 Method

Diacetyl (and derivatives) react to form a quinoxaline derivative. The analysis is carried out spectrophotometrically at 335 nm.

12.3 Measuring range

0.015–0.600 mg/kg diacetyl

12.4 Cuvette and wavelength

Round cuvette / 335 nm

12.5 Accessories

- Accessories for steam distillation (see special instructions)
- Piston pipette for 4 mL and suitable pipette tip
- Spectrophotometer, 335 nm, e.g. REF 919600.1

12.6 Reagents

- Anti-foam emulsion (free of diketones)
- Reagents from the test box

12.7 Sample preparation

Steam distillation necessary, see special instructions

12.8 Procedure

Blind value:

- Pipette 4 mL sample into the cuvette
- Shake vigorously and zero the photometer

Main Value:

- After measuring the blank value, add 1 *NANOFIX*[®] to the solution
- Shake vigorously
- Wait 5 min and then measure

12.9 Measurement

Call up and measure method 0–10

12.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.23, page 134ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-21-111/vicinale-diketone-photometrisch/731>

13. Cyclamate (MEBAK method)

13.1 Background

Cyclamate is a sweetener that is added, for example, to energy-reduced/sugar-free non-alcoholic fruit-based drinks. However, only a maximum quantity of 250 mg/L is permitted.

13.2 Method

Cyclamate is converted into a dichloro compound and extracted with heptane. The measurement is carried out spectrophotometrically.

13.3 Measuring range

0–400 mg/L cyclamate

13.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette QS/314 nm

13.5 Accessories

- Spectrophotometer, 314 nm, e.g. REF 919600.1
- Rectangular cuvette QS, 10 mm, e.g. REF 919120
- Separating funnel, 100 mL
- Round filter (e.g. MN 640w)

13.6 Reagents

- Heptane, p. a.
- Sulphuric acid, 50 % (v/v)
- Sodium hypochlorite, free chlorine content 1.5 % (*VISOCOLOR*[®] *ECO* free chlorine 2, REF 931016 can be used to check the free chlorine content)
- Sodium hydroxide solution, 200 g/L
- Sodium sulphate, anhydrous p. a.
- Sodium cyclamate or *N*-cyclohexylsulfamic acid
- Potassium hexacyanoferrate, p. a.
- Carrez I solution:
 - Dissolve 150 g potassium hexacyanoferrate(II) with H₂O to 1000 mL
- Zinc sulphate, p. a.
- Carrez-II solution:
 - 300 g zinc sulphate Dissolve to 1000 mL with H₂O
- Cyclohexylsulfamic acid - stock solution:
 - Dissolve approx. 1 g cyclohexylsulfamic acid to the nearest 0.1 mg in H₂O and place in
 - 1 L volumetric flask with H₂O to the mark
- Cyclohexylsulfamic acid - standard solution:
 - Pipette 5 mL, 10 mL, 20 mL and 30 mL of the stock solution into 100 mL volumetric flasks and fill to the mark with H₂O. The concentrations of the standard solutions are 50, 100, 200 and 300 mg/l

13.7 Sample preparation and performance

- The cyclamate content in the sample solution should not exceed 300 mg/L, dilute liquid foods accordingly.
- Weigh solid foodstuffs into volumetric flasks and bring cyclamate into solution by ex-traction with H₂O
- Clarify cloudy samples with Carrez I and Carrez II solution
- To do this, pipette 50 mL of sample solution into a 100 mL volumetric flask, add 1 mL each of Carrez-I and Carrez-II solution, fill to the mark with H₂O and filter
- Acidify 10 mL sample or standard solutions in the separatory funnel with 2 mL H₂SO₄ (50 %)
- Add 20.0 mL *n*-heptane and 5 mL sodium hypochlorite solution and shake vigorously for 1 min
- Drain off the lower aqueous phase and discard. Any emulsion remains in the separating funnel
- Wash the heptane phase twice with 10 mL NaOH solution (20 %) and three times with 50 mL H₂O chlorine-free solution (the heptane phase must no longer smell of chlorine). From the addition of the sodium hypochlorite solution until the chlorine-free heptane phase is
- chlorine-free heptane phase work quickly
- Dry the organic phase over 1 – 2 g Na₂SO₄ and filter through a black belt filter
- Measure the absorbance of the sample solution and the standard solutions at 314 nm in a 10 mm cuvette against *n*-heptane as a blank value

