

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie  
(vormals Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I)

Untersuchungen zum Einfluss antioxidativer Substanzen auf  
die Geschmacksstabilität des Bieres

Michael Wurzbacher

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. H.-Chr. Langowski

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. W. Back (i.R.)
2. Univ.-Prof. Dr. R. F. Vogel

Die Dissertation wurde am 28.03.2011 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 26.07.2011 angenommen.

Michael Wurzbacher

Am Laichholz 4

82319 Perchting

[michael.wurzbacher@skisport-perchting.de](mailto:michael.wurzbacher@skisport-perchting.de)

Weitere wissenschaftliche Arbeiten: Siehe Anhang.



Mit freundlicher Genehmigung des Carlsen-Verlags.

## Vorwort

Das einzig Beständige ist bekanntermaßen die Veränderung, woraus zwingend folgt, dass auch das Bier am besten frisch getrunken werden sollte. Da die Umsetzung dieser Herangehensweise nicht für jedermann möglich ist und, da die oben formulierte Erkenntnis allein noch nicht für eine Promotion ausreicht, soll der dorthin führende Lösungsweg auf den folgenden Seiten noch etwas tiefergehend beschrieben werden.

Ich danke meinem Doktorvater Prof. Dr. Werner Back sehr für die Überlassung des Themas, seine Unterstützung und das Vertrauen, dass er mir als wissenschaftlicher Angestellter und später als Abteilungsleiter des GC-Labors entgegengebracht hat.

Besonders möchte ich Dr. Oliver Franz die Vermittlung der Doktorandenstelle und die Einführung und Unterstützung am Lehrstuhl danken.

Besonderen Dank auch an Dr. Markus Herrmann, Dr. Mark Schneeberger und Dr. Frithjof Thiele für die freundschaftliche Unterstützung bei der Arbeit und die regelmäßige und zuverlässige Teilnahme an den Verkostungsterminen.

Vielen Dank auch an alle Doktoranden der nachfolgenden Jahre, die regelmäßig bei den Verkostungen oder im Labor geholfen haben. Besonders möchte ich mich in diesem Zusammenhang bei Dr. Stefan Hanke für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Atmosphäre im Büro, sowie bei Sebastian Kappler und Florian Schüll für den Spaß mit *dem* Rechner bedanken.

Teile dieser Arbeit wurden finanziell von der AiF Otto von Guericke e.V. und von der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München unterstützt. Diesen beiden Institutionen möchte ich hiermit meinen herzlichen Dank aussprechen.

Johanna Biechele danke ich sehr für die Einarbeitung im Bierlabor.

An Michaela Marschmann, Doreen Beestehorn und Daniela Sommerer vielen Dank für Freundschaft und Unterstützung, sowie dafür, dass sie den Lehrstuhllalltag lebenswerter gemacht haben.

Michaela Marschmann, Daniela Fitzka, Wei Wei, Olivia Fasold, Robin Kiefer und Tim Heidemann möchte ich für das entgegengebrachte Vertrauen und das außergewöhnliche Engagement im Team des GC-Labors danken.

Vielen Dank auch an meine Semester-, Studien- und Diplomarbeiter Sandra Geiger, Silvia Rudolph, Heiko Grimm, Olivia Fasold und Kathi Mauerer, sowie im Besonderen an Wolfgang Haubner, Ulrich Geier und Jack Teagle, deren Ergebnisse zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei der Erstellung dieser Arbeit wurden hochgerechnet 420 l Kaffee, eine vergleichbare Menge an Bier, einiges an Tabak sowie ein Schreibtischstuhl verbraucht. Herzlichen Dank an alle, die mir dabei Gesellschaft geleistet haben.

# Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	II
Inhaltsverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	X
Tabellenverzeichnis.....	XV
Abkürzungsverzeichnis .....	XIX
1 Einleitung .....	1
2 Grundlagen und Kenntnisstand .....	4
2.1 Instabilität des Biergeschmacks.....	4
2.2 Oxidative Prozesse als Ursache der sensorischen Veränderungen .....	8
2.3 Sauerstoffaktivierung und Kinetik der Oxidationsreaktionen.....	10
2.4 Antioxidantien und die antioxidative Strategie .....	18
2.5 Antioxidative Inhaltsstoffe des Bieres .....	22
2.5.1 Schwefeldioxid .....	22
2.5.2 Reduktone .....	25
2.5.3 Polyphenole.....	26
2.5.4 Reduzierende Maillardprodukte.....	34
2.5.5 Proteine.....	38
2.6 Parameter der Geschmacksstabilität und technologische Maßnahmen .	40
2.7 Aktuelle Problematik und Aufgabenstellung.....	41
3 Material und Methoden.....	47
3.1 Sensorische Bestimmung der Geschmacksstabilität des Bieres .....	47
3.2 Gaschromatographische Bestimmung von Aromastoffen .....	48
3.3 Nasschemische Bestimmung phenolischer Substanzen.....	50
3.3.1 Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung phenolischer Substanzen.....	51
3.4 Bestimmung des Redoxpotentials und des Reduktionsvermögens .....	52
3.4.1 Elektrochemische Bestimmung des Redoxpotentials.....	53
3.4.2 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels Redoxindikatoren .	54
3.4.2.1 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPI .....	55
3.4.2.2 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPPH .....	55

3.4.2.3	Weitere Methoden zur Bestimmung des Reduktionsvermögens .....	59
3.4.2.4	Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung des Reduktionsvermögens .....	59
3.4.3	Zusammenhang zwischen dem elektrochemischen Redoxpotential und dem Reduktionsvermögen.....	60
3.5	Bestimmung der chemischen Stabilität .....	60
3.5.1	Rahmenbedingungen der Alterung zur Bestimmung der chemischen Stabilität.....	61
3.5.2	Bestimmung repräsentativer Endprodukte der Oxidationsreaktionen.....	62
3.5.3	Bestimmung von reaktiven Sauerstoffspezies am ESR .....	62
3.5.4	Messung von Oxidationsreaktionen mittels Chemilumineszenz.....	65
3.6	Bestimmung der antioxidativen Aktivität .....	65
3.7	Bestimmung des Schwefeldioxid- (SO <sub>2</sub> -) Gehaltes.....	67
3.8	Weitere eingesetzte Analysenmethoden.....	68
4	Ergebnisse .....	70
4.1	Bedeutung der Gersten- und Malzqualität für die antioxidative Aktivität des Bieres.....	70
4.1.1	Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen bei der Mälzung.....	70
4.1.2	Einfluss der Gerstensorte und der Aufwuchsbedingungen beim Einmaischen.....	71
4.1.2.1	Bedeutung di- und trimerer Flavanoide.....	72
4.1.2.2	Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen in Abhängigkeit von Gerstensorte und -standort .....	72
4.1.2.3	Simulation von Einmaischprozessen am Chemilumineszenz-Detektor .....	73
4.1.2.4	Vereinbarkeit von Braueignung und antioxidativer Aktivität .....	75
4.1.2.5	Diskussion und Zusammenfassung .....	76
4.1.3	Beeinflussung des Reduktionsvermögens und der chemischen Stabilität der Würzen und Biere .....	77
4.1.3.1	Reduktionsvermögen und Radikalgenerierung der Würzen.....	78
4.1.3.2	Reduktionsvermögen der Biere.....	78
4.1.3.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	79

4.2	Antioxidative Aktivität von Bierinhaltsstoffen im Brauprozess .....	80
4.2.1	Untersuchung der antioxidativen Aktivität im Maischprozess .....	80
4.2.1.1	Technologische Einflussmöglichkeiten.....	80
4.2.1.2	Wirkung der Polyphenole .....	83
4.2.1.3	Wirkung der Melanoidine .....	85
4.2.1.4	Diskussion und Zusammenfassung .....	88
4.2.2	Untersuchung der antioxidativen Aktivität der Hopfengabe.....	89
4.2.2.1	Einfluss auf das Reduktionsvermögen und die chemische Stabilität von Würze und Bier.....	89
4.2.2.2	Kochversuche im halbertechnischen Maßstab.....	90
4.2.2.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	91
4.3	Antioxidative Aktivität von Bierinhaltsstoffen im Bier.....	92
4.3.1	Radikalgenerierung verschiedener Biersorten.....	92
4.3.2	Modellversuche .....	93
4.3.2.1	Ergebnisse des Tests von Einzelsubstanzen.....	95
4.3.2.2	Ergebnisse der Kombination von Einzelsubstanzen .....	100
4.3.2.3	Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung von Ascorbinsäure .	102
4.3.2.4	Diskussion und Zusammenfassung .....	104
4.4	Beeinflussung der antioxidativen Aktivität des Bieres durch Sauerstoffbelastungen .....	107
4.4.1	Verhalten der Polyphenole .....	107
4.4.1.1	Veränderung der Polyphenole unter Sauerstoffbelastung .....	108
4.4.1.2	Beeinflussung der Stabilität des Bieres durch Polyphenole ....	110
4.4.1.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	111
4.4.2	Beeinflussung der ESR-Analytik von Bier.....	112
4.4.2.1	Veränderung von Lagtime und Radikalgenerierung nach starker Sauerstoffbelastung .....	112
4.4.2.2	Veränderung von Lagtime und Radikalgenerierung bei einer natürlichen Alterung .....	113
4.4.2.3	Entwicklung eines Schnelltests .....	115
4.4.2.4	Diskussion und Zusammenfassung .....	116
4.4.3	Beeinflussung der ESR-Analytik von Biermischgetränken und malzbasierten alkoholfreien Getränken .....	117
4.4.3.1	Sauerstoffempfindlichkeit der Mischgetränke.....	117

4.4.3.2	Wirkung von Ascorbinsäure unter Sauerstoffbelastung .....	120
4.4.3.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	122
4.5	Natürliche Alterungsprozesse im Bier .....	123
4.5.1	Veränderungen der Sensorik.....	125
4.5.1.1	Bildung des Alterungsaromas .....	125
4.5.1.2	Verlust der biertypischen Aromaeindrücke.....	127
4.5.1.3	Veränderungen des Geschmacks.....	128
4.5.1.4	Abnahme der Bierqualität und Ausbildung des Alterungseindrucks .....	129
4.5.1.5	Korrelationen zwischen den sensorischen Attributen im Verlauf der Alterung .....	130
4.5.1.6	Diskussion und Zusammenfassung .....	132
4.5.2	Analytische Veränderungen .....	134
4.5.2.1	SO <sub>2</sub> , Lagtime und Radikalgenerierung.....	135
4.5.2.2	Gärungsnebenprodukte .....	136
4.5.2.3	Alterungsindikatoren .....	137
4.5.2.4	Diskussion und Zusammenfassung .....	139
4.6	Geschmacksstabilität des Bieres .....	141
4.6.1	Korrelationen von Analysenmerkmalen innerhalb der Würzen.....	142
4.6.1.1	Polyphenole, Reduktionsvermögen und thermische Belastung.....	143
4.6.1.2	Lagtime und Radikalgenerierung .....	144
4.6.1.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	145
4.6.2	Korrelationen von Analysenmerkmalen der Würzen zu den korrespondierenden Bieren .....	146
4.6.2.1	Polyphenolgehalte .....	146
4.6.2.2	Beeinflussung der chemischen und sensorischen Stabilität der Biere .....	146
4.6.2.3	Diskussion und Zusammenfassung .....	148
4.6.3	Korrelationen von Analysenmerkmalen der Biere zu deren chemischer und sensorischer Stabilität .....	150
4.6.3.1	Einfluss der Polyphenole.....	151
4.6.3.2	Einfluss des SO <sub>2</sub> -Gehalts und des Hefestamms.....	151
4.6.3.3	Bedeutung des Reduktionsvermögens .....	152



4.6.3.4	Beeinflussung der Sensorik durch Eisenionen.....	153
4.6.3.5	Zusammenhänge zur sensorischen Bewertung.....	153
4.6.3.6	Analytische Bestimmung und Vorhersage der Geschmacksstabilität .....	154
4.6.3.7	Bedeutung maskierender Effekte.....	154
4.6.3.8	Auswirkung der Stabilisierung.....	156
4.6.3.9	Diskussion und Zusammenfassung .....	157
5	Diskussion und Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen aller Versuche .....	161
5.1	Schlussfolgerungen zur Analytik der antioxidativen Aktivität und zur sensorischen Bestimmung der Geschmacksstabilität .....	162
5.1.1	Der Versuchsansatz zur Untersuchung von Reduktionsvermögen, antioxidativer Aktivität und Geschmacksstabilität .....	162
5.1.2	Sensorische Veränderungen im Verlauf der Alterung .....	164
5.1.3	Sensorische Bestimmung der Geschmacksstabilität.....	165
5.1.4	Analytische Beschreibung und Vorhersage des Alterungsprozesses .....	167
5.2	Schlussfolgerungen zur pro- und antioxidativen Wirkung von Bierinhaltsstoffen und zur Brautechnologie.....	168
5.2.1	Verhalten der Maillardprodukte .....	168
5.2.2	Verhalten der Polyphenole .....	170
5.2.3	Bedeutung der Thiole .....	173
5.2.4	Wirkung des Schwefeldioxid.....	174
5.2.5	Bedeutung von Metallionen für die Stabilität des Bieres .....	176
5.2.6	Einfluss des Reduktionsvermögens auf die chemische und sensorische Stabilität von Bier.....	177
5.2.7	Bedeutung maskierender Effekte .....	178
5.2.8	Relative Bedeutung redoxaktiver Inhaltsstoffe und Faktoren der Geschmacksstabilität.....	179
5.3	Verfeinerung des Verständnisses der bei der Alterung des Bieres relevanten Reaktionsprozesse und ihrer Kinetik: Ein Modell .....	184
5.3.1	Kinetik der Sauerstoffaktivierung.....	185
5.3.2	Differenzierte Ausprägung des Alterungsaromas durch an die Sauerstoffaktivierung gekoppelte Reaktionsmechanismen .....	190

6 Zusammenfassung.....	194
Literatur.....	196
Anhang.....	XV

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Veränderung des Aromaprofils von Bier im Verlauf der Alterung nach DALGLIESH.....	5
Abbildung 2: Chemisch – reduktive Sauerstoffaktivierung (vereinfacht): Die reaktiven Sauerstoffspezies mit ihren zugehörigen Redoxpotentialen. 11	
Abbildung 3: Die Sauerstoffaktivierung in Bier nach KANEDA et al. ....	13
Abbildung 4: Radikalgenerierung im oxidativen Forciertest von Bier. ....	18
Abbildung 5: Endiolstruktur der Reduktone, Oxidation des Endiols zum Dicarbonyl. ....	26
Abbildung 6: Flavangerüst der Flavonoide.....	27
Abbildung 7: Brautechnologisch relevante Stoffgruppen der Polyphenole.....	28
Abbildung 8: Stabilisierung des ungepaarten Elektrons bei der Oxidation von Phenolen.....	31
Abbildung 9: Redoxaktivität der SH-Gruppen. ....	39
Abbildung 10: Zusammenhang zwischen den Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung innerhalb eines Bieres bzw. einer Brauerei. ....	42
Abbildung 11: Zusammenhang zwischen den Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung beim Vergleich verschiedener Brauereien. ....	42
Abbildung 12: Zusammenhang zwischen dem Delta der Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung beim Vergleich verschiedener Brauereien....	43
Abbildung 13: Analytische Vorhersage der Geschmacksstabilität im Forciertest..	43
Abbildung 14: Kalibriergerade zur Bestimmung des Korrekturfaktors der DPPH-Messung. ....	57
Abbildung 15: Lagtime und Trap-Rate als Charakteristika der Radikalkettenreaktion im oxidativen Forciertest von Bier.....	64
Abbildung 16: Gegenüberstellung der destillativen SO <sub>2</sub> -Bestimmung (Lehrstuhl) und der Pararosanilin-Methode mittels Skalar. ....	68

Abbildung 17: Reduktionsvermögen (DPPH) von Gerste und Malz in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt.....	71
Abbildung 18: Gerbstoffgehalt von Malz in Abhängigkeit vom Standort und von der Sorte.....	72
Abbildung 19: Gerbstoffgehalt von Malzen in Abhängigkeit vom Eiweißlösungsgrad bei Standardvermälzung. ....	73
Abbildung 20: Oxidationsreaktionen beim Einmaischn in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt des Malzes. ....	74
Abbildung 21: Zusammenhang zwischen der Oxidationsneigung (Cl) und dem Gerbstoffgehalt des Malzes in Abhängigkeit von den Aufwuchsbedingungen der Gerste.....	74
Abbildung 22: Zusammenhang zwischen dem Extrakt- und dem Gerbstoffgehalt von Malz aus Gersten verschiedener Standorte. ....	75
Abbildung 23: Chemilumineszenzmessung im Verlauf eines Maischprogramm...	81
Abbildung 24: Chemilumineszenzsignale des Einmaischnversuchs.....	82
Abbildung 25: Radikalgenerierung der Biere PA, PB, VA und VB. ....	85
Abbildung 26: Wirkung dunkler Malze beim Einmaischn. ....	86
Abbildung 27: Einmaischnprozesse mit Pilsener Malz, 5% Schüttungsanteil der Fraktionen auf Basis des Münchener Malzes. ....	86
Abbildung 28: Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen in Abhängigkeit vom Reduktionsvermögen. ....	87
Abbildung 29: Radikalgenerierung unterschiedlicher Biersorten.....	92
Abbildung 30: Radikalgenerierung der Versuchsbiere 1 bis 3. ....	95
Abbildung 31: Radikalgenerierung im untersuchten Bier nach Zugabe von Cu <sup>2+</sup> sowie nach Zugabe von EDTA in unterschiedlichen Konzentrationen.....	99
Abbildung 32: Radikalgenerierung in Bier unter Zusatz von Ascorbinsäure. ....	103
Abbildung 33: Ausgewählte Analysenmerkmale im Verlauf der Alterung eines sauerstoffbelasteten Bieres.....	108

Abbildung 34: Radikalgenerierung in Bier A bei Alterung unter hoher Sauerstoffbelastung. ....	112
Abbildung 35: Radikalgenerierung in Bier B bei Alterung unter hoher Sauerstoffbelastung. ....	113
Abbildung 36: Die Veränderung der Lagtime im Verlauf der Alterung. ....	114
Abbildung 37: Die Veränderung der Radikalgenerierung im Verlauf der Alterung. ....	114
Abbildung 38: Die Sauerstoffempfindlichkeit von Bier. ....	118
Abbildung 39: Die Sauerstoffempfindlichkeit einer Malzlimonade.....	118
Abbildung 40: Die Sauerstoffempfindlichkeit eines Malzgetränkes.....	119
Abbildung 41: Die Sauerstoffempfindlichkeit eines Biermischgetränkes.....	119
Abbildung 42: Radikalgenerierung in Limonade unter Zusatz von Ascorbinsäure. ....	121
Abbildung 43: Radikalgenerierung in einem Malzgetränk unter Zusatz von Ascorbinsäure. ....	121
Abbildung 44: Verläufe der Alterungsaromen in den untersuchten Bieren. ....	126
Abbildung 45: Veränderung des Biergeschmacks im Verlauf der Alterung.....	128
Abbildung 46: Veränderung der Qualitätsnoten im Verlauf der Alterung. ....	129
Abbildung 47: Veränderung der Alterungsnoten im Verlauf der Alterung. ....	129
Abbildung 48: Veränderung der Alterungsakzeptanz im Verlauf der Alterung. ...	130
Abbildung 49: SO <sub>2</sub> -Gehalt der Biere im Verlauf der Alterung.....	135
Abbildung 50: Verlauf der Lagtime während der Alterung.....	135
Abbildung 51: Veränderung der Radikalgenerierung im Verlauf der Alterung.....	136
Abbildung 52: Verlauf der Sauerstoff- und Alterungsindikatoren bei der Lagerung. ....	138
Abbildung 53: Korrelation zwischen der Lagtime und dem Gehalt an Flavonoiden in Würze. ....	145
Abbildung 54: SO <sub>2</sub> -Gehalt der Biere in Abhängigkeit vom Hefestamm und von der Brauerei.....	152

Abbildung 55: Höhere Alkohole und Ester in den frischen und in den natürlich gealterten Bieren.....	155
Abbildung 56: Linaloolgehalt der frischen und der natürlich gealterten Biere. ....	156
Abbildung 57: Korrelation zwischen der Punktebewertung und der Sensorik.....	182
Abbildung 58: Reaktionskinetik der Sauerstoffaktivierung (I).....	185
Abbildung 59: Reaktionskinetik der Sauerstoffaktivierung (II).....	187
Abbildung 60: Reduktone als Motor der Fentonreaktion im Bier.....	188
Abbildung 61: An die Sauerstoffaktivierung gekoppelte Abbaumechanismen bei der Alterung des Bieres (Modell).....	193
Abbildung A_ 1: Vereinfachte Darstellung der Elektronenkonfigurationen in den Molekülorbitalen der Sauerstoffspezies. ....	XIX
Abbildung A_ 2: Formblatt der Alterungsprofilprüfung. ....	XXI
Abbildung A_ 3: Kalibriergerade (DPPH) für Gallussäure.....	XXIV
Abbildung A_ 4: Kalibriergerade (DPPH) für Trolox.....	XXIV
Abbildung A_ 5: Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen (DPI) und dem elektrochemischen Redoxpotential in verschiedenen Bieren. ...	XXV
Abbildung A_ 6: Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen in Abhängigkeit von der Röstmalzfraktion. ....	XXX
Abbildung A_ 7: Abbau von Epicatechin während der Alterung.....	XXXIV
Abbildung A_ 8: Abbau von p-Cumarsäure während der Alterung. ....	XXXV
Abbildung A_ 9: Veränderung der biertypischen Aromaeindrücke im Verlauf der Alterung.....	XLI
Abbildung A_ 10: Veränderung der Acetaldehydgehalte der Biere im Verlauf der Alterung.....	XLIII
Abbildung A_ 11: Veränderung der Summe der Ester (GNP) in den Bieren im Verlauf der Alterung. ....	XLIII
Abbildung A_ 12: Veränderung der Hopfenaromastoffe im Verlauf der Alterung. ....	XLIV
Abbildung A_ 13: Veränderung des Linaloolgehaltes im Verlauf der Alterung..	XLIV

Abbildung A_ 14: Screening von Malz: 7 Sorten, 4 Standorte. Gegenüberstellung der nasschemischen Analysen im Malzkaltauszug und der Bestimmung von Einzelsubstanzen mittels Lösungsmittlextraktion und HPLC-MS <sup>n</sup> .....	XLVII
Abbildung A_ 15: Geographische Lage der untersuchten Gerstenanbaugebiete. ....	XLVII
Abbildung A_ 16: Extrakt- und Proteingehalt der Malze in Abhängigkeit von den Aufwuchsbedingungen.....	XLVIII
Abbildung A_ 17: Reduktionsvermögen (DPI) der resultierenden Würze in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt des Malzes. ....	XLIX
Abbildung A_ 18: Radikalgenerierung in Würze in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt von Malz und Würze. ....	XLIX
Abbildung A_ 19: Marktanalyse: Gesamtpolyphenole und Anthocyanogene in Würze und Bier. ....	LXV
Abbildung A_ 20: Marktanalyse: Flavanoide und Tannoide in Würze und Bier..	LXV
Abbildung A_ 21: Marktanalyse: Die Lagtime der Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung. ....	LXIX
Abbildung A_ 22: Marktanalyse: Die Sauerstoffindikatoren nach forcierter Alterung der Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung. ....	LXIX
Abbildung A_ 23: Marktanalyse: Die sensorische Akzeptanz der natürlich gealterten Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung. ....	LXX

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Korrekturfaktoren der DPPH-Messung bei verschiedenen Probentypen. ....	57
Tabelle 2: Charakterisierung der Malze nach Standorten. ....	76
Tabelle 3: Analysenmerkmale und Versuchsmatrix beim Einmaischen. ....	81
Tabelle 4: Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen der Würzen und Biere. .	84
Tabelle 5: Reinsubstanzen und Stammlösungen. ....	94
Tabelle 6: Doppelbestimmungen des Vergleichsbieres. ....	94
Tabelle 7: Analysengenauigkeit im Experiment. ....	94
Tabelle 8: Veränderungen von Lagtime und Radikalgenerierung durch Zugabe der Reinsubstanzen. ....	96
Tabelle 9: Veränderungen von Lagtime und Radikalgenerierung bei kombinierter Zugabe. ....	100
Tabelle 10: Einfluss einer Ascorbinsäuregabe auf die Geschmacksstabilität von Bier. ....	104
Tabelle 11: Gehalte der ausgewählten phenolischen Substanzen im Versuchsbier und zugegebene Mengen. ....	109
Tabelle 12: Einfluss einer Wärmebehandlung (48 h) auf die Lagtime einer sauerstoffbelasteten Bierprobe. ....	116
Tabelle 13: Veränderung des Reduktionsvermögens der Proben unter Lufteinfluss bei Raumtemperatur. ....	118
Tabelle 14: Flavanoidgehalte bei Zugabe von Polyphenolen zum Bier. ....	143
Tabelle 15: Faktoren der Geschmacksstabilität. ....	181
Tabelle 16: Erreichte Punkte der Proben aus der Marktanalyse. ....	182
Tabelle A_ 1: Bei der Alterung des Bieres gebildete Aromastoffe nach Literaturangaben. ....	XV
Tabelle A_ 2: Biochemisch relevante Standardredoxpotentiale. ....	XX



Tabelle A_ 3: Elektrodenpotentiale zur Oxidation der funktionellen Gruppe.....	XX
Tabelle A_ 4: Elektrochemisches Redoxpotential in verschiedenen Bieren.....	XXVI
Tabelle A_ 5: Vergleich der Analysemethoden zur Bestimmung des Schwefeldioxidgehaltes. ....	XXVII
Tabelle A_ 6: Konzentrationen phenolischer Einzelsubstanzen. ....	XXVIII
Tabelle A_ 7: Parameter des Brauprozess. ....	XXVIII
Tabelle A_ 8: Analysenmerkmale des Malzes. ....	XXIX
Tabelle A_ 9: Analysenmerkmale der Würzen.....	XXIX
Tabelle A_ 10: Phenolische Einzelsubstanzen der Würzen und Biere. ....	XXIX
Tabelle A_ 11: Reduktionsvermögen und Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen. ....	XXX
Tabelle A_ 12: Einfluss der Hopfengabe auf die chemische Stabilität von Würze und Bier. ....	XXXI
Tabelle A_ 13: Einfluss der Hopfengabe auf Reduktionsvermögen, chemische Stabilität und Sensorik. ....	XXXII
Tabelle A_ 14: Lagtime und Radikalgenerierung im Sortiment einer Brauerei.	XXXII
Tabelle A_ 15: Versuchsmatrix der Zugabeversuche im Bier. ....	XXXIII
Tabelle A_ 16: Einfluss einer Polyphenolzugabe auf die chemische Stabilität (GC) und die Sensorik bei der Alterung von Bier.....	XXXIV
Tabelle A_ 17: Messpunkte und Temperatur im Lager. ....	XXXV
Tabelle A_ 18: Analysenmerkmale der zugehörigen Würzen. ....	XXXV
Tabelle A_ 19: Alterungsverläufe: SO <sub>2</sub> , Polyphenole und antioxidative Aktivität. ....	XXXVI
Tabelle A_ 20: Alterungsverläufe: Gaschromatographisch bestimmte Aromastoffe. ....	XXXVII
Tabelle A_ 21: Alterungsverläufe: Gaschromatographisch bestimmte Alterungsindikatoren. ....	XXXVIII
Tabelle A_ 22: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell A.....	XXXIX
Tabelle A_ 23: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell B.....	XXXIX

Tabelle A_ 24: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell B+O <sub>2</sub> .....	XL
Tabelle A_ 25: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Pils B. ....	XL
Tabelle A_ 26: Korrelationskoeffizienten sensorischer Attribute innerhalb der Alterungsverläufe.....	XLII
Tabelle A_ 27: Analysenmerkmale der Malze, Würzen und Biere aus den Gersten der Ernte 2003. ....	XLV
Tabelle A_ 28: Polyphenolgehalte im Brauprozess bei unstabilisierten Bieren; Korrelationskoeffizienten.....	XLVIII
Tabelle A_ 29: Marktanalyse: Analysenmerkmale der untersuchten Würzen.....	L
Tabelle A_ 30: Marktanalyse: Allgemeine Analysenmerkmale der frischen Biere.	LI
Tabelle A_ 31: Marktanalyse: Gärungsnebenprodukte der frischen Biere.....	LII
Tabelle A_ 32: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der frischen Biere.....	LIII
Tabelle A_ 33: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den frischen Bieren. ....	LV
Tabelle A_ 34: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den forciert gealterten Bieren. ....	LVI
Tabelle A_ 35: Marktanalyse: Gärungsnebenprodukte der natürlich gealterten Biere. ....	LVII
Tabelle A_ 36: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der natürlich gealterten Biere. ....	LVIII
Tabelle A_ 37: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den natürlich gealterten Bieren. ....	LX
Tabelle A_ 38: Marktanalyse: Veränderung der Indikatoren bei der Alterung.....	LXI
Tabelle A_ 39: Marktanalyse: Sensorische Bewertung der frischen und der gealterten Biere.....	LXII
Tabelle A_ 40: Marktanalyse: Korrelationskoeffizienten der Analysenmerkmale der untersuchten Würzen.....	LXIII
Tabelle A_ 41: Marktanalyse: SO <sub>2</sub> -Gehalt, chemische Stabilität (Reaktionskinetik) und Reduktionsvermögen der Biere in Abhängigkeit von der Würzequalität.....	LXIII

Tabelle A_ 42: Marktanalyse: Chemischen Stabilität (Aromastoffe) der Biere in Abhängigkeit von der Würzequalität. ....	LXIV
Tabelle A_ 43: Marktanalyse: Beeinflussung der sensorischen Stabilität der Biere durch die Würzequalität. ....	LXIV
Tabelle A_ 44: Marktanalyse: Korrelationskoeffizienten der Analysenmerkmale der Biere. ....	LXVI
Tabelle A_ 45: Marktanalyse: Klassifizierung der Stabilisierung nach Brauereiangaben. ....	LXVIII

## Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$	statistische Irrtumswahrscheinlichkeit
ABTS	Diammoniumsalz der 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonsäure (Redoxindikator)
AEVA	Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse
AfG	Alkoholfreie Getränke
AI	Alterungsindikatoren
Akz.	Alterungsakzeptanz (nach EICHHORN)
Alt.note	Alterungsnote (nach EICHHORN)
Anthos	Kurzform für Anthocyanogene (Analysenmethode nach MEBAK)
Asc., Ascsr.	Ascorbinsäure
AW	Ausschlagwürze
bzw.	beziehungsweise
C	Catechin
CA	Karamellmalz
Catechol	1,2-Dihydroxybenzene; zwei benachbarte OH-Gruppen an aromatischem Ring, einfachstes Polyphenol, funktionelle Struktureinheit vieler Polyphenole
Cl	Chemilumineszenz
$\Delta$	Delta, hier i.d.R. Differenz eines Analysenmerkmals zwischen der frischen (Vergleich) und einer gealterten Probe
Desferrol	Desferal, Deferoxamin-mesylat (Chelator)
d. h.	das heißt
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
DMS	Dimethylsufid
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Redoxindikator)
~ (DPPH)	mittels DPPH
DPI	2,6-Dichlorphenol-indophenol (Redoxindikator)
~ (DPI)	mittels DPI
EC	Epicatechin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure, Ethylendiamintetraacetat (Chelator)

ESR	Elektronenspinresonanz-Spektroskopie, Elektronenspinresonanz-Spektrometer
EtOH	Ethanol
EVG	Endvergärungsgrad
F(0/120)	Radikalgenerierung (ESR) im oxidativen Forciertest, Integral der relativen Response von 0 bis 120 min
FAN	Freier Amino-Stickstoff nach MEBAK
FD-Faktor	flavour dilution factor; Gewichtung des Aromabeitrags einer Substanz bei der AEVA
FID	Flammenionisations Detektor
F(LT/60)	Radikalgenerierung (ESR) im oxidativen Forciertest, Integral der relativen Response von der Lagtime (LT) bis zum Zeitpunkt LT + 60 min
FRAP	ferric reducing ability of plasma (Analysemethoden)
FS	Fettsäuren
G	Gallocatechin
GC	Gaschromatographie, Dimer Gallocatechin – Catechin
Gerbst.	Abkürzung für Gerbstoffe
Gerbstoffe	Synonym für die Methode der Gesamtpolyphenole nach MEBAK
Gesamt N	Proteingehalt nach MEBAK
~ getr.	~ Getränk
GNP	Gärungsnebenprodukte
GS	Geschmacksstabilität
GSH	Glutathion, reduzierte Form (SH-Gruppe)
HA	höhere Alkohole
HMT	Hexamethylentetramin
HRP	Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase); reduziert $H_2O_2$ zu Wasser unter Oxidation eines Cosubstrates
$H_2O_2$	Wasserstoffperoxid
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
i.d.R.	in der Regel
i. Tr.	in der Trockenmasse
Koag. N	Koagulierbarer Stickstoff nach MEBAK
KW	Kaltwürze

~ limo	~ limonade
LT	Lagtime, Induktionsphase der Radikalgenerierung
lösl. N	Analysenmethode des löslichen Stickstoffs nach MEBAK
~ mas.	~ -masse, Masse- ~
MEBAK	Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission
MM	Münchener Malz
MS	Massenspektroskopie
N	Stickstoff
n.	nach
n.a.	nicht auswertbar
n.b.	nicht bestimmt
n.n.	nicht nachweisbar
n, N	Anzahl, Probenumfang
NADH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid, reduzierte Form
NPD	Stickstoff-Phosphor-selektiver Detektor
n. EICHHORN	Standardmethode der Alterungsverkostung (Eichhorn 1991)
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
og	obergärig
-OH; OH-	OH-Gruppe, Hydroxygruppe, Hydroxylgruppe; funktionelle Gruppe der Alkohole und Phenole, auch in Zuckern und Carbonsäuren
org.	organisch
p	Dichte
P	Wahrscheinlichkeitsniveau, statistische Sicherheit (1 - $\alpha$ )
PBN	N-tert-Butyl- $\alpha$ -phenylnitrone (Spin-Trap Reagenz)
Phenol	Benzenol, eine OH-Gruppe an aromatischem Ring, einfachste phenolische Verbindung, funktionelle Struktureinheit vieler Polyphenole
PI	Polymerisationsindex (Polyphenole)
PM	Pilsener Malz
Precursor	Ausgangsstoff (chemisch)
Polyph. ges.	Methode der Gesamtpolyphenole nach MEBAK
Polys	Abkürzung für Polyphenole (allgemein)
Pr	Protein
ProC	Procyanidin

ProD	Prodelphinidin
PVP	Polyvinylpyrrolidon (eiweißähnliche Verbindung zur Bestimmung der Tannoide)
PVPP	Quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylpolypyrrolidon, Eiweißähnliches Stabilisierungsmittel für Bier und andere Getränke
R	Symbol für den ‚organischen Rest‘ in chemischen Formeln
r	Pearson’scher Korrelationskoeffizient
Redv.	Reduktionsvermögen
ROS	reaktive Sauerstoff-Spezies (reactive oxygen species)
SH	Sulfidgruppe (i.d.R. von Aminosäuren)
SI	Sauerstoffindikatoren
SO <sub>2</sub>	Schwefeldioxid, synonym verwendet für Sulfit
SOD	Superoxiddismutase
sog.	sogenannt
~ sr.	~ säure
Sulfit	HSO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , synonym verwendet für Schwefeldioxid
TBZ	Thiobarbitursäurezahl, Analysenmethode nach MEBAK
Temp	Temperatur
Tempol	TEMPOL, 4-hydroxy-TEMPO, Markenname für 4-Hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxyl
Tr.	Trockenmasse
ug	untergärig
vgl.	vergleiche
~ vol.	~ -volumen, Volumen- ~
WI	Wärmeindikatoren
z. B.	zum Beispiel
&	und
/	geteilt, beziehungsweise
[...]	Angabe der Einheit
•	verdeutlicht ein ungepaartes Elektron in chemischen Formeln
~	Platzhalter; in Tabellen: nicht bestimmt.
1:2	1 zu 2, 1 Teil + 2 Teile, entspricht 33,34 % der ersten Komponente in der Mischung, Verhältnisse werden absolut angegeben (relativ: 1:2 entspricht 1 von 2 = 50 %)

Definition der Summenbegriffe der gaschromatographischen Bestimmung von Aromastoffen:

Alterungsindikatoren (AI): 3-Methylbutanal, 2-Furfural, Methylfurfural, Benzaldehyd, 2-Phenylethanal, Bernsteinsäurediethylester, Phenyllessigsäureethylester, 2-Acetylfuran, 2-Propionylfuran,  $\gamma$ -Nonalacton.

Essigsäureester: Essigsäure-isobutylester, Essigsäure-Hexylester, Essigsäure-Heptylester, Essigsäure-Octylester, Essigsäure-Furfurylester, Essigsäure-2-Phenylethylester.

Ester (GNP): Ethylacetat, 2-Methylpropylacetat, Buttersäureethylester, 2-Methylbutylacetat, 3-Methylbutylacetat, Hexansäureethylester.

Fettsäureester (FS-Ester): Buttersäureethylester, Hexansäureethylester, Octansäureethylester, Decansäureethylester, in der Marktanalyse incl. Essigsäureester.

Höhere Alkohole (HA; ohne 2-Phenylethanol): 1-Propanol, 2-Methylpropanol, 2-Methylbutanol, 3-Methylbutanol.

Hopfenaromastoffe (ohne Linalool): Geraniol,  $\alpha$ -Terpineol, Caryophyllen, Nerol, Humulen; in der Marktanalyse incl. Linalool.

Lineare Alkohole: Hexanol, Heptanol, Octanol, Decanol.

Organische Säuren (Fettsäuren, FS): Isovaleriansäure, Hexansäure, Octansäure, Nonansäure, Decansäure, Dodecansäure.

Sauerstoffindikatoren (SI): 3-Methylbutanal, Benzaldehyd, 2-Phenylethanal.

Wärmeindikatoren (WI): 2-Furfural,  $\gamma$ -Nonalacton.



