

# DR6000 in de brouwindustrie: Belangrijke methoden conform MEBAK en ASBC

## Introductie

Het zorgen voor en het nakomen van een consistent hoge kwaliteit zijn twee van de belangrijkste doelen in de drankenindustrie. Hach® biedt ondersteuning voor deze doelen met behulp van uitgebreide analyses van water en bier.

De DR6000™ UV-VIS-spectrofotometer ondersteunt een groot aantal analysemetingen die nodig zijn voor bewaking van het gehele brouwproces, van grondstoffen tot eindproduct. De brouwspecifieke software voor de DR6000 is uitgebreid en omvat nu de belangrijkste parameters voor zowel MEBAK<sup>1</sup> als de American Society of Brewing Chemists (ASBC)<sup>2</sup>. Dit betekent dat de DR6000 kan worden gebruikt voor het meten van de kwaliteit van bier over de hele wereld.

## De belangrijkste methoden in detail

### Bierkleur

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 185.  
ASBC Beer 10-A

De EBC- en ASBC-eenheden worden in heel Europa en de Verenigde Staten gebruikt om de kleur (of concreter: de kleurintensiteit) van bier en wort te beschrijven. De waarde die is vastgesteld door de European Brewery Convention (EBC) of ASBC geeft aan hoeveel licht er wordt geabsorbeerd door bier met een bepaald gehalte oorspronkelijk wort. De werkelijke kleur van elk bier is niets meer dan een gradatie van een bruintint, die afneemt in concentratie van rood, koper en oranje tot goudgeel en lichtgeel.

Naast de moutkleur en het oorspronkelijke wort, is de kleurintensiteit van het afgewerkte bier nog steeds afhankelijk van vele andere factoren, zoals de voorbereiding van het wort, de pH-waarde en het vergistingsproces.

Het meten van de kleur lijkt misschien onbeduidend, maar de kleur vormt de eerste indruk die de klant krijgt voordat het bier wordt geconsumeerd. De naleving van de bierkleur is daarom een belangrijk punt dat door het hele vergistingsproces heen kan worden bewaakt.

De absorptie van het bier wordt gemeten bij een golflengte van 430 nm. Oorspronkelijk was de bierkleur in EBC-eenheden 10 x de absorptie bij 430 nm, gemeten in een kuvet van 1 inch (2,54 cm). Voor MEBAK moet echter een vierkante kuvet van 1 cm (10 mm) worden gebruikt. Dienovereenkomstig dient voor de bepaling van de bierkleur volgens MEBAK de volgende berekening te worden gebruikt:

Absorptie van het bier bij 430 nm x 25 = kleur in EBC-eenheden.

Oorspronkelijk was de bierkleur in ASBC-eenheden 10 x de absorptie van het bier bij een golflengte van 430 nm, gemeten in een kuvet van een halve inch (1,27 cm). Bij gebruik van de vastgestelde kuvet van 1 cm (10 mm), geldt het volgende met betrekking tot ASBC-methode Beer-10A:

Absorptie van het bier bij 430 nm x 12,7 = kleur in EBC-eenheden

## APPLICATIEBERICHT: DR6000 VOOR MEBAK- EN ASBC-METHODEN

Daarnaast wordt de troebelheid van het monster bij de ASBC-methode gecontroleerd door middel van een absorptiemeting bij 700 nm. Een monster wordt niet bestempeld als troebel als de absorptie bij 700 nm  $\leq$  0,039 x absorptie bij 430 nm is.

In de DR6000 zijn de programma's voor het meten van de bierkleur beschikbaar voor zowel de meting conform MEBAK als de meting conform ASBC.