13.8 Measurement

Call up and measure method 3 – 52

13.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 3.11.4, page 302ff

14. Iron (MEBAK method)

14.1 Background

Like copper and other heavy metals, iron impairs the colloidal stability of beer as well as its foam stability. Iron can enter the beer in many ways, e.g. via the raw materials used, pipes, beer foam stabilizers or filtration aids.

14.2 Method

Fe^{3+} is reduced to Fe^{2+} and combined with ferrozine in a complex. The concentration is determined spectrophotometrically.

14.3 Measuring range

0–1 mg/L Fe

14.4 Cell and wavelength

40 mm rectangular cuvette / 560 nm

14.5 Accessories

- Analytical balance, readability 0.1 mg
- Pipettes, 0.1 mL, 2 mL, 5 mL
- Spectrophotometer, 560 nm, e.g. REF 919600.1
- 40 mm rectangular cuvette

14.6 Reagents

- Prepare all solutions with iron-free H_2O .
- Buffer solution, pH 4.3:
 - Dissolve 75 g ammonium acetate and 150 g conc. acetic acid in approx. 800 mL H_2O , check pH and make up to 1 L.
- Ferrozine reagent:
 - Dissolve 0.257 g ferrozine or ferrospectral in 50 mL buffer (solution will keep for 2 weeks)
- Ascorbic acid, 2.5 % (prepare fresh daily)
- Hydrochloric acid, conc.
- Iron(III) standard solution to determine the calibration curve:
 - Dissolve 863.4 mg ammonium iron(III) sulphate [$\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 - 12 \text{H}_2\text{O}$] in H_2O in a 1 L volumetric flask and, after adding 0.1 mL conc. hydrochloric acid, make up to the mark with H_2O . After diluting 50 mL of this solution with H_2O to 1 L, a standard solution containing 5 mg/mL Fe^{3+} is obtained.

14.7 Sample preparation

- Remove the carbon dioxide from the beer and allow the foam to collapse completely.

14.8 Procedure

- Pipette 40 mL beer into a 50 mL volumetric flask and add 2 mL ferrozine reagent and 1 mL ascorbic acid solution.
- Fill up to the mark with H_2O .
- Prepare the blank in exactly the same way, but without adding the ferrozine reagent; prepare a separate blank for each beer.
- Measure the absorbance of the solution in a 40 mm rectangular cuvette at 560 nm against the corresponding blank value.

14.9 Measurement

Call up and measure method 3–53

14.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.29.3, page 149ff

<https://www.mebak.org/methode/b-590-71-111/eisen-fe-spektralphotometrisch/3208>

15. Free amino nitrogen (FAN, MEBAK method)

15.1 Background

Amino acids and other low-molecular nitrogen compounds have an influence on the fermentation process. They can lead to undesirable by-products during fermentation. In addition, reactions with reducing sugars can occur, the products of which have an influence on the aroma, color and redox potential of the beer.

15.2 Method

The sample is mixed with a color reagent containing ninhydrin and heated. The resulting coloration is measured spectrophotometrically.