## 1 Einleitung

Durch die gegenwärtige Entwicklung des Verbraucherverhaltens werden an die Lebensmittelbetriebe zunehmend neue und höhere Anforderungen gestellt. Qualitativ hochwertige und möglichst naturbelassene Produkte ohne Zusätze und mit konstanter Qualität werden vom Verbraucher gewünscht. Erwartet wird dabei ein möglichst ausgedehnter Haltbarkeitszeitraum. Vor diesem Hintergrund stellt eine konstant hohe Bierqualität, unabhängig von der Charge und unabhängig vom Alter und Verkaufsort des Bieres, für die meisten Brauereien ein wesentliches Produktionsziel dar. Im Besonderen wird von den sogenannten Premiumbieren mit überregionaler Marktpräsenz verlangt, dass sie unabhängig vom Zeitpunkt der Abfüllung und unabhängig von den Distributionswegen vom Endkunden als wiedererkennbares Produkt mit konstanter Qualität wahrgenommen werden. Da sich die Bedingungen auf den immer länger werdenden Vertriebswegen (Temperatur, Mechanik, Zeit) durch die Brauereien nur schwer kontrollieren lassen, gewinnt die Stabilität des Biergeschmacks nach der Abfüllung als endogene Eigenschaft des Bieres immer größere Bedeutung.

Die Geschmacksstabilität ist auch für die Forschung ein höchst aktuelles Thema, das noch lange nicht umfassend aufgearbeitet ist. So gibt es inzwischen zwar zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen mit daraus resultierenden technologischen Empfehlungen zur Verbesserung der Geschmacksstabilität, die auch erfolgreich umgesetzt werden können. Bei genauerer Betrachtung zielen die meisten Verbesserungen aus heutiger Sicht allerdings in erster Linie auf eine Vermeidung von Fehlern ab. Beispiele hierfür sind die allgemein anerkannten Empfehlungen zur Minimierung von Sauerstoffeinträgen sowie zur Reduzierung der thermischen Belastung. Doch auch Biere von Brauereien mit nahezu optimaler Prozessführung können sich noch deutlich in ihrer Geschmacksstabilität unterscheiden. Viele der bekannten Empfehlungen fokussieren sich auch auf einzelne Parameter in einem isoliert betrachteten Prozessschritt. Die Bedeutung einer einzelnen Maßnahme kann vor dem Gesamtprozess bezüglich der Qualität des abgefüllten, gealterten Bieres oft nicht genau beurteilt werden. Zum Beispiel kann kaum abgeschätzt werden, wie stark sich die antioxidative Aktivität des Bieres im Vergleich zu anderen Einflussgrößen auf die Geschmacksstabilität

auswirkt. Entsprechend war zu Beginn dieser Untersuchungen noch relativ wenig darüber bekannt, durch welche Faktoren die Geschmacksstabilität, als endogene Eigenschaft des Bieres und unabhängig von technologischen Fehlern, in welchem Maße bedingt wird. Die bisherigen Erkenntnisse in diesem Untersuchungsfeld sind somit teilweise lückenhaft und von unsystematischer Natur. An diesem Punkt will diese Arbeit ansetzen und das Verständnis der Geschmacksstabilität mit Blick auf den gesamten Herstellungsprozess vertiefen.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss antioxidativer Substanzen auf die Geschmacksstabilität aufzuklären. Hierzu müssen auch die chemischen und sensorischen Veränderungen im Verlauf der Alterung des Bieres untersucht werden, um ein tiefergehendes Verständnis der bei der Alterung ablaufenden Prozesse zu erlangen. Es soll untersucht werden, auf welche analytischen Merkmale des Bieres die antioxidative Aktivität und die Geschmackstabilität zurückgeführt werden können, und welche technologischen Maßnahmen diese beeinflussen. Da sich die antioxidative Aktivität und die Geschmacksstabilität vermutlich nicht auf wenige Einfluss- und Kenngrößen zurückführen lassen, muss davon ausgegangen werden, dass man einen nahezu unüberschaubaren Pool an Merkmalen findet, die einzeln betrachtet meist nur unterschwellig oder in Verkettung mit anderen Faktoren eine Rolle spielen. Diese Abhängigkeiten sollen aufgeklärt und soweit wie möglich beschrieben werden. Im Idealfall ermöglichen die Ergebnisse eine Gewichtung der einzelnen Einflussgrößen und eine Benennung von empirischen, analytischen Risikofaktoren sowie von Faktoren die eine hohe Geschmacksstabilität erwarten lassen.

Der Ansatz dieser Arbeit legt den Fokus auf die Untersuchung der natürlich im Bier vorkommenden antioxidativen Inhaltsstoffe sowie die Wirkmechanismen der unterschiedlichen Inhaltsstoffe und Substanzgruppen. Dementsprechend wird sie sich auch mit der Chemie und Reaktionskinetik der Redoxreaktionen beschäftigen. Mögliche synergistische Effekte und Regenerationsmechanismen sollen ebenfalls untersucht werden. Die Ergebnisse sollen mit Erkenntnissen über die chemischen Prozesse im Verlauf der Alterung und mit empirisch ermittelten, analytischen Daten verschiedener Biere in Zusammenhang gebracht werden. Da die ‚wirkliche‘ Geschmacksstabilität letztendlich nur sensorisch bestimmt werden kann, wird sich

die vorliegende Arbeit außerdem auch stark mit der sensorischen Bewertung der Biere und mit seinen sensorischen Veränderungen bei der Alterung beschäftigen.

## 2 Grundlagen und Kenntnisstand

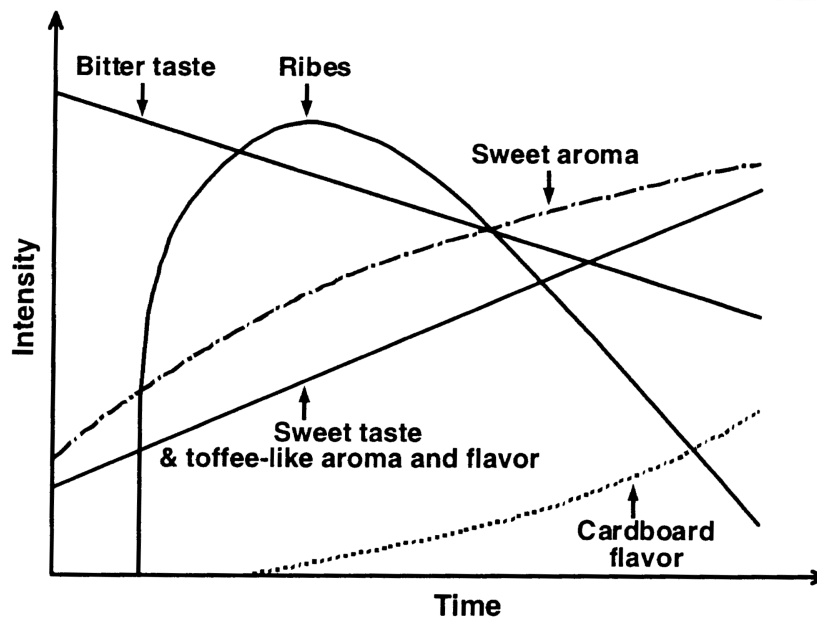
Zu Beginn der Arbeit herrschte reges Interesse an der Geschmacksstabilität des Bieres, so dass sich zahlreiche Forschungsarbeiten an unserem Institut als auch an anderen Instituten auf nationaler und internationaler Ebene mit diesem Thema beschäftigten. Die verschiedenen Arbeiten befruchteten sich gegenseitig, so dass das Verständnis der Geschmacksstabilität in den letzten Jahren einem ständigen Wandel unterworfen war. Insofern wurde auch diese Arbeit durch Ergebnisse anderer Autoren beeinflusst. Übernommene Ergebnisse und Daten sind als solche gekennzeichnet. Im Folgenden soll das Verständnis der Geschmacksstabilität zu Beginn der Arbeit, d.h. Ende 2004, als Ausgangssituation für die Untersuchungen umrissen werden.

### 2.1 Instabilität des Biergeschmacks

Der Geschmack und das Aroma des Bieres sind nicht stabil und ab dem Augenblick der Abfüllung fortwährenden Veränderungen unterworfen (Dalgliesh 1977; Narziß 2004). Dieser zeitabhängige Alterungsprozess beruht auf überwiegend chemischen Umsetzungen, die durch mechanische Beanspruchung (Schütteln beim Transport), Lichteinfluss, ggf. thermische Belastung durch unsachgemäße Lagerung, sowie durch minimale, unvermeidbare Sauerstoffeinträge bei und nach der Abfüllung ausgelöst werden (Narziß 2004). Die zahlreichen, im Verlauf der Alterung des Bieres ablaufenden, chemischen Umsetzungen wurden kürzlich von VANDERHAEGEN et al. zusammengefasst (Vanderhaegen et al. 2006) und sollen hier noch einmal kurz umrissen werden.

Im Verlauf der Alterung werden zahlreiche neue Aromastoffe gebildet und das Alterungsaroma prägt sich aus. Da Substanzen ständig neu gebildet, wieder abgebaut oder zu Folgeprodukten umgebaut werden, ist auch das Alterungsaroma einem ständigen Wandel unterworfen (Drost et al. 1971; Meilgaard 1972; Dalgliesh 1977; Eichhorn 1991; Lustig 1994). Im Verlauf der Alterung entstehen dabei zuerst beerenartige, süßliche (würze- und honigartige) und pappdeckelartige („cardboard-flavour“) Aromaeindrücke, gefolgt von brot- und toffee- und

karamellartigen sowie brenzligen, bei dunklen Bieren auch rauchigen, erdigen, kartoffel- und nussartigen (Preuß 2001) sowie bohnenartigen Aromen. Als Endstadium wird ein intensiver sherryartiger Aromaeindruck festgestellt. Dieser Prozess wurde erstmalig von DALGLIESH umfassend beschrieben (vgl. Abbildung 1; (Dalgliesh 1977)).



**Abbildung 1: Veränderung des Aromaprofils von Bier im Verlauf der Alterung nach DALGLIESH (Dalgliesh 1977).**

Für die Ausbildung des Alterungsaromas werden vor allem Carbonyle verantwortlich gemacht, die auf zahlreichen, bis heute nicht vollständig aufgeklärten Reaktionswegen durch überwiegend oxidative Prozesse gebildet werden (Hashimoto 1966; Meilgaard et al. 1970; Meilgaard and Moya 1970; Hashimoto 1972; Meilgaard 1972; Drost et al. 1974; Hashimoto and Eshima 1977; Tressl et al. 1979; Hashimoto 1981; Lustig 1994; Walters 1997; Vanderhaegen et al. 2006).

Des Weiteren treten in gealterten Bieren, je nach Art des Bieres und der Lagerungsbedingungen, Alterungskomponenten aus anderen Substanzgruppen auf: Dioxolane (Cyclische Acetale) (Vanderhaegen et al. 2003), heterocyclische Substanzen, darunter heterocyclische Carbonyle, Furane und Furanone (Lustig et al. 1993), Pyrazine (Qureshi et al. 1979; Gijs et al. 2002), Ester und Lactone

(Bohmann 1985; Eichhorn et al. 1989; Lustig et al. 1993; Gijs et al. 2002) sowie schwefelhaltige Substanzen (Tressl et al. 1980; Schieberle 1991; Gijs et al. 2002).

Die Alterungsaromastoffe mit ihren zugehörigen Aromaeindrücken und Bildungsmechanismen sind noch einmal im Anhang in Tabelle A\_ 1 anhand von Literaturangaben (Kamimura and Kaneda; Hashimoto 1981; Narziß et al. 1985; Eichhorn 1991; Schieberle 1991; Lustig 1994; Rychlik et al. 1998; Belitz et al. 2001; Gijs et al. 2002; Schieberle and Komarek 2003; Guyot-Declerck et al. 2005; Vanderhaegen et al. 2006; Vanderhaegen et al. 2007; Saison et al. 2009) sowie der Erfahrung aus der analytischen Arbeit des gaschromatographischen Labors in Weihenstephan (Lehrstuhl für Technologie der Brauerei 1) zusammengestellt worden. Eine Zusammenfassung identifizierter Bieraromastoffe inklusive der zugehörigen Retentionsindices nach KOVATS (KOVATS 1958) findet sich bei LUSTIG (Lustig 1994). Eine Übersicht der Veränderung (Zunahme, Abnahme, ohne Veränderung) von 104 Bieraromastoffen bei der Alterung, ebenfalls unter Angabe der KOVATS-Indices findet sich bei VANDERHAEGEN und DERDELINCKX (Vanderhaegen and Derdelinckx 2005).

Obwohl die meisten Aromastoffe auch in sehr altem Bier ihre Geschmacksschwellen nicht überschreiten, wurde die Möglichkeit eines Aromabeitrags auf Basis kombinatorischer Effekte inzwischen nachgewiesen (Herrmann 2008; Herrmann and Back 2008).

Neben der Ausbildung des Alterungsaromas wird auch von einem Verlust des biertypischen Aromaprofils (Hopfencharakter, estrige Note, ggf. phenolische Note, Malzaroma), einer Veränderung der Bittere, einem Verlust an Vollmundigkeit und einer Zunahme der Farbe berichtet (Lewis et al. 1974; Dalgliesh 1977; Miedaner et al. 1977; Miedaner et al. 1991; Lustig 1994; Narziß 2004). Der direkte, oxidative Abbau von Aromastoffen trägt zum Verlust des biertypischen Aromas bei. Die Veränderung der Geschmacksharmonie des Bieres wird durch oxidative Änderungen des Hydratationsgrades der Bierkolloide hervorgerufen. Es tritt eine breite, eiweißbedingte Bittere auf und die Vollmundigkeit geht verloren. Die Stabilität des Geschmacks korreliert dabei mit der kolloidalen (Trübungs-) Stabilität des Bieres (Narziß 2004).

Die Abnahme der feinen Bittere ist auf den Abbau der Iso- $\alpha$ -Säuren zurückzuführen, wobei sich auch das *cis-trans*-Verhältnis verschiebt (Walters et al. 1997b; King and Duineveld 1999; De Cooman et al. 2000; Araki et al. 2002). Weitere leicht abbaubare Inhaltsstoffe sind die Polyphenole, deren Polymerisierung durch Oxidation für das Auftreten einer harten, breiten und nachhängenden Bittere, sowie einer unangenehmen Adstringenz verantwortlich gemacht wird (Lea and Arnold 1978; Kaneda et al. 1990; McMurrrough et al. 1996; McMurrrough et al. 1997).

Somit ist die Alterung des Bieres von zwei grundlegenden Prozessen geprägt: Einerseits von der Ausbildung des Alterungsaromas und andererseits vom Verlust positiver und biertypischer Mundgefühls-, Geschmacks- und Aromaeindrücke.

In dieser Tatsache sieht man auch eine Ursache für beobachtete Abweichungen zwischen der Analytik der Alterungsaromastoffe und der sensorisch feststellbaren Geschmacksstabilität begründet: Zu Beginn der Alterung können positive Aromaeindrücke das entstehende Alterungsaroma maskieren und somit die Geschmacksstabilität erhalten (Schneeberger 2006; Thiele 2006; Vanderhaegen et al. 2006; Back 2008).

In der Literatur wird meist nicht eindeutig zwischen den Begriffen Aroma und Geschmack differenziert. Viele Autoren beschreiben z. B. die Stabilität des Geschmacks analytisch mittels Veränderungen des Aromas. In dieser Arbeit ist eine klare Unterscheidung zwischen den beiden unterschiedlichen Wahrnehmungen unerlässlich. Mit dem Begriff Aroma ist der Sinneseindruck gemeint, der durch die nasale Wahrnehmung flüchtiger Substanzen entsteht. Der Geschmack bezeichnet dagegen den Sinneseindruck, der durch Wahrnehmungen im Mundraum, d.h. vor allem durch die Grundgeschmacksarten und das Mundgefühl, zustande kommt. Da der Begriff der ‚Geschmacksstabilität‘ bereits etabliert ist, soll er eine Ausnahme bilden und sich in dieser Arbeit auf das Aroma und auf den Geschmack beziehen.

## 2.2 Oxidative Prozesse als Ursache der sensorischen Veränderungen

Als Ursache der Ausbildung des Alterungsaromas wurden aufgrund der Art der nachweisbaren Reaktionsprodukte und aufgrund der Verminderung ihrer Bildung bei Ausschluss von Luft bzw. Sauerstoff seit Beginn der Untersuchungen überwiegend oxidative Prozesse verantwortlich gemacht (Hashimoto 1972; Meilgaard 1972; Chapon and Louis 1974; Hashimoto and Eshima 1977; Tressl et al. 1979; Bamforth and Parsons 1985; Narziß 1986; Irwin et al. 1991; Bamforth et al. 1993; Narziss et al. 1993; Lustig 1994; Uchida and Ono 1996; Walters 1997; Kaukovirta-Norja et al. 2003).

Die beteiligten Reaktionsmechanismen sind neben der möglichen direkten Oxidation sämtlicher Bierinhaltsstoffe durch molekularen Sauerstoff unter anderem die Maillardreaktion<sup>1</sup>, der Streckerabbau von Aminosäuren, die enzymatische, autoxidative und photoinduzierte Lipidoxidation, der oxidative Abbau von Isohumulonen, die weitere Oxidation von Aldehyden und Ketonen, die Aldolkondensation, die Acetalbildung von Aldehyden, die Kondensation von Alkoholen und die Hydrolyse von Estern (Kamimura and Kaneda; Drost et al. 1971; Blockmans et al. 1975; Hashimoto and Eshima 1979; Kaneda et al. 1989; Lustig 1994; Thum et al. 1995; Belitz et al. 2001; Narziß 2004).

Mit einem oxidativen Prozess ist hier in chemischem Sinne jede Reaktion, die Elektronenübergänge und damit eine Änderung der Oxidationsstufe einer Verbindung bedingt, gemeint. Nach dieser Definition handelt es sich bei fast jeder im Verlauf der Alterung auftretenden Umsetzung um eine Oxidationsreaktion. Es muss davon ausgegangen werden, dass sämtliche oxidativen Prozesse der Alterung durch das Redoxpotential des Bieres beeinflusst werden.

---

<sup>1</sup> Maillardprodukte tragen bekanntermaßen maßgeblich zum Aroma der meisten verarbeiteten Lebensmittel bei. Bezüglich ihrer Bedeutung für die Alterung des Bieres gibt es allerdings kaum Untersuchungen (Vanderhaegen et al. 2006). In Versuchen mit Modelllösungen konnten unzählige Reaktionsprodukte festgestellt werden. Im Bier bleiben die bekannten Einzelsubstanzen allerdings unter ihrer Geschmacksschwelle. Süßliche, brotartige, und weinartige Alterungsaromen konnten inzwischen auf Maillardprodukte zurückgeführt werden (Bravo et al. 2001).



Nach den Grundsätzen der Thermodynamik strebt jedes abgeschlossene System einen Zustand maximaler Entropie und minimaler Enthalpie (maximale Unordnung und minimale Energie) an. Das fertige Bier kann vor der Abfüllung als geschlossenes System betrachtet werden. Durch die Sauerstoffeinträge bei der Abfüllung und durch Diffusion von Sauerstoff durch den Kronkorken wird das vorhandene Gleichgewicht gestört. Die Reduktion des eingedrungenen Sauerstoffs durch Reduktone (vgl. 2.3) ist eine exergonische Reaktion und läuft spontan ab. Somit wurde durch den Sauerstoffeintrag vereinfacht formuliert Energie ins System eingebracht. Das System ‚Bierflasche‘ versucht daraufhin wieder ins thermodynamische Gleichgewicht zu gelangen, wobei zahlreiche chemische Reaktionen ausgelöst werden.

Die starke Wirkung des eingedrungenen Sauerstoffs äußert sich in der Praxis beispielsweise in der allgemein höheren Haltbarkeit von Fassbier (geringe Sauerstoffbelastung) gegenüber Flaschenbier.

Neben der Ausbildung des Alterungsaromas werden, wie bereits oben beschrieben, weitere Veränderungen der Bierqualität durch oxidative Prozesse ausgelöst (Narziß 2004). Oxidationsreaktionen zeigen dabei nicht erst im fertigen Bier negative Auswirkungen. Oxidationsprozesse im Sudhaus wirken sich negativ auf den weiteren Brauprozess bis hin zur Qualität des fertigen Bieres aus (Ohtsu et al. 1983; Narziss et al. 1985; Narziss et al. 1986; Narziss et al. 1989): Die Oxidation der Maische führt beispielsweise zu einer verminderten Reduktionskraft der Würze, zu einem Verlust an Anthocyanogenen und koagulierbarem Stickstoff, zu einer höheren Viskosität, zu einer Behinderung der Amylolyse sowie zu einer schlechteren Abläuterung und Klärung. Die resultierenden Biere weisen eine unangenehme Bittere, erhöhte Farbe, eine verminderte chemisch-physikalische Stabilität sowie schlechtere sensorische Eigenschaften auf.

Hierbei ist bereits der Sauerstoffeintrag beim Einmaischen relevant. Er korreliert mit einem verminderten Tannoidgehalt der Würze und einem verstärkten Alterungsaroma der resultierenden, gealterten Biere (Narziss et al. 1986).

Wenngleich auch nicht-oxidative Ursachen für die Ausbildung des Alterungsaromas in der Diskussion sind (Bamforth 1999), liegt es auf der Hand, dass einem Großteil der chemischen und chemisch – physikalischen Veränderungen des Bieres im Verlauf der Alterung oxidative Ursachen zugrunde

liegen. Allerdings setzen nicht sämtliche oxidativen Prozesse das Vorhandensein von molekularem Sauerstoff voraus. Anscheinend reichen bereits kleinste unvermeidliche Sauerstoffeinträge bei der Abfüllung dazu aus, den Alterungsprozess durch zahlreiche Folgereaktionen auszulösen.

Dementsprechend beziehen sich die meisten der aktuell diskutierten Maßnahmen zur Verbesserung der Geschmacksstabilität auf eine Vermeidung oder Einschränkung der oxidativen Prozesse (Walters 1997; Andersen et al. 2000; Narziß 2004; Back 2008). Hierzu werden diverse Maßnahmen vorgeschlagen: Der Eintrag von Luftsauerstoff in das Produkt ist im Kaltbereich, bei der Abfüllung und im Verkaufsgebilde soweit wie möglich zu unterbinden. Die Bildung von Carbonylen und ihrer Precursoren soll durch die Auswahl geeigneter Rohstoffqualitäten und einer geeigneten Prozessführung so weit wie möglich reduziert werden. Hierzu zählen niedrig gelöste Malze mit möglichst geringen Eiweißgehalten, die Berücksichtigung der Enzymoptima im Maischprozess und die Vermeidung von oxidativen und thermischen Schädigungen der Maische und Würze im Sudhaus. Schließlich sollen die Oxidationsreaktionen im Brauprozess und im Bier durch eine weitest gehende Schonung und Anreicherung natürlich enthaltener (endogener) antioxidativer Inhaltsstoffe gehemmt werden.

### **2.3 Sauerstoffaktivierung und Kinetik der Oxidationsreaktionen**

Die ersten Reaktionsschritte der Oxidationsreaktionen des Alterungsprozesses werden nach aktuellem Wissensstand durch aktivierten Sauerstoff in Form von Radikalen induziert (Bamforth and Parsons 1985; Elstner 1990), was in Bier erstmals von KANEDA et al. mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie nachgewiesen wurde (Kaneda et al. 1988).

Der in seinem Grundzustand stabile und unreaktive Sauerstoff wird bei der Aktivierung in angeregte, reaktive, meist radikalische Formen überführt (Abbildung 2)<sup>2</sup> (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Die reaktivste, dabei

---

<sup>2</sup> Aus Gründen der Vereinfachung und Übersichtlichkeit werden Reaktionsgleichungen in dieser Arbeit nur dann stöchiometrisch ausformuliert, wenn dies für das Verständnis der diskutierten Abläufe unerlässlich ist. Die Pfeile in Abbildung 2 sind als schematische Darstellung einer Reaktionsfolge und nicht als Reaktionspfeile aufzufassen.

entstehende Spezies, ist das Hydroxylradikal (OH-Radikal) (Kaneda et al. 1988; Elstner 1990; Uchida and Ono 1996; Andersen and Skibsted 1998). Aufgrund der Tatsache, dass Ethanol im Bier den höchstkonzentrierten organischen Inhaltsstoff darstellt, ergibt sich aus statistischen Überlegungen, dass das Hydroxylradikal in einem ersten Schritt überwiegend den Ethanol angreift, wobei das Hydroxyethylradikal gebildet wird (Andersen and Skibsted 1998).

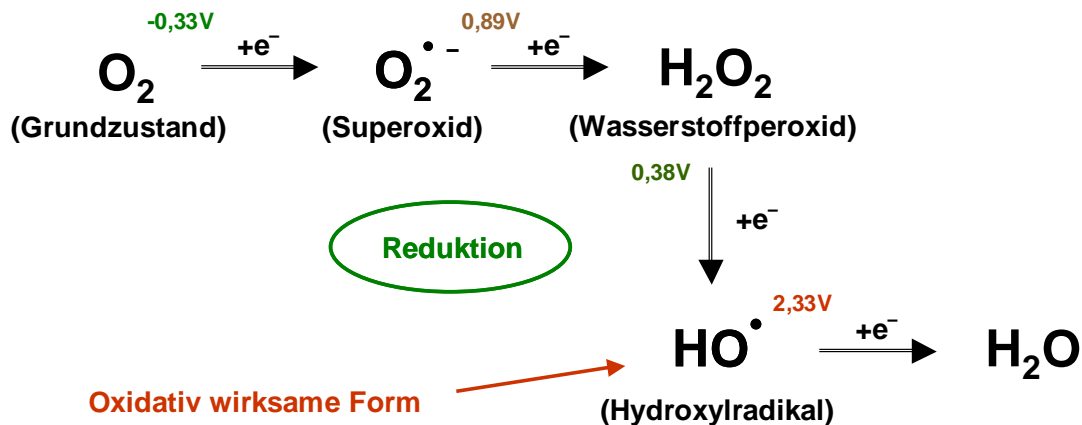


Abbildung 2: Chemisch – reduktive Sauerstoffaktivierung (vereinfacht): Die reaktiven Sauerstoffspezies mit ihren zugehörigen Redoxpotentialen.

Sauerstoff weist im Grundzustand, seiner energetisch günstigsten Form, eine Besonderheit auf: Molekularer Sauerstoff liegt nicht wie die meisten Substanzen im Singulett- sondern im Tripletzustand vor. Im Tripletzustand liegen im  $\pi^*$  – Niveau zwei ungepaarte Elektronen mit parallelem Spin in zwei unterschiedlichen Orbitalen der 2p-Schale vor. Um mit einer anderen Substanz reagieren zu können, müsste diese ebenfalls ein Elektronenpaar mit parallelem Spin aufweisen. Aufgrund des Pauliprinzips besitzen Elektronen im Singulettzustand, und damit in sämtlichen organischen Verbindungen, gegenläufigen Spin, so dass eine direkte Reaktion mit molekularem Sauerstoff im Grundzustand nicht möglich ist. Um überhaupt reagieren zu können, muss der Sauerstoff aktiviert werden, d.h. die Elektronenkonfiguration des 2p-Orbitals muss verändert werden.

Die Aktivierung kann physikalisch durch Licht (-> Singulett- $\text{O}_2$ ) oder chemisch endergonisch durch Elektronenabgabe (Reduktion) erfolgen. Im letzteren Fall entsteht als erste reaktive Spezies das Superoxidradikalanion ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ). Durch weitere, von nun an exergonische Reduktionsreaktionen werden Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) und schließlich das Hydroxylradikal ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) gebildet.

Das Hydroxylradikal stellt mit seinem Redoxpotential von + 2,33 V die mit Abstand reaktivste und am stärksten oxidierend wirkende Spezies dar. Man kann davon ausgehen, dass es sämtliche organische Substanzen spontan oxidiert (Fenton 1894; Haber and Weiss 1932; Elstner 1990; Halliwell et al. 1995; Halliwell and Gutteridge 2007).

Aufgrund des reduktiven Charakters der Reaktionsfolge (bis zum Hydroxylradikal werden drei Elektronen abgegeben) spricht man auch von der chemisch – reduktiven Sauerstoffaktivierung. Bedeutsam für diese Arbeit ist, dass bis auf den ersten Umwandlungsschritt sämtliche weiteren Schritte spontan ablaufen bzw. keine Energie benötigen, dass die Aktivierung ein reduktiver Vorgang ist und somit Reduktionsäquivalente von Reaktionspartnern benötigt und dass sämtliche Sauerstoffspezies mit Ausnahme des Tripletsauerstoff im Grundzustand reaktiv sind. Sie werden deshalb auch als ROS (reactive oxygen species) bezeichnet. Die Redoxpotentiale der verschiedenen Sauerstoffspezies sind in Abbildung 2 angegeben. Die Elektronenkonfigurationen der verschiedenen Sauerstoffspezies sind im Anhang in Abbildung A\_ 1 dargestellt.

In der Brautechnologie werden als Reaktionsmechanismen vor allem die Fenton- und die Haber-Weiß-Reaktion für die Bildung des Hydroxylradikals verantwortlich gemacht (Bamforth and Parsons 1985; Irwin et al. 1991; Uchida and Ono 1996; Kaneda et al. 1999; Back 2008). Man geht davon aus, dass die Aktivierungsschritte des Sauerstoffs durch Metallionen katalysiert werden. Abbildung 3 zeigt die Reaktionsfolge der reduktiven Sauerstoffaktivierung, wie sie für das Bier vorgeschlagen wird (Kaneda et al. 1999).

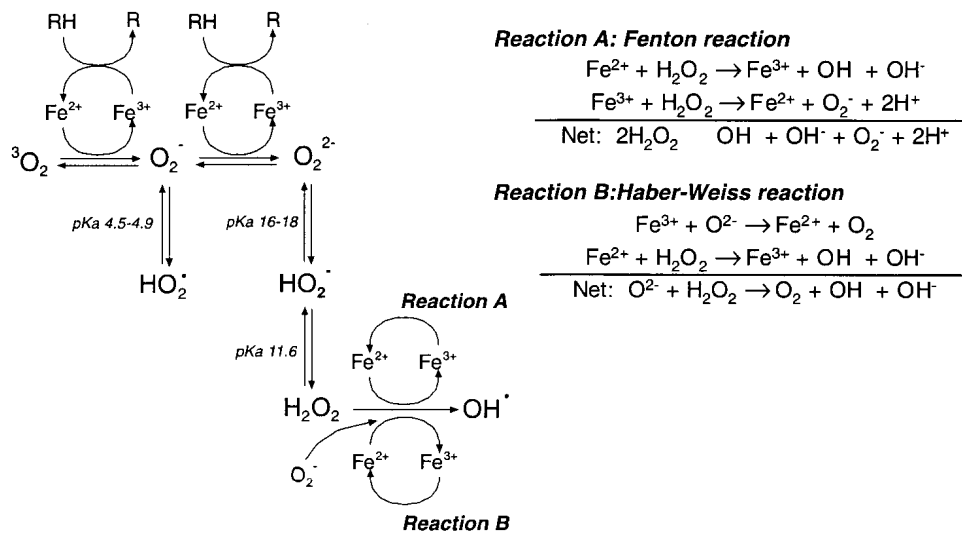


Abbildung 3: Die Sauerstoffaktivierung in Bier nach KANEDA et al. (Kaneda et al. 1999).

Die reaktiven Sauerstoffspezies sind in der Lage, nahezu sämtliche organischen Bierinhaltsstoffe zu oxidieren, wie man anhand der Redoxpotentiale nach HALLIWELL und GUTTERIDGE und der Elektrodenpotentiale für die Oxidation funktioneller Gruppen organischer Stoffe nach RIFI UND COVITZ in Tabelle A\_ 2 und Tabelle A\_ 3 im Anhang erkennen kann. Nach einer Zusammenstellung von GALATI et al. liegen die Redoxpotentiale für den Ein-Elektronenübergang von Polyphenolen im Bereich zwischen 0,1 und 0,6 V (Galati et al. 2002). Polyphenole mit Catechol-B-Ring weisen dabei niedrigere Redoxpotentiale auf als die entsprechenden Substanzen mit Phenol-B-Ring. Es gilt: Das Redoxpaar mit dem jeweils höheren Potential wird reduziert, das mit dem niedrigeren Potenzial oxidiert. Als reaktiv gelten grundsätzlich Substanzen mit hohem Standardpotential und niedriger Aktivierungsenergie (Frédéric 1997). Der Redoxstatus des Bieres als endogene Eigenschaft (Summengröße) wird nach OHTSU et al. bereits beim Maischen und Kochen festgelegt (Ohtsu et al. 1983). Von den Standardredoxpotentialen kann allerdings nicht direkt auf die Reaktionsgeschwindigkeiten geschlossen werden. Das tatsächliche Redoxpotential wird anhand der Nernst'schen Gleichung durch den pH-Wert und die Konzentrationen der Reaktionspartner festgelegt, und macht nur eine Aussage darüber, ob eine Reaktion grundsätzlich möglich ist (Halliwell and Gutteridge 2007). Die resultierende Reaktionsgeschwindigkeit, und damit die Relevanz einer bestimmten Reaktion für den Alterungsprozess, hängt von weiteren Einflussgrößen wie der Temperatur, der Aktivierungsenergie, der Reaktionsenthalpie, der

Bindungsenergie, der Affinität der Reaktionspartner zueinander, den Löslichkeiten, dem Vorhandensein von Katalyten und Enzymen und wiederum dem pH-Wert (protonierte oder dissoziierte Form) ab.

Wegen unterschiedlicher Aktivierungsenergien nehmen die Reaktionsraten verschiedener chemischer Umsetzungen auf einem bestimmten Temperaturniveau mit einer Temperaturerhöhung nicht in gleichem Maße zu. Aus diesem Grund werden bei unterschiedlichen Temperaturen vermutlich verschiedene Aromaprofile ausgebildet. Erste Hinweise dazu finden sich bei KANEDA et al. und bei FURUSHO et al. (Kaneda et al. 1995a; Furusho et al. 1999).

Im Folgenden werden die einzelnen Reaktionsschritte der Sauerstoffaktivierung noch einmal genauer und in Bezug auf die im Brauprozess und im Bier vorliegenden Milieubedingungen anhand von Abbildung 2 erklärt.

Die Sauerstoffaktivierung zum Wasserstoffperoxid und die Oxidation von Inhaltsstoffen läuft beim Maischen enzymatisch ab (Ohtsu et al. 1983). Die meisten relevanten Enzyme sind in der Maische noch aktiv (Veselov and Levacheva 1954; Bamforth 1983; Elstner 1990; Billaud and Nicolas 2001; Boivin 2001; Narziß 2004; Liu and Lu 2005): Aus dem Malz werden Oxidasen und Peroxidasen (POD) wie zum Beispiel Polyphenoloxidasen und Lipoxygenasen in den Prozess eingebracht. Die Aktivitäten steigen mit intensiverer Mälzung und sinken mit steigender Abdarrtemperatur (Narziß 2004). Die Temperaturoptima der Peroxidasen liegen bei 40 – 50 °C und die der Polyphenoloxidasen bei 60 – 65 °C. Die Enzyme reduzieren den Sauerstoff mittels der Oxidation von Cosubstraten, wie z.B. Polyphenolen. Bei diesen enzymatischen Reaktionen können reaktive Sauerstoffspezies sowohl verbraucht als auch neu gebildet werden (Elstner 1990; Andersen and Skibsted 1998; Galati et al. 2002; Sakihama et al. 2002; Halliwell and Gutteridge 2007). Superoxiddismutase (SOD) katalysiert parallel dazu die Bildung von Wasserstoffperoxid aus Superoxid. Eine Eliminierung des Wasserstoffperoxids (Entgiftungsfunktion der Pflanze) findet mittels Katalase oder unter Oxidation von Cosubstraten durch Peroxidasen statt. Ein typisches Beispiel für die Umwandlung von Cosubstraten in dieser Reaktionsfolge stellt die enzymatische Bräunung dar, bei der Phenole zu Semichinonen und in einem weiteren Schritt zu Chinonen oxidiert werden. In Folgereaktionen können aus den

Chinonen Melanine gebildet werden. Bei der enzymatischen Reaktion werden Inhaltsstoffe als Cosubstrate also bereits bei der Aktivierung des Sauerstoffs oxidiert. Die Enzyme werden durch Hitze weitgehend zerstört und sind im fertigen Bier nicht mehr nachweisbar (Veselov and Levacheva 1954; Bamforth 1983; Billaud and Nicolas 2001; Boivin 2001; Narziß 2004; Liu and Lu 2005).

Für die nicht-enzymatischen Oxidationsreaktionen in der Würze und im Bier scheidet molekularer Sauerstoff aufgrund der Spinrestriktion aus. Die lichtinduzierte Bildung von Singulett-Sauerstoff soll hier ebenfalls nicht berücksichtigt werden, da sie sich einfach durch geeignete Gebinde und Lagerungsbedingungen unterbinden lässt.

Der Reaktion des Tripletsauerstoffs zum Superoxidradikalanion ( $O_2^{\bullet-}$ ) kommt bei der nicht-enzymatischen Reaktion (in Würze und Bier) möglicherweise besondere Bedeutung zu, da sie den ersten Schritt der Reaktionskette darstellt, nicht spontan abläuft, und somit für die gesamte Reaktionsfolge geschwindigkeitsbestimmend sein kann. Die Reaktion zum Superoxid stellt den einzigen endergonischen Reaktionsschritt dar (Elstner 1990). Wegen des negativen Redoxstandardpotentials (-0,33 V) wird ein relativ starkes reduzierende Agens benötigt (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Bei der Würzekochung und im fertigen Bier scheint die Reaktion durch Metallionen (Cu und Fe; niedrige Redoxpotentiale) und Reduktone katalysiert zu werden (Ohtsu et al. 1983; Irwin et al. 1991; Kaneda et al. 1999; Sakihama et al. 2002). Entsprechend wird vorhandener Sauerstoff bei der Würzekochung durch Melanoidine und Polyphenole aufgenommen (Ohtsu et al. 1983).