MEBAK-bierkleur	Programma 2006	0–60 eenheden
ASBC-bierkleur*	Programma 2020	0–60 eenheden

De volgende schaal met bierkleuren is nuttig ter oriëntatie:

EBC	Voorbeeld	Bierkleur
4	Pale Lager, Witbier, Pilsener, Berliner Weisse	
6	Maibock, Blonde Ale	
8	Weißbier	
12	American Pale Ale, India Pale Ale	
16	Weißbier, Saison	
20	English Bitter, Extra Special Bitter	
26	Biere de Garde, Double IPA	
33	Dunkles Lager, Märzen, Amber Ale	
39	Brown Ale, Bock, Dunkelbier, Dunkelweizen	
47	Irish Dry Stout, Doppelbock, Porter	
57	Stout	
69	Foreign Stout, Baltic Porter	
79	Imperial Stout	

(Bron: [http://de.wikipedia.org/wiki/EBC\\_\(Bier\)](http://de.wikipedia.org/wiki/EBC_(Bier)))

### Bittereenheden

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 234.

ASBC Beer-23, Wort-24

De concentratie van de bitters is een belangrijk kwaliteitsaspect van het bier. Bitters ontstaan tijdens het koken als gevolg van de isomerisatie van  $\alpha$ -zuren in het hop. Bitters worden met behulp van iso-octaan uit het aangezuurde monster geëxtraheerd, en de absorptie wordt spectrofotometrisch gemeten bij een golflengte van 275 nm.

De MEBAK- en ASBC-methoden verschillen slechts minimaal in hun uitvoering. Terwijl de MEBAK-methode 6 N HCl gebruikt om de monsters aan te zuren, gebruikt de ASBC-methode slechts 3 N HCl. Na extractie wordt de absorptie gemeten in een kuwet van kwarts van 10 mm tegen een blanco van iso-octanol van dezelfde kwaliteit.

De resultaten worden als volgt berekend, overeenkomstig de definitie van MEBAK en ASBC:

Bier: absorptie 275 nm x 50 = bitterheid in bittereenheden

Wort: absorptie 275 nm x 100 = bitterheid in bittereenheden

De verschillende berekeningen komen voort uit de verdunningen van bier- of wortmonsters zoals gespecificeerd in de procedure.

De standaardwaarden conform MEBAK zijn 10–40 BU (bittereenheden) voor bier en 20–60 BU voor wort. Het meetbereik voor bier conform ASBC is maximaal 100 eenheden (200 voor wort) en wordt vastgelegd in IBU (International Bitterness Units).

In de DR6000 zijn de programma's voor het meten van de bittereenheden beschikbaar voor zowel de meting conform MEBAK als de meting conform ASBC.

Bittereenheden, bier	Programma 2001	10–40 BU
Bittereenheden, wort	Programma 2003	20–60 BU
ASBC-bittereenheden, bier*	Programma 2021	10–100 IBU
ASBC-bittereenheden, wort*	Programma 2011	20–200 IBU

*Opmerking:*

Voor de analyse van bittereenheden kan ook de Hach kuvettentest LCK241 (alleen beschikbaar in Europa) worden gebruikt. Door de introductie van deze reeds met reagens gevulde kuvetten, kunnen tijd en kosten worden bespaard voor chemicaliën (met name hoogwaardig iso-octaan).

Tabel 1: bittereenheden van de populairste biersoorten (van Brauerei-Forum, VLB)

Biersoort	Bittereenheden	mg iso-alfazuren/L bier
Weizenbier	15–20	15–20
Vollbier	18–24	18–24
Märzen	20–25	20–25
Export	22–26	22–26
Bock	28–36	28–36
Pils	30–38	30–38
Alt	35–50	35–50

### Iso- $\alpha$ - en $\beta$ -zuren

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 237.

De humulonen (of  $\alpha$ -hopzuren) van het hop geven bier zijn bittere smaak. Tijdens de bierproductie (koken van het wort), komen de bittere iso- $\alpha$ -zuren vrij uit het hop. Het gehalte iso- $\alpha$ -zuur is daarom een belangrijk element van de smaak van het bier. De  $\beta$ -zuren dragen ook bij aan de bittere smaak en worden met deze meting vastgelegd.