15.3 Measuring range

0–400 mg/L N

15.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 570 nm

15.5 Accessories

- Test tubes with ground glass stopper, 16 × 150 mm
- Variable pipette 1.0–5.0 mL
- Pipette tips for pipette
- Boiling water bath
- Water bath at 20 °C
- Spectrophotometer, 570 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvette OS, e.g. REF 91933

15.6 Reagents

- Color reagent: Dissolve 10.0 g disodium hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 12 \text{H}_2\text{O}$), 6.0 g potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), 0.5 g ninhydrin, 0.3 g fructose in H_2O and make up to 100 mL (This solution can be kept for 2 weeks in a dark bottle. The pH value must be 6.6–6.8).
- Dilution solution: Dissolve 2 g potassium iodate in 600 mL H_2O and add 400 mL 96 % ethanol
- Stock solution: Dissolve 107.2 mg glycine in 100 mL H_2O . Store this stock solution at 0 °C.
- Standard solution: Make up 1 mL stock solution to 100 mL with H_2O .
- This standard solution contains 2 mg/L amino nitrogen.

15.7 Sample preparation

- Dilute wort 100-fold, beer 50-fold (1–3 mg/L amino nitrogen)

15.8 Procedure

- Analyze sample, standard solution or blank in triplicate.
- Pipette 2 mL of the diluted sample or standard solution or H_2O into a test tube.
- Add 1 mL of color reagent and mix.
- Close the test tube loosely with a glass stopper to avoid evaporation losses.
- Heat in a boiling water bath for exactly 16 min, then cool in a water bath at 20 °C for 20 min.
- Add 5 mL dilution solution.
- Measure absorbance within 30 min in a 10 mm rectangular cuvette at 570 nm against the equally treated blank (H_2O + color reagent).

Correction for dark seasonings and beers (make three corrections):

- Transfer 2 mL of the diluted sample to a test tube
- add 1 mL H₂O instead of the color reagent and proceed as described above
- Measure against H₂O after adding 5 mL of dilution solution

15.9 Measurement

Call up and measure method 3–54

15.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.8.4.1, page 62ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-11-111/freier-amino-stickstoff-fan-ninhydrin-methode-spektral-photometrisch/655>

16. Total carotenoids Wesergold (MEBAK method)

16.1 Background

Carotenoids are plant color pigments that occur in many fruits and are responsible for their yellow to reddish color. In the human body, carotenoids are converted into vitamin A, among other things. The concentration of carotenoids is detected in drinks such as vitamin juices.

16.2 Method

The sample is mixed with THF, then filtered using acetone and measured spectrophotometrically.

16.3 Measuring range

12–60 mg/L Carotenoids

16.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 450 nm and 550 nm

16.5 Accessories

- Spectrophotometer, 450 nm and 550 nm, e.g. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvettes QS, e.g. REF 919120

16.6 Reagents

- Tetrahydrofuran (THF), stabilized 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (Merck 109731)
- Acetone

16.7 Sample preparation and Procedure

- Dilute carrot juice 1 + 4 with water (ACE-beverages/Multivitamin with 50 RDA without dilution)
- Measure 0.50 mL diluted sample into a test tube (pipette), add 0.5 mL THF solution, mix, leave to settle
- Add 4.0 mL acetone, mix and filter through the membrane filter
- Measure sample using an equally treated water portion as blank value at 450 nm (E1) and at 550 nm (E2)

16.8 Measurement

Call up and measure method 3–55

16.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, 2002, ISBN 3-9805814-5-4, Kapitel 3.7.2.3, p. 282ff

17. Iso- α -acids (MEBAK method)

17.1 Background

During beer brewing, iso-alpha acids are formed from the initially insoluble alpha acids in the hops during boiling, which give the beer bitterness - a process called isomerization. The bitterness units (BE) in beer are derived from the alpha acid content and influence the taste, durability of the head and have bacteriostatic properties. Iso-alpha acids are sensitive to light, which is why the beer is protected by dark bottles.

17.2 Method

In an acidified sample, the bitter substances are extracted using iso-octane. Interferences can be removed by rinsing the extract with acidic methanol. The concentration is then determined spectrophotometrically.