Das entstehende Superoxid ist nukleophil und somit Ausgangssubstanz für zahlreiche Reaktionen, wie zum Beispiel die direkte Oxidation von Phenolen (ohne Beteiligung von Metallionen) bei der wiederum Superoxid oder Wasserstoffperoxid gebildet werden (Elstner 1990; Andersen and Skibsted 1998; Sakihama et al. 2002; Halliwell and Gutteridge 2007). Superoxid kann sowohl oxidativ als auch reduktiv wirken und reagiert gewöhnlich durch Addition an Doppelbindungen oder durch die Abstraktion labiler Wasserstoffatome. Die Dismutation des Superoxid zum Wasserstoffperoxid läuft in Würze und Bier spontan ab. Die Geschwindigkeitskonstanten betragen bei pH 7 für SOD  $k = 2 \cdot 10^9$  und für die

spontane Dismutation  $k = 6$ . Aufgrund seines  $pK_a$  von 4,88 (Elstner 1990) liegt das Superoxid bei Bier-pH sowohl als Radikalanion als auch protoniert ( $HO_2^\bullet$ ) vor, wodurch die spontane Dismutation stark beschleunigt wird ( $k = 1,5 \cdot 10^7$ ) (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Wegen dieser hohen Reaktionsgeschwindigkeit ist die Bildung des Wasserstoffperoxids nicht als geschwindigkeitsbestimmender Schritt anzusehen. Es liegen keine Informationen vor, inwieweit unter diesen Voraussetzungen die ebenfalls denkbare Katalyse durch Metallionen und Reduktone (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007) noch eine Rolle spielt.

Das entstandene Wasserstoffperoxid erlangt unter kinetischen Gesichtspunkten vermutlich eine besondere Bedeutung, da es aufgrund seiner ausgeglichenen Elektronenkonfiguration das einzige stabile Zwischenprodukt der Reaktionsfolge darstellt. Wasserstoffperoxid reagiert unter Katalyse durch Metallionen und Reduktone (z.B. Semichinone) zum äußerst reaktiven Hydroxylradikal (Elstner 1990; Kaneda et al. 1999; Sakihama et al. 2002; Halliwell and Gutteridge 2007).

Das Hydroxylradikal ist sehr kurzlebig (Reaktion diffusionslimitiert; Halbwertszeit im Bereich von Mikrosekunden, für organische Reaktionspartner  $k = 10^8$  bis  $10^{10}$  ( $M^{-1} s^{-1}$ ) (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007) und reagiert in einem ersten Schritt hauptsächlich mit Ethanol, wobei überwiegend 1-Hydroxyethylradikale gebildet werden (Andersen and Skibsted 1998). Diese reagieren zu Acetaldehyd und ggf. Hydroperoxyradikalen (Kaneda et al. 1988; Andersen and Skibsted 1998). Des Weiteren entsteht ein geringerer Anteil an 2-Hydroxyethylradikalen, die zu verschiedenen Endprodukten und weiteren Hydroperoxyradikalen (Superoxid) zerfallen können (Andersen and Skibsted 1998). Hydroperoxyradikale können mit Superoxid wieder  $H_2O_2$  bilden. Vermutlich können in der weiteren Reaktionsfolge auch organische Sauerstoffradikale auftreten (Elstner 1990).

Für die Katalyse kommt  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  als Chelat-Komplex oder  $Cu^+/Cu^{2+}$ , das auch ohne Komplexbildner aktiv ist, in Frage (Cohen 1977; Elstner 1990). Es liegen keine Erkenntnisse darüber vor, inwieweit in Bier ein geeigneter Komplexbildner enthalten ist.

Durch die Chelatierung kann das Redoxpotential der Metallionen zum Positiven wie auch zum Negativen verändert werden (Halliwell and Gutteridge 2007). Über diesen und unterschiedlichste weitere Mechanismen können Chelatoren die Reaktionsgeschwindigkeit verändern, wobei schwer vorherzusagen ist, ob eine



Beschleunigung oder eine Verlangsamung erreicht wird (Halliwell and Gutteridge 2007). Wegen der räumlichen Nähe werden die Chelatoren durch das entstehende Hydroxylradikal besonders leicht oxidiert. Als chelatierende Agenzien sind in Bier unter anderem Phosphate (Frédéric 1997) und Polyphenole (Nenadis et al. 2007) denkbar.

Für Kupfer konnte bereits sensorisch ein Zusammenhang zur Geschmacksstabilität nachgewiesen werden (Irwin et al. 1991). Für Eisen konnte kein Zusammenhang festgestellt werden.

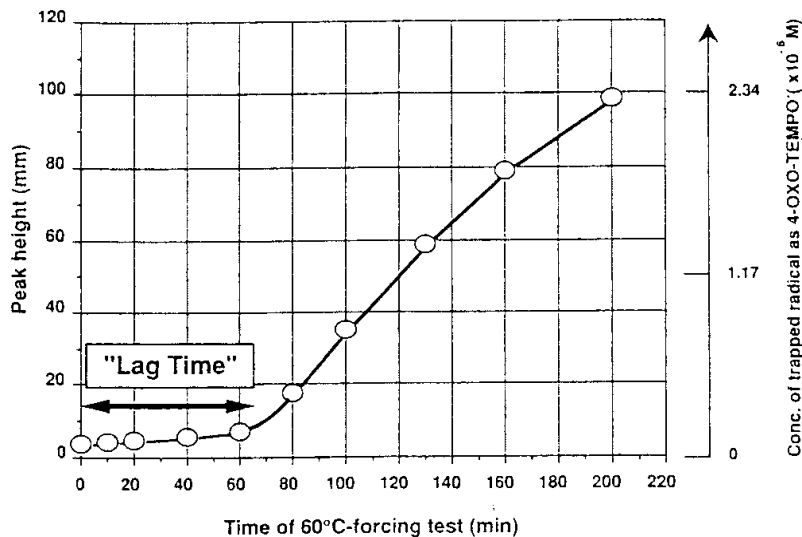
Da die reduzierten Metallionen bei der Bildung des Hydroxylradikals verbraucht werden, schlugen IRWIN et al. und NOEDDEKAER und ANDERSEN einen zyklischen Reaktionsmechanismus vor, in dem die Metallionen durch Reduktone wieder regeneriert werden (Irwin et al. 1991; Noeddekaer and Andersen 2007), was für Ascorbinsäure bereits in einer Modelllösung nachvollzogen werden konnte (Chapon et al. 1981). Die für das Bier relevanten Reduktone sind noch unbekannt. Als in diesem Sinne wirksame Reduktone kommen nahezu sämtliche im Bier enthaltenen Inhaltsstoffe in Frage.

Als besonders starkes Reduktionssystem wurde bereits Kupfer in Verbindung mit bestimmten Polyphenolen, mit Cystein und mit Ascorbinsäure sowie Eisen in Verbindung mit Melanoidinen beschrieben (Irwin et al. 1991; Nenadis et al. 2007). Bereits seit längerem ist auch die katalytische Wirkung der Melanoidine durch Ladungsübertragung bei der Oxidation höherer Alkohole bekannt (Hashimoto 1972; Hashimoto and Eshima 1977). Besonders geeignet sind hierfür auch Semichinone, da sie Ein-Elektronenübergänge katalysieren können, ggf. auch ohne Metallionen (Elstner 1990). Bei Polyphenolen scheint die Aktivität von der Struktur abhängig zu sein (Irwin et al. 1991; Galati et al. 2002).

Die Oxidation von Bierinhaltsstoffen ist demnach durch zwei Mechanismen möglich: Bei der Reduktion von Sauerstoff werden reduzierende Inhaltsstoffe oxidiert und das resultierende Hydroxylradikal greift Bierinhaltsstoffe unspezifisch an.

Dabei setzt die Bildung des OH-Radikals zumindest im Forciertest nicht sofort zu Beginn der Alterung ein. UCHIDA und ONO beobachteten, wie in Abbildung 4

dargestellt, eine deutliche Induktionsphase der OH<sup>•</sup>-Bildung im Bier, die fortan als die sogenannte Lagtime bezeichnet wurde (Uchida and Ono 1996).



**Abbildung 4: Radikalgenerierung im oxidativen Forciertest von Bier (Uchida and Ono 1996).**

Man vermutet, dass es sich bei der Lagtime um die Zeit bis zu einer ausreichenden Akkumulation des stabilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> handelt. Erst nach dieser Induktionsphase geschieht die Bildung des OH<sup>•</sup> über den Fenton-Schritt in nennenswertem Umfang (Uchida and Ono 1996; Uchida and Ono 1999).

## 2.4 Antioxidantien und die antioxidative Strategie

Ziel jeder antioxidativen Strategie muss es sein, die oben beschriebenen Oxidationsreaktionen so weit wie möglich zu unterdrücken oder hinauszuzögern. In der Brautechnologie geschieht dies durch den Versuch der Anreicherung antioxidativer Inhaltsstoffe sowie die Vermeidung schädlicher Einflüsse, vor allem von Sauerstoffeinträgen und thermischen Belastungen. Da es sich bei Malz, Würze und Bier letztendlich um Produkte pflanzlichen Ursprungs handelt, macht es Sinn, sich die antioxidativen Schutzmechanismen der Pflanzen anzusehen. Möglicherweise sind diese Mechanismen im Brauprozess und im fertigen Bier noch teilweise intakt, wenngleich mit thermisch bedingten Aktivitätsverlusten zu rechnen ist. Es existieren bislang keine Untersuchungen, die das Bier und den

Brauprozess vor diesem Hintergrund untersuchen. In der Literatur wurden bis jetzt überwiegend die antioxidativen Wirkungen von Einzelsubstanzen *in vitro* und gegenüber Modelllösungen oder Redoxindikatoren untersucht. Beispielsweise sei hier die Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels Dichlorophenolindophenol (DPI) genannt.

Nach HALLIWELL und GUTTERIDGE ist ein Antioxidans als eine Substanz definiert, die im Vergleich zu einem oxidierbaren Substrat (hier: Lebensmittel / wertgebender Bierinhaltsstoff) in einer niedrigen Konzentration vorliegt und die Oxidation dieses Substrates signifikant unterdrückt (Halliwell and Gutteridge 2007).

Je nach der Beeinflussung der Reaktionskinetik kann man zwischen unterschiedlichen antioxidativen Wirkmechanismen differenzieren: Die antioxidative Wirkung kann sich in einer Verlängerung der Induktionsphase, in einer Verzögerung der Kettenfortpflanzung oder in einer Beschleunigung des Kettenabbruchs der oxidativen Prozesse äußern (Frédéric 1997). Nach chemischen Gesichtspunkten kann zwischen der Reduktion von molekularem Sauerstoff oder Wasserstoffperoxid, dem Abfangen von freien Radikalen der Reaktionskette, der Verminderung der Aktivität von Übergangsmetallionen durch Chelatierung und der Regeneration von geschädigten Zielmolekülen unterschieden werden (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Wesentliches Kriterium ist hierbei, dass das Antioxidans zum richtigen Zeitpunkt am richtigen (Wirkungs-) Ort eine geeignete Konzentration erreicht und im Vergleich zur Schadenssetzung eine günstige Reaktionskonstante zweiter Ordnung mit der reaktiven Sauerstoffspezies aufweist (Elstner 1990). Ebenso unabdingbar für eine gute antioxidative Wirksamkeit ist die Vermeidung prooxidativer Effekte der Folgeprodukte (Milde et al. 2007). Es dürfen bei der Abfangreaktion keine reaktiven Metaboliten entstehen, bzw. müssen diese durch Regeneration oder Folgereaktionen eliminiert werden.

Es gilt als sehr unwahrscheinlich, dass irgendwelche Antioxidantien OH-Radikale in nennenswertem Umfang direkt abfangen können (Halliwell et al. 1995). Das liegt an der hohen Reaktivität und geringen Lebensdauer des OH-Radikals. Hierzu

wären unrealistisch hohe Konzentrationen des Antioxidans nötig. Die Hemmung der  $\text{OH}^\bullet$ -Bildung geschieht vermutlich durch Reaktion mit stabileren Vorstufen oder durch Unterbindung der Metallkatalyse (Fenton), z. B. durch Chelatierung. Im letzteren Fall bindet das Antioxidans das Metallion, was die Fentonreaktion zwar nicht verhindert, aber den Entstehungsort des Radikals festlegt. Das gebildete Hydroxylradikal trifft auf Grund der räumlichen Nähe mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das chelatierende Antioxidans als ersten Reaktionspartner (Halliwell et al. 1995).

Für die Wirksamkeit eines Antioxidans ist außerdem das vorliegende Milieu (pH-Wert, Polarität (Hydrophilie oder Hydrophobie), Reaktionspartner bzw. gekoppelte Reaktionen) (Halliwell et al. 1995) sowie die Konzentration des Antioxidans ausschlaggebend: Beispielsweise gibt es Hinweise dafür, dass phenolische Verbindungen je nach vorliegender Konzentration pro- und antioxidativ wirken können (Antolovich et al. 2002; Nenadis et al. 2007). Bekanntes Beispiel für ein solches Verhalten ist die Ascorbinsäure, die als Zusatz im Lebensmittel nur bei Konzentrationen über 200 mg/kg Lebensmittel eine antioxidative Wirkung entfaltet (Belitz et al. 2001). In Modellsystemen wurde bei niedrigen Konzentrationen eine prooxidative Wirkung von Ascorbinsäure festgestellt (Irwin et al. 1991). Unabhängig davon stellt die Ascorbinsäure in der Natur, neben der Entgiftung durch Katalase, eines der wichtigsten Antioxidantien dar. Sie hat in den Zellen (beim Menschen in Verbindung mit Urat) die Aufgabe entstehende Radikale zu löschen und oxidierte Metaboliten wie z.B. Glutathion oder Tocopherol wieder zu reduzieren. Eine Schädigung des Organismus tritt erst auf, wenn der Ascorbinsäurepool zu einem beachtlichen Prozentsatz über die Dehydroascorbinsäurestufe hinaus oxidiert ist (Elstner 1990).

Lipid-lösliche Antioxidantien, die sich als Peroxylradikalfänger *in vitro* oft als gute Inhibitoren der Autooxidation erweisen, können im wässrigen Milieu hingegen prooxidativ wirken, da dort ihre Fähigkeit Metallionen zu reduzieren dominiert (Halliwell et al. 1995). Beispiele hierfür sind Tocopherol und pflanzliche Polyphenole. Dieses Verhalten wurde bereits in Lebensmitteln beobachtet (Cillard et al. 1980).

In der Natur sind die einzelnen antioxidativen Schutzmechanismen in der Regel miteinander gekoppelt: Bekannt sind die kooperativen Effekte von Tocopherol (Vitamin E), Ascorbinsäure (Vitamin C) und NADH bzw. Glutathion sowie die Interaktion zwischen Harnsäure (Urat) und Ascorbinsäure (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007).

Laut SAKIHAMA et al. kann  $H_2O_2$  durch die Ascorbat-Peroxidase nicht nur mithilfe von Ascorbinsäure sondern ebenfalls durch Polyphenole entgiftet werden, weshalb letztere in der Pflanze möglicherweise eine Art „Rückfallebene“ darstellen (Yamasaki et al. 1999; Sakihama et al. 2002). Die entstehenden Phenoxyradikale können enzymatisch wieder regeneriert werden (Sakihama et al. 2000). Nach GALATI et al. läuft die Entgiftung von  $H_2O_2$  über Peroxidase (HRP) durch Ascorbat in Anwesenheit von Catechol deutlich schneller, weshalb synergistische Effekte vermutet werden. Möglich ist eine weitere Kopplung an NADH und GSH.

Mittlerweile wurde gezeigt, dass Polyphenole in Kooperation mit anderen Antioxidantien synergistische Effekte und Regenerationsmechanismen zeigen (Shafiee et al. 2002; Cirico and Omaye 2006; Milde et al. 2007). Die Wirkung der Kombination von Phenolen mit anderen Antioxidantien ist dabei deutlich stärker als die Summe der Wirkungen der einzelnen Substanzen.

Auf Grund der möglichen Relevanz für das Bier ist vor allem eine Untersuchung von SAUCIER und WATERHOUSE von Interesse: Die Autoren konnten unter anderem synergistische Effekte für Catechin in Kombination mit Ascorbinsäure sowie mit Schwefeldioxid ( $SO_2$ ) nachweisen (Saucier and Waterhouse 1999). ROGERS und CLARKE diskutieren in ihrer Arbeit die Möglichkeit der Regeneration von antioxidativ wirksamen Thiolen durch  $SO_2$  (Rogers and Clarke 2007).

Inwieweit kooperative Mechanismen oder synergistische Effekte im Brauprozess wirksam sind, ist bislang nicht bekannt.

Problematisch zu betrachten ist die oft beobachtbare Gleichsetzung der sensorisch wahrnehmbaren Geschmacksstabilität mit der antioxidativen Aktivität des Bieres. Ferner wird in der Brautechnologie in der Regel auch nicht zwischen der antioxidativen Wirkung im Lebensmittel und der Reduktionskraft bzw. der Hemmung der Sauerstoffaktivierung *in vitro* unterschieden, obwohl bereits Hinweise auf mögliche prooxidative Wirkungen von Reduktionen existieren (vgl. 2.3). Im Rahmen dieser Arbeit sollen antioxidative Inhaltsstoffe wesentlich

differenzierter untersucht werden, weshalb zwischen der antioxidativen Wirkung und dem Reduktionsvermögen scharf unterschieden wird.

### 2.5 Antioxidative Inhaltsstoffe des Bieres

Das Bier enthält verschiedene antioxidativ wirksame Inhaltsstoffe. Sie wirken sich einerseits auf die Geschmacksstabilität aus und sind andererseits unter ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten von Interesse. Diese Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit den chemischen Eigenschaften dieser Substanzen sowie ihren Auswirkungen auf die Stabilität des Bieraromas und -geschmacks. Im Folgenden werden die relevanten Gruppen an Inhaltsstoffen beschrieben.

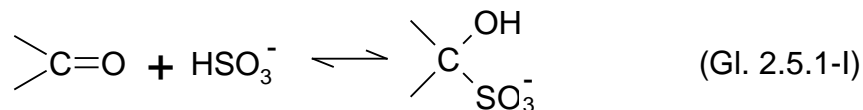
#### 2.5.1 Schwefeldioxid

Schwefeldioxid (Sulfit;  $\text{SO}_2$ ) wird im Verlauf der Hauptgärung durch die Hefe gebildet (Brewer and Fenton 1980; Basarova and Mikyska 1982; Nordloev 1985; Ilett 1995). Im Bier (~ pH 4,3) gilt es bislang als eines der wirksamsten Antioxidantien (Andersen et al. 2000; Nakamura et al. 2001) und wurde vermutlich erstmals von HASHIMOTO erwähnt (Hashimoto 1972). Bei der Alterung vermindert  $\text{SO}_2$  die Carbonylbildung (Bushnell et al. 2003). Die Ausbildung des Cardboard-Aromas wird durch  $\text{SO}_2$  unterdrückt, das Beeren- und Weinaroma wird vermindert. Sulfit ( $\text{SO}_2$ ) entsteht bei der Gärung als Zwischenprodukt der Aminosäuresynthese (Hilz et al. 1959; Hysert and Morrison 1976; Ilett 1995; Thomas and Surdin-Kerjan 1997). Hierzu assimiliert die Hefezelle Sulfat aus der Würze. Überschüssiges Sulfit wird aus der Zelle ins Jungbier ausgeschieden. Im pH-Bereich des Bieres liegt Schwefeldioxid nicht-flüchtig, in Form von Sulfit ( $\text{HSO}_3^-$ ), und an Acetaldehyd gebunden vor (Wedzicha 1984; Dufour 1991; Kaneda et al. 1994). Das gebundene Sulfit zeigt dieselbe antioxidative Wirksamkeit wie freies Sulfit (Andersen et al. 2000).

Sulfit ist ein starkes Reduktionsmittel, aber nur in relativ geringen Konzentrationen (Gehalte in der Regel bis 10 mg/l) im Bier enthalten. Aus diesem Grund kann es

die diffusionsabhängigen Schritte der radikalischen Reaktionen nicht beeinflussen. Vermutlich fängt es das langlebige Wasserstoffperoxid ab und verhindert somit den Fentonschritt. Eine weitere Möglichkeit ist, dass es direkt mit molekularem Sauerstoff reagiert und so die Lagtime beeinflusst (Hoffmann and Edwards 1975; Wedzicha 1984; Uchida et al. 1996; Andersen and Skibsted 1998; Uchida and Ono 1999; Andersen et al. 2000). Allerdings finden sich in verschiedenen Bieren unterschiedliche Korrelationen zwischen dem Sulfithalt und der Lagtime, weshalb vermutet wird, dass letztere von weiteren Einflussgrößen beeinflusst wird (Noeddekaer and Andersen 2007). Als Oxidationsprodukt des Sulfits entsteht Sulfat, das sensorisch nicht relevant und chemisch stabil ist.

Außerdem kann sich Sulfith noch durch die Fähigkeit aromaaktive Carbonyle zu binden, positiv auf die Geschmacksstabilität auswirken (Dufour 1991; Ilett 1995). Die Addition von Sulfith an die funktionelle Gruppe von Carbonylen ist nach Gleichung 2.5.1-I reversibel (Wedzicha 1984). Das Gleichgewicht liegt dabei weit auf der Seite des Produkts.



Im Bier liegt Sulfith, dem chemischen Gleichgewicht entsprechend, in der Regel fast vollständig gebunden vor. Der Anteil an freiem  $\text{SO}_2$  wird unter zwei Prozent vermutet (Kaneda et al. 1994). Die Affinität von  $\text{SO}_2$  zu Carbonylen steigt dabei mit abnehmender Molekülgröße. Kleinere Verbindungen, wie Acetaldehyd, können größere, wie zum Beispiel Heptanal, aus der Bindung zu  $\text{SO}_2$  verdrängen. Folglich liegt im Bier ein überwiegender Anteil des gesamten  $\text{SO}_2$  an Acetaldehyd gebunden vor (Burroughs and Sparks 1973; Dufour 1991; Kaneda et al. 1994; Lustig 1994; Ilett 1995). Die reduzierende Wirkung ist unabhängig von der vorliegenden Form des Sulfits. Auch reversibel an Carbonyle gebundenes  $\text{SO}_2$  wirkt antioxidativ (Kaneda et al. 1994; Ilett 1995; Andersen et al. 2000).

Da im Gärverlauf die Reduktion der Carbonyle vor der Sulfithbildung einsetzt, wird die Reduktion von Carbonylen durch die Sulfithbildung vermutlich kaum beeinträchtigt (Lustig 1994). Möglicherweise gebundene Carbonyle werden

außerdem durch Acetaldehyd wieder verdrängt und können so durch die Hefe reduziert werden.

Bereits im Rahmen des Hefestoffwechsels beeinflussen sich Sulfid und Acetaldehyd gegenseitig, da die beiden Verbindungen aneinander gebunden aus der Zelle transportiert werden (Gyllang et al. 1989). Die Acetaldehyd- und  $\text{SO}_2$ -Gehalte endvergorener Jungbiere korrelieren deshalb gut miteinander. Je höher der  $\text{SO}_2$ -Gehalt ist, umso höher ist auch der Acetaldehydgehalt, beziehungsweise umgekehrt (Nordloev 1985).

Im abgefüllten Bier nimmt der  $\text{SO}_2$ -Gehalt im Laufe der Alterung kontinuierlich ab. Das Schwefeldioxid wird durch Oxidation „verbraucht“. Dabei verläuft die Abnahme umso schneller, je wärmer das Bier gelagert wird (Ilett and Simpson 1995; Kaneda et al. 1996). Nach einigen Untersuchungen stellt sich die Abnahmegeschwindigkeit konzentrationsabhängig dar, so dass ein exponentieller Reaktionszusammenhang vermutet wird (Lustig 1994; Ilett and Simpson 1995). Im Laufe der Alterung des abgefüllten Bieres wird durch den Verbrauch von  $\text{SO}_2$  dann kontinuierlich Acetaldehyd freigesetzt (Kaneda et al. 1996). Reversibel gebundene, höhermolekulare Carbonyle werden durch Acetaldehyd dann aus der Bindung an  $\text{SO}_2$  verdrängt und bewirken so eine verzögerte Ausbildung des Alterungsaromas (Lustig 1994; Dufour et al. 1999).

Sulfid kann mit vielen Bierinhaltsstoffen, wie zum Beispiel Polyphenolen oder Chinonen sowie mit Stoffen die Disulfidbindungen enthalten, irreversibel reagieren (Dufour 1991). Es kann sich an Kohlenstoffdoppelbindungen addieren und so verschiedene ungesättigte Inhaltsstoffe wie zum Beispiel trans-2-Nonenal binden (Dufour et al. 1999; Nyborg et al. 1999). Im Fall der irreversiblen Bindung werden die Stoffe dem chemischen Gleichgewicht entzogen. Durch die Bindung der Carbonyle wird die Maillardreaktion gehemmt und somit eine Zufärbung verhindert (Wedzicha 1984).

Des Weiteren ist Sulfid dazu in der Lage oxidierte Protein-SH-Gruppen und Disulfid-Brücken zu regenerieren, wodurch die irreversible Oxidation von Proteinen verhindert wird (Rogers and Clarke 2007).



Der SO<sub>2</sub>-Bildung der Hefe ist genetisch veranlagt und hängt im Wesentlichen vom verwendeten Hefestamm ab (Lustig 1994; Narziß 2004; Wurzbacher et al. 2005a; Back 2008).

Da der Aminosäurestoffwechsel vom Zellwachstum abhängig ist, wird der SO<sub>2</sub>-Gehalt des Bieres außerdem vom physiologischen Zustand der Hefe (Murray et al. 1984; Van Haecht and Dufour 1995; Narziß 2004; Thiele 2006) und von den Anstell- und Gärparametern (Brewer and Fenton 1980; Narziß et al. 1982; Nordloev 1985; Ohno and Takahashi 1986; Wurzbacher et al. 2005a) beeinflusst und kann so auch innerhalb gewisser Grenzen gesteuert werden. Dabei steigt die SO<sub>2</sub>-Bildung mit abnehmenden Zellvorräten, abnehmender Würzebelüftung und abnehmender Anstellzellzahl (Wurzbacher et al. 2005a). Weitere Einflussgrößen sind der Extraktgehalt (Nordloev 1985), die Aminosäurezusammensetzung (Gyllang et al. 1989) und der Lipidgehalt der Anstellwürze (Dufour et al. 1989). Auch Hefe mit geringer Vitalität bildet verstärkt SO<sub>2</sub>, was allerdings mit einer verschlechterten Bierqualität einhergeht, weshalb dieser Zusammenhang technologisch nicht genutzt werden kann (Thiele 2006).

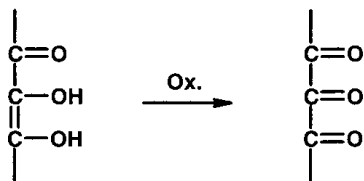
Schwefeldioxid erfüllt sämtliche Anforderungen an ein wirkungsvolles Antioxidans. Neben der unmittelbaren antioxidativen Wirkung wirkt es sich als Gegenspieler der Maillardreaktion und durch die Bindung von Carbonylen zusätzlich positiv auf die Geschmacksstabilität aus. Die Bildung und Wirkung von Schwefeldioxid ist bei WURZBACHER ausführlich beschrieben (Wurzbacher 2003).

### 2.5.2 Reduktone

Als Reduktone werden in weiterem Sinne alle organischen Substanzen mit reduzierenden Eigenschaften bezeichnet. Diese umfassen die Endiole, Endithiole, Endiamine sowie Teile der phenolischen Substanzen wie z. B. die Catechole (v. Euler and Eistert 1957). Im engeren Sinne werden Substanzen mit Endiolstruktur, d.h. zwei benachbarten, über Kohlenstoffdoppelbindungen oder aromatische Strukturen verbundenen, oxidierbaren OH-Gruppen („Reduktonstruktur“) als Reduktone bezeichnet (Schank 1972; Belitz et al. 2001; Back 2008). Unter den Bierinhaltsstoffen können einige Polyphenole und Produkte der Maillardreaktion, sowie im weiteren Sinne sämtliche Polyphenole, Proteine und Aminosäuren mit

SH-Gruppen sowie Restgehalte an reduzierenden Zuckern zu den Reduktionen gerechnet werden. Nach einer Definition von CHAPON und LOUIS umfassen die Reduktone im Bier Polyphenole, Melanoidine und „Reduktone, die vornehmlich während des Würzekochens entstehen“ (Chapon and Louis 1974).

Die Endiol- („Redukton-„) Struktur ist in Abbildung 5 dargestellt. Durch die C–C - Doppelbindung bzw. aromatische Struktur wird die Elektronenkonfiguration resonanzstabilisiert, wodurch die Abstraktion eines Protons durch einen radikalischen Angriff erleichtert wird. Eine benachbarte Carbonylfunktion wirkt ebenso. Da als Zwischenprodukt vermutlich ein Enolat-Anion auftritt, ist die Aktivität pH-abhängig.



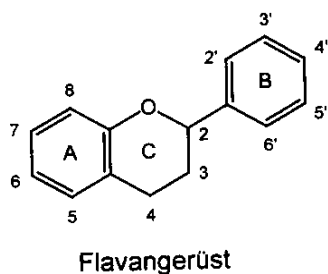
**Abbildung 5: Endiolstruktur der Reduktone, Oxidation des Endiols zum Dicarbonyl.**

Im Rahmen dieser Arbeit sollen die Begriffe wie folgt verwendet werden: Mit den Reduktionen sind sämtliche reduzierend wirkenden, organischen Substanzen gemeint. Substanzen mit Endiolstruktur werden einfach als Endiole bezeichnet.

### 2.5.3 Polyphenole

Unter polyphenolischen Verbindungen versteht man im Sekundärstoffwechsel von Pflanzen synthetisierte Substanzen, die aromatische Strukturen mit mehreren phenolischen Hydroxylgruppen im Molekül besitzen. Im Falle benachbarter OH-Gruppen entstehen Strukturen mit Endiol-Charakter. Die brautechnologisch wichtigsten Gruppen sind die Phenolcarbonsäuren und die Flavonoide. Flavonoide basieren auf dem Flavangerüst (Abbildung 6) und können durch Polymerisation Oligomere, die sogenannten kondensierten Gerbstoffe bilden. Zu den kondensierten Gerbstoffen gehören die Proanthocyanidine, die durch Kondensation von Flavan-3-olen und Flavan-3,4-diolen entstehen. Wichtigster Vertreter der Flavonoide ist das Catechin. Entscheidend für die antioxidativen

Eigenschaften scheint vor allem die Konfiguration des B-Ringes zu sein, der biosynthetisch von einem Hydroxyzimtsäurederivat stammt. Besonders wirksam ist hier eine ortho-Dihydroxy-Konfiguration (Herrmann 1993). Bei den Phenolcarbonsäuren handelt es sich um Hydroxybenzoesäure- und Hydroxyzimtsäurederivate. Flavonoide und Phenolcarbonsäuren liegen in Pflanzen meist gebunden als Glucoside oder Ester mit Glucose oder Chlorogensäure vor (Jende-Strid 1985). Glycosidisch gebundene Gallussäure bildet die Gruppe der Gallotannine. Abbildung 7 gibt eine Übersicht über die wichtigsten Gruppen der Polyphenole. Ausführlichere Beschreibungen der Nomenklatur und der zahlreichen polyphenolischen Substanzgruppen finden sich bei FRANZ (Franz 2004), FRIEDRICH (Friedrich 2000) oder im Standardwerk von HARBORNE und BAXTER (Harborne and Baxter 1999).



**Abbildung 6: Flavangerüst der Flavonoide.**

## Polyphenole

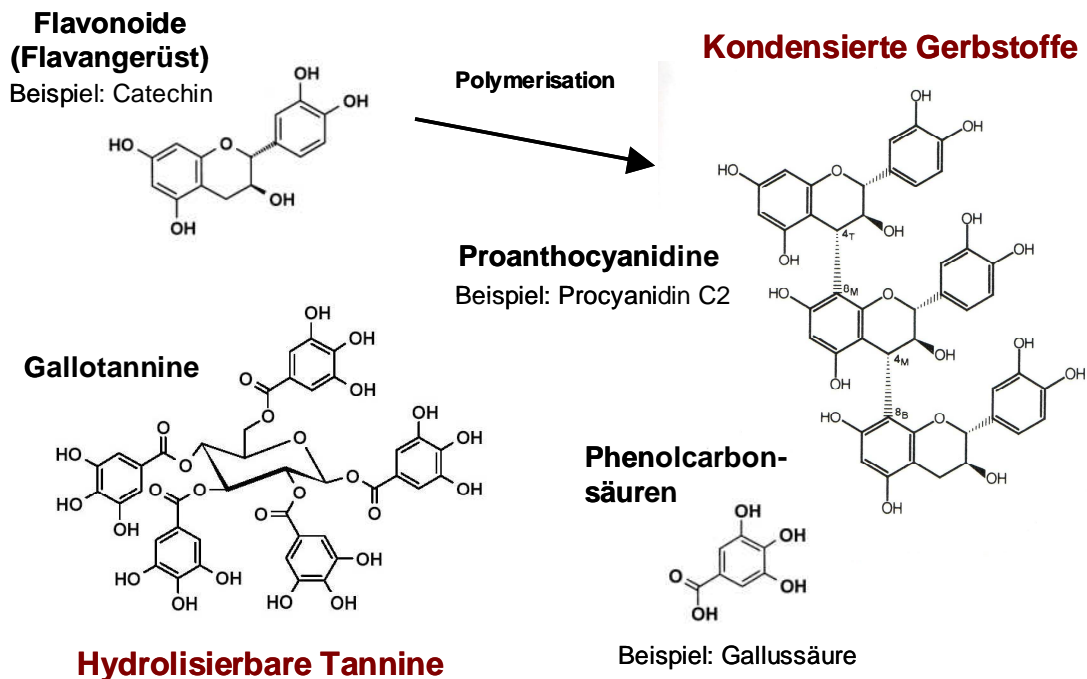


Abbildung 7: Brautechnologisch relevante Stoffgruppen der Polyphenole.

Helle, untergärige Biere, beinhalten in der Regel Polyphenolgehalte (gemessen als Gesamtpolyphenole nach MEBAK) (MEBAK 1993) im Bereich von 80 bis 250 mg/l (Franz 2004; Narziß 2004). Davon stammen rund zwei Drittel aus dem Malz und ein Drittel aus dem Hopfen. Der Polyphenolgehalt von Hopfen und Gerste hängt neben der Sorte auch von den Umweltbedingungen und der Agrotechnik während des Aufwuchs ab (Chapon and Kretschmer 1969; Vrteleva and Dolezalova 1976b; Schuster et al. 1999; Forster et al. 2002; Kellner et al. 2005; Wurzbacher et al. 2005b; Wurzbacher et al. 2006). Gersten aus Anbaugeländen mit feuchten klimatischen Bedingungen zeichnen sich durch erhöhte Polyphenolgehalte aus (Bellmer et al. 1995), was aber möglicherweise durch die Verwendung anderer landestypischer Sorten verursacht wird (Gromus and Lustig 1999).

FRIEDRICH gibt Gehalte an Flavanolen in der Gerste zwischen 500 und 800 mg/kg i. Tr. und im Malz zwischen 400 und 700 mg/kg i. Tr. an, wobei Wintervarietäten im Mittel höhere Gehalte als Sommersorten aufweisen (Friedrich 2000). Der Anteil der Monomeren erwies sich hierbei als sehr gering. Den größten Anteil hatten die beiden dimeren Prodelphinidin B3 und Procyanidin B3. Nach

JERUMANIS enthält Gerste vor allem Flavanoide, Catechin, di- und trimere Procyanidine und Prodelphinidine, unter denen Prodelphinidin B3 dominant auftritt (Jerumanis 1985). Der Polyphenolgehalt der Gerste korreliert dabei negativ mit deren Eiweißgehalt (Vrtelova and Dolezalova 1976a).

Die Veränderung phenolischer Substanzen bei der Mälzung ist bereits bei Friedrich ausführlich beschrieben (Friedrich 2000). Bei der Mälzung nehmen die Polyphenolgehalte tendenziell leicht ab (McMurrough et al. 1983; Friedrich 2000). Die Veränderungen einzelner Substanzgruppen sind dabei nicht eindeutig geklärt. JENDE-STRID beschreibt z. B. eine Bildung von monomeren Substanzen wie Catechin sowie von komplexen Proanthocyanidinen bei gleichzeitiger Verminderung der Dimeren (Jende-Strid 1988). MOLL berichtet dagegen von Abnahmen des Catechingehaltes bei unveränderten Gehalten der Dimere (Moll et al. 1984). JERUMANIS konnte Zunahmen der Gesamtpolyphenole bei der Mälzung aufzeigen (Jerumanis 1985).

Es kann vermutet werden, dass die Analytik stark von dem verwendeten Extraktionsverfahren und der Malzlösung beeinflusst wird, wodurch die widersprüchlichen quantitativen Angaben verursacht werden. Vermutlich beeinflussen auch die Mälzungsparameter Veränderungen der Polyphenolfractionen.

Im Malz bestehen 85 % der Polyphenole aus Flavan-3-olen, Hydroxyzimtsäurederivate machen etwa 10 % und Flavonole 5 % aus (Maillard et al. 1996). Im fertigen Bier können noch zahlreiche di- und trimere-Proanthocyanidine, Catechine und Gallocatechine sowie Phenolcarbonsäuren nachgewiesen werden (Whittle et al. 1999).

Hopfen zeigt ein grundsätzlich verschiedenes Polyphenolspektrum in dem (+)-Catechin die größten Gehalte aufweist (Jerumanis 1985; Goiris et al. 2005). Neben Catechin sind noch Phenolcarbonsäuren, Proanthocyanidine, Flavonolglycoside und Prenylflavanoide enthalten.

Die Veränderung der Polyphenole im Brauprozess wurde durch MOLL et al. beschrieben (Moll et al. 1984): Beim Maischen zeigten alle untersuchten Substanzen bis zur 50 °C - Rast eine Abnahme und dann bis zum Abläutern eine Zunahme. Bei der Kochung zeigte sich, dass die Monomeren Catechin und Epicatechin beim Würzekochen noch gebildet bzw. freigesetzt werden, wohingegen Prodelphinidin und Proanthocyanidin B3 abnahmen. Eine PVPP-

Stabilisierung vermindert vor allem die Gehalte an Catechinen und Proanthocyanidinen; die Gehalte der Phenolcarbonsäuren werden kaum vermindert. Eine Beschreibung der Veränderung der antioxidativen Aktivität der Polyphenole im Brauprozess findet sich bei FRANZ (Franz 2004).