Nadat de bitters (zie hierboven) uit het monster zijn geëxtraheerd met iso-octaan, en na verdere monsterreiniging, wordt het gehalte iso- $\alpha$ - en  $\beta$ -zuren vastgesteld aan de hand van de meting van de absorptie van het monster bij 255 nm en 360 nm [1]. Er wordt een kwartskuvet van 10 mm gebruikt, en beide zuursoorten worden vastgesteld in een gecombineerde meting bij twee golflengtes.

De standaardwaarden conform MEBAK zijn:

Bier: 10–40 mg/L iso- $\alpha$ -zuren en minder dan 2 mg/L  $\beta$ -zuren

Wort: 15–50 mg/L iso- $\alpha$ -zuren en minder dan 1–15 mg/L  $\beta$ -zuren

In de DR6000 is het programma voor de meting van iso- $\alpha$ - en  $\beta$ -zuren beschikbaar voor de meting conform MEBAK.

Iso- $\alpha$ - en $\beta$ -zuren	Programma 2013	0–60 mg/L iso- $\alpha$ -zuren en 0–80 mg/L $\beta$ -zuren
-----------------------------------	----------------	--

### FAN (Free Amino Nitrogen; vrij aminostikstof)

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 84.  
ASBC Beer-31, Wort-12

De som van de beschikbare stikstofcomponenten in het wort wordt vertegenwoordigd door de vrije aminostikstof (FAN). Een overmatig FAN-gehalte kan leiden tot problemen, zowel in de smaak als in de microbiologische stabiliteit van het bier. Brouwersgist en wilde gist zetten overtollige aminozuren om in alcoholen met lange keten (propanol, isobutanol). FAN-gehalten zijn ook een goede indicator van de voltooiing van de gisting. Door bewaking van het FAN-gehalte met de DR6000 kan de inhoud van tanks sneller worden doorgevoerd zodra het FAN-gehalte laag genoeg is. Het typische FAN-gehalte is 200–250 mg/L voor het wort en 10–120 mg/L voor het bier (MEBAK).

De methoden voor MEBAK en ASBC zijn identiek. Het voorbereide bier of wort wordt gemengd met een kleurreagens (op basis van ninhydrine) en de absorptie wordt gemeten bij een golflengte van 570 nm in een kuvet van 10 mm.

Deze absorptie wordt ter referentie vergeleken met de kleur die wordt geproduceerd door een glycinestandaard met 2 mg/L. Voor een nauwkeurigere bepaling worden de blancowaarde, de glycinestandaard en het monster in drievoud gemeten en wordt de gemiddelde waarde berekend. Vanwege de afwijkende monstervoorbereiding voor bier en wort, zijn interne factoren van 50 (voor bier) of 100 (voor wort) vereist.

Voor donkere bieren en wort voorziet de MEBAK-methode in een manier om de monsterspecifieke blancowaarde te meten, in aanvulling op de gebruikelijke reagensblancowaarde, om rekening te houden met de intrinsieke kleuring van het monster. Het meetproces en de concentratieberekening voor donkere bieren en wort worden opgeslagen in de DR6000 als aparte programma's. In de DR6000 zijn de programma's voor het meten van vrije aminostikstof beschikbaar voor zowel de meting conform MEBAK als de meting conform ASBC.

FAN, licht bier	Programma 2008	0–400 mg/L FAN
FAN, licht wort	Programma 2007	0–400 mg/L FAN
FAN, donker bier	Programma 2016	0–400 mg/L FAN
FAN, donker wort	Programma 2015	0–400 mg/L FAN
ASBC FAN, bier*	Programma 2024	0–400 mg/L FAN
ASBC FAN, wort*	Programma 2025	0–400 mg/L FAN

### Totaal polyfenol

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 223.  
ASBC Beer-35

Fenolische verbindingen van mout en hop komen in verschillende hoeveelheden in het bier terecht, afhankelijk van de productietechnieken. Afhankelijk van de structuur en molecuulgrootte, hebben ze een sterke invloed op diverse karakteristieken van bier, zoals kleur, smaak, smaakstabiliteit, schuim en chemisch-fysische stabiliteit<sup>1</sup>. Polyfenolen hebben een bijzonder grote invloed op het uiteindelijke uiterlijk van het bier. Hoge polyfenolgehaltes leiden tot een troebel bier.