17.3 Measuring range

0–60 mg/L

17.4 Cuvette and wavelength

10 mm quartz glass cuvette / 255 nm and 360 nm

17.5 Accessories

- Centrifuge tubes with solvent-tight screw cap, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Centrifuge, 3000 rpm
- Spectrophotometer, 255 and 360 nm, e.g. REF 919600.1
- Quartz cuvettes, 10 mm layer thickness, e.g. REF 919120

17.6 Reagents

- Hydrochloric acid, 6 N
- Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane), spectroscopically pure (absorbance measured in 1 cm cuvette at 275 nm against H₂O < 0.005).
- Sodium sulphate, anhydrous
- methanol
- Hydrochloric acid, 4 N
- Sodium hydroxide, 6 N, carbonate-free
- Acidic methanol solution: mix 64 mL methanol and 36 mL 4 N hydrochloric acid (prepare fresh daily)
- Alkaline methanol solution: make up 0.2 mL 6 N sodium hydroxide with methanol to 100 mL (prepare fresh daily)

17.7 Sample preparation

- Centrifuge the wort or cloudy beer at 3000 rpm for 15 min clarify (do not filter the sample)
- Remove carbon dioxide from beer without loss of foam

17.8 Procedure

- Pipette 50.0 mL of the sample tempered to 20 °C into a centrifuge tube
- Add 3.0 mL of 6 N hydrochloric acid and 25.0 mL of iso-octane
- Close the centrifuge tube and shake mechanically for 30 min at optimum mixing intensity
- Centrifuge for 5 min at 3000 rpm to separate the phases and break the emulsion
- Remove the lower aqueous phase by aspiration with a pipette Add enough sodium sulfate to the remaining, usually somewhat emulsified iso-octane phase so that it is clear after brief, vigorous manual shaking
- Pipette 10.0 mL of this into a 25 mL mixing cylinder
- Add 10.0 mL of acidic methanol solution and shake the contents for 3 minutes
- Pipette 5.0 mL of the supernatant clear iso-octane phase into a 25 mL volumetric flask
- Fill up to the mark with alkaline methanol solution and mix the contents
- Measure the absorbance of the iso-octane solution against a blank solution of 5.0 mL iso-octane and 20.0 mL alkaline methanol solution at 255 nm and 360 nm

17.9 Measurement

Call up and measure method 3–56

17.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.18.2, page 116ff

18. Copper ZDBT (MEBAK method)

18.1 Background

Copper is contained in spraying agents and can therefore enter the brewing process via the raw materials. However, it is also found in equipment or pipes used in the brewing process. Heavy metal ions such as copper have a negative effect on the taste and colloidal stability of beer.

18.2 Method

Copper is bound into a complex using ZDBT and extracted with trichloroethane. The measurement is carried out spectrophotometrically.

18.3 Measuring range

0–3 mg/L copper

18.4 Cuvette and wavelength

10 mm rectangular cuvette / 435 nm

18.5 Accessories

- Centrifuge tubes, 100 mL, with solvent-tight caps Spectrophotometer, 435 nm, e.g. REF 919600.1
- Quartz cuvettes, 10 mm layer thickness, e.g. REF 91933

Before use:

- Shake tubes with 15 mL H₂O, 3 mL diluted sulphuric acid and 5 mL ZDBT reagent to remove copper, discard rinsing solution and allow tubes to drain.
- Test tubes, treated in the same way
- Centrifuge
- Spectrophotometer, 435 nm
- Cuvettes, 10 mm path length

18.6 Reagents

- H₂O, copper-free (e.g. extract ion exchanger water with 0.5 % ZDBT solution)
- Standard copper solution, 0.01 mg/mL: 3.9295 g copper sulphate (CuSO₄ × 5 H₂O)
- Dissolve with H₂O to 1 L and dilute 100-fold immediately before use
- 1,1,1 - Trichloroethane
- Zinc dibenzyl dithiocarbamate (ZDBT), 0.5 % in trichloroethane
- Sulphuric acid, diluted: 1 part conc. sulphuric acid + 3 parts H₂O
- Hydrogen peroxide, 30 %
- Hexanol-1 (antifoam agent)