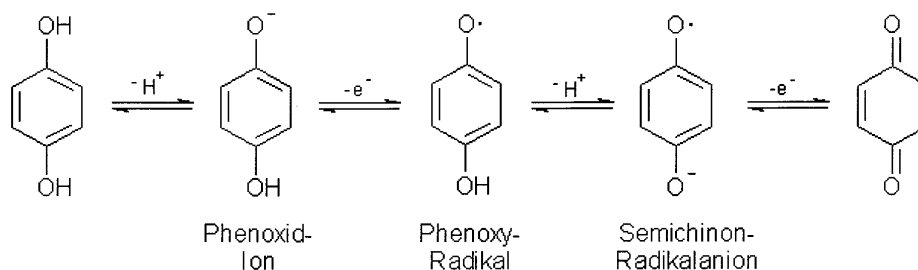
Bei der Lagerung und Alterung fallen die Gehalte sämtlicher untersuchten Substanzen ab. Es wird eine Polymerisation der Polyphenole durch oxidative Mechanismen beobachtet (Gardner and McGuinness 1977). Die Polymerisation kann auch durch Acetaldehyd ausgelöst werden (Delcour et al. 1982; Saucier et al. 1997). Dabei bilden sich Ethyl-Brücken zwischen Flavanolen. Eine oxidative Degradation ist durch Ringöffnung möglich (Cilliers and Singleton 1990).

Polyphenole sind für den Brauprozess vor allem wegen ihrer Fähigkeit zur Komplexbildung mit Proteinen über Wasserstoffbrücken von Bedeutung. Ihre eiweißfällende (gerbende) Wirkung entfalten sie erst durch Oxidation und Polymerisation. Des Weiteren tragen Polyphenole vermutlich zur Vollmundigkeit und zur Bittere (McMurrough et al. 1984) des Bieres bei. Der Geschmackseindruck wird dabei vom Oxidationsstatus und vom pH-Wert beeinflusst (Charalambous 1974; Francois et al. 2006). Die Bierfarbe wird ebenfalls durch Polyphenole beeinflusst. Mit zunehmendem Oxidationsgrad und Molekülgröße nehmen die Adstringenz und die Farbe zu.

In der Brautechnologie gelten Polyphenole als potente Antioxidantien (Walters 1997; Franz and Back 2001). *In vitro* weisen nahezu sämtliche phenolischen Verbindungen eine starke Reduktionskraft bzw. antioxidative Eigenschaften auf. Eine Übersicht des Reduktionsvermögens einfacher Polyphenole gegenüber DPPH findet sich bei FRANZ (Franz and Back 2001; Franz 2004) und gegenüber weiteren Redoxindikatoren bei NENADIS ET AL. (Nenadis et al. 2007). Die antioxidative Aktivität der Polyphenole sinkt mit steigender Molekülgröße (Buggey 2001). Mit Metallionen komplexierte Flavanoide weisen ein höheres Reduktionsvermögen (DPPH) auf als freie Flavanoide (De Souza and De Giovanni 2004). Einige Polyphenole können die Oxidation von Alkoholen verhindern (Blockmans et al. 1981; Devreux et al. 1981; Irwin et al. 1991).

Polyphenole können freie Radikale abfangen, wobei das ungepaarte Elektron über den aromatischen Ring stabilisiert wird (Elstner 1990; Amorati et al. 2006; Halliwell

and Gutteridge 2007). Dabei wird aus dem Phenol (Hydrochinon) zuerst durch Abstraktion eines Protons das Phenolat-Anion / Phenoxid-Anion gebildet, das in einem Ein-Elektronenschritt zum Phenoxyradikal (Semichinon) oxidiert wird (Frédéric 1997; Amorati et al. 2006). Durch Abstraktion des Protons der zweiten OH-Gruppe entsteht das Semichinon-Radikalanion, das in einem weiteren Einelektronenübergang zum Chinon oxidiert wird. Phenoxid-anion und Semichinon sind resonanzstabilisiert. Die Oxidation der Phenole ist in Abbildung 8 dargestellt.



**Abbildung 8: Stabilisierung des ungepaarten Elektrons bei der Oxidation von Phenolen (Shahidi and Wanasundara 1992).**

Die Phenoxyradikale substituierter Phenole stellen gute Inhibitorradikale dar. Sie sind relativ stabil, weshalb die Radikale der Kettenreaktion im Idealfall schneller mit ihnen reagieren, als mit anderen Inhaltsstoffen. Metallionen bewirken eine weitere Stabilisierung der Phenoxyradikale (Sakihama et al. 2002). Polyphenole können die Bildung der Radikale aber nicht verhindern. Somit können Polyphenole die Oxidation gut hemmen, aber nicht vollständig unterbinden (Frédéric 1997).

Da vor dem Elektronenübergang zuerst ein Proton abgespalten werden muss, ist die Redoxaktivität der Polyphenole pH-abhängig (Nakamura et al. 2001; Amorati et al. 2006; Muzolf et al. 2008). Polyphenole zeigen nur im neutralen und basischen Milieu nennenswerte antioxidative Aktivitäten auf, weshalb vermutet wird, dass ihre Wirkung vor allem im Sudhaus von Bedeutung ist (Wurzbacher et al. 2005b; Wurzbacher et al. 2006). Im fertigen Bier spielen sie vermutlich eine untergeordnete Rolle.

Die antioxidativen Eigenschaften von Polyphenolen hängen auch von der Struktur ab. Niedrige Bindungsenthalpien der reagierenden OH-Gruppe und eine gute intramolekulare Stabilisierung der Semichinon-radikale sind hierfür ausschlaggebend (Amorati et al. 2006). Polyphenole, die eine Catechol-Einheit am

B-Ring enthalten (3',4'-Dihydroxyflavane), zeigen besonders gute antioxidative Eigenschaften (Irwin et al. 1991; Herrmann 1993; Bungert and Eichner 2000; Amorati et al. 2006). 3',4',5'-Trihydroxyflavane zeigen dagegen auch prooxidative Aktivität, vermutlich durch die Reduktion von Metallionen.

Dieselbe phenolische Substanz kann je nach ihrer Konzentration pro- oder antioxidativ wirken, wie bereits für Gallussäure gezeigt werden konnte (Nenadis et al. 2007). Des Weiteren ist die Art ihrer Aktivität von ihrem metallreduzierendem Potential, ihrem Chelatierungsverhalten, dem vorliegenden pH-Wert sowie ihren Löslichkeitseigenschaften abhängig (Decker 1997).

Die prooxidative Wirkung kann dabei durch Reduktion von Übergangsmetallionen geschehen, die dann für die Sauerstoffaktivierung zur Verfügung stehen (Bamforth 1999; Sakihama et al. 2002; Nenadis et al. 2007). Phenolcarbonsäuren sind anscheinend auch im sauren Milieu dazu in der Lage (Nenadis et al. 2007). Die in einem ersten Oxidationsschritt aus den Polyphenolen entstehenden Semichinone besitzen eine starke Reduktionskraft und können somit die Bildung von Superoxid aus elementarem Sauerstoff direkt katalysieren (Elstner 1990; Bors et al. 2000; Sakihama et al. 2002). Flavanole sind in der Gegenwart von Metallionen in der Lage ROS zu bilden, wenngleich die Reaktionsgeschwindigkeit im sauren Milieu gering ist (Canada et al. 1990). In Gegenwart von Peroxidase sind Polyphenole in der Lage Cosubstrate wie Ascorbinsäure oder NADH zu oxidieren (Galati et al. 2002). Die Aktivität ist hierbei strukturabhängig. Polyphenole mit einem Phenol-B-ring scheinen grundsätzlich stärker prooxidativ zu wirken als Polyphenole mit Catechol-B-ring.

Neben der antioxidativen Wirkung können Polyphenole chelatierend wirken und so die Aktivität der Metallionen verändern (Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Wegen der räumlichen Nähe werden sie von den reaktiven Sauerstoffspezies vermutlich bevorzugt angegriffen.

Der Einfluss der Polyphenole auf die Geschmacksstabilität des Bieres ist noch nicht eindeutig geklärt.

Im Zugaberversuch konnten von AERTS et al. bereits positive Wirkungen von Gallotanninen auf die Sudhausarbeit (Läutergeschwindigkeit, Ausbeute, Bruchbildung) und auf die Geschmacksstabilität nachgewiesen werden (Aerts et



al. 2001; Aerts et al. 2003). Offen bleibt hierbei, inwieweit der Effekt auf einer antioxidativen Wirkung der Polyphenole und inwieweit auf der verstärkten Ausfällung von Proteinen beruht.

FRANZ konnte die beim Einmaischen sehr schnell ablaufenden Oxidationsreaktionen (erfassbar mittels Chemilumineszenz) durch Ausschluss von Sauerstoff und durch eine Zugabe von Sinapinsäure deutlich vermindern (Franz 2004).

Durch die Hopfengabe erhöht sich die Reduktionskraft (Franz and Back 2001). Hopfenpolyphenolzugaben im Sudhaus erhöhen die Reduktionskraft der Würzen und der resultierenden Biere und können die negativen Auswirkungen von Sauerstoffeinträgen teilweise kompensieren (Mikyska et al. 2001). Die Carbonylgehalte in den Bieren werden durch die Zugabe von Hopfenpolyphenolen im Sudhaus vermindert.

Auch Malzpolyphenole wirken sich positiv auf die Geschmacksstabilität aus. Eine Entfernung der Malzpolyphenole vor der Kochung führt zu erhöhten Gehalten an Alterungsindikatoren und einer geringeren Geschmacksstabilität in den gealterten Bieren (Narziss et al. 1989; Mikyska et al. 2002).

Bei der Stabilisierung bleiben niedermolekulare Phenole weitgehend unverändert, Oligomere werden bei Gärung, Filtration und Stabilisierung vermindert (Bellmer et al. 1995). Da eine Stabilisierung der fertigen Biere, sowie eine Entfernung oder Zugabe der Polyphenole die Geschmacksstabilität nur noch unmerklich vermindert, wird vermutet, dass die Polyphenole vor allem im Sudhaus wirken (McMurrough et al. 1996; Mikyska et al. 2002). Im fertigen Bier scheinen die Polyphenole keine Wirkung zu haben.

ANDERSEN et al. konnten keinen Einfluss des Gehalts an Flavan-3-olen und an Phenolcarbonsäuren auf die antioxidative Aktivität (Lagtime, ESR) von Würzen und Bieren feststellen (Andersen et al. 1999). In der Würze reagieren Hydroxylradikale aufgrund der Konzentrationsverhältnisse vermutlich in erster Linie mit Kohlenhydraten, wodurch eine antioxidative Wirkung von Polyphenolen unwahrscheinlich erscheint (Andersen and Skibsted 2001). Im Bier veränderte sich die Radikalgenerierung durch den Einsatz des polyphenolfreien Caminant-Malzes gegenüber dem Einsatz der Sorte Alexis nicht (Andersen et al. 2000).

In einer Marktanalyse konnte FRANZ keinen Zusammenhang zwischen dem Polyphenolgehalt und der Alterungsakzeptanz nachweisen (Franz 2004). Sinapinsäure zeigte als reduktionsstarke Substanz unerwarteter Weise einen negativen Zusammenhang zur Geschmacksstabilität.

WALTERS et al. konnten am Beispiel von Catechin und Ferulasäure im Bier nachweisen, dass sowohl pro- als auch antioxidative Effekte existieren (Walters et al. 1997b; Walters et al. 1997a). Die Auswirkung der Polyphenolzugabe auf die Carbonylbildung bei der Alterung stellte sich äußerst differenziert dar. Je nach dem zugegebenem Polyphenol wurde die Bildung einiger Carbonyle gefördert und die anderer Carbonyle unterdrückt.

Der Einfluss der Polyphenole auf die Geschmacksstabilität ist somit unklar. Es wird von prooxidativen und antioxidativen Wirkungen berichtet. Streng genommen scheiden Polyphenole als mögliche Antioxidantien im Bier aus. Ihre Konzentration ist im Vergleich zu anderen Bierinhaltsstoffen sehr hoch, womit sie nicht der Definition nach HALLIWELL und GUTTERIDGE entsprechen (vgl. 2.4). Aufgrund ihres Beitrags zu Geschmack, Schaum und Farbe sind sie vielmehr selbst als wertgebende Inhaltsstoffe zu verstehen. Zudem weisen ihre Oxidationsprodukte negative sensorische Eigenschaften auf sind chemisch nicht stabil, können sogar prooxidativ wirken.

Im Sudhaus sind Polyphenole möglicherweise potente Antioxidantien, wobei ungeklärt ist, ob sie Oxidationsreaktionen beim Maischen und Würzekochen tatsächlich in nennenswertem Maße hemmen, oder ob die beobachteten positiven Auswirkungen auf die Geschmacksstabilität möglicherweise in einer verstärkten Ausfällung von Stickstoff begründet sind. Die Ergebnisse der meisten der diskutierten Untersuchungen sind zudem analytischer Natur. Eine positive Wirkung der Polyphenole auf die sensorische Geschmacksstabilität ist weder eindeutig bewiesen noch widerlegt.

### **2.5.4 Reduzierende Maillardprodukte**

Reduzierende Substanzen entstehen durch die Maillardreaktion bei thermischen Prozessen, in der Brautechnologie vor allem bei der Malzbereitung (Boivin et al. 1993; Schuster et al. 1999). Die Edukte der Reaktionsfolge sind Aminosäuren,

reduzierende Zucker und Polyphenole. Die entstehenden Reduktone zeichnen sich durch die im Molekül enthaltene Endiolstruktur aus, wobei die Dicarboxylform (Keton) die zugehörige oxidierte Dehydroxyverbindung darstellt. Die Endiolstruktur ist Bestandteil der Melanoidine. Unter den Melanoidinen versteht man bräunlich gefärbte, höhermolekulare Substanzen, die auch Stickstoff enthalten können (Belitz et al. 2001). Niedermolekulare Endiole sind nichts anderes als die reduzierte Form der  $\alpha$ -Dicarboxyl-Verbindungen. Die Bildung von  $\alpha$ -Dicarboxylverbindungen im Rahmen der Maillardreaktion und Amadoriumlagerung ist bei LIEDEKE beschrieben (Liedke 1999). Die Maillardreaktion findet sich bei MAURON (Mauron 1981).

Endiole lassen sich nicht direkt messen, die meisten analytischen Methoden bestimmen die Reduktionskraft der Probe mithilfe einer Indikatorsubstanz. Im Bier wird hierfür das 2,6-Dichlorophenolindophenol (DPI) herangezogen (MEBAK 1993). Da davon ausgegangen werden muss, dass sämtliche auf diesem Prinzip basierenden Analysenmethoden auch andere reduzierend wirkende Substanzgruppen erfassen, sind die Ergebnisse stets kritisch zu betrachten.

Die Farbe und das Reduktionsvermögen des Malzes (und damit vermutlich der Gehalt an Melanoidinen und Reduktonen) nimmt mit der Intensität der Mälzung, der Abdarrdauer und der Abdarrtemperatur zu (Preuß 2001; Spieleder 2007).

Erst kürzlich konnte Pronyl-L-Lysin als ein niedermolekularer, reduzierend wirkender Bestandteil der Melanoidine von LINDENMEIER et al. identifiziert werden (Lindenmeier et al. 2002; Spieleder et al. 2006). Die Bedeutung der Maillardprodukte in Lebensmitteln ist bei Lee und Shibamoto umfassend beschrieben (Lee and Shibamoto 2002). Die Bedeutung des Reduktionsvermögens des Malzes sowie dessen Einfluss auf den Brauprozess wurde bereits von SPIELEDER (Spieleder 2007) untersucht. Mit der Technologie der Herstellung dunkler malzaromatischer Biere setzte sich bereits PREUß (Preuß 2001) auseinander. Die Ausbildung der antioxidativen Aktivität im Rahmen der Maillardreaktion bei der Mälzung ist bei COGHE et al. beschrieben (Coghe et al. 2004; Coghe et al. 2006).

Durch die bei thermischen Prozessen der Malz- und Bierbereitung ablaufende Maillardreaktion entstehen antioxidativ wirksame Substanzen (Boivin et al. 1993). Im Brauprozess steigt das Reduktionsvermögen (mittels DPI) während der

Würzekochung deutlich an und fällt während der Gärung wieder deutlich ab (Spieleder 2007). Im restlichen Prozess finden keine nennenswerten Änderungen statt. Der Pronyl-Lysin-Gehalt steigt ohne einen Abfall bis ins fertige Bier an (Spieleder 2007). Übliche Gehalte des Reduktionsvermögens liegen in frischen Bieren bei etwa 30 % (Franz 2004).

Die Melanoidine zählen zu den „schnell-reduzierenden“ Substanzen, weswegen ihnen im Gegensatz zu den „langsamer reduzierenden“ Polyphenolen bereits früh eine gewisse Schutzwirkung zugesprochen wurde (Hartong et al. 1955–1956; Clerk and Cauwenberge 1956). Zudem hätten ihre Oxidationsprodukte keine negativen Auswirkungen auf die sensorische Qualität des Bieres.

Melanoidine gelten als gute Antioxidantien und wirken z.B. im Desoxyribosetest als Hydroxylradikalfänger im Fenton-System (Morales 2005).

Die reduzierende Wirkung der Reduktone und Melanoidine beruht auf der Endiolstruktur oder ähnlichen Molekülgruppen. Da vor der Oxidationsreaktion ein Proton abgespalten werden muss, kann wie bei den Polyphenolen eine pH-Abhängigkeit der Aktivität vermutet werden.

Die Aktivität der Melanoidine steigt mit der Molekülgröße (Lee and Shibamoto 2002).

Für Melanoidine wurden in Modelllösungen bereits früh auch prooxidative Eigenschaften nachgewiesen (Drost et al. 1974).

HASHIMOTO zeigte die Möglichkeit der direkten Oxidation von Alkoholen durch Melanoidine auf (Hashimoto 1972). Die Reaktion verlief bei niedrigen pH-Werten schneller als im neutralen Bereich und ist somit für das Bier relevant.

Für Ascorbinsäure, das als Modellendiol gilt, wurde bereits mehrfach eine prooxidative Wirkung in Bier als auch in Modelllösungen festgestellt. Vermutlich beschleunigt sie durch die Reduktion von Metallionen die Fentonreaktion (Irwin et al. 1991; Andersen et al. 2000; Brezova et al. 2002; Stephan et al. 2002).

Bei der ESR-Messung können nach einer Zugabe von Maillardprodukten eine verstärkte Radikalgenerierung und eine verminderte Lagtime festgestellt werden (Noeddekaer and Andersen 2007).

Neben der Redoxaktivität kommen Melanoidine auch für eine Chelatierung von Metallionen in Frage (Wijewickreme et al. 1997; Wijewickreme and Kitts 1998).

Maillardprodukte senken zudem den SO<sub>2</sub>-Gehalt durch irreversible Bindung (Noeddekaer and Andersen 2007). Eine Zugabe von Maillardprodukten führt bei der Lagerung zu einer erhöhten Sulfitzehrung. So ergeben sich in unterschiedlichen Bieren je nach Gehalt an Maillardprodukten bzw. ihrer Farbe unterschiedliche Zusammenhänge zwischen dem SO<sub>2</sub>-Gehalt und der Lagtime (Noeddekaer and Andersen 2007).

Bekanntermaßen verschlechtert sich die Geschmacksstabilität mit steigender Abdarrtemperatur (Narziss et al. 1999). Da mit höheren Temperaturen auch von einer vermehrten Melanoidinbildung ausgegangen werden muss, kann über eine prooxidative Wirkung der Melanoidine in diesem Zusammenhang spekuliert werden.

Beim Einmaischen erhöht sich das Chemiluminszenzsignal durch eine Zugabe von Pronyl-lysin leicht (Spieleder 2007).

Eine erhöhte thermische Belastung beim Würzekochen führt zu erhöhten Streckeraldehyden im forcierten Bier (Ogane et al. 2006; Back 2008).

Trotz der Berichte über mögliche prooxidative Wirkungen ging man bisher davon aus, dass Melanoidine im Brauprozess in Summe überwiegend positiv wirken. Allerdings ist ihre Bildung bei thermischen Prozessen in der Regel mit einer thermischen Belastung der Produktmatrix assoziiert. Dementsprechend wurden Fälle von Bieren, die trotz hohem Reduktionsvermögen eine mangelhafte Geschmacksstabilität aufwiesen, auf die Bildung von Streckeraldehyden und Precursorsubstanzen der Alterung durch die thermische Belastung zurückgeführt (Back 2008). Diesem Modell widerspricht die Feststellung, dass eine Zugabe von Pronyl-L-Lysin zum Bier in den gealterten Proben ohne thermische Belastung zu einem Anstieg vom 3-Methyl-Butanal, 2-Furfural und 2-Phenylethanal und zu einer schlechteren sensorischen Bewertung führt (Spieleder 2007).

Zusammenfassend stellt sich der Einfluss der Melanoidine auf die Geschmacksstabilität äußerst widersprüchlich dar.

### 2.5.5 Proteine

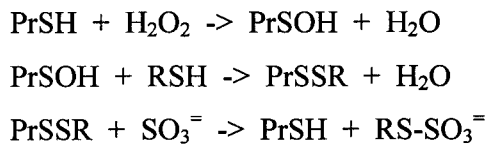
Im Bier sind zahlreiche Proteine unterschiedlicher Molekülgröße sowie freie Aminosäuren enthalten. Es gibt kaum Untersuchungen, die sich mit einer möglichen antioxidativen Wirkung im Bier beschäftigen.

Die Reduktionskraft der Proteine und Aminosäuren geht von den Thiolgruppen (R-SH) aus (Blois 1958; Halliwell et al. 1995; Kocherginsky et al. 2005).

Niedermolekulare, im Bier enthaltene Thiole der Aminostickstoffverbindungen sind Cystein, Thioredoxin und Glutathion. Cystein stammt aus dem Malz. Thioredoxin und weitere Proteine mit Thiolgruppen werden von der Hefe gebildet und ins Jungbier ausgeschieden (Swan et al. 2003; Rogers and Clarke 2007). Die Thioredoxinbildung und -exkretion wird durch oxidativen Stress verstärkt ausgelöst (Rogers and Clarke 2007). Als weitere Reaktion auf oxidativen Stress produziert die Hefezelle auch Glutathion (Penninckx 2000).

Die Proteinthiole, darunter Glutathion und Thioredoxin stellen einen starken antioxidativen Redoxpuffer der Hefezelle dar (Penninckx 2002; Swan et al. 2003; Rogers and Clarke 2007), der auch ins Bier übergeht. Durch Zugabe von Glutathion zum Bier können beispielsweise die Lagtime stark erhöht und die sensorischen Eigenschaften der gealterten Biere deutlich verbessert werden (Franz 2004).

ROGERS UND CLARKE vermuten einen komplexeren Mechanismus, bei dem die Thiole durch reaktive Sauerstoffspezies zu Sulfensäure oxidiert werden, welche mit den Thiolgruppen anderer Moleküle Disulfidbrücken ausbildet. Sulfensäure ist ein sensibler Redoxregulator des Zellstoffwechsels (Poole et al. 2004). Die Disulfidbrücken können schließlich durch  $\text{SO}_2$  (und vermutlich auch durch andere reduzierende Stoffe) wieder zu Thiolgruppen reduziert werden (Rogers and Clarke 2007). Das Reaktionsschema ist in Abbildung 9 dargestellt. Eine Entfernung von Thiolen führt zu einer Verminderung der Lagtime und eine Unterdrückung des Regenerationsmechanismus durch Abfangen der Sulfensäure führt zu einer Verminderung der Lagtime und zu einer deutlichen Verstärkung der Radikalgenerierung (Rogers and Clarke 2007).



**Abbildung 9: Redoxaktivität der SH-Gruppen (Rogers and Clarke 2007).**

Für Cystein ist im Gegensatz dazu eine prooxidative Wirkung in Bier bekannt (Andersen et al. 2000; Franz 2004). Sie ist vermutlich auf seine starke Reduktionskraft und die damit einhergehende Fähigkeit der reduktiven Sauerstoffaktivierung in Verbindung mit Metallionen zurückzuführen (Irwin et al. 1991). Speziell in Verbindung mit Kupferionen stellt Cystein ein sehr starkes Oxidationssystem dar. In Verbindung mit Kupferionen können im Bier möglicherweise auch (höhermolekulare) Proteine prooxidativ wirken: Cu-Peptid-Komplexe können Elektronenübergänge bei Redoxreaktionen katalysieren (Magerum 1982).

In der Brautechnologie versucht man unter dem Gesichtspunkt der Geschmacksstabilität bislang den Eiweißgehalt möglichst gering zu halten, da Aminosäuren Edukte der Maillardreaktion und des Streckerabbaus darstellen, bei dem die bekannten Alterungscarbonyl gebildet werden (Narziss et al. 1999; Back 2008). Die Konzentration an Alterungskomponenten im gealterten Bier korreliert mit dem Eiweißlösungsgrad des verwendeten Malzes (Mader 1998). Eine gesteigerte Proteolyse und damit erhöhte Gehalte der Würze an löslichem Stickstoff wirken sich ähnlich negativ aus (Back 2008).

Die Verwendung von Wintergerste führt wegen des niedrigeren Eiweißlösungsgrades zu geringeren Gehalten an Alterungskomponenten und zu einer besseren sensorischen Bewertung der gealterten Biere (Narziss et al. 1999).

Der Einfluss von Proteinen auf die antioxidative Aktivität und auf die Geschmacksstabilität stellt sich somit zwiespältig dar. Eiweißverbindungen mit Thiolgruppen scheinen überwiegend antioxidativ zu wirken. Vermutlich tragen sie nennenswert zum Redoxpotential der Biermatrix und zur Lagtime bei. Der Redoxaktivität steht die negative Rolle als Precursor der Streckerreaktion gegenüber. Lösliche Eiweißverbindungen wirken sich in der Summe negativ auf

die Sensorik der gealterten Biere aus. Folglich müssen die Eiweißverbindungen differenzierter betrachtet werden. Bezüglich der antioxidativen Aktivität und der Auswirkung auf die Geschmacksstabilität scheinen sich hochmolekulare Proteine und niedermolekulare, lösliche Stickstoffverbindungen, sowie schwefelhaltige und nicht-schwefelhaltige Eiweißstoffe unterschiedlich zu verhalten.

### **2.6 Parameter der Geschmacksstabilität und technologische Maßnahmen**

Neben der Anreicherung antioxidativer Inhaltsstoffe liegt der Fokus in der Brautechnologie vor allem auf der Wahrung der Geschmacksstabilität. D.h. man geht davon aus, dass die Rohstoffe an sich das Potential einer guten Geschmacksstabilität mit sich bringen. Die Aufgabe des Brauers ist es, diese durch das systematische Vermeiden negativer Einflüsse zu erhalten. Das bedeutet konkret die Verwendung von Malzen mit niedrigen Eiweißgehalt und – lösungsgrad, die Vermeidung von Sauerstoffeinträgen (Ausnahme Würzebelüftung) und Kontaminationen mit Metallionen über den gesamten Brauprozess, die Umgehung der Optima prooxidativer Enzyme, die Minimierung thermischer Belastungen und die Verwendung vitaler Hefe bei moderater  $\text{SO}_2$ -Bildung (Back 2008). Als positive Einflussmöglichkeiten haben sich hohe Einmischtemperaturen und die biologische Maischesäuerung erwiesen (Narziss et al. 1985; Narziss et al. 1999; Back 2008).

Vermutlich aufgrund der nach und nach stattfindenden Umsetzung dieser technologischen Empfehlungen in der Brauereipraxis und durch die nahezu flächendeckende Installation neuer Kochsysteme mit besseren Wirkungsgraden und der damit einhergehenden geringeren thermischen Belastung verminderten sich die Gehalte an Alterungsindikatoren im Bier in den letzten Jahren deutlich (Herrmann et al. 2008).

Unter der Voraussetzung, dass sämtliche negativen Einflüsse (vgl. oben) weitgehend ausgeschaltet werden können, geht man davon aus, dass die Geschmacksstabilität im Wesentlichen von der sog. ‚endogenen antioxidativen Aktivität‘ des Bieres beeinflusst wird. Diese Eigenschaft des Bieres wird durch die



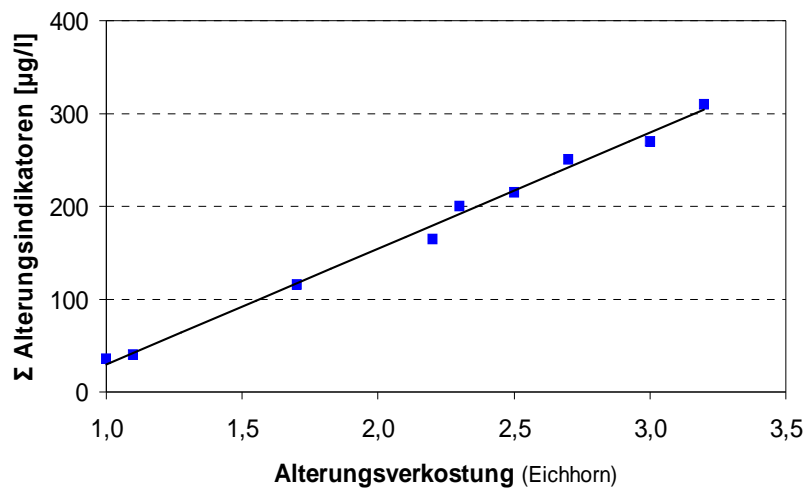
antioxidativen Inhaltsstoffe des Bieres, die durch Malz, Hopfen und die Hefe in den Prozess eingebracht werden, bedingt.

Dennoch besteht vor allem bei den Polyphenolen auch Uneinigkeit über den Umgang mit dieser Substanzgruppe und die Empfehlungen reichen von einer Schonung und Anreicherung bis hin zu einer weitestgehenden Entfernung dieser Substanzen aus dem Brauprozess. Grund hierfür sind vor allem mögliche negative Auswirkungen auf die Sensorik und ihr Beitrag zur Trübungsbildung.

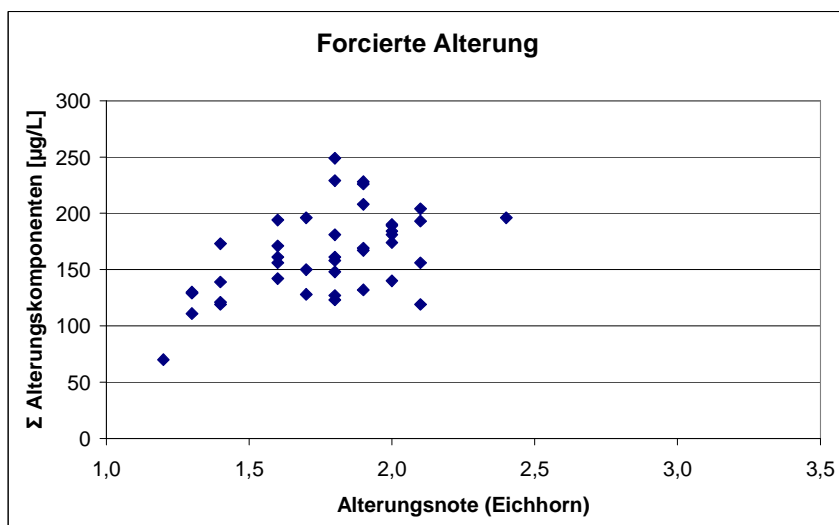
### **2.7 Aktuelle Problematik und Aufgabenstellung.**

Das Verständnis der Geschmacksstabilität wurde grundsätzlich in Frage gestellt, als bei Versuchen am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei 1 in Weihenstephan Fälle auftraten, in denen die Analytik (Lagtime und Alterungsindikatoren) nicht mit der sensorisch bestimmten Geschmacksstabilität korrelierte. In Gärversuchen von THIELE ließen sich beispielsweise keine gleichlaufenden Zusammenhänge zwischen dem SO<sub>2</sub>-Gehalt, der Lagtime und den gaschromatographisch bestimmten Alterungsindikatoren nachweisen (Thiele 2006). In Abhängigkeit vom variierten Parameter ergaben sich unterschiedliche Zusammenhänge zwischen der Analytik und der sensorisch bestimmten Geschmacksstabilität. Bei einer analytischen Gegenüberstellung von Bieren verschiedener Brauereien wurden in einer anderen Untersuchung äußerst unscharfe Korrelationen zwischen Analytik und Geschmacksstabilität gefunden, so dass sich ein Vergleich der Betriebe mit analytischen Methoden als unmöglich darstellte (Wurzbacher 2006). Ein scharfer Zusammenhang zwischen den Alterungsindikatoren und der sensorischen Bewertung gilt nur *innerhalb eines Bieres bzw. einer Brauerei* (vgl. Abbildung 10). Beim Vergleich von Bieren verschiedener Brauereien gilt dieser Zusammenhang nur noch eingeschränkt, wie Abbildung 11 anhand von neu ausgewerteten Daten aus der Arbeit von FRANZ darstellt (Franz 2004). EICHHORN und LUSTIG, die bereits Abweichungen zwischen unterschiedlichen Brauereien bemerkt hatten, vermuteten als Ursache unterschiedliche Ausgangsgehalte der frischen Biere. Allerdings wird der Zusammenhang nur unmerklich schärfer, wenn man das Delta der Alterungsindikatoren berücksichtigt (Abbildung 12). Durch die hinzukommenden Abweichungen zwischen forcierter und natürlicher Alterung ist

eine Vorhersage der Geschmacksstabilität im Vergleich verschiedener Brauereien kaum noch möglich (Abbildung 13).



**Abbildung 10: Zusammenhang zwischen den Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung innerhalb eines Bieres bzw. einer Brauerei (Back 2008).**



**Abbildung 11: Zusammenhang zwischen den Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung beim Vergleich verschiedener Brauereien.**

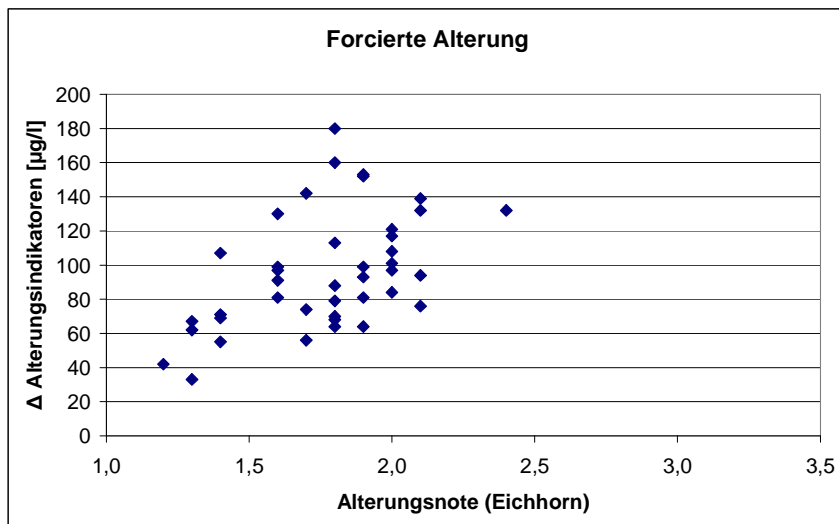


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen dem Delta der Alterungsindikatoren und der Alterungsverkostung beim Vergleich verschiedener Brauereien.

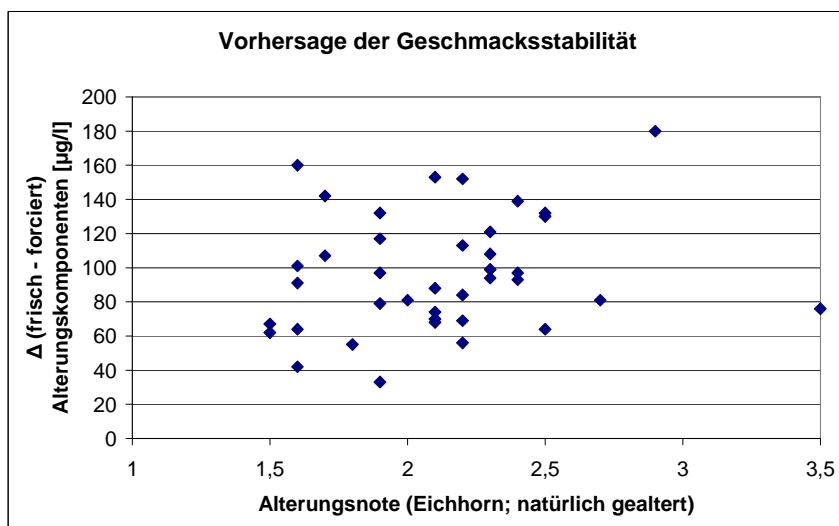


Abbildung 13: Analytische Vorhersage der Geschmacksstabilität im Forciertest.

Die bekannten Zusammenhänge zwischen Technologie, Analytik und Geschmacksstabilität erwiesen sich als nicht allgemein übertragbar und waren jeweils nur innerhalb einer Brauerei oder Versuchsreihe gültig. Das deutet darauf hin, dass bezüglich der Geschmacksstabilität weitere, bislang nicht erfasste Einflussparameter existieren mußten. Ein erster Erklärungsansatz war eine mögliche Maskierung des Alterungsaromas durch unterschiedliche Gehalte an (positiven) Bieraromastoffen (Back 2008). Für Linalool war dieser Effekt bereits bekannt (Kaltner 2000; Hanke 2010). In Untersuchungen von THIELE korrelierte die Geschmacksstabilität bei einer Variation der Gärtemperatur mit den Gehalten an

Estern (Thiele 2006). SO<sub>2</sub>-Gehalte und Alterungsindikatoren waren in den entsprechenden Bieren vergleichbar. HERRMANN konnte die maskierenden Effekte von Estern schließlich im Zugabeversuch nachweisen (Herrmann 2008).

Allerdings korrelierte die Geschmacksstabilität auch bei schlanken, charakterlosen Bieren ohne besonderes Aromaprofil, bei denen von einem Nicht-vorhanden-sein von maskierenden Effekten ausgegangen werden konnte, nicht immer mit der antioxidativen Aktivität. Das führte zu dem Schluss, dass es zur Ausbildung des Alterungsaromas nicht nur oxidativer Prozesse bedarf, sondern dass eine entsprechende oxidierbare Biermatrix mit Precursorsubstanzen, aus denen aromaaktive Produkte gebildet werden können, vorhanden sein muss (Back 2008).

Unter der Beibehaltung der Annahme, dass es sich bei den zur Verminderung der sensorischen Qualität des Bieres führenden Vorgängen überwiegend um oxidative Prozesse handelt und unter der Annahme, dass im Brauprozess Fehler, die zu einer groben Minderung der Geschmacksstabilität führen, vermieden werden, kann von den folgenden wesentlichen Parametern der Geschmacksstabilität ausgegangen werden:

- Der Gehalt an endogenen Antioxidantien und der Redoxstatus (antioxidativer Schutzmechanismus).
- Die Oxidierbarkeit der Biermatrix und das Vorhandensein von Precursorsubstanzen aromaaktiver Alterungskomponenten (Ausbildung des Alterungsaromas).
- Prooxidative Einflüsse (Enzyme, Metallionen, Sauerstoffeinträge, thermische Belastungen).
- Die Geschmacksmatrix und das Aromaprofil des Bieres (maskierende Effekte).