De methoden conform MEBAK en ASBC zijn identiek. De polyfenolen in de monsters reageren met ijzer(III)-ionen in alkaline-oplossingen en vormen gekleurde ijzercomplexen. De absorptie wordt spectrofotometrisch gemeten in een kuvet van 10 mm bij een golflengte van 600 nm.

De berekening is als volgt:

$$\text{Absorptie bij 600 nm} \times 820 = \text{mg/L totaal polyfenol}$$

De standaardwaarde voor bier is 150–200 mg/L totaal polyfenol. Het meetbereik van de vooraf geïnstalleerde programma's reikt tot 800 mg/L.

In de DR6000 zijn de programma's voor het meten van het totaal polyfenol beschikbaar voor zowel de meting conform MEBAK als de meting conform ASBC.

Totaal polyfenol	Programma 2006	0–800 mg/L fenolen
ASBC totaal polyfenol*	Programma 2020	0–800 mg/L polyfenolen

## Vicinale diketonen

MEBAK brew-technical analysis methods, 4e editie, 2002, vanaf pagina 134.

ASBC Beer-25 B

De huidige MEBAK<sup>1</sup> beschrijft de gaschromatografische meting van diacetyl en 2,3-pentaandion.

In de oudere MEBAK<sup>3</sup> en in de ASBC worden twee verschillende fotometrische methoden voor de bepaling van de vicinale diketonen verstrekt.

Tijdens het gistmetabolisme ontstaan gedurende de vergisting 2-acetolactaat en 2-acetohydroxybutyraat. Deze worden door middel van oxidatie omgezet in de vicinale diketonen diacetyl en 2,3-pentaandion.

Di-acetyl kan echter ook ontstaan als een karakteristiek metabolismeproduct van bepaalde micro-organismen<sup>1</sup>. Met een te hoog gehalte vicinale diketonen verkrijgt het bier een onaangename smaak. Dit levert vaak een butterscotch-smaak of vettig mondgevoel op, wat onaangenaam is voor de consument.

Conform de MEBAK-methode reageren de twee diketonen di-acetyl en 2,3-pentaandion met 1,2-fenyleendiamine om een gekleurd eindproduct te vormen, waarvan de absorptie bij 335 nm wordt gemeten in een kuvet van kwarts van 2 cm. Deze veelgebruikte methode voor operationele analyses is duidelijk sneller dan de gaschromatografische methode, maar maakt geen onderscheid tussen diacetyl en 2,3-pentaandion.

Met behulp van de kalibratie conform MEBAK wordt het gehalte vicinale diketonen als volgt berekend:

$$\text{Absorptie bij 335 nm} \times 1,2 = \text{mg/kg VDK (vicinale diketonen)}$$

De streefwaarde voor licht bier is minder dan 0,15 mg/kg.

De methode conform ASBC wordt beschreven in de methode Bier-25 B met de titel "Diacetyl – Broad spectrum method for VDK" (Diacetyl - breedspectrummethode voor VDK). Deze methode legt de di-acetyl ook niet afzonderlijk vast, maar legt alle aanwezige vicinale diketonen vast.

Conform ASBC Bier-25 B, reageert di-acetyl (en 2,3-pentaandion) met een naftoloplossing, wat een kleurcomplex oplevert en wordt gemeten bij een golflengte van 530 nm. De methode werd door Hach gekalibreerd met di-acetyl-standaardoplossingen, en de overeenkomstige factor werd opgeslagen in de programmering. Een meting door de gebruiker van di-acetylstandaarden voor het vastleggen van een kalibratiecurve kan dan achterwege worden gelaten.