18.7 Sample preparation

- Decarbonize the beer and allow the foam to collapse completely

18.8 Procedure

Blank value:

- 25 mL dist. H₂O instead of a sample and treat in the same way as the main value
- Measure against trichloroethane (blank value)

Main value:

- Pipette 25 mL beer into centrifuge tube
- Add 1 mL H₂O and 3 mL diluted sulphuric acid
- Place in boiling water bath for 30 min
- After cooling, add 5 or 10 mL of color reagent
- Close the jar and shake for 10 min on a shaker - Centrifuge for 2 min at 2500 rpm
- Carefully remove part of the lower phase with a pipette and allow it to flow slowly into the test tube held at an angle in order to separate any entrained aqueous phase on the wall.
- fill 10 mm cuvette from the test tube and measure at 435 nm absorbance against pure trichloroethane (main value)

Correction value:

- To correct absorbent beer ingredients extracted with trichloroethane, carry out the procedure with pure trichloroethane (without ZDBT) and measure against trichloroethane as a reference (correction value). Do not use glassware treated with ZDBT solution for this purpose, otherwise the results will be too high due to carry-over of ZDBT.

To determine the calibration curve:

- Pipette 25 mL of decarbonated beer into each of 6 centrifuge tubes
- add 0; 1.0; 2.0; 3.0; 4.0 and 5.0 mL of the diluted copper standard solution (corresponding to 0; 0.4; 0.8; 1.2; 1.6 and 2.0 mg copper per liter of beer)
- Add 1 mL H₂O₂ and 3 mL diluted H₂SO₄ and proceed as described above
- Calculate the conversion factor F ($F = \text{mg Cu}^{2+}/\Delta E$) from the known copper content of the calibration solutions in mg/L divided by the respective determined corresponding absorbance (reduced by the absorbance value of the preparation without copper addition) or determine from calibration curves

18.9 Measurement an result

Call up an measure method 3–57

Calculation of the result: $\text{Copper (mg/L)} = (EH - EB - EK) * F$

EH = Absorbance of the main value

EB = Absorbance of the blank value

EK = Absorbance of the correction value

F = Conversion factor from absorbance to mg/L

18.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.29.5, page 153ff

<https://www.mebak.org/methode/b-420-37-009/kupfer-cuprethol/2261>

19. Photometric iodine assay (MEBAK)

19.1 Background

Iodine is used for the detection of starch. Amylose and amylopectin are components of starch and are broken down into sugars and smaller polysaccharides during the brewing process. If hexagonal structures are still present in the starch, iodine is deposited and colors the solution dark purple.

19.2 Method

Starch and higher molecular weight starch degradation products are precipitated with ethanol and centrifuged. The residue is dissolved in phosphate buffer and then iodine solution is added. The resulting coloration is measured spectrophotometrically.

19.3 Measuring range

0–1 Iodine value

19.4 Cuvette and wavelength

40 mm rectangular cuvette / 578 nm

19.5 Accessories

- Centrifuge tubes with ground glass stopper, 100–110 mL capacity
- Shaking machine
- Pipettes, 0.5 mL, 2 mL, 10 mL, 20 mL, 40 mL
- Spectrophotometer, 578 nm, e.g. REF 919600.1
- 40 mm rectangular cuvette OS
- “Plumper” or plastic spatula

19.6 Reagents

- Ethanol, 95 %
- Iodine solution, 1N (stock solution)

19.7 Procedure

- Iodine solution, 0.02 N (prepare daily from the stock solution)
- Phosphate buffer solution, 0.1 M, pH 3.5: 0.1 M KH_2PO_4 solution with
- Adjust 0.1 M phosphoric acid to pH 3.5

Blank value:

- Pipette 10 mL phosphate buffer solution and 0.5 mL 0.02 N iodine solution into 40 mm rectangular cuvette and mix
- Measure absorbance at 578 nm against phosphate buffer solution (EI)