Einerseits stellt diese Aufgliederung vermutlich immer noch eine sehr grobe Vereinfachung dar, andererseits kann bereits jeder dieser Parameter durch zahlreiche Einflussgrößen variiert werden. Somit stellt sich die Geschmacksstabilität als ein multifaktorielles Problem dar. „Der“ einfache Zusammenhang zwischen wenigen Einflussgrößen, einer zugehörigen

analytischen Kenngröße und der resultierenden sensorischen Geschmacksstabilität (oftmals bei SO<sub>2</sub> und Lagtime vermutet) existiert vermutlich nicht, weshalb sich eine verlässliche Vorhersage der Geschmacksstabilität anhand von analytischen Kriterien bislang als unmöglich erwies.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Wirksamkeiten der antioxidativen Inhaltsstoffe unter dem Blickwinkel der im vorigen Abschnitt postulierten allgemeinen Einflussparameter der Geschmacksstabilität neu untersucht werden. Ziel ist es, einerseits durch empirische Untersuchungen an einer möglichst großen Anzahl von Handelsbieren und andererseits durch gezielte Versuche deren Einfluss auf die Geschmacksstabilität in den einzelnen Prozessschritten herauszufinden. Anhand der Ergebnisse sollen die einzelnen Parameter soweit wie möglich bezüglich ihrer Bedeutung für die Geschmacksstabilität gewichtet werden.

Speziell die antioxidativen Eigenschaften der Reduktone müssen neu bewertet werden, da in vielen älteren Untersuchungen die Möglichkeit ihrer prooxidativen Wirkung im Lebensmittel (Sauerstoffaktivierung) nicht berücksichtigt wurde. In diesem Zusammenhang stellt sich grundsätzlich die Frage, ob ein hohes Reduktionsvermögen bzw. eine *in vitro* bestimmte hohe endogene antioxidative Aktivität des Bieres oder einzelner Inhaltsstoffe angesichts des reduktiven Charakters der Sauerstoffaktivierung überhaupt wünschenswert ist.

Da der dominante Einfluss des SO<sub>2</sub>-Gehaltes auf die antioxidative Aktivität ebenfalls erst vor rund 10 Jahren allgemein bekannt wurde, wurde er in vielen älteren Untersuchungen nicht berücksichtigt und der verwendeten Hefe nur geringe Aufmerksamkeit geschenkt. Aus diesem Grund muss bei der Beschreibung der Wirkung anderer antioxidativer Inhaltsstoffe in älteren Veröffentlichungen von teilweise verfälschten Ergebnissen bezüglich der sensorischen Auswirkungen der untersuchten Parameter ausgegangen werden. Bei einer Überprüfung von Daten älterer Arbeiten fanden sich viele Beispiele in denen bessere Korrelationen zwischen dem SO<sub>2</sub>-Gehalt und der Geschmacksstabilität als zwischen dem untersuchten Merkmal und der Geschmacksstabilität feststellbar waren.

Im überwiegenden Teil der Literatur aus dem Themenbereich der Geschmacksstabilität wurde jeweils nur die antioxidative Aktivität bestimmt. Da nicht länger von einer scharfen Korrelation zwischen den beiden Merkmalen

ausgegangen werden kann, ist es auch aus diesem Grund notwendig, die Forschung zur Geschmacksstabilität neu anzusetzen.

Auch die Aussagekraft der sensorischen Bestimmung der Geschmacksstabilität im Forciertest ist fraglich. Bereits FRANZ konnte zeigen, dass bei handelsüblichen Bieren verschiedener Brauereien kein Zusammenhang zwischen der „natürlichen Lagerung“ bei ungefähr 20 °C und der zur sensorischen Untersuchung der Geschmacksstabilität herangezogenen forcierten Alterung bei erhöhten Temperaturen besteht (Franz 2004).

Angesichts dieser Sachlage erscheint es sinnvoll, die Forschung auf dem Gebiet der antioxidativen Aktivität und der sensorischen Veränderungen im Verlauf der Alterung neu aufzurollen. Die Wirksamkeit vieler bewährter technischer und technologischer Einflussparameter, wie zum Beispiel die Verwendung moderner Maischprogramme und Kochsysteme, steht außer Frage und ist somit nicht Inhalt dieser Arbeit. Ebenfalls nicht untersucht und bewertet werden die physiologischen Eigenschaften der untersuchten Inhaltsstoffe.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Sensorische Bestimmung der Geschmacksstabilität des Bieres

Die maßgebliche Analyse zur Beurteilung der Geschmacksstabilität (GS) ist immer die Sensorik. Eine Beschreibung der Geschmacksstabilität allein mit instrumenteller oder nasschemischer Analytik ist, schon aufgrund der im vorangehenden Abschnitt diskutierten Argumente, nicht statthaft. Nun stoßen wir auf das Problem, dass das analytische Qualitätsmerkmal ‚Geschmacksstabilität‘ nicht klar definiert ist. Ausgehend von der Verbrauchererwartung wäre die folgende Definition sinnvoll:

- Unter der Geschmacksstabilität versteht man den Zeitraum, in dem unter realen Lagerungsbedingungen keine deutliche, negative Veränderung des Biergeschmacks oder –aromas festgestellt werden kann.

Diese Definition soll auch für diese Arbeit maßgeblich sein. Da die Bestimmung der GS im Sinne dieser Definition eine aufwändige, lückenlose sensorische Bewertung des Bieres über den natürlichen Alterungsprozess hinweg erfordert, ist diese Herangehensweise zur Bestimmung der GS nur in Ausnahmefällen möglich. Eine Vorhersage der GS ist nicht möglich.

Das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Formblatt der Alterungsprofilprüfung ist im Anhang in Abbildung A\_ 2 dargestellt. Die sensorische Beurteilung des Bieres besteht dabei immer aus zwei Teilen: Der Beurteilung der Bierqualität, was der Bewertung frischer Biere entspricht, sowie einer Beurteilung des Alterungsaromas. Zu beachten ist, dass die enthaltene Bewertung in Anlehnung an die DLG mit sechs Notenstufen arbeitet. Das 5-stufige Schema der DLG ist wegen seiner Nichtlinearität in Verbindung mit einer großer Schrittweite für wissenschaftliche Untersuchungen nicht geeignet.

Da sämtliche Verkoster am Lehrstuhl auf das 5-stufige DLG-Schema geschult sind, wurde es bei einigen Versuchen, für die Zusammenstellung und Schulung

eines eigenen Verkosterpanells zu aufwendig war, dennoch verwendet. In diesen Fällen wurden Halbnotenschritte zugelassen.

Wenn die Aufnahme des Alterungsverlaufes zu aufwändig war, wurden die Biere nach einer dreimonatigen Lagerung bei Raumtemperatur (20 °C – 25 °C; kein direkter Lichteinfall) oder nach einer forcierten Alterung (24 h schütteln, 96 h bei 40 °C) mit dem Verkostungsschema nach EICHHORN bewertet (Eichhorn 1991). Zu beachten ist, dass hierbei andere Merkmale der Alterung als bei der Bewertung eines Alterungsverlaufes aufgenommen werden: Bei der Alterungsverkostung nach EICHHORN wird in der Regel der Zustand der Probe zu einem definierten Zeitpunkt bestimmt. Idealerweise ausgedrückt, werden dabei die Phase der Alterung (Alterungsnote) und die Intensität und Qualität des Alterungsaromas (Akzeptanz) bewertet. Die Alterungsverkostung nach EICHHORN zu einem bestimmten Zeitpunkt kann keine Aussage darüber machen, wie sich das Bier vor oder nach diesem Zeitpunkt verändert.

Da Alterungsaromen unterschiedlicher hedonischer Bewertung über den Alterungsverlauf ständig neu gebildet und wieder abgebaut werden, und da unterschiedliche Biere unterschiedliche Alterungsverläufe aufweisen, kann mit diesen Methoden nur eingeschränkt auf die als Zeitraum verstandene Geschmacksstabilität im Sinne der obigen Definition zurückgeschlossen werden.

Auch der Einsatz der forcierten Alterung ist kritisch zu betrachten. Eine Aussage ist hier nur innerhalb einer Versuchsreihe oder Brauerei möglich, beim Vergleich verschiedener Versuchsreihen oder Brauereien besteht kein Zusammenhang zwischen der forcierten und der natürlichen Alterung (Wurzbacher 2006). Die Ursachen hierfür werden in der Temperaturabhängigkeit der Bildungsreaktionen von Aromastoffen sowie in den durch die forcierte Alterung verzerrten Verhältnissen von thermischer Belastung und Sauerstoffdiffusion durch den Kronkorken vermutet.

### **3.2 Gaschromatographische Bestimmung von Aromastoffen**

Sowohl die Aromastoffe des frischen Bieres als auch die Alterungsaromen wurden gaschromatographisch bestimmt. Hierzu wurden die hausinternen Analysemethoden des GC-Labors des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei 1



in Weihenstephan (seit 04.2009 Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie) verwendet. HERRMANN konnte zeigen, dass die in der Analyse der Alterungsindikatoren bestimmten Aromastoffe nicht nur eine Indikatorfunktion besitzen, sondern merklich zum Alterungsaroma beitragen (Herrmann 2008; Herrmann et al. 2008).

Durchgeführte Analysenmethoden (Vorschriften: Stand 01.2010):

- Prüfverfahren Nr. GC 009/08 – Bestimmung der wasserdampfvlüchtigen Aromastoffe in Bier. Forster, 09.07.98 / Marschmann / 29.10.08, Wurzbacher, 02.09.09.
- Prüfverfahren Nr. GC 008/08 – Bestimmung der höheren Alkohole und Ester in Bier. Forster, 12.02.97 / Marschmann, 30.10.08 / Wurzbacher 02.11.09.
- Prüfverfahren Nr. GC 001/96 – Bestimmung der vicinalen Diketone. Forster, 1996 / Marschmann, 28.10.08 / Wurzbacher, 02.09.09.
- Prüfverfahren Nr. GC 003/09 – Bestimmung Dimethylsulfid in Malz, Würze und Bier. Franz, 02.04.97 / Marschmann, 29.10.08 / Wurzbacher, 17.07.09.
- Prüfverfahren Nr. GC 007/08 – Bestimmung der Alterungsindikatoren in Bier. Forster, 26.03.98 / Marschmann, 29.10.08 / Wurzbacher, 28.10.09.

Bei den Prüfverfahren GC 011/08 und GC 007/08 wird eine Wasserdampfdestillation mit anschließender Flüssig-flüssig-Extraktion mit Dichlormethan angewendet. Bei dem Prüfverfahren GC 008/08 handelt es sich um eine statische Headspace-Analyse. Bei sämtlichen Prüfverfahren wird unter Verwendung eines internen Standards gearbeitet. Bei den Prüfverfahren GC 011/08, GC 008/08, GC 001/08 und GC 007/08 erfolgt die Kalibrierung und Auswertung unter Berücksichtigung relativer Flächen oder Höhen mittels linearer Regression. Im Prüfverfahren GC 003/09 wird aufgrund des nichtlinearen Anspruchsverhaltens des Detektors eine potentielle Regression zugrundegelegt. Die Kalibrierungen werden bei den Verfahren GC 008/08, GC 001/96 und GC 003/09 durch die Messung ethanolischer Standardlösungen verschiedener Konzentration durchgeführt. Bei den Methoden GC 009/08 und GC 007/08 erfolgt die Kalibrierung in verschiedenen Konzentrationsstufen additiv in Bier.

Die detaillierten Methodenvorschriften sind beim Autor oder am Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie erhältlich. Die Bestimmung der Bieraromastoffe wurde bereits bei SCHNEEBERGER ausführlich beschrieben (Schneeberger 2006) und die Methode der Bestimmung der Alterungsindikatoren geht auf EICHHORN zurück und ist bei KALTNER ausführlich beschrieben worden (Eichhorn 1991; Kaltner 2000). Die aktuelle Bestimmungsmethode der Höheren Alkohole geht auf THUM zurück und wurde ebenfalls bei KALTNER beschrieben (Thum and Back 1999; Kaltner 2000).

### **3.3 Nasschemische Bestimmung phenolischer Substanzen**

Polyphenole und Anthocyanogene wurden nach nasschemischer Probenaufarbeitung am UV/VIS-Spektrometer mit den Methoden nach MEBAK bestimmt (MEBAK 1993). Des weiteren wurde die Methode nach DELCOUR zur Bestimmung der Flavonoide herangezogen (Delcour and Janssens de Varebeke 1985).

Zur Bestimmung der PVP-fällbaren phenolischen Substanzen wurde die Analyse der Tannoide mit dem Analysengerät der Firma Pfeuffer, Kitzingen (Tannometer) gemäß der Bedienungsanleitung verwendet. Es handelt sich hierbei um eine automatisierte, nephelometrische Trübungsbestimmung, die auf der Methode von CHAPON basiert (Chapon et al. 1661; Chapon 1993).

Von einigen Proben konnten Einzelsubstanzen durch das Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften der Rheinischen Friedrichs-Wilhelms-Universität Bonn mittels instrumenteller Analytik (LC-MS<sup>n</sup>) bestimmt werden. Die Methoden sind in den Abschlußberichten der Forschungsprojekte AiF 12605 und AiF 13873 beschrieben (Franz et al. 2003; Wurzbacher et al. 2005b).

Korrelationen zwischen den nasschemischen Summenanalysen und einiger mittels instrumenteller Analytik bestimmter Einzelsubstanzen sind bei FRANZ (Franz 2004) dokumentiert. Im stabilisierten Bier zeigen Prodelphinidin B3, m/z 451 C-Hexosid, Procyanidin B3, Catechin und Epicatechin gute Korrelationen zu allen vier nasschemischen Analysenmethoden. Diese Zusammenhänge sind

vermutlich in erster Linie auf gleichlaufende Beeinflussungen aller polyphenolischer Fraktionen durch die Agrar-, Mälzungs- und Brautechnologie zurückzuführen und bedeuten nicht zwangsläufig, dass diese Substanzen tatsächlich durch die genannten Methoden gemessen werden. Die Phenolcarbonsäuren, die durch die Stabilisierung nicht beeinflusst werden, weisen kaum Zusammenhänge zu den nasschemischen Summenanalysen auf.

Eine exakte Charakterisierung der mittels der Summenanalysen erfassten Substanzgruppen erweist sich mangels verfügbarer Reinsubstanzen als äußerst schwierig. Gesamtpolyphenole und Flavonoide sprechen auf monomere Polyphenole an, Anthocyanogene und Tannoide nicht. Besonders der Charakter der Anthocyanogene und der Tannoide bleibt unklar, da sie sich in den Untersuchungen als unabhängige Methoden darstellen. Flavonoide, Anthocyanogene und Tannoide gelten allerdings sämtlich als Methoden zur Bestimmung von Flavonoiden (kondensierten Gerbstoffen).

### **3.3.1 Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung phenolischer Substanzen**

Um die nasschemischen Untersuchungen auch an den Malzproben durchführen zu können, wurde eine Methode zur Herstellung von Malzkaltauszügen entwickelt. Dabei musste die Oxidation der Polyphenole während der Probenvorbereitung soweit wie möglich unterbunden werden.

18 g Malz (bzw. Gerste) werden in einer wassergekühlten Labormühle innerhalb von 10 s vermahlen. Für die anschließende Extraktion wird eine Ascorbinsäurelösung (5 g/l; wöchentlich neu herstellen, kalt lagern ohne Luftzutritt), die mittels Eisessig auf pH 2,5 eingestellt wird, verwendet. Die Ascorbinsäurelösung wirkt in dieser Konzentration antioxidativ und die pH-Absenkung bewirkt eine Hemmung der Enzyme und setzt gleichzeitig die Reaktivität phenolischer Verbindungen herab. Zudem wird durch den niedrigen pH-Wert die Auflösung des Malzmehls gefördert. 10 g des Malzmehls werden bei 20°C über 30 Minuten mit 100 ml der Lösung auf einem Schüttler extrahiert (Malz : Lösung = 1 : 10; Glaskugeln zur Erreichung einer guten Durchmischung zugeben) und im Anschluss bei 6000 min<sup>-1</sup> zentrifugiert sowie über einen Faltenfilter filtriert. Der gewonnene Kaltauszug wird sofort analysiert oder sofort

unter Stickstoffatmosphäre auf 0 °C gekühlt, in welchem Zustand er bis zur Analyse bis zu fünf Tage aufbewahrt werden kann. Die gesamte Probenvorbereitung ist zügig und ohne Pausen durchzuführen. Da das Mahlergebnis die Analytik deutlich beeinflusst, muss auf eine absolut konstante Durchführung geachtet werden. Analysenergebnisse, die mit unterschiedlichen Labormühlen erzielt wurden, können voneinander abweichen. Alternativ empfiehlt es sich, eine Standardprobe mit jedem Analysengang mitzubestimmen und mithilfe der Abweichung des Standardmalzes von seinem Mittelwert die Analysenergebnisse rechnerisch zu korrigieren.

Die Kaltauszüge können nun auf Anthocyanogene und Tannine untersucht werden. Die Methode zur Bestimmung der Gesamtpolyphenole (Gerbstoffe) muss leicht abgewandelt werden. Um die Probe in den für die Farbreaktion nötigen pH-Bereich von etwa 10 zu bringen, müssen anstatt der 0,5 ml 30%iger Ammoniaklösung nach Vorschrift (MEBAK 1993) nun 2 ml 50%iger Lösung zugegeben werden. Die Bestimmung der Flavonoide ist in den Kaltauszügen noch nicht getestet worden und stand deshalb für die Untersuchungen nicht zur Verfügung.

### **3.4 Bestimmung des Redoxpotentials und des Reduktionsvermögens**

Das Redoxpotential eines Stoffes ist ein Maß für dessen Bereitschaft, in einer chemischen Reaktion Elektronen aufzunehmen und damit als Oxidationsmittel zu wirken. Das Redoxpotential macht damit eine Aussage darüber, ob chemische Reaktionen grundsätzlich möglich sind. Das Redoxpaar mit dem höheren Redoxpotential wird bei der Reaktion reduziert und das Redoxpaar mit dem niedrigeren Redoxpotential (das Reduktionsmittel) wird oxidiert.

Das Redoxpotential und das Reduktionsvermögen bezeichnen also die Fähigkeit einer Substanz oder einer komplexen Probe / eines Lebensmittels (in Summe) andere Substanzen (Inhaltsstoffe oder Indikatorsubstanzen) oder Systeme zu reduzieren. Dabei muss grundsätzlich zwischen dem Reduktionsvermögen von Einzelsubstanzen und dem Reduktionsvermögen des Lebensmittels als Summengröße unterschieden werden:

Das Reduktionsvermögen einer Einzelsubstanz ist eine wichtige Eigenschaft von Antioxidantien. Durch diese Eigenschaft können sie prooxidative Substanzen oder bereits oxidierte Inhaltsstoffe reduzieren und so die Oxidation der Produktmatrix verhindern. Bei der Reaktion wird der reduzierende Inhaltsstoff (das Antioxidans) selbst oxidiert. Daraus folgt, dass ein hohes Reduktionsvermögen einer („aktiven“) Substanz gleichbedeutend mit ihrer hohen Oxidierbarkeit und Reaktivität ist und somit mit einer ausgeprägten Instabilität (des Antioxidans selbst) einhergeht. Wirksame Antioxidantien müssen reaktiv und damit auch instabil sein.

Das Reduktionsvermögen des Bieres als Summengröße ist im Gegensatz dazu eine wertgebende und schützenswerte Eigenschaft und kein Schutzmechanismus. Je höher die Reduktionskraft, umso reaktiver, leichter oxidierbarer und damit instabiler muss das Bier zwangsläufig werden.

Mit dieser kurzen Überlegung kann bereits die erfolglose Suche nach einem positiven Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen des Bieres (als Summenparameter) und seiner Geschmacksstabilität ad absurdum geführt werden.

### 3.4.1 Elektrochemische Bestimmung des Redoxpotentials

Das Redoxpotential kann elektrochemisch mittels einer Elektrode bestimmt werden. Die Methode war im Bier zum Zeitpunkt der Untersuchung noch wenig ausgereift und schlecht reproduzierbar (Gebhart 1993), weshalb die Ergebnisse verschiedener Versuchsreihen nicht miteinander vergleichbar waren.

Das elektrochemische Redoxpotential wurde mittels einer Platin- (Meß-) elektrode und einer Silberchlorid- (Referenz-) elektrode der Firma Sensortechnik Meinsberg GmbH, Ziegra-Knobelsdorf, in Anlehnung an die Methode der EQC Elektrochemisches Qualitätsconsulting GmbH, Weidenbach, bestimmt (Staller 2003). Einige Messungen wurden auch von EQC im Auftrag durchgeführt. Die Platinelektrode wird vor der Messung mittels reduzierender Vorbehandlung konditioniert und zwischen den Messungen mit Wasser gespült oder in 0,1 M  $\text{FeSO}_4$ -Lösung getaucht. Die Referenzelektrode wird zwischen den Messungen in Wasser getaucht. Zur Messung werden ca. 100 ml Bier (vorsichtig, möglichst ohne Schäumen und mit möglichst geringem Lufteintrag) in ein Becherglas mit Rührfisch gegeben, in das daraufhin die Elektroden getaucht werden. Der

Messwert wird jeweils nach einer Zeit zur Gleichgewichtseinstellung von 10 min aufgenommen. Es erfolgt jeweils eine Dreifachbestimmung aus der selben Flasche, wobei Sauerstoffeinträge durch das Umfüllen und während der Wartezeit soweit wie möglich zu unterbinden sind.

Wegen der niedrigen Austauschstromdichte des Bieres und möglicher Chemiesorptionseffekte von Wasserstoff oder Sauerstoff auf der Platinoberfläche (Passivierung) stellt sich die Gleichgewichtsspannung nur sehr langsam ein und bei vielen Proben entsteht überhaupt kein stabiler Messwert, was bereits durch andere Autoren bestätigt wurde (Gebhart 1993; Thum 1997). Die erhaltenen Werte sind dementsprechend nur innerhalb einer Messreihe mit identischer Elektrodenvorbereitung zu vergleichen.

Die Methode bietet den Vorteil, das Redoxpotential direkt und im chemischen Gleichgewicht, d.h. ohne Leistungsaufnahme von außen durch z.B. Strom oder die Oxidationskraft eines Indikators, bestimmen zu können, was bezüglich Aussagen zur Stabilität des Bieres (geschlossenes System) vorteilhaft ist. Aus diesem Grund sollte die Elektrodenvorbereitung weiter optimiert und die Methode weiterentwickelt werden. Gute Ansätze (Versuche nicht dargestellt) sind die Vermeidung von Luftzutritt bei der Messung, die Optimierung der Elektrodenvorbereitung, die Vermeidung der Passivierung (z.B. mit Chinon / Hydrochinon – Puffer) und die Suche nach einem stabilen Standard mit ähnlich niedriger Austauschstromdichte wie Bier (z.B. Weißwein, geschwefeltes Faßbier). Der Einsatz von Bisulfit ist wegen seiner langsam reduzierenden Eigenschaft und der Fähigkeit zur Löschung von Sauerstoff aussichtsreich.

### 3.4.2 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels Redoxindikatoren

In Ermangelung einer ausgereiften Methode zur Bestimmung des Redoxpotentials wird stattdessen meist das Reduktionsvermögen der Probe *in vitro* gegenüber einem Indikator bestimmt. Hierbei ist zu beachten, dass je nach der Spezifität des Indikators gegenüber verschiedenen Gruppen von Inhaltsstoffen die Aussage der Methode gegenüber dem Redoxpotential verzerrt wird.

Gängige Redoxindikatoren sind DPI (2,6-Dichlorphenol-Indophenol), DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) und ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)). Die Aussage der Messung variiert dabei je nach dem Messzeitraum

(Reaktionskinetik), den Affinitäten des gewählten Redoxindikators und dem gewählten Messsystem (Milieu).

### 3.4.2.1 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPI

Die Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPI erfolgt spektralphotometrisch nach MEBAK (MEBAK 1993). Dabei wird die Reduktion des DPI nach 60 s gemessen und prozentual auf den Ausgangswert bezogen. Als reduzierende Substanzen, die hierbei im Bier erfasst werden, sind vor allem Melanoidine und einige Polyphenole (die sogenannten schnellreduzierenden Reduktone mit Endiolstruktur), Sulfhydrylverbindungen und Hopfenharze bekannt (Reich and Bock 1960; Bellmer 1976).

### 3.4.2.2 Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPPH

Die Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels DPPH erfolgt am Elektronenspinresonanz-Spektrometer nach der lehrstuhlinterne Methode des GC-Labors in Weihenstephan:

- Prüfverfahren Nr. GC 014/09 – Bestimmung des Reduktionsvermögens von Bier gegenüber DPPH mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie. Wurzbacher, 03.12.09.

Die Methode beruht auf der Untersuchung von BLOIS (Blois 1958), wurde von KANEDA et al. auf die Brautechnologie übertragen (Kaneda et al. 1995b) und von FRANZ modifiziert (Franz and Back 2001; Franz 2004). Bei der Messung wird die Reduktion des stabilen Radikals DPPH durch die Bierprobe über den Verlauf von 10 min gemessen. Eine weitere Modifizierung der Methode erfolgte durch WURZBACHER im Rahmen dieser Arbeit (nicht veröffentlicht, GC 014/09):

Das Reduktionsvermögen berechnet sich nach FRANZ aus dem Verlauf der prozentualen Abnahme der Response (~ Reduktion des DPPH) integriert über die Reaktionszeit. Die Integration erfolgt nach FRANZ mithilfe einer polynomischen Regression sechsten Grades. Wegen der höheren Genauigkeit und aus Gründen der Vereinfachung wurde das Verfahren auf eine punktweise Integration umgestellt. Ein weiterer Fehler der verfügbaren Methode war, dass die

Verdünnung der DPPH-Lösung durch das Probenvolumen nicht berücksichtigt wurde. Ein Probenvolumen von 0,2 ml führte so bereits zu einem scheinbaren Reduktionsvermögen von 10 %. In der modifizierten Methode wird die Verdünnung der Lösung durch die Probe rechnerisch berücksichtigt. Die bisherige Methode war des Weiteren ungenau, da Schwankungen der Geräteleistung nicht ausgeglichen werden konnten und da die DPPH-Lösung bei Raumtemperatur nicht stabil ist. In einem Zeitraum von 15 min können Abnahmen der Response (absolut) um Werte von bis zu 500 Einheiten festgestellt werden. Die Response der DPPH-Lösung ist entsprechend kaum auf einem konstantem Niveau zu halten. Die Konzentration an oxidiertem DPPH beeinflusst den Reaktionsverlauf bei der Messung aber stark. Die Ergebnisse werden deshalb von der Response der DPPH-Lösung beeinflusst. Der Zusammenhang zwischen der Abweichung der DPPH-Lösung vom Sollwert (16000 bzw. 20000) und der Abweichung des Ergebnisses einer bekannten Probe stellt sich als annähernd linear heraus. Das ermöglicht die Durchführung einer Kalibrierung, bei der ein Korrekturfaktor bestimmt wird. Mit Hilfe des Korrekturfaktors kann das Ergebnis nun rechnerisch in Abhängigkeit von der Response der DPPH-Lösung korrigiert werden. Die Alternative zu dieser Vorgehensweise wäre, mit jeder Meßreihe eine Kalibrierung mit reduzierenden Standardlösungen steigender Konzentration (z.B. Natriumthiosulfat) durchzuführen. Das bedeutete einen enormen Arbeitsaufwand bei gleichzeitig vermindertem Probendurchsatz. Da die DPPH-Lösung bei Raumtemperatur auch über den Zeitraum einer Messreihe nicht stabil bleibt, würden die Probleme der Methode durch diese Vorgehensweise nur teilweise gelöst.

Die Kalibrierung zur Bestimmung des Korrekturfaktors ist im Folgenden exemplarisch für helles untergärriges Bier dargestellt. Für jeden Probentyp ist eine eigene Kalibrierung notwendig. Die Kalibrierungen sind einmal jährlich durchzuführen.

Zur Kalibrierung werden DPPH-Lösungen in vier Verdünnungsstufen hergestellt. Dazu wird eine DPPH-Lösung in den Verhältnissen 1:0, 3:1, 1:1, und 1:3 mit dem ethanolischen Phosphatpuffer (Herstellung wie die der DPPH-Lösung, aber ohne Einwaage der Reinsubstanz) verdünnt. Das Reduktionsvermögen der Probe (helles untergärriges Bier) wird daraufhin mit allen vier Lösungen in Doppelbestimmungen bestimmt. Die Ergebnisse werden graphisch gegen die



Response der DPPH-Lösungen aufgetragen und die Gleichung der Regressionsgeraden bestimmt (Abbildung 14). Im Beispiel betrug der Sollwert der DPPH-Lösung 16000. Da überwiegend Abweichungen nach unten auftreten, deckt die Kalibrierung vor allem den Bereich unterhalb des Sollwertes ab. Inzwischen wurde die Einwaage erhöht und der Sollwert auf 20000 festgelegt.

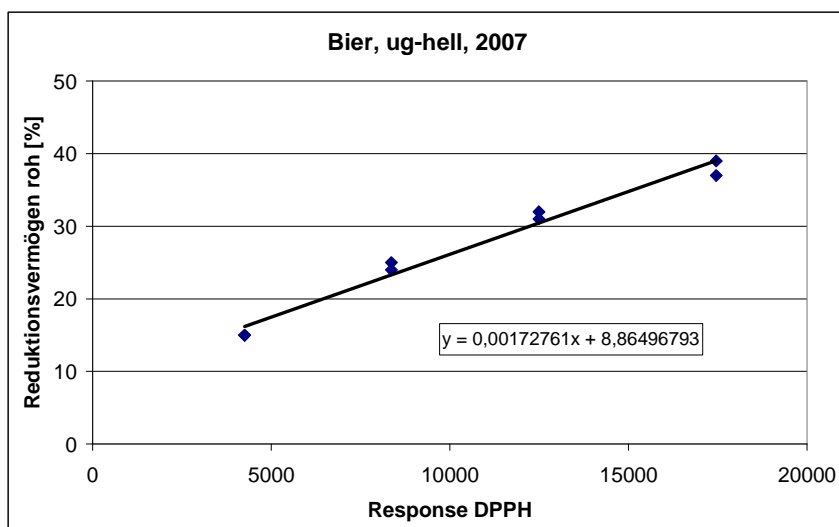


Abbildung 14: Kalibriergerade zur Bestimmung des Korrekturfaktors der DPPH-Messung.

Der Korrekturfaktor für den Probentyp Bier, ug-hell entspricht der Steigung der Regressionsgerade und beträgt im Beispiel 0,001728. Tabelle 1 zeigt Kalibrierfaktoren verschiedener Probentypen der letzten durchgeführten Kalibrierung.

Tabelle 1: Korrekturfaktoren der DPPH-Messung bei verschiedenen Probentypen.

Probentyp	Korrekturfaktor
Bier (ug, hell, 100% Gerste)	0,001567
Würze (ug, hell, 100% Gerste)	0,003151
Malzkaltauszug (Gerste)	0,000894
Natriumthiosulfat (50 mg/l, wässrig)	0,0035

Das korrigierte Reduktionsvermögen berechnet sich nach der folgenden Formel:

$$R = R_r + K \cdot (\text{Resp}_{\text{Soll}} - \text{Resp}_{\text{Ist}}). \quad (\text{Gl. 3.4.2.2-I})$$

### Bezeichnungen:

R	Reduktionsvermögen
$R_r$	Rohwert Reduktionsvermögen
K	Korrekturfaktor
$Resp_{Soll}$	Sollwert Response
$Resp_{Ist}$	Istwert Response

Durch die Modifikationen konnte die Reproduzierbarkeit der Methode gesteigert werden. Ein Test mit einer Natriumthiosulfatlösung ergab eine äußerst geringe Standardabweichung von 0,63 % bei einem Reduktionsvermögen von 73,5 % (n=16). Als Konsequenz wird nun nur noch die jeweils erste Probe einer Messreihe als Doppelbestimmung durchgeführt, alle folgenden Proben nur noch als Einzelbestimmung.

Um die Proben qualitativ nach ihrer Reaktionskinetik bei der Reduktion des DPPH unterscheiden zu können, wurden zwei weitere Auswertungsmöglichkeiten eingeführt: Die ‚schnelle‘ Reduktion des DPPH während der ersten Messminute „DPPH (1 min)“ und die Reduktion des DPPH nach der ersten Minute der Messung „DPPH (2-10 min)“. Die Einführung dieser Varianten basiert auf der Beobachtung deutlicher qualitativer Unterschiede der Reaktionskinetik in verschiedenen Probenotypen. Während manche Proben das DPPH innerhalb der ersten Minute auf einen bestimmten Wert reduzieren und dann keine weitere Abnahme des Signals zu verzeichnen ist, verläuft die Reduktion des DPPH bei anderen Proben gleichmäßig über den gesamten Zeitraum der Messung. Es liegen noch keine Erfahrungen darüber vor, wie diese Unterschiede zu bewerten sind.

Eine weitere Kalibrierung mit den Modellschstoffen Gallussäure und Trolox erlaubt die Berechnung von Äquivalentkonzentrationen. Hierzu werden zunächst 5%-ige ethanolische Lösungen der beiden Substanzen (Gallussäure: 100 mg/l; Trolox: 350 mg/l) hergestellt und ihre Korrekturfaktoren bestimmt. Dann werden in einer Verdünnungsreihe Kalibrierlösungen (5 % EtOH) der beiden Substanzen hergestellt und ihr Reduktionsvermögen gemessen (Gallussäure bis 150 mg/l; Trolox bis 400 mg/l). Die Auftragung der absoluten Menge der Substanzen im Probenvolumen (0,2 ml) über dem Reduktionsvermögen ermöglicht so die Berechnung von Äquivalentkonzentrationen, d.h. jener Menge einer

Modellsubstanz, die die gleiche reduzierende Wirkung wie die Probe aufweist (siehe Anhang: Abbildung A\_ 3 und Abbildung A\_ 4).

Durch die Modifikation der Methode wurden die Genauigkeit und der Probendurchsatz deutlich gesteigert, sowie lange Standzeiten der Kalibrierungen erreicht.

Die Methode ist auf Würze, Bier und sonstige Getränke anwendbar und spricht vermutlich vor allem auf Polyphenole und proteinische SH-Gruppen an. Schwefeldioxid wird nicht erfasst. Unterschiede im Reduktionsvermögen mittels DPPH heller Biere werden (bei vergleichbarer thermischer Belastung) in hohem Maße durch den positiven Einfluss ihrer Polyphenolausstattung geprägt (Kaneda et al. 1995b; Franz 2004). Die Messung wird dementsprechend stark durch die Stabilisierung beeinflusst.

### 3.4.2.3 Weitere Methoden zur Bestimmung des Reduktionsvermögens

Eine Methode zur Bestimmung des Reduktionsvermögens am ESR mittels Tempol, die im Besonderen die Reduktionskraft der SH-Gruppen der Proteine widerspiegeln soll (Perussi et al. 1988; Kocherginsky et al. 2005), war zum Untersuchungszeitpunkt leider nicht bekannt und stand nicht zur Verfügung. Das Reduktionsvermögen mittels ABTS wurde analog zur DPPH-Methode eingefahren, konnte aber im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr eingesetzt werden. Für folgende Untersuchungen empfiehlt sich wegen des besonderen Bezugs zu Sauerstoffaktivierung auch das Reduktionsvermögen gegenüber Eisenionen (FRAP-Test) zu bestimmen (Benzie and Strain 1996; Antolovich et al. 2002; Nenadis et al. 2007). Die Übertragung dieser Methode auf Bier konnte im Untersuchungszeitraum leider nicht mehr abgeschlossen werden.

### 3.4.2.4 Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung des Reduktionsvermögens

Bereits das Malz kann mittels DPPH oder DPI bezüglich seiner Reduktionskraft charakterisiert werden, wobei zur Messung wässrige Kaltauszüge hergestellt

werden. Hierzu werden 3 g Malzmehl (wassergekühlte Labormühle) bei 20 °C über 30 min mit 30 ml destilliertem Wasser extrahiert (Schüttler). Anschließend werden die Proben bei 0 °C über 10 min abzentrifugiert und anschließend über einen Faltenfilter filtriert, woraufhin unmittelbar die Messung durchgeführt wird. Die Kaltauszüge sind nicht stabil und können nicht aufbewahrt werden.

### 3.4.3 Zusammenhang zwischen dem elektrochemischen Redoxpotential und dem Reduktionsvermögen

In einer vorbereitenden Versuchsreihe wurden das elektrochemische Redoxpotential, das Reduktionsvermögen (DPI) und das Reduktionsvermögen (DPPH) miteinander verglichen. Das Reduktionsvermögen mittels DPI zeigte dabei über Biere verschiedener Sorten und Typen eine signifikante Korrelation ( $r = 0,89$ ) zum elektrochemischen Redoxpotential (Anhang, Abbildung A\_ 5). DPI wird als schnell reagierender Indikator anscheinend stark vom Redoxpotential geprägt. Für DPPH konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass es im Gegensatz zu DPI auf bestimmte Gruppen von Inhaltsstoffen reagiert. Die Daten sind im Anhang in Tabelle A\_ 4 dargestellt.

## 3.5 Bestimmung der chemischen Stabilität

Die chemische Stabilität bezeichnet die Unempfindlichkeit des Bieres gegenüber chemischen (oxidativen) Einflüssen unter bestimmten Bedingungen (Milieu, Temperatur). Sie ist ein Maß für die Trägheit der Probe gegenüber chemischen Veränderungen. Sie hängt von der Matrix der oxidierbaren (=reduzierenden), wertgebenden Bestandteile, von der Wirkung enthaltener Antioxidantien sowie von prooxidativen Einflüssen (z.B. Licht, Wärme, Sauerstoffdiffusion), die das chemische Gleichgewicht der Probe stören bzw. verschieben, ab.