Met behulp van de kalibratie conform Hach wordt het gehalte vicinale diketonen als volgt berekend:

$$\text{Absorptie bij 530 nm} \times 3,7 = \text{mg/L diacetyl (vicinale diketonen)}$$

In de DR6000 zijn de programma's voor het meten van vicinale diketonen beschikbaar voor zowel de meting conform MEBAK als de meting conform ASBC.

Vicinale diketonen	Programma 2014	0–1 mg/kg VDK
ASBC diacetyl*	Programma 2023	0–1 mg/L diacetyl

### Opmerking:

Net als voor de bepaling van de bitters, is er ook een reeds met reagens gevulde kuvettentest van Hach, onder nummer LCK242 (alleen in Europa) of TNT819 (alleen in de V.S.) voor de bepaling van vicinale diketonen.

## APPLICATIEBERICHT: DR6000 VOOR MEBAK- EN ASBC-METHODEN

Reduceerbaarheid MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 204.

De reduceerbaarheid van het bier is een belangrijke factor voor de smaak en de biologische, chemische en fysische stabiliteit van het bier. Reducerende verbindingen afkomstig van de mout en het hop voorkomen en/of minimaliseren oxidatieprocessen in het bier. Alle snel-reducerende verbindingen die in het bier aanwezig zijn, worden samengevat als reduceerbaarheid. Ze worden gemeten aan de hand van hun reducerende werking op het Tillmans-reagens (DPI). De ontkleuring van dit reagens in de aanwezigheid van het biermonster wordt gemeten bij een golflengte van 520 nm en vergeleken met de oorspronkelijke kleur van het reagens. De reduceerbaarheid wordt uitgedrukt in een dimensieloos getal. Dit geeft aan welk percentage van het reagens wordt gereduceerd door het biermonster.

Bij de evaluatie van de reduceerbaarheid van bieren geldt de volgende schaal, conform MEBAK<sup>1</sup>:

60	Zeer goed
50–60	Goed
45–50	Voldoende
< 45	Slecht

In de DR6000 is het programma voor het meten van de reduceerbaarheid beschikbaar voor de meting conform MEBAK.

Reduceerbaarheid	Programma 2004	0–100
------------------	----------------	-------

### Thiobarbituurzuurgetal (TAN)

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 55.

Het thiobarbituurzuurgetal is een somparameter. Het geeft de thermische belasting van mout en wort aan. Behalve 5-hydroxymethylfurfural (HMF) reageert een groot aantal stoffen die uit de Maillardreactie ontstaan (door warmte bevorderde reactie van suikers met aminozuren) met thiobarbituurzuur.

In de MEBAK-test reageren de te meten stoffen met thiobarbituurzuur en vormen ze een gele kleurcomplex die fotometrisch wordt geanalyseerd bij een golflengte van 448 nm.

De standaardwaarden in het brouwproces zijn (met betrekking tot 12% oorspronkelijk wort):

- Licht wort vóór koken: < 22
- Licht wort na koken: < 45
- Licht koud wort na wortkoeling: < 60

Een nieuwe aanpak voor deze analyse maakt gebruik van TBARS (thiobarbituurzuur reactieve stoffen), die in principe malonaldehyde vastlegt. Ook hier wordt de hoeveelheid thermische belasting van het wort als gevolg van warmte vastgelegd met de meting.

In de DR6000 is het programma voor het meten van TAN beschikbaar voor de meting conform MEBAK.

TAN in bier/wort	Programma 2011	0–100 TAN (verdund 1/10)
TAN in congresswort	Programma 2012	0–100 TAN (verdund 1/5)



## Anthocyanogenen

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 226.

Anthocyanogenen, of leucoanthocyanidinen, zijn een speciale vorm van anthocyanidinen. Anthocyanidinen zijn de kleurgevende delen van anthocyaninen, een groep plantenkleurstoffen met een fenolische basis. De anthocyanogenen (leucoanthocyanidinen uit het hop) worden door heet zwavelzuur omgezet in de roodgekleurde anthocyanidinen.