Main Value:

- Pipette 10.0 mL centrifuged wort or beer free of carbon dioxide into centrifuge tube
- Add 40.0 mL ethanol and shake mechanically for 10 minutes
- Centrifuge for 5 min at 2500 rpm
- Carefully and as completely as possible decant off the clear phase
- Dissolve the residue with 20.0 mL phosphate buffer solution by mechanical shaking for 10 min
- Centrifuge the solution for 5 min at 2500 rpm
- Pipette 2 mL of the supernatant and 8 mL of phosphate buffer solution into a 40 mm rectangular cell and measure at 578 nm against phosphate buffer solution (EZ)
- Add 0.5 mL of 0.02 N iodine solution, mix the contents immediately with the “Plumper”, measure after 30 sec (EH)

19.8 Measurement and result

Call up and measure method 3–58

Calculate the result: $(EH - EI - 0.952 * EZ) * 5$

EH = absorbance of the test solution from the main experiment

EI = absorbance of the iodine solution (blank test)

EZ = absorbance of the centrifugation supernatant

0.952 = Volume change factor (10.0 mL → 10.5 mL)

5 = Dilution factor (2 + 8 parts)

19.9 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5–4, Chapter 2.3.2, page 34ff

<https://www.mebak.org/methode/b-400-04-110/photometrische-iodprobe/645>

20. Total carbohydrates in beer (MEBAK)

20.1 Background

In terms of quantity, carbohydrates make up the largest proportion of nutrients in beer.

20.2 Method

The sample is hydrolyzed and dehydrated and then reacts with anthrone. The resulting coloration is measured with a spectrophotometer.

20.3 Measuring range

0–5 g/L carbohydrate

20.4 Cuvette and wavelengths

10 mm rectangular cuvette / 625 nm

20.5 Accessories

- Test tubes with ground glass stopper (20 × 150 mm)
- Water bath, 95 °C ± 0.5 °C
- Cold bath
- Spectrophotometer, 625 nm, e.g. REF 919600.1
- Glass cuvettes, 10 mm path length, e.g. REF 91933

20.6 Reagents

- Sulphuric acid, 85 vol %: Carefully add 850 mL conc. H₂SO₄, d = 1.84 g/mL, to 150 mL H₂O while cooling and adjust to 1 L after complete cooling to room temperature and mixing with H₂O
- Anthrone reagent: Dissolve 1 g anthrone (Merck 101468) in 85 % H₂SO₄ and make up to 1 L with the acid. Prepare fresh.
- *D*-glucose standard: Dry pure anhydrous *D*-glucose at reduced pressure in a vacuum drying oven for 4 h at 100 °C and 100 mbar.
- *D*-glucose stock solution: Dissolve 0.4 g *D*-glucose anhydrous in H₂O and make up to make up to 1 L.
- *D*-glucose standard solution: Dilute 10 mL stock solution with H₂O to 100 mL. Prepare fresh.

20.7 Sample preparation

- Decarbonize beer, allow foam to collapse - Dilute 2 mL beer with H₂O
- dilute to 500 mL

20.8 Procedure

- Dilute 2 mL beer with H₂O to 500 mL
- Pipette 3 mL of diluted beer into test tube, cool to 2–4 °C
- Add 10 mL of cooled (2–4 °C) anthrone reagent and mix well while cooling
- Place tubes in a water bath at 95 ± 0.5 °C for exactly 20 min - cool quickly to 20 °C
- measure absorbance at 625 nm against an equally treated blank, using 3 mL H₂O instead of the diluted beer sample (EP)
- run 3 glucose standard solutions with each series of analyses, using 3 mL of gluco-se standard solution instead of the diluted beer sample and treating it in the same way (ES)

20.9 Measurement and calculation

Call up and measure method 3–59

Calculation of the result: Total carbon dioxide rate g/100 mL = EP : ES

EP = absorbance of the sample (measured against blank value)