Die chemische Stabilität wird immer *im Lebensmittel* bestimmt. Dabei wird analog zur Bestimmung der sensorischen Stabilität die Veränderung einer gealterten Probe gegenüber einer frischen Probe quantifiziert. Die Messung kann im Verlauf des Alterungsprozess oder zu einem festgelegten Zeitpunkt erfolgen. In der Praxis

simuliert man den Alterungsprozess aus Zeitgründen meist und führt eine sogenannte forcierte Alterung durch. Hierbei werden die chemischen Reaktionen durch mechanische Bewegung, erhöhte Temperatur, Licht, Sauerstoffbelastungen oder die Zugabe oxidativer Reagenzien ausgelöst und beschleunigt. Da der Alterungsprozess je nach den Rahmenbedingungen anders verläuft, sind forcierte Alterungen nur eingeschränkt mit natürlichen Alterungsprozessen zu vergleichen. Die Rahmenbedingungen einer forcierten Alterung müssen bei der Diskussion von Ergebnissen stets angegeben und berücksichtigt werden.

### **3.5.1 Rahmenbedingungen der Alterung zur Bestimmung der chemischen Stabilität**

Falls nicht anders angegeben wurde die forcierte Alterung im Rahmen dieser Arbeit wie folgt durchgeführt: Die abgefüllten Biere werden für 24 h leicht geschüttelt (stehend,  $\sim 100 \text{ min}^{-1}$ ) und im Anschluss für weitere 96 h bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  gelagert. Im Gegensatz zur natürlichen Alterung spielt die Diffusion von Sauerstoff durch die Kompondmasse hier keine Rolle, so dass die direkte Oxidation von Inhaltsstoffen in verminderten Maße abläuft. Zeitabhängige Umsetzungen erscheinen ebenfalls schwächer ausgeprägt. Thermisch beeinflusste Reaktionen werden durch die forcierte Alterung dagegen gefördert. Dementsprechend muss die forcierte Alterung zwangsläufig zu einem anderen Ergebnis als die natürliche Alterung führen. Um die Auswirkungen direkter Oxidationsreaktionen zu simulieren, werden die Flaschen ggf. vor dem Forciertest kurz geöffnet und Luft wird in den Kopfraum eingeblasen. Um eine gleichmäßige Lösung des Sauerstoffs zu gewährleisten werden die Flaschen nach dem Wiederverschließen vorsichtig umgeschwenkt.

Als sogenannte „natürliche Alterung“ wird in dieser Arbeit eine Lagerung bei leicht schwankenden Raumtemperaturen um die  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  ohne direkten Lichteinfall verstanden. Geeignete klimatisierte Gebäudebereiche standen an der TU München – Weihenstephan leider nicht zur Verfügung. Die Untersuchung der Proben erfolgt, falls nicht anders angegeben, nach 3 Monaten.

Die Quantifizierung der chemischen Stabilität erfolgte im Rahmen dieser Arbeit mit drei Methoden.

### 3.5.2 Bestimmung repräsentativer Endprodukte der Oxidationsreaktionen

Repräsentative Endprodukte der Oxidationsreaktionen wurden gaschromatographisch nach der oben beschriebenen Methode der Alterungsindikatoren bestimmt (Prüfverfahren Nr. GC 007/08, siehe 3.2). In der Lebensmitteltechnologie gilt allgemein Hexanal als typisches Endprodukt der Lipidoxidation als Indikatorsubstanz der Alterung. Im Bier tritt es nur im Bereich der Nachweisgrenze ( $\sim 1 \mu\text{g/l}$ ) der verwendeten Methode auf. Vermutlich spielt die Lipidoxidation gegenüber dem Streckerabbau und weiteren Prozessen bei der Alterung des Bieres nur eine untergeordnete Rolle.

Weitere Möglichkeiten zur Erfassung der Oxidationsreaktionen im Stabilitätstest ergeben sich durch die direkte Messung der früher in der Reaktionskette auftretenden reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR) oder Chemilumineszenz (Cl).

### 3.5.3 Bestimmung von reaktiven Sauerstoffspezies am ESR

Die chemische Stabilität von Würze und Bier wurde dabei mit der Methode des GC-Labors in Weihenstephan am ESR bestimmt:

- Prüfverfahren Nr. GC 012/06 – Lagtime und Radikalgenerierung. Franz, 03.08.04 / Wurzbacher, 08.09.09

Die Methode basiert auf den Untersuchungen von KANEDA et al. und UCHIDA et al. (Kaneda et al. 1988; Uchida and Ono 1996; Uchida et al. 1996) und wurde von FRANZ modifiziert (Franz 2004).

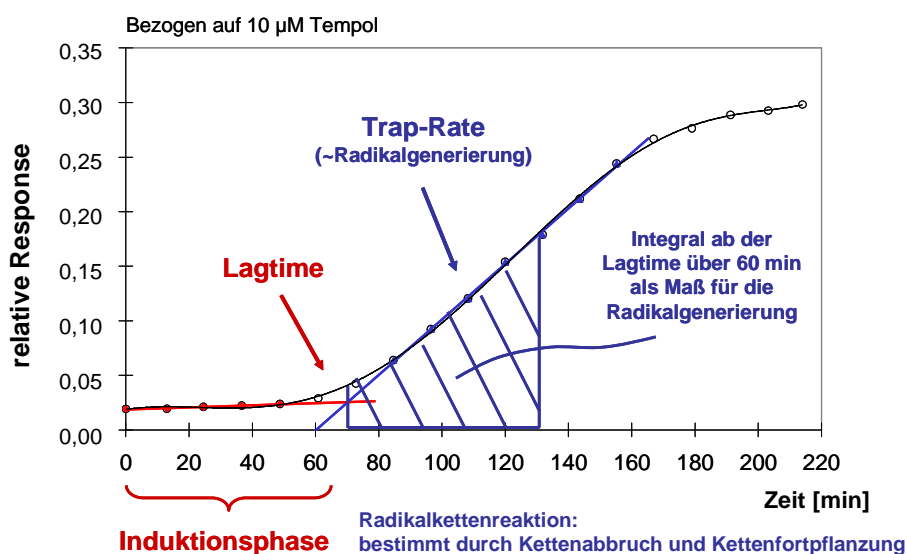
Bei der Messung wird das Bier einem oxidativen (unter Luftzutritt) Forciertest bei  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  unterzogen. Die entstehenden Ethylradikale werden durch das Spin-Trap-Reagenz PBN stabilisiert und können so am ESR quantifiziert werden. Es ist auch die Verwendung anderer Reaktionsbedingungen (Milieu, Temperatur) und anderer Spin-Trap-Reagenzien möglich und sinnvoll. Bei der Verwendung von PBN muss die Besonderheit beachtet werden, dass der Forciertest durch den verursachten pH-Wert-Anstieg nochmals beschleunigt wird (Bishop et al. 1968; Franz 2004).

Zur Beurteilung von Versuchen, in denen der pH-Wert variiert werden soll, ist folglich der Einsatz eines anderen Spin-Traps ratsam.

Bei der Messung entsteht eine typische Kurve, die die Reaktionskinetik widerspiegelt. Sie hat zwei charakteristische Größen: Die Induktionsphase und den Anstieg der Kurve nach der Induktionsphase. Die Länge der Induktionsphase (gemessen als die Lagtime) gilt als Maß für den Widerstand, den das Bier der eigenen Oxidation entgegensetzt und wird unter anderem durch den Schwefeldioxidgehalt beeinflusst. Als zweites Merkmal der Radikalkettenreaktion kann zusätzlich die Radikalgenerierung halbquantitativ erfasst werden. Korrekt ausgedrückt wird dabei die Trap-Rate gemessen, d.h. der Anteil der Radikale, die mit dem Spin-Trap-Reagenz reagieren (vor allem Hydroxyethylradikale). Die Signalhöhe wird von der Bildungsrate der Radikale, der Trap-Rate und der Zerfallsgeschwindigkeit der stabilisierten Radikale beeinflusst.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Methode weiter verbessert und auf Würze übertragen (Wurzbacher 2007; Wurzbacher and Back 2007): Die Konzentration des Standards Tempol wurde herabgesetzt, so dass dessen Response auf dem Niveau der Proben ist, wodurch die Reproduzierbarkeit erhöht werden konnte. In mehreren Versuchsreihen wurden die Anweisungen zur Reinigung, zur Wartung und zum Hochfahren des ESR sowie technische Details der Messung optimiert, woraus eine stabilere Geräteleistung und damit eine höhere Wiederholbarkeit der Messungen resultierte. Da die Analytik stark vom Ethanolgehalt beeinflusst wurde, wurde eine Standardisierung der Biere bei der Probenvorbereitung auf einen Ethanolgehalt von 5 %vol. eingeführt. Die Auswertungsmethode der Lagtime hatte sich bewährt und wurde beibehalten. Aufgrund des oben genannten pH-Effektes arbeitet die Lagtimemessung nicht linear, was bei der Beurteilung der Ergebnisse berücksichtigt werden muss. Aus diesem Grund geht die Lagtime auch quadratisch in den Stabilitätsindex ein (Wurzbacher and Back 2007; Back 2008). Die Auswertungsmethode des ‚Antiradikalischen Verhaltens‘ zur Erfassung der Radikalgenerierung wurde nicht weiter eingesetzt, da sie eine Mischgröße aus der Lagtime und der Steigung der Kurve produzierte. Das gewählte Vergleichsbier wies eine äußerst geringe Stabilität auf, weshalb die resultierenden prozentualen Ergebnisse auch bei deutlich abweichenden Kurvenverläufen nur äußerst geringe Unterschiede der Proben widerspiegeln. Die Methode erwies sich in der Praxis als nicht ausreichend sensitiv und von geringer Aussagekraft. Statt dessen wird

zur Bestimmung der Radikalgenerierung die relative Response ab der Lagtime über 60 min integriert (blauer Bereich), wie in Abbildung 15 veranschaulicht ist. Eine ebenfalls denkbare, einfache Bestimmung der Steigung der zweiten Regressionsgerade erwies sich gegenüber der Integration als ungenauer. Die nach dieser Methode bestimmte Radikalgenerierung wird kurz als  $F(LT/60)$  bezeichnet (F steht für Fläche, also die Integration) und weist einen signifikanten Zusammenhang zur Sensorik auf (Wurzbacher 2007; Wurzbacher and Back 2007).



**Abbildung 15: Lagtime und Trap-Rate als Charakteristika der Radikalkettenreaktion im oxidativen Forciertest von Bier.**

Die Messung konnte auch auf Würze übertragen werden. Hierbei ist vor allem eine sauerstofffreie Probennahme wichtig, um brauchbare Ergebnisse zu erhalten. Wegen der vernachlässigbaren Löslichkeit von Luftsauerstoff in wässrigen Lösungen bei hohen Temperaturen werden nur Proben von heißer Würze genommen. Die Heißwürze wird mittels eines Gummischlauches in vorgespülte Alufaschen gefüllt. Der Schlauch sollte dabei bis zum Flaschenboden reichen und die Flasche eine Weile überlaufen. Dann wird der Schlauch bei noch laufender Würze vorsichtig herausgezogen, so dass durch die Oberflächenspannung ein blanker, leicht überstehender Würzespiegel entsteht. Nun wird die Flasche vorsichtig aber zügig verschlossen, wobei die überstehende Würze die Luft aus dem Deckel drückt, und sofort abgekühlt.



Unmittelbar vor der Messung werden die Würzproben filtriert und auf einen Ethanolgehalt von 5 %vol eingestellt. Zur Auswertung wird das Integral der relativen Response von 0 bis 120 min herangezogen. Die nach dieser Methode bestimmte Radikalgenerierung wird als F(0/120) bezeichnet.

### 3.5.4 Messung von Oxidationsreaktionen mittels Chemilumineszenz

Zur Bestimmung der Oxidationsneigung von Malz (bzw. des sog. ‚Einmischverhaltens‘) wurde die lehrstuhlinterne Methode des GC-Labors in Weihenstephan verwendet: Die Methode basiert auf Untersuchungen von Franz (Franz and Back 2003) und wurde in der vorliegenden Arbeit leicht modifiziert.

- Prüfverfahren Nr. GC 019/09 – Messung von Oxidationsreaktionen beim Einmischen mittels Chemilumineszenz. Wurzbacher, 04.08.09 / Hanke 04.08.09

Hierbei wird Malzschrot in einer temperierten Messkammer (40 °C) im gewünschten Schüttungsanteil mit temperiertem Wasser versetzt und so der Einmischvorgang simuliert. Die Chemilumineszenz wird über den gesamten Vorgang gemessen. Die Quantifizierung erfolgt durch Integration des Einmischpeaks (Messimpulse, „counts“) über 300 s.

## 3.6 Bestimmung der antioxidativen Aktivität

In der brautechnologischen Fachliteratur finden zahlreiche Begriffe zur Beschreibung der antioxidativen Eigenschaften Verwendung, die allesamt nicht klar definiert sind und von den vielen Autoren weitgehend undifferenziert verwendet werden: Es wird von Reduktionskraft, Redoxpotential, Reduktionsvermögen, endogener antioxidativer Aktivität, antioxidativen Potential, antiradikalischem Potential, Radikalfängern, Reduktonkraft, usw. gesprochen.

Aus diesem Grund sollen die Bezeichnungen der Merkmale, die in dieser Arbeit untersucht werden, neu definiert werden. Das Redoxpotential und das Reduktionsvermögen wurden bereits weiter oben beschrieben. Welche Bedeutung besitzt nun die antioxidative Aktivität?

Der Sprachgebrauch in dieser Arbeit soll sich an der Verwendung der Begriffe in der medizinischen und biotechnologischen Fachliteratur, d.h. nach HALLIWELL und GUTTERIDGE orientieren. Die antioxidative Aktivität spiegelt die grundlegende Eigenschaft eines Antioxidans wider (Halliwell et al. 1995; Halliwell and Gutteridge 2007), d.h. die positive Wirkung einer Substanz oder Essenz auf ein höheres System. Übertragen auf Lebensmittel ist die antioxidative Aktivität die Fähigkeit eines (sensorisch, optisch, ernährungsphysiologisch) nicht wertgebenden Inhaltsstoffes in niedriger Konzentration, die Oxidation wertgebender Inhaltsstoffe des Lebensmittels bzw. eines Testsystems zu verhindern.

UCHIDA et al. führten den Begriff der ‚Endogenen Antioxidativen Aktivität‘ ein und setzten ihn mit der Methode zur Bestimmung der Lagtime gleich (Uchida and Ono 1996; Uchida et al. 1996), womit sie einige sprachliche Verwirrung stifteten. Nach der Definition nach HALLIWELL und GUTTERIDGE müsste die antioxidative Aktivität des Bieres als Summengröße eher als eine unter physiologischen Gesichtspunkten zu erhaltende, wertgebende Eigenschaft des Bieres, die durch optimale Prozessführung und die Vermeidung oxidativer Einflüsse zu bewahren ist, verstanden werden (Wirkung gegenüber dem höheren System!). Aufgrund dieser widersprüchlichen Interpretationsmöglichkeiten soll der Begriff der ‚Endogenen Antioxidativen Aktivität‘ im Rahmen dieser Arbeit nicht im Zusammenhang mit analytischen Merkmalen verwendet werden.

Die antioxidative Aktivität einer Substanz, Essenz oder Probe kann *in vitro* (in einem Testsystem) oder *im Lebensmittel* (oder *in vivo*) bestimmt werden, indem man die Verminderung der oxidativen Schadenswirkung bei der Alterung (chemische oder sensorische Veränderung) durch eine Konzentrationserhöhung der Substanz (Essenz, Probe) im Testsystem bzw. Lebensmittel quantitativ bestimmt. Im Testsystem bzw. im Lebensmittel wird dabei durch einen äußeren Einfluss, z. B. durch erhöhte Temperaturen oder die Zugabe eines oxidativen Reagenz (z.B. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) die Schadensreaktion ausgelöst.

Die Messung der antioxidativen Aktivität eines Stoffes geschieht dementsprechend immer im Zugabeversuch im Stabilitätstest.

Der oxidative Schaden wird in Form der Zunahme eines Indikator metaboliten oder in Form der Abnahme eines wertgebenden Eduktes gemessen. Die antioxidative Aktivität wird durch die Differenz der Schadenssetzung des Testsystems mit

Zugabe der zu untersuchenden Substanz gegenüber einer Vergleichsprobe quantifiziert. Der Versuchsaufbau zur Messung der antioxidativen Aktivität richtet sich dabei immer nach der genauen Fragestellung, der gewählten Analytik zur Messung des oxidativen Schadens sowie nach dem gewählten Testsystem, weshalb hier keine allgemeingültige Methodenbeschreibung angegeben werden kann. Geeignete Analysenmethoden sind unter anderen die Chemilumineszenzmessung, die ESR-Analytik und die Bestimmung der Alterungsindikatoren. In den Zugabeversuchen (vgl. 4.3.2) wurde beispielsweise die Veränderung der am ESR bestimmten chemischen Stabilität zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität herangezogen.

### 3.7 Bestimmung des Schwefeldioxid- (SO<sub>2</sub>-) Gehaltes

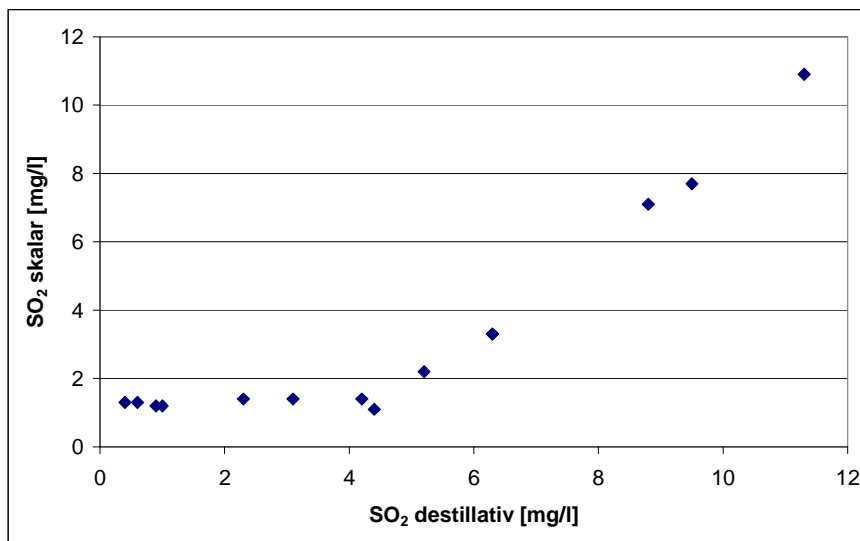
Es wurden drei Methoden zur Bestimmung des Schwefeldioxidgehaltes getestet:

- Enzymatische Methode (MEBAK, Band II, 2.25.1)
- Destillative Methode (MEBAK, Band II, 2.25.2)
- Automatisierte, photometrische Bestimmung mittels Pararosanilin im Analysengerät ‚SKALAR‘.

Die destillative Methode wurde am Lehrstuhl und zum Vergleich an einem weiteren Institut („Institut 2“) durchgeführt. Die enzymatische Methode wurde am Lehrstuhl durchgeführt. Die automatische Bestimmung mittels SKALAR fand in einem Brauereilabor statt. Insgesamt wurden 18 untergärrige Proben verschiedenen Typs (Jungbier mit Hefe, Brauereiabfüllung, ausländische Biere, Dosenbier, verschiedene Hefestämme, verschiedene Anstell- und Gärparameter) untersucht. Die Ergebnisse sind im Anhang in Tabelle A\_ 5 abgebildet. Es zeigte sich, dass die Ergebnisse der destillativen Bestimmungen und der enzymatischen Methode gut miteinander korrelierten, weshalb diese beiden Methoden in dieser Arbeit weiter angewandt wurden. Beide Analysen können auch im unteren Konzentrationsbereich als ausreichend genau angesehen werden, wobei die Destillationsanalyse am exaktesten erscheint, wie ein weiterer Test ergab: Für die Destillationsanalyse konnte bei einem Mittelwert von 2,1 mg/l eine

Standardabweichung von 0,11 mg/l festgestellt werden. Mit der enzymatischen Bestimmung wurde bei der Messung eines (anderen) Bieres mit einem Mittelwert von 2,6 mg/l SO<sub>2</sub> eine Standardabweichung von 0,39 mg/l festgestellt.

Die SO<sub>2</sub>-Bestimmung mittels SKALAR wich von der destillativen und der enzymatischen Bestimmung ab (Abbildung 16) und sprach erst bei Gehalten über 6 mg/l gut an. Im unteren Konzentrationsbereich ließen sich verschiedene Biere mit dieser Methode nicht differenzieren. Sie erscheint deshalb nach den vorliegenden Ergebnissen für den Brauereibereich ungeeignet.



**Abbildung 16: Gegenüberstellung der destillativen SO<sub>2</sub>-Bestimmung (Lehrstuhl) und der Pararosanilin-Methode mittels Skalar.**

In der vorliegenden Arbeit wurde bei der Untersuchung der Alterungsverläufe die enzymatische Methode angewendet, bei allen übrigen Untersuchungen wurde die destillative Bestimmung eingesetzt.

### 3.8 Weitere eingesetzte Analysenmethoden

Die folgenden Analysen wurden nach MEBAK, Band II durchgeführt (MEBAK 1993):

- Stammwürze
- Ethanolgehalt
- pH-Wert

- Thiobarbitursäurezahl (TBZ)

Die Bitterstoffe wurden mittels HPLC nach der Methode EBC 7.8 bestimmt.

Eisen- und Kupferionen wurden durch das Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität nach der Methode EN ISO 11885 E22 mittels ICP-Emissionsspektrometrie bestimmt.

## **4 Ergebnisse**

Um der Komplexität des Untersuchungsfeldes und den Besonderheiten und Unsicherheiten der Analytik zur Bestimmung der antioxidativen Aktivität und ihres Einflusses auf die Geschmacksstabilität gerecht zu werden (vgl. 2.7), wird das Thema aus unterschiedlichen Blickwinkeln betrachtet und bearbeitet: Im Versuchsansatz werden zum einen die spezifischen Wirkungen repräsentativer Inhaltsstoffe im Brauprozess und im abgefüllten Bier untersucht. Des Weiteren werden die Veränderungen im Verlauf realer Alterungsprozesse so exakt wie möglich nachvollzogen, um aus diesem Blickwinkel Hinweise auf die Bedeutung der einzelnen ablaufenden Prozesse und Umsetzungen zu erhalten. Schließlich werden anhand einer empirischen Erhebung in der industriellen Praxis Korrelationen zwischen Analysenmerkmalen des Bieres und ausgewählten Parametern des Brauprozesses und der resultierenden Geschmacksstabilität gesucht. Soweit möglich wird die Bestimmung von antioxidativer Aktivität und Geschmacksstabilität dabei immer analytisch und sensorisch durchgeführt.

### **4.1 Bedeutung der Gersten- und Malzqualität für die antioxidative Aktivität des Bieres**

#### **4.1.1 Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen bei der Mälzung**

Zur Untersuchung von Gersten und Malzen bezüglich ihrer Gehalte an phenolischen Inhaltsstoffen und ihres Reduktionsvermögens wurden Kaltauszüge hergestellt. Entsprechend der Einwaage entsprachen 100 mg/l eines Stoffes im Kaltauszug einer Konzentration von 1 g/kg Malz bzw. Gerste extrahierbarer Anteile bei dem vorliegenden Wassergehalt der Probe.

Der Vergleich zufällig ausgewählter Gersten und standardvermälzter (heller) Malze aus der Ernte 2004 zeigte, dass das Reduktionsvermögen (DPPH) heller Malze von ihrem Gesamtpolyphenolgehalt (nach MEBAK; Zusammenhang innerhalb der Malze) sowie von bei der Mälzung gebildeten reduzierenden

Inhaltsstoffen (Anstieg von der Gerste zum Malz, unabhängig vom Polyphenolgehalt) geprägt wurde (vgl. Abbildung 17). Das Reduktionsvermögen mittels DPPH wird folglich mindestens von zwei unterschiedlichen Substanzklassen beeinflusst. Während der Mälzung wurden in Summe keine nennenswerten Mengen an Polyphenolen neu gebildet.

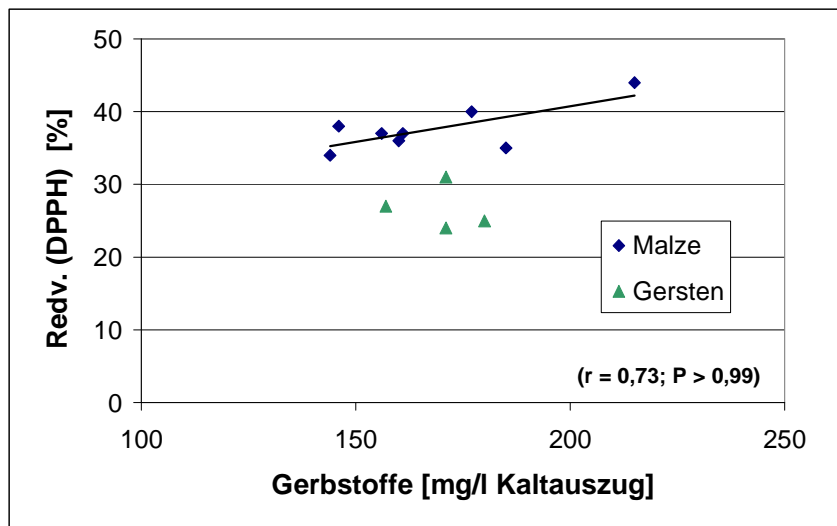


Abbildung 17: Reduktionsvermögen (DPPH) von Gerste und Malz in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt (Gesamtpolyphenole nach MEBAK).

### 4.1.2 Einfluss der Gerstensorte und der Aufwuchsbedingungen beim Einmaischen

Anhand von Malzen aus der Ernte 2003 wurde eine umfangreichere Untersuchung durchgeführt, unter anderem mit dem Ziel, den Einfluss von Sorte und Anbaugebiet aufzuklären. Die vollständigen Daten sind im Anhang in Tabelle A\_27 abgebildet. Bei der Bewertung der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass im Jahr 2003 ein sogenannter „Rekordsommer“ mit langen Hitze- und Trockenheitsperioden war, was sich im Vergleich zu den Ernten vorangegangener Jahrgänge deutlich in der Malzqualität widerspiegelte.

Insgesamt wurden Malze aus sieben Gerstensorten von vier unterschiedlichen Standorten untersucht.

### 4.1.2.1 Bedeutung di- und trimerer Flavanoide

Dabei konnten mittels instrumenteller Analytik auch di- und trimere Flavanoide analysiert werden, deren Gehalte aber keine Zusammenhänge zur nasschemischen Analytik aufwiesen (siehe Anhang, Abbildung A\_ 14). Auch die im Weiteren dargestellten Zusammenhänge zwischen den Polyphenolgehalten und der antioxidativen Aktivität sowie anderen Analysenmerkmalen des Malzes konnten mittels der instrumentellen Analyse von Einzelsubstanzen nicht nachvollzogen werden. Die Bestimmung von Einzelsubstanzen erfasste nur rund ein Viertel der enthaltenen phenolischen Verbindungen.

### 4.1.2.2 Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen in Abhängigkeit von Gerstensorte und -standort

Die Aufschlüsselung der Gesamtpolyphenolgehalte (nach MEBAK) zeigte in der Ernte 2003 eine deutliche Standort- und Sortenabhängigkeit (Abbildung 18). Der Einfluss der Aufwuchsbedingungen schien in den untersuchten Proben gegenüber den sortenspezifischen Unterschieden zu dominieren. Der Polyphenolgehalt korrelierte dabei mit dem Eiweißlösungsgrad (Abbildung 19). Keine Zusammenhänge ergaben sich gegenüber dem Gehalt an löslichem Stickstoff und dem Gehalt an Rohprotein.

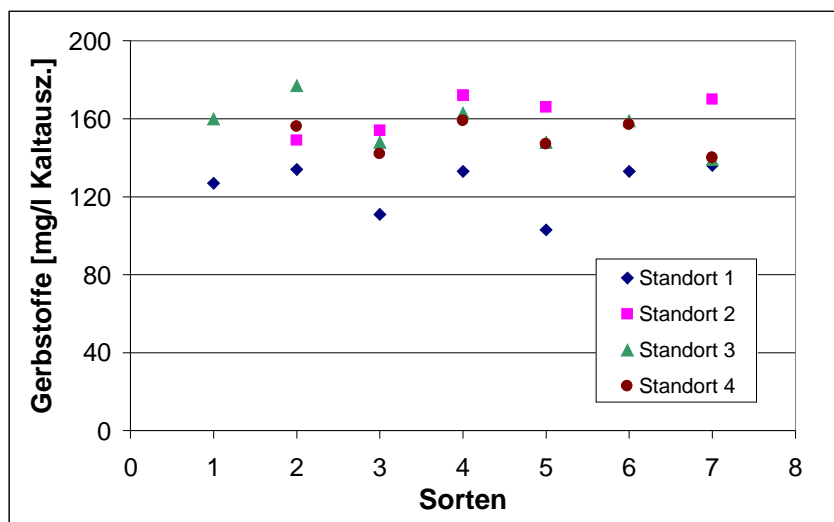


Abbildung 18: Gerbstoffgehalt von Malz in Abhängigkeit vom Standort und von der Sorte.



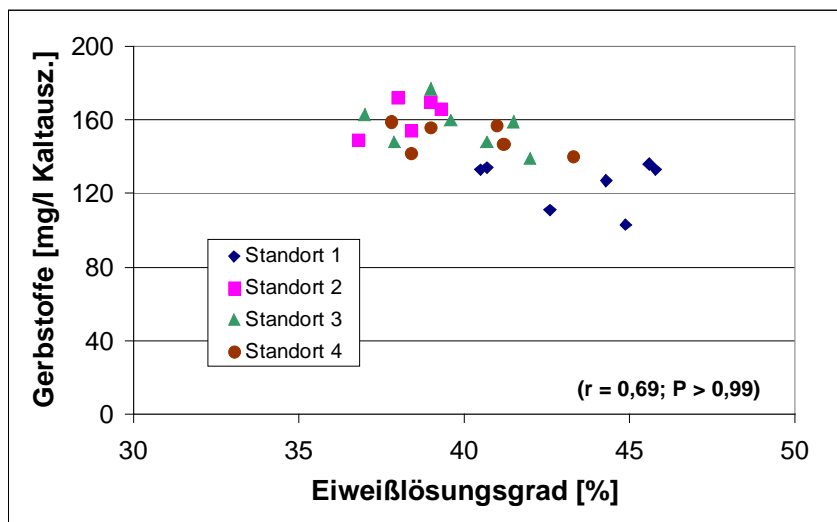


Abbildung 19: Gerbstoffgehalt von Malzen in Abhängigkeit vom Eiweißlösungsgrad bei Standardvermälzung.

Zwischen dem Polyphenolgehalt der Malze und dem Reduktionsvermögen (DPPH) der korrespondierenden Malzkaltauszüge konnte ein positiver Zusammenhang nachgewiesen werden (nicht dargestellt, vgl. Anhang, Tabelle A\_27). Das legt die Vermutung nahe, dass die antioxidative Wirkung beim Einmischen durch die Reduktionskraft der Polyphenole verursacht wird.

#### 4.1.2.3 Simulation von Einmischprozessen am Chemilumineszenz-Detektor

Bei der Simulation von Einmischprozessen am Chemilumineszenz-Detektor wurden die Malze bezüglich ihrer Oxidationsneigung charakterisiert (CI). FRANZ konnte bereits zeigen, dass unter Ausschluss von Sauerstoff kein Signal detektierbar ist, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die Methode ausschließlich Oxidationsreaktionen detektiert, die unter Anwesenheit von elementarem Sauerstoff ablaufen (Franz 2004). Da molekularer Sauerstoff nicht reaktiv ist, und die Oxidationsreaktionen ab dem Augenblick des Einmischens sehr schnell ablaufen, handelt es sich vermutlich um enzymkatalysierte Prozesse. In der vorliegenden Untersuchung korrelierte das Chemilumineszenz-Signal beim Einmischen negativ mit dem Polyphenolgehalt der Malze (vgl. Abbildung 20 und Abbildung 21), was beweist, dass endogene phenolische Verbindungen beim Maischen antioxidativ wirken. Das steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von

FRANZ, der eine Verminderung der Einmischsignale durch eine Zugabe von monomeren Polyphenolen nachweisen konnte (Franz 2004). Die Unterschiede der Malze in ihrer Oxidationsneigung beim Einmischen waren wie die Polyphenolgehalte in erster Linie standortbedingt, d.h. von den Aufwuchsbedingungen (Klima, Boden, Agrartechnologie) abhängig, und wurden nur in geringem Maße von den Lösungseigenschaften der Malze beeinflusst (nicht dargestellt).

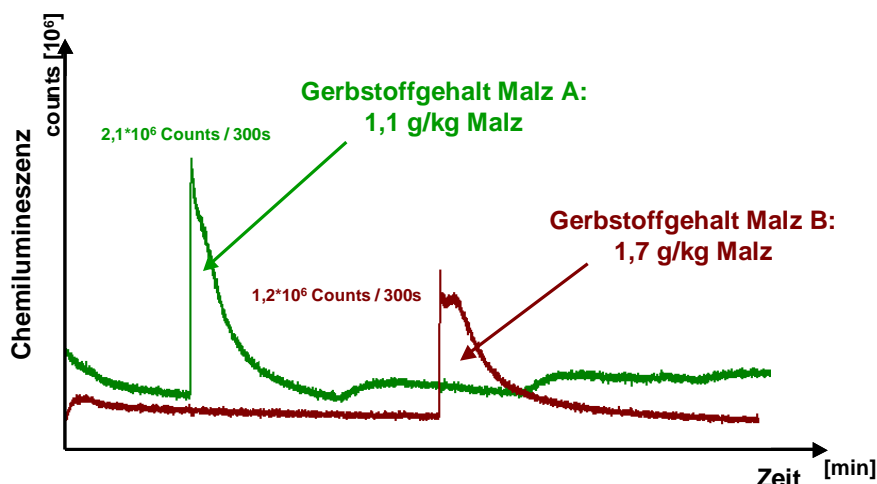


Abbildung 20: Oxidationsreaktionen beim Einmischen in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt (Gesamtpolyphenole nach MEBAK) des Malzes.

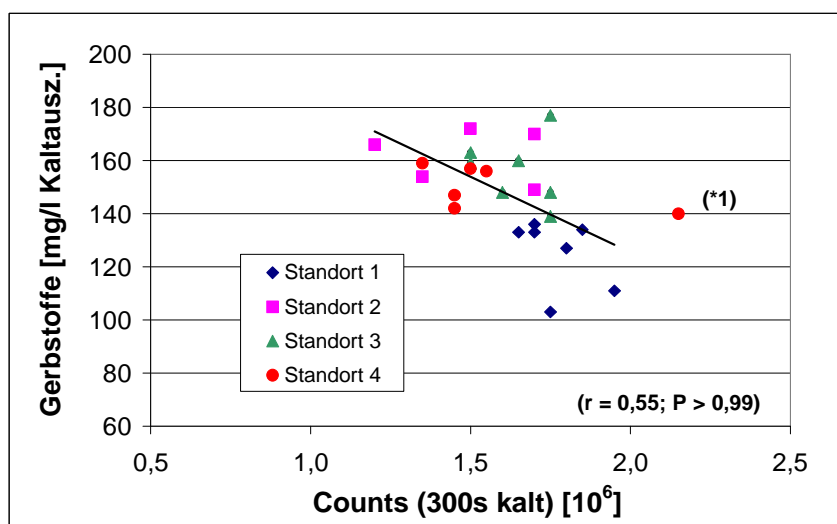
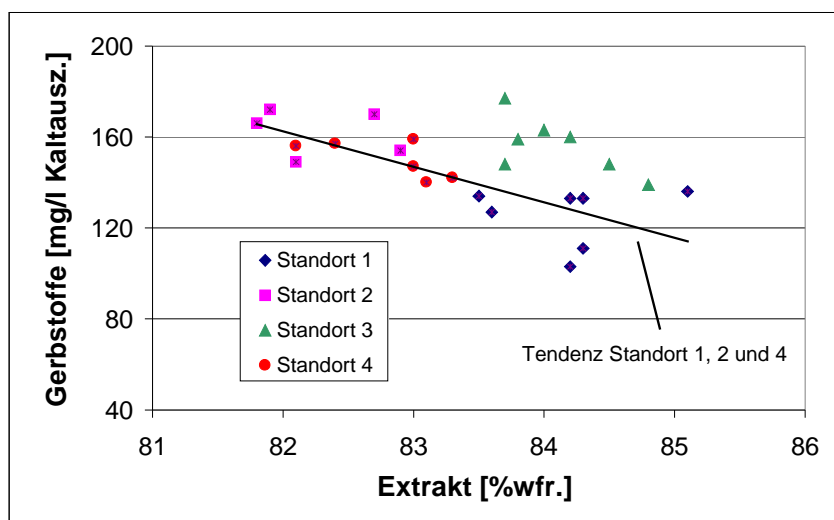


Abbildung 21: Zusammenhang zwischen der Oxidationsneigung (CI) und dem Gerbstoffgehalt (Gesamtpolyphenole nach MEBAK) des Malzes in Abhängigkeit von den Aufwuchsbedingungen der Gerste. (\*1) nicht berücksichtigt.

#### 4.1.2.4 Vereinbarkeit von Braueignung und antioxidativer Aktivität

Inwieweit ist eine Rohstoffauswahl unter dem Gesichtspunkt der antioxidativen Aktivität brautechnologisch sinnvoll? Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Zusammenhänge des Polyphenolgehalts zu den wichtigsten Qualitätskriterien des Malzes untersucht. Gegenüber dem Extraktgehalt zeigte sich für die Standorte 1, 2 und 4 ein negativer Zusammenhang, nur Standort 3 wies aufgrund anscheinend günstigerer Aufwuchsbedingungen im Mittel hohe Polyphenolgehalte bei gleichzeitig hohen Extraktgehalten auf (Abbildung 22). Der Extraktgehalt stellt sich folglich erster Line als von den Aufwuchsbedingungen abhängig dar. Bei konstanten Aufwuchsbedingungen (innerhalb der Standorte) ergibt sich ein sortenabhängiger, negativer Zusammenhang zum Polyphenolgehalt.