In de meting worden de anthocyanogenen eerst geadsorbeerd op polyamide en vervolgens door heet zwavelzuur omgezet in een rode oplossing. De meting wordt uitgevoerd bij een golflengte van 550 nm in een kuwet van 10 mm.

De standaardwaarden conform MEBAK in het bier zijn 50–70 mg/L, afhankelijk van de productietechnieken. Indien gestabiliseerd met PVPP zijn de standaardwaarden dienovereenkomstig lager.

In de DR6000 is het programma voor het meten van de anthocyanogenen beschikbaar voor de meting conform MEBAK.

Anthocyanogenen	Programma 2005	0–100 mg/L ATC
-----------------	----------------	----------------

## Fotometrisch jodiummonster

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 52.

Nadat uit granen, voornamelijk gerst, mout is gemaakt, wordt de mout gemalen. Het werkelijke brouwproces begint bij het maischen. Bij dit proces wordt water tot ongeveer 60 °C verwarmd, en vervolgens wordt de gemalen mout toegevoegd. De maisch die hieruit ontstaat wordt constant geroerd en verwarmd tot ongeveer 75 °C, afhankelijk van het proces. Met verschillende roostertemperaturen zetten de enzymen het zetmeel uit de mout om in moutsuikers. Ook kunnen delen van de maisch worden gekookt, wat leidt tot een fysieke verstijfseling van het zetmeel. Vervolgens wordt een jodiummonster gemeten om te bepalen of het opgeloste zetmeel volledig is versuikerd.

Dextrines en zetmeel uit wort en bier slaan neer, worden opgeloste in een fosfaatbuffer en gemengd met een jodiumoplossing. De verkleuring van rood naar blauw wordt met de spectrofotometer gemeten bij een golflengte van 578 nm in een kuwet van 4 cm. De standaardwaarden (in wort) conform MEBAK zijn < 0,45.

In de DR6000 is het programma voor het meten van de anthocyanogenen beschikbaar voor de meting conform MEBAK.

Jodiummonster	Programma 2010	0–1 joodgetal
---------------	----------------	---------------

## IJzer

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012, vanaf pagina 423.

IJzer kan in het bier terechtkomen via de grondstoffen, evenals door filtrerings- en/of klaringsmiddelen. Ook kan het worden opgepikt van apparaten, leidingen of blikken, of het bevindt zich in het schuimstabilisatiemiddel. IJzer heeft een negatieve invloed op de colloïdale stabiliteit, smaak, het schuim en de neiging tot gushing van het bier.

IJzer in bier kan behalve met AAS ook spectrofotometrisch worden bepaald. Eerst wordt trivalent ijzer gereduceerd tot bivalent ijzer. Het bivalente ijzer reageert met FerroZine en vormt een paarsachtig complex. De methode die in de DR6000 is opgeslagen voor de bepaling van ijzer bevat reeds de absorptiecoëfficiënt voor ijzer. De toename van de kalibratiecurve is 0,037 µg/L Fe<sup>2+</sup>. De gebruiker van het programma hoeft daarom geen bedrijfseigen standaardserie voor ijzer te genereren voor de kalibratie. De referentiewaarde in bier is 0,200 mg/L.

In de DR6000 is het programma voor de meting van ijzer conform MEBAK beschikbaar.

IJzer	Programma 2017	0–1 mg/L ijzer
-------	----------------	----------------

## Referenties

<sup>1</sup> MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1<sup>ste</sup> editie 2012

<sup>2</sup> American Society of Brewing Chemists, Methods of Analysis, 14e editie

<sup>3</sup> MEBAK, brew-technical analysis methods, volume II, 4e editie 2002

\* American Society of Brewing Chemists (ASBC): gereproduceerd met toestemming van de ASBC, uitsluitend voor gebruik door de kopers van gespecificeerde Hach-instrumenten. Andere vormen van reproductie zijn niet toegestaan zonder schriftelijke toestemming van ASBC.