ES = mean value of the absorbance values of the glucose standard solutions (measured against blank value)

20.10 Literature

Brautechnische Analysenmethoden, Volume II, 4th edition, 2002, ISBN 3 9805814 5 – 4, Chapter 2.11, page 85ff

21. Hop Storage Index (HSI) in Whole Hops and Hop Products (MEBAK method)

21.1 Background

Hops and hop products are subject to aging processes which depend upon the conditions during storage and in the surrounding environment. To assess the freshness of hop products, analytical methods capable of detecting aging compounds are necessary. With fresh hops, the HSI is usually below 0.40. However, it can also be above this value under normal conditions when freshly harvested. When assessing hops and hop pellets, the HSI alone does not allow any qualitative statement to be made about the type of change. However, an increase in HSI (delta HSI) can serve as a characteristic of natural change during storage.

21.2 Method

Measurement of the absorption ratio at 275 nm to 325 nm of the hop extract in an alkaline methanol solution.

21.3 Measuring range

0.25 – 0.51 HSI

21.4 Cuvette and wavelength

10-mm rectangular cuvette QS / 275 nm and 325 nm

21.5 Accessories

- Scale, Accuracy 0.05 g
- Glass bottle, 250 mL, solvent-tight screw cap
- Volumetric flasks, 10, 25, 50, 100, 500 mL
- Pipettes, 1, 2, 5, 100 mL (use glass pipettes only!)
- Shaking machine
- Centrifuge (optional)
- Spectrophotometer (UV), z.B. REF 919600.1
- 10 mm rectangular cuvette QS, z.B. REF 919120

21.6 Reagents

- Methanol (absorbance at 275 nm in 10 mm rectangular cuvette against H₂O less than 0.060)
- bidistilled water
- Sodium hydroxide solution, 6 N
- Alkaline methanol (1 mL 6 N sodium hydroxide solution in 500 mL methanol; prepare fresh daily)
- Toluene (absorbance at 275 nm in 10 mm rectangular cuvette against H₂O less than 0.800 after dilution with alkaline methanol in a ratio of 1:100)

21.7 Sample preparation

- Grind the appropriate amount of whole hops or hop product with the hammer mill using a sieve with round holes
- Carefully brush out the hop powder adhering to the inside of the mill and add it quantitatively to the grist
- Always divide the entire available grist
- Insert the beaker into the MEBAK sample divider in an anticlockwise direction
- Put on the dust protection ring and check that the beakers are seated correctly
- Switch on the appliance and slowly pour the hop powder into the funnel
- If 80 g of hops were used, the contents of the beaker after the sample division will be approx. 10 g, which must be used completely for the subsequent analysis.

21.8 Procedure

- Weigh out 5 g of hop powder or ground hop pellets to the nearest 0.05 g in a 250 mL glass bottle
- Add 100 mL toluene
- Close the glass bottle tightly and shake vigorously for 30 minutes (e.g. at 240 rpm)
- Centrifuge or sediment for 5 min at 1.000 g until the solids have settled sufficiently for a clear aliquot to be taken. This should not take longer than 1 hour
- Dilute 5 mL of clarified solution with 100 mL of methanol
- Then further dilute a suitable amount of this solution with alkaline methanol (absorbance at 325 nm should be in the linear measuring range)
- Measure the absorbances at 325 and 275 nm against toluene diluted in the same way as the sample (measure quickly, avoid the influence of UV light)

21.9 Measurement

Call up and measure method 3–61

21.10 Literature

<https://www.mebak.org/en/methode/r-300-12-110/hop-storage-index-hsi-in-whole-hops-and-hop-products/2619>

22. Contact



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

If you have any questions or require technical assistance, please contact us:

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland

Tel: +49 24 21 969-333

e-mail: support@mn-net.com

www.mn-net.com

www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



Management
System
EN ISO 13485:2016
ISO 9001:2015



www.tuv.com
ID 0000056401

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com
CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com
US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com