**Abbildung 22: Zusammenhang zwischen dem Extrakt- und dem Gerbstoffgehalt von Malz aus Gersten verschiedener Standorte.**

Eine mögliche Ursache für die Verhältnisse am Standort 3 war die geographische Lage: Standort 3 (Eifel) wird zur atlantischen Klimazone gerechnet, wohingegen die übrigen Standorte überwiegend kontinentales Klima aufweisen (siehe Anhang, Abbildung A\_ 15). Die Eifel ist das erste Gebirge auf dem Weg der atlantischen Nordwest-Strömung, weshalb dort mit ausgeglichenen Temperaturen und vergleichsweise hohen Niederschlägen gerechnet werden kann. Um diese Aussage abzusichern, müsste allerdings eine vergleichbare Untersuchung über

mehrere Jahrgänge, mit einer größeren Dichte der untersuchten Standorte sowie unter Einbeziehung der Bodenqualität und der Agrartechnologie durchgeführt werden. Bezüglich des Proteingehaltes gliederten sich die Malze in zwei Gruppen (siehe Anhang, Abbildung A\_ 16): Die Standorte mit den tendenziell höheren Extraktgehalten wiesen jeweils niedrigere Proteingehalte auf. Innerhalb der Standorte bestand kein Zusammenhang zwischen den beiden Merkmalen.

Bezüglich der Oxidationsneigung (CI) erwiesen sich Malze aus Gersten vom Standort 1 (niedrigster Gerbstoffgehalt, gleichzeitig höchste Lösung nach ELG und Friabilimeter) am ungünstigsten, vom Standort 2 und 4 (hohe Gehalte an Polyphenolen, und Proteinen, niedriger Lösungsgrad) am günstigsten. Das Malz der „maritimen Gerste“ (Standort 3) zeigte noch gutes Einmischverhalten (CI) bei gleichzeitig der vermutlich besten Braueignung der untersuchten Malze (hoher Extrakt- und Polyphenolgehalt, niedrige Gehalte an Rohprotein und löslichem Stickstoff). Die vier Standorte sind in Tabelle 2 noch einmal charakterisiert.

**Tabelle 2: Charakterisierung der Malze nach Standorten (+ vergleichsweise hoch, o neutrale Bewertung, - vergleichsweise niedrig).**

Standort	Extrakt	Malzlösung	Protein	lösl. N	Polyphenole
1	+	+	-	O	-
2	-	-	+	O	++
3	+	-	-	-	+
4	-	-	+	+	+

### 4.1.2.5 Diskussion und Zusammenfassung

Die verfügbaren analytischen Möglichkeiten zur instrumentellen Bestimmung von polyphenolischen Einzelsubstanzen sind bei weitem noch nicht ausreichend ausgereift. Es ist nicht möglich umfassende, aussagekräftige Informationen über das Spektrum polyphenolischer Inhaltsstoffe von Gerste und Malz zu gewinnen, was die Bestimmung des Verhaltens spezifischer Stoffgruppen im Brauprozess erschwert.

Die Polyphenolgehalte des Malzes sind von den Aufwuchsbedingungen der Gerste und in geringerem Maße von der Gerstensorte abhängig. Beim Einmischen wirken die Malzpolyphenole antioxidativ und vermindern die Oxidation des Schrotens. Aus diesem Grund kann eine positive Beeinflussung der

Geschmacksstabilität vermutet werden. Ein denkbarer Mechanismus ist die enzymatische Entgiftung von  $H_2O_2$  durch Peroxidase unter Cooxidation der Polyphenole. Die bei Würze-pH stabilen und aktiven Phenolat-Anionen und Phenoxyradikale (Semichinone) wirken möglicherweise zusätzlich direkt als Radikalfänger. Der Polyphenolgehalt des Malzes wird in erster Linie durch die Aufwuchsbedingungen der Gerste (Agrartechnik, Klima, Boden) beeinflusst. Sortenspezifische Abhängigkeiten sind zweitrangig. Protein- und Extraktgehalt werden ebenfalls vorrangig durch die Aufwuchsbedingungen der Gerste beeinflusst. Bei Variation der Aufwuchsbedingungen ist der Polyphenolgehalt unabhängig vom Extrakt- und vom Proteingehalt. Bei Variation der Sorte (konstante Aufwuchsbedingungen) besteht eine negative Korrelation zwischen dem Polyphenol- und dem Extraktgehalt, die auf züchterische Unterschiede zurückzuführen sein muss. Gegenüber den Aufwuchsbedingungen erscheint dieser Einfluss innerhalb der untersuchten deutschen Sorten zweitrangig. Es ist möglich polyphenolreiche Gersten mit gleichzeitig guter Brauqualität anzubauen, wie die Gersten von Standort 3 beweisen. Die untersuchten Proben des ‚maritimen‘ Standorts vereinen eine allgemein gute Braueignung mit guter antioxidativer Aktivität, was an dem feuchteren Klima und den gemäßigeren Temperaturen liegen könnte.

Dass maritime Gersten erhöhte Polyphenolgehalte aufweisen wird schon länger vermutet, ist laut GROMUS und LUSTIG aber nicht unbedingt auf die geographische Lage zurückzuführen (Gromus and Lustig 1999). Viele ältere Untersuchungen zu diesem Thema berücksichtigten nicht, dass in den verschiedenen europäischen Ländern auch grundsätzlich unterschiedliche Gerstensorten angebaut werden.

### **4.1.3 Beeinflussung des Reduktionsvermögens und der chemischen Stabilität der Würzen und Biere**

Aus einigen Malzmustern wurden im Folgenden Würzen und Biere im Kleinstmaßstab hergestellt. Vom Polyphenolgehalt des Malzes konnte dabei nicht immer auf den Polyphenolgehalt der Würze und des Bieres geschlossen werden (siehe Anhang, Tabelle A\_ 28).

### 4.1.3.1 Reduktionsvermögen und Radikalgenerierung der Würzen

Höhere Polyphenolgehalte des Malzes führten aber zu Würzen mit erhöhtem Reduktionsvermögen (DPI) (Beispiel: Standort 3, siehe Anhang, Abbildung A\_ 17). Die Korrelation über sämtliche Standorte war unscharf, was vermutlich auf Analysenfehler der im Fall von Würze erfahrungsgemäß sehr unsicheren Methode zurückzuführen ist. Bei Elimination unnatürlich hoher Werte ( $\geq 35\%$ ) ergab sich ein hochsignifikantes  $r = 0,75$  über alle Proben. Das Reduktionsvermögen mittels DPPH konnte in der Würze nicht bestimmt werden, da diese Methode zum Untersuchungszeitpunkt noch nicht zur Verfügung stand.

Würzen aus Malzen mit erhöhten Polyphenolgehalten wiesen eine niedrigere Radikalgenerierung auf. Die Radikalgenerierung der Würzen F(0/120) korrelierte negativ mit den Anthocyanogehalten der Malze und der Würzen (siehe Anhang, Abbildung A\_ 18). Die Malzpolyphenole zeigen damit auch in den resultierenden Würzen eine antioxidative Wirkung.

### 4.1.3.2 Reduktionsvermögen der Biere

Das Reduktionsvermögen (DPPH) der Biere wurde von den folgenden Merkmalen beeinflusst: Gesamtpolyphenole, Anthocyanogene und Tannoide des Malzes, Gesamtpolyphenole und Anthocyanogene der Würze sowie Tannoidgehalt des Bieres (nicht dargestellt). Des Reduktionsvermögens (DPI) der Biere wurde nicht von den Polyphenolgehalten beeinflusst. Einflussgrößen der Radikalgenerierung der Biere konnten nicht identifiziert werden.

Eine sensorische Bewertung der resultierenden Biere bezüglich ihrer Alterungsstabilität war nicht sinnvoll, da zum Untersuchungszeitpunkt eine einheitliche Gärungs- und Hefetechnologie aufgrund der mangelhaften Anlagenausstattung nicht möglich war und die verwendete Kleinbrauanlage erhebliche Sauerstoffeinträge aufwies.

### 4.1.3.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die antioxidative Wirkung der Malzpolyphenole bleibt bis in die Würze erhalten und bewirkt dort eine Erhöhung des Reduktionsvermögens (DPI) sowie eine Verminderung der Radikalgenerierung. Die Polyphenole des Malzes legen auch das Reduktionsvermögen (DPPH) der resultierenden Biere fest. Innerhalb der Biere korrelieren nur noch die Tanninoide mit dem Reduktionsvermögen (DPPH), ein Zusammenhang der bereits von FRANZ festgestellt wurde (Franz 2004). Möglicherweise weisen die Tanninoide bei Bier-ph noch Aktivität auf. Ein alternativer Erklärungsansatz wäre, dass es sich um einen sekundären Zusammenhang handelt, der durch die Bildung von Tannoiden aus Substanzen aus der Gruppe der Anthocyanogene bei der Kochung verursacht wird. Die nicht nachweisbaren Zusammenhänge zwischen Anthocyanogenen, Gerbstoffen und dem Reduktionsvermögen (DPPH) innerhalb der Biere deuten darauf hin, dass die Polyphenole überwiegend im Sudhaus wirken, wobei der Redoxstatus festgelegt wird. Das Reduktionsvermögen (DPI) des Bieres wird durch die Malzpolyphenole nicht beeinflusst.

Bei der Bewertung dieser Ergebnisse muss beachtet werden, dass sie den Einfluss variierender Gerstenqualität und nicht die Auswirkungen der Mälzungstechnologie widerspiegeln, die im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht werden konnten.

Bezüglich der Geschmacksstabilität muss eine mögliche gegenseitige Beeinflussung von Polyphenolen und Eiweiß beachtet werden. Der lösliche Stickstoff des Malzes korreliert bekanntermaßen mit der Bildung von Alterungsindikatoren, wofür die Streckerreaktion verantwortlich gemacht wird (Lustig 1994). Dementsprechend ist es denkbar, dass Polyphenole zusätzlich zu ihrer antioxidativen Wirkung über eine Ausfällung von Eiweiß zur Geschmacksstabilität beitragen.

Polyphenole wirken sich im Sudhaus auch unabhängig von der Geschmacksstabilität positiv auf den Brauprozess aus, wie bereits AERTS et al. berichtet haben und im Grundlagenteil (vgl. 2.5.3) diskutiert wurde, so dass einer Anreicherung von Malzpolyphenolen nach den vorliegenden Ergebnissen nichts entgegensteht.

## **4.2 Antioxidative Aktivität von Bierinhaltsstoffen im Brauprozess**

In Modellversuchen wird die antioxidative Wirkung von Bierinhaltsstoffen und ihr Einfluss auf die Geschmacksstabilität im Brauprozess (Sudhaus) und im fertigen Bier untersucht.

Auf die Gärung wird dabei nicht näher eingegangen, da sie bereits in vorangegangenen Arbeiten von WURZBACHER und von THIELE umfassend untersucht wurde (Wurzbacher 2003; Wurzbacher *et al.* 2005a; Thiele 2006). WURZBACHER konnte bereits zeigen, dass es mit einer geeigneten Hefetechnologie möglich ist, eine gute SO<sub>2</sub>-Bildung mit einer gleichzeitig hohen Hefevitalität zu vereinen (Wurzbacher 2008).

### **4.2.1 Untersuchung der antioxidativen Aktivität im Maischprozess**

#### **4.2.1.1 Technologische Einflussmöglichkeiten**

Ein bedeutender Anteil der Oxidationsreaktionen läuft unmittelbar nach dem Einmaischen ab, wie in Abbildung 23 qualitativ dargestellt ist. Die Breite des abgebildeten Einmaischpeaks betrug etwa 200 s. Um Oxidationsreaktionen beim Maischen mit technologischen Maßnahmen erfolgreich zu hemmen, wäre es also erforderlich, antioxidativ wirksame Substanzen unmittelbar mit dem Einmaischvorgang in Lösung zu bringen.



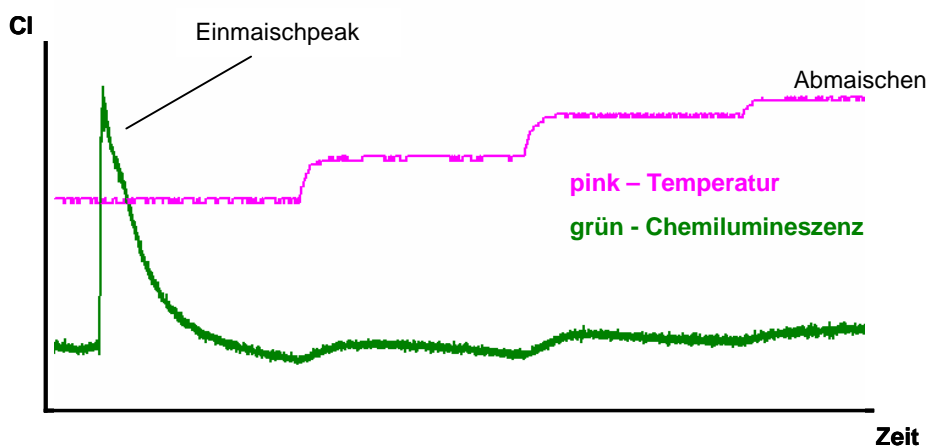


Abbildung 23: Chemilumineszenzmessung im Verlauf eines Maischprogramms (52 – 62 – 72 – 78 °C).

Um die Polyphenolkonzentration beim Einmischen zu erhöhen, wurden einfache Mittel wie eine Sauergut- und eine Glattwassergabe getestet. Das Sauergut und das Glattwasser wurden hierzu von einer Brauerei bezogen. Um den Effekt des pH-Wertes zu untersuchen, wurde zusätzlich einmal mittels technischer Milchsäure angesäuert. Die Versuchsparameter und die Fraktionen der phenolischen Inhaltsstoffe sind in Tabelle 3 dargestellt. Ergebnisse der instrumentellen Bestimmung von Einzelsubstanzen finden sich im Anhang in Tabelle A\_ 6. Wie zu erwarten war enthielt das Glattwasser im Vergleich zur Vorderwürze und zum Sauergut nahezu keine monomeren Polyphenole mehr, in Anbetracht der niedrigen Stammwürze aber noch nennenswerte Anteile trimerer Polyphenole. Die Bestimmung höhermolekularer Substanzen war analytisch nicht möglich. Abbildung 24 zeigt die Chemilumineszenzsignale der Einmischversuche.

Tabelle 3: Analysenmerkmale und Versuchsmatrix beim Einmischen. Extrakt [%mas]; Gerbstoffe [mg/l]; Tanninoide [mg/l PVP].

	pH	Extrakt	Gerbst	Tanninoide	Zugabe
<b>Vorderwürze</b>	5,71	15,26	n.a.	150 (12%)	-
<b>Sauergut</b>	3,02	7,48	89	26,5	4%
<b>Glattwasser</b>	5,95	2,03	87	Sp.	4%
<b>Milchsäure</b>					435 mg/l

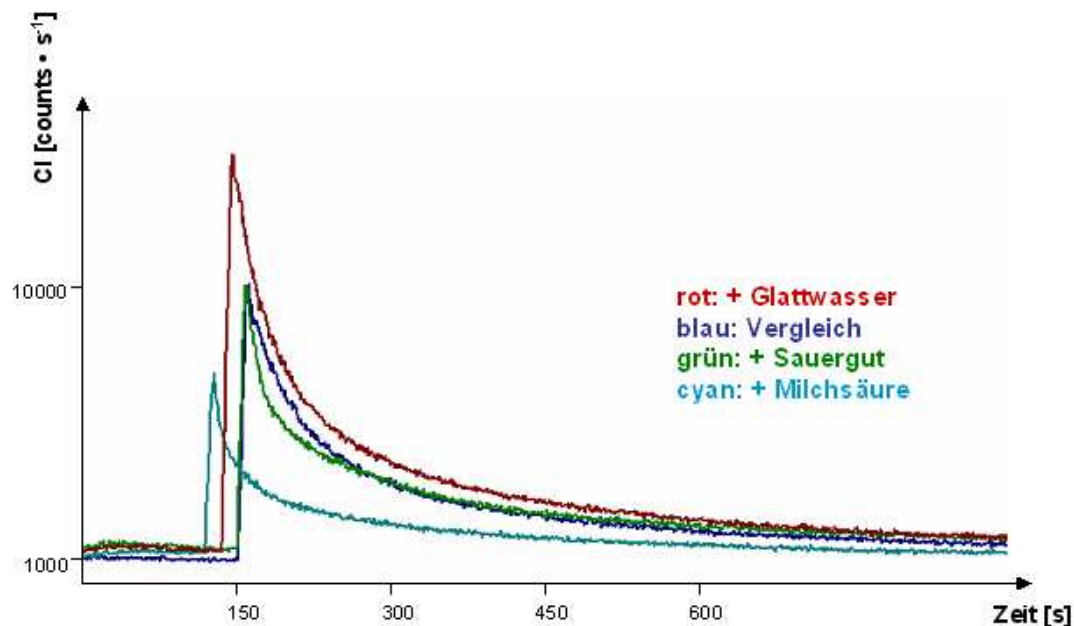


Abbildung 24: Chemilumineszenzsignale des Einmischversuchs.

Die Zugabe von Glattwasser erhöhte den Einmischpeak gegenüber dem Vergleich deutlich. Eine mögliche Erklärung liegt im veränderten Polyphenolspektrum des Glattwassers im Vergleich zur Vorderwürze. Die verantwortliche Substanzgruppe lässt sich anhand der Daten allerdings nicht charakterisieren. Es scheint sich um höhermolekulare oder gebundene Fraktionen zu handeln, die durch die Tannoide nicht erfasst werden. Die Messung von Einzelsubstanzen ergab keine Hinweise auf die prooxidative Fraktion. Die Phenolcarbonsäuregehalte des Glattwasser waren gegenüber Vorderwürze erniedrigt.

Die Zugabe von Sauergut führte zu einer leichten Reduzierung des Einmischpeaks. Die pH-Absenkung durch Milchsäure verursachte eine deutliche Reduzierung des Chemilumineszenzsignals. Der positive Effekt des Sauergutes ist folglich beim Maischen zumindest zum Teil auf die pH-Absenkung zurückzuführen. Da das Pufferungsverhalten der Maische schwer abschätzbar war, konnten die pH-Absenkungen durch die Milchsäure und durch das Sauergut nicht absolut miteinander verglichen werden. Während der Versuchsdurchführung war keine pH-Messung möglich. Die im Sauergut enthaltenen Polyphenole schienen angesichts der guten Polyphenolausstattung von Würze nicht ins Gewicht zu fallen.

### 4.2.1.2 Wirkung der Polyphenole

Um die Wirkung und Veränderung phenolischer Substanzen im Maischprozess und die Auswirkungen auf die Bierqualität zu untersuchen, wurde mit einer Zugabe von monomeren Polyphenolen eingemaischt. Der Versuchs- und ein Vergleichssud wurden daraufhin vergoren und die resultierenden Biere analysiert und verkostet.

Für den Versuch wurde ein Malz mit einem vergleichsweise geringen Gehalt an phenolischen Substanzen der Ernte 2005 ausgewählt. Es wurde jeweils einmal mit (P) und einmal ohne (V) Zugabe von Polyphenolen eingemaischt.

Die Zugabe pro 10 kg Schrot betrug

- 1 g Epicatechin,
- 3 g Gallussäure und
- 5 g Catechin.

Beide Sude (V und P) wurden daraufhin auf jeweils zwei 20 l-Behälter (A und B) aufgeteilt und parallel vergoren (4 Gärungen: VA, VB, PA und PB). Zur Gärung wurde der Stamm W 34/70 verwendet, der erfahrungsgemäß kaum Sulfit produziert. Um die Sulfitbildung zusätzlich zu unterdrücken, wurden eine Belüftungsrate im Sättigungsbereich und eine relativ hohe Hefegabe gewählt. Nach der Filtration (Seitz, K150, Rückhaltevermögen 3 – 4 µm) wurden die Biere auf 0,5 l-Flaschen abgefüllt.

Die Parameter des Brauprozesses sowie die Analysemerkmale des verwendeten Malzes sind im Anhang in Tabelle A\_ 7 und Tabelle A\_ 8 dargestellt. Die Analysenmerkmale der resultierenden Würzen sind im Anhang in Tabelle A\_ 9 dargestellt. Die Polyphenolgehalte der Würzen und Biere sowie ihr Reduktionsvermögen sind in Tabelle 4 und zusammengefasst. Die Ergebnisse der instrumentellen Bestimmung von Einzelsubstanzen finden sich im Anhang in Tabelle A\_ 10. Die Gehalte von Catechin und Epicatechin spiegeln dabei die Zugabe im Versuch wider. Die Gehalte der bestimmten Trimere wurden nicht signifikant beeinflusst.

**Tabelle 4: Polyphenolgehalte und Reduktionsvermögen der Würzen und Biere:  
Gesamtpolyphenole [mg/l]; Tanninoide [mg PVP/l]; Anthocyanogene [mg/l];  
Reduktionsvermögen (DPPH) [%]; Reduktionsvermögen (DPI) [%].**

Pfanne-Voll-Würze						
Probe	Extr	Polys	Tanninoide	Anthos	DPPH	DPI
V-Pf	11,6	187	150	96	65	-
P-Pf	11,9	327	180	95	79	-
Ausschlagwürze						
Sorte	Extr	Polys	Tanninoide	Anthos	DPPH	DPI
V-AW	12,7	214	105	99	77	67
P-AW	12,6	345	117	86	86	80
Bier						
Sorte	Extr	Polys	Tanninoide	Anthos	DPPH	DPI
V-A	-	189	22	66	63	29
V-B	-	178	20	61	60	30
P-A	-	321	26	67	69	35
P-B	-	319	27	69	70	34

In den Würzen führte die Polyphenolzugabe zu einer leichten Ausfällung von niedermolekularem Stickstoff. Die erhöhten Polyphenolgehalte und die damit einhergehenden erhöhten Werte des Reduktionsvermögens blieben nach beiden angewandten Methoden (DPI und DPPH) bis in die resultierenden Biere bestehen. Die Methode zur Bestimmung der Radikalgenerierung in Würze stand zum Untersuchungszeitpunkt noch nicht zur Verfügung. Die Zunahme der Fraktion der Tanninoide in der Pfanne-Voll-Würze deutet auf Polymerisierungsreaktionen hin. Der überwiegende Anteil der zugegebenen Stoffe fand sich in der Summe der Gesamtpolyphenole wieder. Der annähernd konstante Gehalt an Catechin (rund 50% Wiederfindung der zugegebenen Menge) über den vollständigen Brauprozess ließ vermuten, dass ein wesentlicher Anteil der Polyphenole in niedermolekularer Form erhalten blieb.

Die chemische Stabilität der resultierenden Biere ist in Abbildung 25 dargestellt. Die Biere mit Polyphenolzugabe zeichneten sich am ESR durch eine leicht verbesserte chemische Stabilität aus. In den Bieren mit Polyphenolzugabe war die Radikalgenerierung gegenüber den Vergleichsbieren vermindert. Die Lagtime wurde nicht beeinflusst. Bei einer Alterungsverkostung (nach EICHHORN) schnitten diese Biere tendenziell ebenfalls etwas besser ab, der Unterschied war allerdings nicht signifikant (nicht dargestellt).

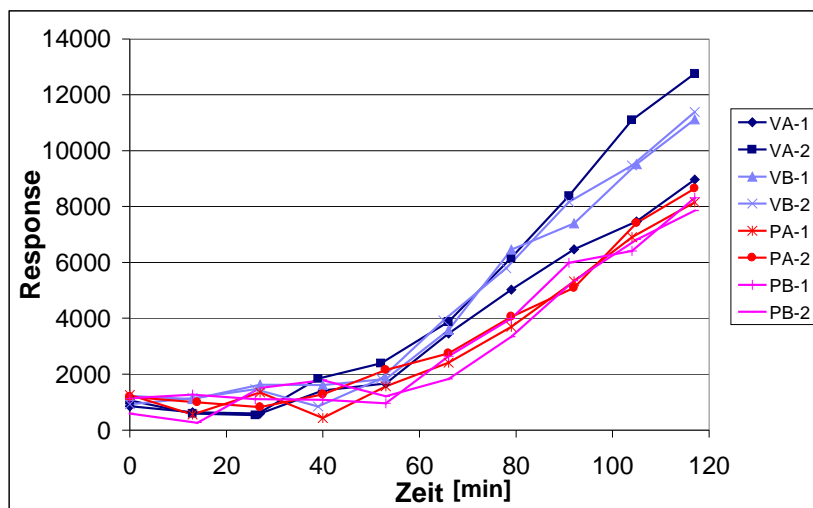


Abbildung 25: Radikalgenerierung der Biere PA, PB, VA und VB.

Die Ergebnisse stehen scheinbar im Widerspruch zu einer Untersuchung von ANDERSEN und SKIBSTED, die eine Verminderung der Radikalgenerierung im Bier feststellten, nachdem die Polyphenole im Maischprozess mittels Hexamethylentetramin (HMT) entfernt worden waren (Andersen and Skibsted 2001). Allerdings werden durch die Behandlung mit HMT vermutlich sämtliche Polyphenolfractionen unspezifisch vermindert, so dass die Ergebnisse nicht mit einer Zugabe von ungebundenen, niedermolekularen Substanzen verglichen werden können.

#### 4.2.1.3 Wirkung der Melanoidine

Zur Untersuchung der Wirkung von Maillardprodukten wurde die chemische Stabilität bei Einmischprozessen mit Röstmalzanteilen und in den resultierenden Würzen analysiert. Eingemaischt wurde jeweils mit Pilsener Malz und einem 5%-igen Schüttungsanteil einer Röstmalzfraktion. Die Röstmalzfraktionen wurden von WUNDERLICH zur Verfügung gestellt und durch weiteres Darren eines Pilsener Malz (PM), eines Münchener Malz (MM) und eines Karamellmalz (CA) gewonnen (Wunderlich 2010). Die Fraktion 0 bezeichnet dabei jeweils das Ausgangsmaterial. Darrtemperatur und -zeit nahmen mit steigender Nummer der Fraktion zu.

Abbildung 26 vergleicht auf der linken Seite Einmischprozesse mit Pilsener und Münchener Malz (100 % Schüttung). Auf der rechten Seite sind dem Pilsener Malz Einmischprozesse mit 5 %-igen Schüttungsanteilen an Münchener Malz (grün)

und Karamellmalz (rot) gegenübergestellt. Das Pilsener Malz (Vergleich) ist jeweils in Blau dargestellt. Die Chemilumineszenz wurde jeweils über 900 s aufgenommen (entspricht der Darstellungsbreite). Die Verwendung dunkler Malze führte in jedem Fall zu einer deutlichen Verstärkung der Oxidationsreaktionen beim Maischen. Das stimmt mit Ergebnissen von LEHTINEN et al. überein, die bei der Verwendung dunkler Malze eine verstärkte Sauerstoffaufnahme beim Einmaischen feststellen konnten (Lehtinen et al. 2005).

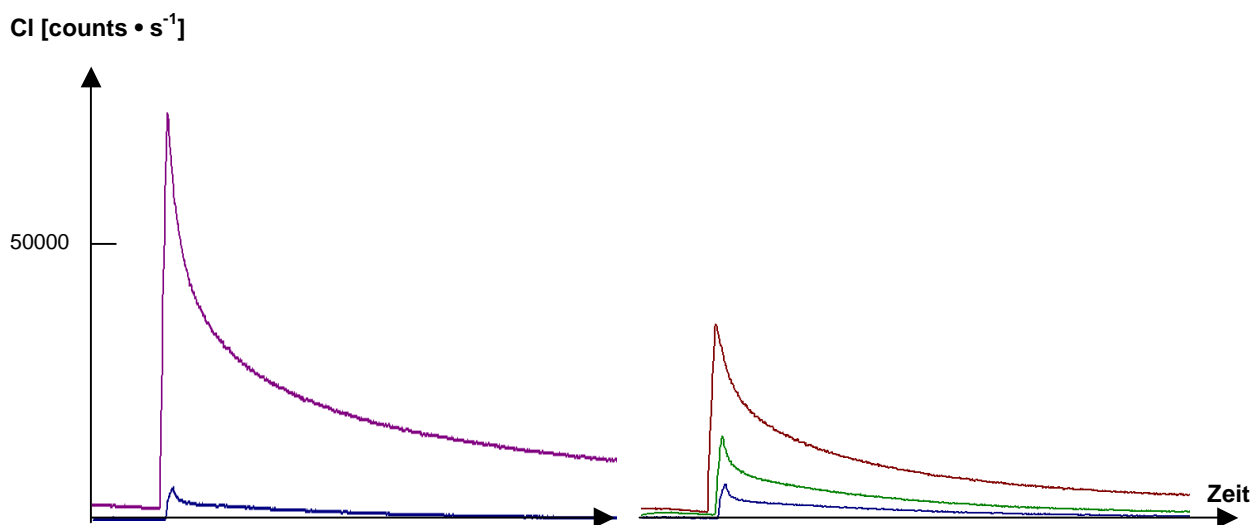


Abbildung 26: Wirkung dunkler Malze beim Einmaischen (PM: blau; jeweils 900 s aufgezeichnet).

Abbildung 27 zeigt die Wirkung von Schüttungsanteilen ausgewählter Röstmalzfraktionen auf Basis des Münchener Malzes.

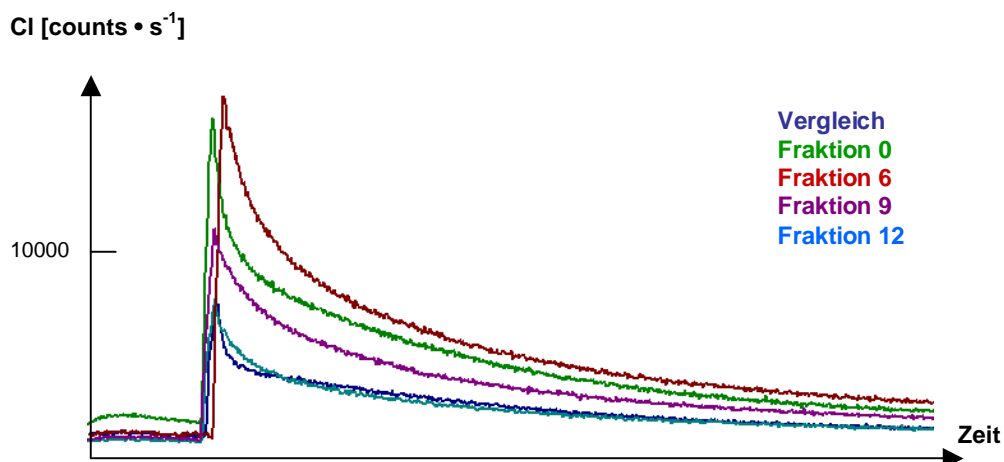
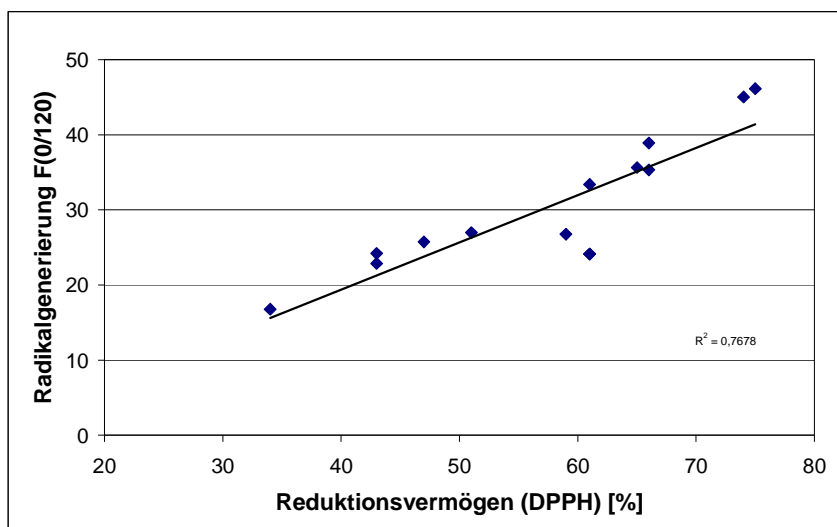


Abbildung 27: Einmischprozesse mit Pilsener Malz, 5% Schüttungsanteil der Fraktionen auf Basis des Münchener Malzes (PM blau; 900 s).

Die prooxidative Wirkung der Röstmalzfraktionen nimmt dabei mit steigendem Röstgrad nach Überschreitung eines Maximums wieder ab.

Das Reduktionsvermögen und die Radikalgenerierung der resultierenden Würzen sind im Anhang in Tabelle A\_ 11 und Abbildung A\_ 6 dargestellt. Durch die Röstmalzzugabe erhöhte sich in allen Fällen die Radikalgenerierung in den Würzen gegenüber der Würze aus Pilsener Malz. Die Radikalgenerierung der Würzen korrelierte gut mit ihrem Reduktionsvermögen (DPPH), wie Abbildung 28 zeigt.



**Abbildung 28: Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen in Abhängigkeit vom Reduktionsvermögen.**

Die Ergebnisse zeigen, dass die prooxidative Wirkung auf reduzierenden Substanzen beruht, die beim Röstprozess (bei der Maillardreaktion) gebildet werden. Die Verwendung dunkler Malze führte nicht nur zu einer Verstärkung der Oxidationsreaktionen beim Einmaischen, sondern auch zu einer Verminderung der chemischen Stabilität der resultierenden Würzen. SPIELDER konnte bereits mit Hilfe der in dieser Arbeit entwickelten Methode der Chemilumineszenzmessung aufzeigen, dass eine Zugabe von Pronyl-L-Lysin, das als funktionelle Komponente von Melanoidinen gilt, die Oxidationsreaktionen beim Einmaischen erhöht (Spieleder 2007). Aufgrund der beschränkten Menge an verfügbarem Probenmaterial, konnten keine Biere mehr hergestellt und untersucht werden.

### 4.2.1.4 Diskussion und Zusammenfassung

Das Einmaischen ist ein grundlegender Prozessschritt, in dem bereits die antioxidative Aktivität und damit auch die Basis für eine gute Geschmacksstabilität festgelegt wird. Die Reaktionen beim Einmaischen sind vergleichsweise stark und die Wirkungen bleiben in den Versuchen bis in die Würze und ins fertige Bier nachweisbar.

Beim Maischen läuft der Großteil der Oxidationsreaktionen unmittelbar ab dem Beginn des Einmaischens und innerhalb weniger Minuten ab. Der restliche Maischprozess ist demgegenüber vernachlässigbar. Technologische Maßnahmen zur Verminderung von Oxidationsreaktionen müssen sich dementsprechend auf den Einmaischvorgang konzentrieren. Eine biologische Säuerung wirkt hier durch die pH-Absenkung antioxidativ. Glattwasser zeigt eine prooxidative Wirkung. Da der Treber zum Zeitpunkt der Glattwassergewinnung bereits weitgehend ausgelaugt ist, kommen hierfür nur schwerlösliche Stoffe aus der Spelze in Frage. Da niedermolekulare und PVP-fällbare Polyphenole als Ursache ausgeschlossen werden können, und da das Glattwasser aber noch nennenswerte Gesamtpolyphenolgehalte aufweist, fällt der Verdacht auf höhermolekulare oder gebundene Polyphenole. Die betreffende Substanzgruppe konnte mangels leistungsfähiger Analytik nicht identifiziert werden. Angesichts dieser Ergebnisse erscheint eine Spelzentrennung beim Maischen sinnvoll.

Eine Zugabe von niedermolekularen Polyphenole beim Einmaischen wirkt sich positiv auf das Reduktionsvermögen von Würze und Bier sowie auf die chemische Stabilität des Bieres aus. Die antioxidative Wirkung bleibt dabei nachhaltig, bis in die fertigen Biere nachweisbar. Die Polyphenole bewirken eine verstärkte Ausfällung von niedermolekularem Stickstoff. Ein bedeutender Teil der niedermolekularen Polyphenole bleibt durch den gesamten Brauprozess bis ins fertige Bier erhalten.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die unterschiedlichen Polyphenolfractionen im Sudhaus zum Teil antioxidativ, und zum Teil aber auch prooxidativ wirken.

Melanoidine wirken nach den vorliegenden Ergebnissen im Sudhaus grundsätzlich prooxidativ. Die Wirkung ist um ein vielfaches stärker als die gesamte polyphenolbedingte Variationsbreite innerhalb heller Malze und zeigt sich auch in



den resultierenden Würzen. Bemerkenswerterweise werden prooxidative Reduktone durch weitere Wärmezufuhr beim Rösten / Darren auch wieder inaktiviert, wie die Abnahme der Einmischpeaks bei höheren Fraktionen und das Minimum der Radikalgenerierung der Würzen beim Versuch mit Karamellmalz zeigen. COGHE et al. konnten in Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen eine Abnahme des Reduktionsvermögens (DPPH) von Malz im Röstprozess nach Überschreitung eines Maximums nachweisen (Coghe et al. 2006). Nach STEELE und NICOLI et al. tritt dieser Effekt besonders bei polyphenolhaltigen Lebensmitteln auf und ist auf deren Reaktionen bei hohen Temperaturen zurückzuführen (Nicoli et al. 1997; Steele 2004). HASHIMOTO konnte zeigen, dass die reaktiven Gruppen der Malzmelanoidine in den niedermolekularen Fraktionen enthalten sind, wohingegen die mittelmolekularen Fraktionen für die Farbe verantwortlich sind (Hashimoto 1972). Das passt zu Daten von SPIELEDER, nach denen eine Farbeinstellung heller Biere mit möglichst dunklen Röstmalzbieren bezüglich der Geschmacksstabilität günstiger ist (Spieleder 2007). Dunkle Biere, die mit Münchener Malz eingebraut wurden, sind nach FORSTER allerdings grundsätzlich geschmacksstabiler als Röstmalzbiere (Forster 1996). Ausschlaggebend hierfür sind vermutlich nicht die Oxidationsreaktionen beim Einmischen, sondern das vollere und stabilere Aromaprofil von Bieren auf Basis von Münchener Malz.

### **4.2.2 Untersuchung der antioxidativen Aktivität der Hopfengabe**

#### **4.2.2.1 Einfluss auf das Reduktionsvermögen und die chemische Stabilität von Würze und Bier**

Zur Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Hopfengaben (Aroma – Bitter; variierender Pellet-Typ, CO<sub>2</sub>-Extrakt) auf die chemische Stabilität wurden ungehopfte und gehopfte Würzen (Rohstoffe und Brauprozess identisch) sowie die resultierenden Biere aus Versuchen von HANKE (Hanke 2010) am ESR untersucht. Die Daten sind im Anhang in Tabelle A\_ 12 abgebildet. Durch die Hopfengaben wurden die Gehalte sämtlicher untersuchter Polyphenolfractionen gesteigert. Die Radikalgenerierung der gehopften Würzen war gegenüber den ungehopften

Würzen stark vermindert und die Lagtime leicht erhöht. Zwischen den Polyphenolgehalten und der Radikalgenerierung bestand innerhalb der gehopften Würzen allerdings kein scharfer Zusammenhang und die Verminderung der Radikalgenerierung durch die Hopfengabe kann nicht auf die Erhöhung der Polyphenolgehalte zurückgeführt werden. CO<sub>2</sub>-Extrakte, die kaum Polyphenole in die Würze einbrachten, zeigten eine den Pellets vergleichbare Wirkung. In Übereinstimmung dazu führte eine Zugabe von Catechin zur Würze ebenfalls zu keiner Veränderung der Radikalgenerierung (nicht dargestellt). Ergebnisse von THUM, nach denen eine Zugabe von Iso-Extrakt (73,9 %  $\alpha$ -Säure) zum Bier die Carbonylbildung unter Sauerstoffbelastung vermindern konnte, passen in dieses Bild (Thum 1997). Anscheinend werden die aktiven Stoffgruppen durch die zur Verfügung stehende Analytik nicht erfasst. Die Polyphenolgehalte der Würzen korrelierten allerdings mit dem Reduktionsvermögen (DPPH) der resultierenden Biere. Die ungehopften und die gehopften Biere unterschieden sich in ihrer chemischen Stabilität nicht mehr signifikant voneinander. Anscheinend geht die Wirkung im Verlauf der Gärung verloren oder wird durch stärkere Einflüsse überdeckt. Da die Messung der Radikalgenerierung in einem oxidativen Forciertest stattfindet, kann spekuliert werden, dass die wirksamen Hopfeninhaltsstoffe bei der Würzebelüftung einen antioxidativen Schutz bieten. Eine Erklärung für dieses Verhalten konnte in einer Veröffentlichung von TING et al. gefunden werden: Nach deren Ergebnissen sind die Humulone ( $\alpha$ -Säuren) die Hopfeninhaltsstoffe mit dem höchsten Reduktionsvermögen (DPPH) (Ting et al. 2008). Beim Würzekochen bilden sie am ESR eine Lagtime aus. Iso- $\alpha$ -Säuren weisen nach TING et al. dagegen keine Wirkung mehr auf. Humulone wirken auch noch bei Zugabe zum fertigen Bier (Ting et al. 2008).

#### 4.2.2.2 Kochversuche im halbtechnischen Maßstab

In einem Kochversuch im halbtechnischen Maßstab (~750 l Ausschlagvolumen) in der neuen Versuchs- und Lehrbrauerei Weihenstephan wurden moderne Kochsysteme verglichen sowie die Auswirkungen der Hopfengabe auf das Reduktionsvermögen, die chemische Stabilität der Würzen und Biere und die Sensorik untersucht. Malzqualität, Maischprogramm und Hopfengabe blieben konstant. Variierende Hopfengaben waren im Rahmen dieser Versuche aufgrund

des gewünschten Vergleichs der Kochsysteme nicht möglich. Die Hopfengabe (HSR Pellet Typ 45) betrug 2 g/l zu Kochbeginn, zuzüglich 1 g/l im Whirlpool. Sämtliche Sude wurden doppelt durchgeführt. Die Biere wurden nicht stabilisiert. Tabelle A\_ 13 (Anhang) zeigt die relevanten Analysenergebnisse. Nahezu sämtliche Analysenmerkmale lagen im Sollbereich und die Sude erschienen gut reproduzierbar. Bei System D konnten Hinweise auf eine verminderte chemische Stabilität festgestellt werden; auffällig abweichende Werte sind in der Tabelle farblich markiert.

Die Thiobarbitursäurezahl (TBZ) sämtlicher Würzen war äußerst gering, was auf eine niedrige thermische Belastung beim Kochen bei gleichzeitig guter Ausdampfung schließen lässt. Die Biere weisen hohe SO<sub>2</sub>-Gehalte und eine hohe Lagtime auf. Die forciert gealterten Biere wurden sensorisch gut bewertet und wiesen nur geringe Zunahmen der Alterungsindikatoren auf (bis auf System D). Die hohe Geschmacksstabilität der Biere war, abgesehen von den hohen SO<sub>2</sub>-Gehalten, ein Indiz für den positiven Effekt moderner Kochsysteme mit gutem Wirkungsgrad und geringer thermischer Belastung.

Durch die zweite Hopfengabe wurden die Gehalte aller phenolischen Fraktionen deutlich erhöht. Das Reduktionsvermögen stieg hierdurch um rund 8 Prozentpunkte an. Die Lagtime der Würzen wurde im Mittel erhöht und die Radikalgenerierung vermindert. Die Hopfengabe steigerte folglich das Reduktionsvermögen und die chemische Stabilität der Würzen.

In den Kaltwürzen (Kühlmitte) korrelierten Anthocyanogene, Flavanoide und Tannoide mit dem Reduktionsvermögen (DPPH). Die Radikalgenerierung der Würzen F (0/120) korrelierte mit dem Anstieg der Alterungsindikatoren bei der forcierten Alterung.

### 4.2.2.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die Kochversuche zeigen, dass durch eine Kombination von niedriger thermischer Belastung, hoher SO<sub>2</sub>-Bildung und einer Anreicherung von Polyphenolen (deutliche Hopfengabe, keine Stabilisierung) überdurchschnittlich geschmacksstabile Biere produziert werden können.

Die Hopfengabe zeigt in der Würze antioxidative Wirkung. Sie wirkt sich positiv auf das Reduktionsvermögen (DPPH) und die chemische Stabilität (Lagtime und

Radikalgenerierung) der Würzen aus. Die antioxidative Wirkung geht dabei allerdings nicht von den Polyphenolen aus. Vermutlich sind die Humulone die antioxidativ wirksame Stoffgruppe. Die durch den Hopfen eingebrachten Polyphenole tragen zum Reduktionsvermögen (DPPH) der resultierenden Biere bei. Die antioxidative Wirkung der Hopfengabe ist im fertigen Bier nicht mehr nachweisbar.

### 4.3 Antioxidative Aktivität von Bierinhaltsstoffen im Bier

#### 4.3.1 Radikalgenerierung verschiedener Biersorten

Um Bezugswerte zur Beurteilung der Ergebnisse der folgenden Versuche zu erhalten, wurde die Radikalgenerierung verschiedener Biersorten des Sortiments einer Brauerei bestimmt (Abbildung 29; Plot der Gerätesoftware, absolute Response). Die Biere dieser Brauerei wurden noch für weitere Versuche herangezogen, weshalb die Brauerei versuchsübergreifend mit ‚Brauerei A‘ bezeichnet wird.

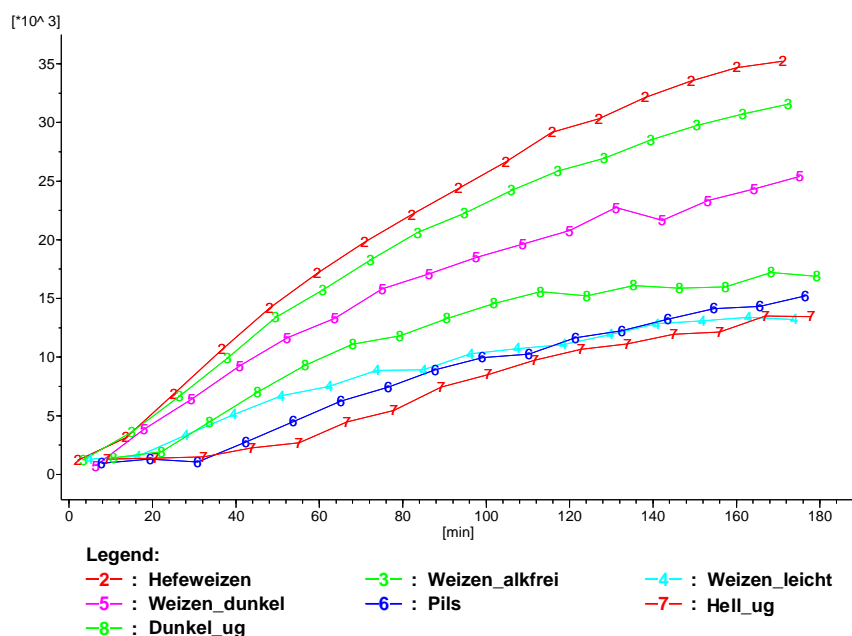


Abbildung 29: Radikalgenerierung unterschiedlicher Biersorten (Response absolut).

Das untergärige helle Bier wies die niedrigste Radikalgenerierung auf. Etwas höher fiel die Radikalgenerierung beim Pils der Brauerei aus. Im Vergleich dazu deutlich erhöht war die Radikalgenerierung des dunklen untergärigen Bieres. Die obergärigen Biere zeigten grundsätzlich eine höhere Radikalgenerierung und bildeten keine Lagtime aus. Diese Verhältnisse sind der Erfahrung nach typisch für die untersuchten Biersorten. Eine Ausnahme stellte hierbei nur das leichte Weizen dar, dessen Radikalgenerierung im Bereich der untergärigen Biere lag. Die zugehörigen Analysenmerkmale sind noch einmal im Anhang in Tabelle A\_ 14 zusammengefasst.

### 4.3.2 Modellversuche

In dieser Versuchreihe wurden zum untergärigem hellem Bier (Münchner Hell, Brauerei A) repräsentative Reinsubstanzen als Vertreter der unterschiedlichen redoxaktiven Stoffgruppen einzeln und in Kombination zugegeben. Für den Versuch wurde ein wenig stabiles Bier mit niedrigem SO<sub>2</sub>-Gehalt ausgewählt, um mögliche Einflüsse leicht sichtbar zu machen. Die zugesetzten Mengen sind jeweils in molarer Konzentration, als die in der Probe erreichte Konzentrationserhöhung angegeben. Die Zugabe erfolgte in zwei Konzentrationsstufen (0,5; 1,0), denen zupipettierte Mengen der Stammlösung von 0,5 und 1 ml pro 500 ml Bier entsprechen. Der Ethanolgehalt wurde anschließend standardisiert, so dass sich für jede Probe eine Erhöhung des Ethanolgehaltes um 1 ml / 500 ml = 0,2 %vol. ergab. Nach der Zugabe wurden die Proben verschlossen, für 30 min geschüttelt, für 48 h bei 4 °C gelagert und vor der Messung auf 0 °C abgekühlt. Trotz Sauerstoffbelastung trat durch die niedrigen Temperaturen und die kurze Aufbewahrungszeit keine nennenswerte oxidative Schädigung der Proben ein, wie die Werte des Vergleichsbieres zeigen. Die Reaktionskinetik der Oxidation der Biere wurde daraufhin im Forciertest (60°C) aufgenommen, wobei die Vorgehensweise der Methode zur Bestimmung der Lagtime (GC 012/06 – Lagtime und Radikalgenerierung) entsprach.

Die eingesetzten Reinsubstanzen sind in Tabelle 5 aufgeführt. Die Auswahl beschränkte sich gezwungenermaßen auf kommerziell erhältliche Substanzen. Die Versuchsmatrix ist noch einmal detailliert im Anhang in Tabelle A\_ 15 aufgeschlüsselt.

**Tabelle 5: Reinsubstanzen und Stammlösungen.**

Stoffgruppe	Substanz	Konzentration [mmol/l]	Lösung	Bemerkung	Bemerkung
Endiol	Dihydroxyfumarat	0,3	EtOH	Modell Redukton / Melanoidin	schwarze Verfärbung
Monophenol	p-Kumarsäure	0,3	EtOH	Phenolcarbonsäure	
Trihydroxyphenol	Gallussäure	0,3	EtOH	Phenolcarbonsäure	(~ 51 mg/l)
Dihydroxyflavan	Catechin	0,3	EtOH	Flavanoid	
Protein-Thiol	L-Cystein	0,3	H <sub>2</sub> O	Aminosäure	
anorganisch	Sulfit	0,039	H <sub>2</sub> O	NaHSO <sub>3</sub>	(~ 2,5 mg/l)
Metallion	Fe <sup>2+</sup>	0,15	H <sub>2</sub> O	FeSO <sub>4</sub>	
Metallion	Cu <sup>2+</sup>	0,15	H <sub>2</sub> O	CuSO <sub>4</sub>	
Chelator	EDTA	0,15	in 0,1 N NaOH	erhöht Fe-Aktivität	keine vollständige Lösung
Chelator	Desferrol	0,15	H <sub>2</sub> O	vermindert Fe-Aktivität	

Um die Genauigkeit der Methode in diesem Versuch festzustellen, wurde das Vergleichsbier sechsfach (drei Doppelbestimmungen) gemessen (Tabelle 6). Sämtliche Versuchsproben wurden doppelt bestimmt.

**Tabelle 6: Doppelbestimmungen des Vergleichsbieres (= Versuch 1).**

	LT [min]	F(LT/60)	Tempol
Messung 1	27	8,13	34182
	27	8,19	34182
Messung 2	25	8,20	36662
	25	8,33	36662
Messung 3	29	7,65	39172
	32	7,64	39172

**Tabelle 7: Analysengenauigkeit im Experiment.**

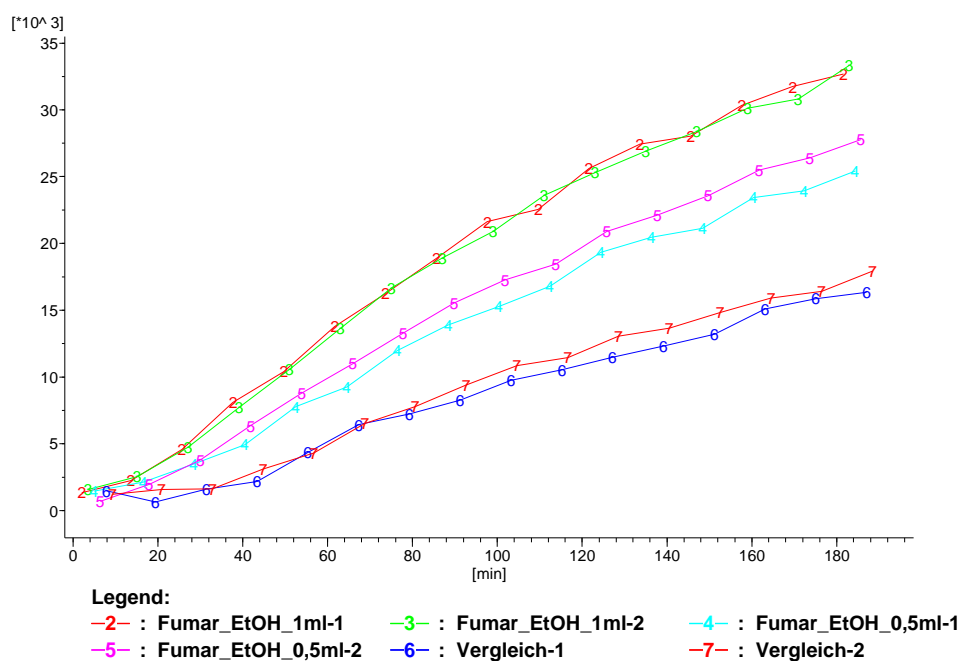
	LT [min]	F(LT/60)
Messung 1	27	8,16
Messung 2	25	8,27
Messung 3	31	7,65
Mittelwert	<b>28</b>	<b>8,03</b>
Standardabweichung	<b>3,1</b>	<b>0,33</b>
Konfidenzintervall (95%; einseitig)	<b>4,2</b>	<b>0,46</b>

Wie Tabelle 6 zeigt, war die instrumentelle Bestimmung der Proben innerhalb eines Laufes äußerst exakt. Abweichungen der Messkurven wie bei –4– und –5– in Abbildung 30 sind erfahrungsgemäß auf minimale Pipetierfehler zurückzuführen. Zwischen den drei Doppelbestimmungen des Vergleichsbieres, die an unterschiedlichen Tagen durchgeführt wurden, werden Schwankungen der

Messwerte sichtbar (Tabelle 7). Diese Abweichungen sollen zur Beurteilung von Unterschieden in den Zugabeversuchen herangezogen werden.

## 4.3.2.1 Ergebnisse des Tests von Einzelsubstanzen

Abbildung 30 zeigt exemplarisch die Messreihen zu den Versuchen 1 bis 3 (graphischer Plot der Gerätesoftware, absolute Response). Die Ergebnisse der Versuche 2 bis 19 sind in Tabelle 8 dargestellt.



**Abbildung 30: Radikalgenerierung der Versuchsbiere 1 bis 3. Versuch 1: -6-, -7-; Versuch 2: -4-, -5-; Versuch 3: -2-, -3- (absolute Response).**

**Tabelle 8: Veränderungen von Lagtime und Radikalgenerierung durch Zugabe der Reinsubstanzen.**

		absolute Abweichung			
		LT [min]		F(LT/60)	
Versuch	Substanz - Konzentration	0,5	1	0,5	1
2 / 3	Fumarat	-14	-28	3,2	6,3
4 / 5	Kumarsäure	-1	0	-0,6	-0,5
6 / 7	Gallussäure	-6	-6	0,3	0,2
8	Catechin	n.b.	-2	n.b.	-0,2
9 / 10	Cystein	-12	-15	2,5	4,7
11	Sulfit	n.b.	32	n.b.	0,2
12 / 13	Eisen	-24	-28	12,5	11,1
14 / 15	Kupfer	-28	-28	8,5	4,6
16 / 17	EDTA	8	5	1,6	2,1
18 / 19	Desferrol	12	14	-3,9	-4,0

Das verwendete Bier („Vergleich“ = Versuch 1) zeichnete sich durch eine vergleichsweise niedrige chemische Stabilität aus. Die Lagtime betrug 28 min und die Radikalgenerierung ergab einen F(LT/60)-Wert von 8,0.

Cystein (V9/10; SH-Gruppe) und Fumarat (V2/3; Endiolstruktur, Modell für Melanoidin) wirkten im Bier eindeutig prooxidativ und führten zu einer deutlichen Abnahme der Lagtime und einer Zunahme der Radikalgenerierung. Die Wirkung der SH-Gruppen ist allerdings vermutlich stark vom Molekül abhängig. Zum Beispiel weist Glutathion in Bier eine deutliche antioxidative Wirkung auf (Franz 2004). Methionin zeigt keine Beeinflussung der Radikalgenerierung (Andersen et al. 2000). Für Ascorbinsäure wurde bereits eine prooxidative Wirkung festgestellt (Andersen et al. 2000).

Die Polyphenole zeigten im vorliegenden Experiment nur schwache Wirkung. Kumarsäure (V4/5) wies eine leichte Tendenz zur Verminderung der Radikalgenerierung und Gallussäure (V6/7) eine leichte Tendenz zur Verminderung der Lagtime auf. Die Zugabe von Catechin (V8) zeigte keine signifikante Wirkung. Die Ergebnisse ähneln Ergebnissen von ANDERSEN et al., die bei einer 0,2 M Zugabe von Phenolcarbonsäuren, Catecholen und Prodelphinidin B-3 keine Beeinflussung der Radikalgenerierung feststellen konnten (Andersen et al. 2000). Als Ursache kann ihre geringe Aktivität im pH-Bereich des Bieres vermutet werden. Dass sowohl leichte pro- als auch antioxidative Wirkungen phenolischer Inhaltsstoffe festgestellt werden konnten, steht im Einklang mit den



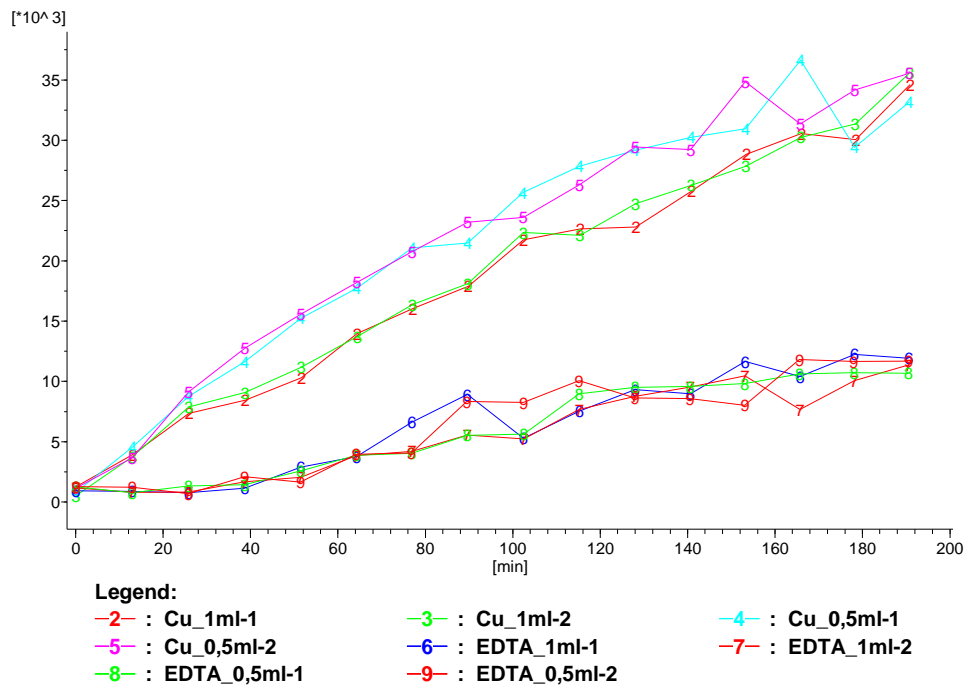
Beobachtungen anderer Autoren. Nach den Literaturangaben weisen z.B. Phenole mit Dihydroxy-B-Ring im Vergleich zu Monophenolen bessere antioxidative Eigenschaften auf (Galati et al. 2002). Phenole mit Trihydroxy-B-Ring sollen im Gegensatz dazu prooxidativ wirken können (Irwin et al. 1991). Diese Theorie wird durch die vorliegenden Ergebnisse nur insofern gestützt, als Gallussäure als Trihydroxyphenol in dieser Versuchsreihe eindeutig prooxidativ reagiert. Weitere allgemeine Aussagen können aus den vorliegenden Ergebnissen nicht abgeleitet werden, da die Anzahl der getesteten Substanzen hierfür zu gering war, und da im Versuch Polyphenole verschiedener Substanzgruppen (Phenolcarbonsäuren und Flavanoide) miteinander verglichen wurden. Dieselbe phenolische Substanz kann je nach ihrer Konzentration auch pro- oder antioxidativ wirken, wie NENADIS et al. bereits für Gallussäure zeigen konnten (Nenadis et al. 2007).

Sulfit (V11) verlängerte die Lagtime wie erwartet deutlich und hatte keinen Einfluss auf die Radikalgenerierung.

Kupfer (V14/15) und Eisen (V12/13) wirkten erwartungsgemäß eindeutig prooxidativ. Dabei war die Wirkung der Eisenionen stärker als die der Kupferionen (äquimolare Konzentrationen). Die Tatsache, dass eine Verdopplung der Zugabe der Metallionen von 0,075 mM auf 0,15 mM („0,5“ → „1,0“) keine weitere Steigerung der Radikalgenerierung hervorrief, deutete darauf hin, dass die katalytisch nötigen Mengen bereits erreicht waren. Die Abnahme der Lagtime kann als Folge der metallkatalysierten Radikalgenerierung gedeutet werden: In der so beschleunigten weiteren oxidativen Reaktionsfolge entstehen wiederum Peroxide, die die endogen vorhandenen Antioxidantien des Bieres schneller aufzehren und somit zu einem früheren Durchbruch der Radikalkettenreaktion führen. Die im Falle des Kupfers auftretende Abnahme der Radikalgenerierung, durch eine weitere Erhöhung der zugegebenen Menge, wurde in einer Wiederholung des Experiments bestätigt. Bemerkenswert war in diesem Zusammenhang, dass die Reaktionsverläufe beider Kupferkonzentrationen erst nach etwa 25 min voneinander abwichen (Abbildung 31). Möglicherweise wurde die Reaktion nach einer weitgehenden Aufzehrung der endogenen Reduktone durch sich anhäufendes  $\text{Cu}^{2+}$  (oxidierte Form des Katalyten, stabilste Oxidationsstufe in wässrigen Lösungen) wieder gehemmt. Das Standardpotential für die Elektronenabgabe von  $\text{Cu}^{2+}$  zu  $\text{Cu}^{3+}$  beträgt 1,57 V gegenüber 0,16 V für die Elektronenabgabe von  $\text{Cu}^+$  zu  $\text{Cu}^{2+}$ , weshalb ein weiterer Oxidationsschritt

zum  $\text{Cu}^{3+}$  unwahrscheinlich ist. Die Promotion der Radikalgenerierung durch Metallionen steht im Einklang mit Ergebnissen von UCHIDA und ONO (Uchida and Ono 1996). Im Widerspruch zu den vorliegenden Ergebnissen steht ein Versuch von THUM, der nach einer Zugabe von Eisenionen eine leicht verminderte Bildung von Carbonylen bei hoher Sauerstoffbelastung feststellte (Thum 1997). Die Ergebnisse Thums sind in diesem Fall aber kritisch zu bewerten, da nur eine sehr beschränkte Auswahl an Carbonylen untersucht wurde, und die zugegebenen Mengen an Fe-Ionen gering waren.

Die beiden Chelatoren EDTA (V16/17) und Desferrol (V18/19) wirkten jeweils antioxidativ und unabhängig von ihrer Konzentration, ihre Wirkungen unterschieden sich jedoch grundsätzlich. EDTA erhöht bekanntermaßen die Reaktivität von Eisenionen, wohingegen Desferrol die Aktivität von Eisen hemmt (Halliwell 1975; Halliwell et al. 1982; Elstner 1990; Halliwell and Gutteridge 2007). Die Aktivität von Kupferionen wird durch EDTA gehemmt und durch Desferrol nicht beeinflusst. Im vorliegenden Experiment wurde die Radikalgenerierung des Bieres durch EDTA erhöht und durch Desferrol vermindert, woraus abgeleitet werden kann, dass die Oxidationsreaktionen im Bier (nach der Lagtime) überwiegend eisenkatalysiert ablaufen. Aus der Erhöhung der Lagtime durch EDTA kann dementsprechend abgeleitet werden, dass die ersten Schritte der Sauerstoffaktivierung (bis zum Wasserstoffperoxid) teilweise kupferkatalysiert ablaufen. Die Erhöhung der Lagtime durch Desferrol kann durch den Einfluss der Radikalgenerierung erklärt werden (Beeinflussung der Lagtime durch die Radikalgenerierung: Rückkopplung der Kettenreaktion durch Akkumulation von sekundären Peroxiden, Beschleunigung der Sulfitzehrung). Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Widerspruch zur Arbeit von UCHIDA und ONO, die eine Verminderung der Radikalgenerierung nach EDTA-Zugabe feststellten (Uchida and Ono 1996).



**Abbildung 31: Radikalgenerierung im untersuchten Bier nach Zugabe von  $\text{Cu}^{2+}$ . -4-, -5-: 0,075 mM; -2-, -3-: 0,15 mM; sowie nach Zugabe von EDTA in unterschiedlichen Konzentrationen (absolute Response).**

Eine Erhöhung der Radikalgenerierung ging bei allen bisher diskutierten Teilversuchen immer mit einer Verminderung der Lagtime einher. Bei einer Verminderung der Radikalgenerierung verhielt es sich entsprechend. Bei Sulfid trat der Sonderfall auf, dass sich die Lagtime deutlich verlängerte, aber die Radikalgenerierung nicht beeinflusst wurde. Gallussäure verminderte die Lagtime, ohne die Radikalgenerierung zu beeinflussen. Diese qualitativen Unterschiede bezüglich der Beeinflussung der Reaktionskinetik deuten auf unterschiedliche Wirkmechanismen bzw. Ansatzpunkte in der Reaktionsfolge der Sauerstoffaktivierung hin. Zusammenfassend können die Substanzen in zwei Kategorien unterteilt werden: Substanzen, die die Radikalgenerierung beeinflussen und bei denen die Veränderung der Radikalgenerierung und der Lagtime negativ miteinander korrelieren, sowie Substanzen, die nur zu einer Veränderung der Lagtime führen.

#### 4.3.2.2 Ergebnisse der Kombination von Einzelsubstanzen

Die Wirkung von Kombinationen der zugesetzten Substanzen ist in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9: Veränderungen von Lagtime und Radikalgenerierung bei kombinierter Zugabe.**

		absolute Abweichung	
Versuch	Substanz	LT	F(LT/60)
20	Catechin + Sulfit	35	0,2
21	Fumarat + Sulfit	0	3,2
22	Kupfer + EDTA	-18	3,2
23	Eisen + EDTA	-12	18,0
24	Kupfer + Desferrol	-19	3,8
25	Eisen + Desferrol	-20	5,1
26	Sulfit + Eisen	-11	11,9
27	Sulfit + Kupfer	-18	11,9
28	Fumarat + Catechin + Sulfit	-2	2,7
29	Catechin + Eisen	-24	10,9
30	Catechin + Kupfer	-20	12,0

Fumarat (Endiol) und Catechin (Dihydroxyflavanon) wurden in Anlehnung an die Literatur als aussichtsreiche Modellsubstanzen zur Untersuchung kombinatorischer antioxidativer Effekte für den Versuch ausgewählt und miteinander und mit Sulfit kombiniert. Weitere Kombinationen mit Metallionen und Chelatoren sollten helfen das Grundverständnis der Sauerstoffreduktion sowie den Einfluss der Antioxidantien weiter zu verfeinern.

Bei Zugabe von Catechin mit Sulfit (V20) war kein kombinatorischer Effekt feststellbar. Die Reaktionskinetik unterschied sich nicht vom additiven Verhalten.

Fumarat + Sulfit (V21): Bezüglich der Lagtime kompensierten sich die Wirkungen der beiden Substanzen (vgl. Versuch 3 und 11). Bemerkenswert war allerdings, dass Sulfit die durch Fumarat katalysierte Radikalgenerierung hemmen konnte, wohingegen sich Sulfit im Vergleichsbier nicht auf die Radikalgenerierung auswirkte. Eine denkbare Erklärung hierfür wäre eine irreversible Addition von Sulfit an die Doppelbindung des Fumarat, womit beide Substanzen aus der Reaktionsfolge eliminiert wären. Fumarat und Sulfit stellen sich als Gegenspieler

dar. Welche Wirkung überwiegt, scheint konzentrationsabhängig zu sein. Im Versuch mit äquimolaren Konzentrationen verblieb ein prooxidativer Nettoeffekt.

Fumarat + Sulfit + Catechin (V28): Durch die Zugabe von Catechin zum System aus Fumarat und Sulfit wurde die Radikalgenerierung gegenüber Versuch 21 leicht vermindert. Der Unterschied lag allerdings an der Grenze der Signifikanz.

Insgesamt konnten somit keine kombinatorischen Effekte in den getesteten Kombinationen festgestellt werden. Die Wirkungen der getesteten Antioxidantien verhielten sich additiv. Es muss allerdings bemerkt werden, dass in diesem Versuch nicht sämtliche sinnvollen Kombinationen, wie z.B. mit Cystein, anderen Thiolen (z.B. Glutathion) sowie weiteren phenolischen Substanzen, getestet werden konnten.

Catechin + Eisen (V29): Im Vergleich zu einer Zugabe nur von  $\text{Fe}^{2+}$  (V12) verminderte sich die Radikalgenerierung um 1,6, was bei einer Konfidenzabweichung von 0,46 als signifikant angesehen werden kann. Catechin zeigte hier möglicherweise eine leichte antioxidative Wirkung.

Catechin + Kupfer (V30): Im Vergleich zu einer Zugabe nur von  $\text{Cu}^{2+}$  (V14), erhöhte sich die Lagtime bei gleichzeitiger Erhöhung der Radikalgenerierung. Die Ergebnisse der Kombination von Catechin mit Kupfer deuteten darauf hin, dass Catechin die kupferkatalysierte Radikalgenerierung beschleunigen konnte, möglicherweise durch eine Reduktion der Kupferionen, die so für weitere Reaktionszyklen zur Verfügung standen. Gleichzeitig hemmte es die kupferbedingte Verminderung der Lagtime, so dass hier ein zweiter Wirkmechanismus vorliegen muss. Catechin scheint damit sowohl pro- als auch antioxidativ zu wirken.

Sulfit + Eisen (V26): Gegenüber Versuch 12 konnte eine Zugabe von Sulfit die metallkatalysierte Radikalgenerierung nur geringfügig hemmen, allerdings konnte es die Verminderung der Lagtime deutlich reduzieren.

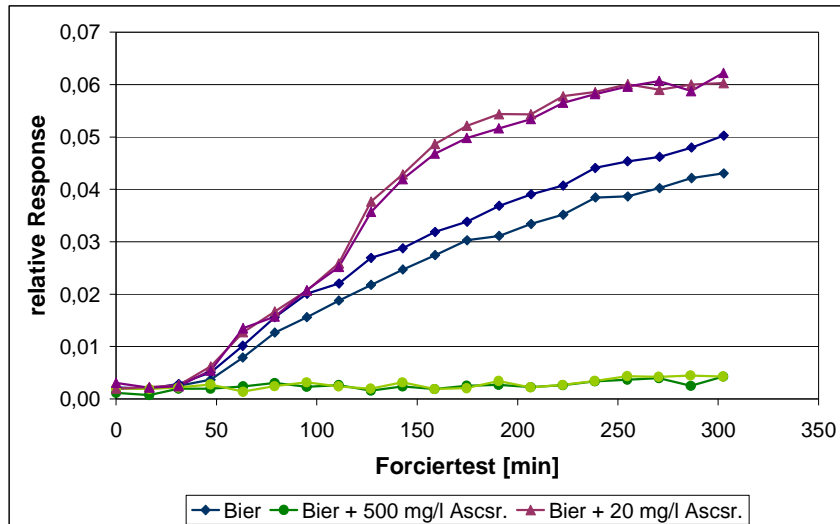
Sulfit + Kupfer (V27): Gegenüber Versuch 14 hemmte Sulfit die Verminderung der Lagtime durch Kupferionen. Bezüglich der Radikalgenerierung zeigte sich ein unerwartetes Ergebnis: Sulfit beschleunigte die kupferkatalysierte Radikalgenerierung nach der Lagtime. Damit zeigt Sulfit bezüglich Kupfer ein ähnliches Verhalten wie Catechin. Kupfer bildet in Verbindung mit geeigneten Partnern ein äußerst starkes Reduktionssystem.

EDTA-Zugabe (V22, V23): Durch die EDTA-Zugabe wurde die eisenkatalysierte Radikalgenerierung (vgl. V12) erwartungsgemäß stark erhöht. Die relative Erhöhung der Lagtime kann in Übereinstimmung mit Versuch 16 mit der Hemmung endogener Kupferionen erklärt werden. Die kupferkatalysierte Radikalgenerierung (Fenton / Haber-Weiss) wurde durch die EDTA-Zugabe erwartungsgemäß deutlich gehemmt. Die relative Erhöhung der Lagtime kann wie in Versuch 16 und 23 durch Beteiligung von Kupferionen an den ersten Schritten der Sauerstoffaktivierung erklärt werden.

Zugabe von Desferrol (V24, V25): Durch die Desferrolzugabe wurde die eisenkatalysierte Radikalgenerierung (vgl. V12) erwartungsgemäß deutlich vermindert. Die kupferkatalysierte Radikalgenerierung (vgl. V14) wurde durch Desferrol scheinbar vermindert und die Lagtime wurde relativ erhöht. Die Änderungsbeträge lassen allerdings vermuten, dass hierbei nur die Wirkung des Desferrol auf endogen im Bier enthaltene Eisenionen aufgezeichnet wird (vgl. V18).

### 4.3.2.3 Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung von Ascorbinsäure

Abschließend wurde in einem folgenden Zugabeversuch (Hell A, Abbildung 32) die Wirkung von Ascorbinsäure auf die Lagtime und Radikalgenerierung von Bier untersucht. Ascorbinsäure gilt als Modellsubstanz für Reduktone mit Endiolstruktur und als starkes Antioxidans und Konservierungsmittel.



**Abbildung 32: Radikalgenerierung in Bier unter Zusatz von Ascorbinsäure.**

Die moderate Zugabe von Ascorbinsäure zum Bier beeinflusste die Lagtime nicht und führte zu einem zweiten, verstärkten Anstieg der Radikalgenerierung. Eine antioxidative Wirkung stellte sich erst bei einer sehr hohen Zugabemenge ein. Dieses Verhalten kann als Indiz für die Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung von Reduktionen (Melanoidinen und Polyphenolen) aufgefasst werden. Melanoidine liegen in hellen Bieren anscheinend im überwiegend prooxidativen Konzentrationsbereich vor. Das Ergebnis steht im Einklang mit Hinweisen aus der Literatur, dass Ascorbinsäure in wässrigen Systemen nur in höheren Konzentrationen antioxidativ wirkt. BELITZ et al. geben hierfür eine Konzentrationsgrenze von etwa 200 mg/l an (Belitz et al. 2001). Eichhorn berichtet von einer anfänglichen positiven Wirkung der Ascorbinsäure im Bier, die zu späteren Zeitpunkten einer negativen prooxidativen Beeinflussung der Alterung weicht (Eichhorn 1991). Dieses Verhalten kann mit einer Aufzehrung der Ascorbinsäure erklärt werden, wobei die Konzentration vom antioxidativen in den prooxidativen Bereich übergeht. THUM konnte eine erhöhte Carbonylbildung nach Zusatz von Ascorbinsäure zum Bier feststellen (Thum 1997). NENADIS et al. berichten von einer prooxidativen Wirkung von Ascorbinsäure in Verbindung mit Kupferionen (Nenadis et al. 2007). Nach dem Bericht einer kooperierenden Brauerei (nicht Reinheitsgebot, Reisanteil), die Ascorbinsäure zur Stabilisierung einsetzte, nahm die sensorische Qualität gealterter Biere im Großversuch mit zunehmender Ascorbinsäurezugabe signifikant ab (Tabelle 10). Durch eine

Umstellung auf Sulfite als Konservierungsmittel konnte die Geschmacksstabilität daraufhin deutlich gesteigert werden.

**Tabelle 10: Einfluss einer Ascorbinsäuregabe auf die Geschmacksstabilität von Bier.**

**Alterungsnote: 1 = frisch, 10 = oxidiert, extrem gealtert.**

Zugegebene Ascorbinsäure [mg/l]	Alterungsnote (1-10)	
	frisch	forciert
10	1,0	5,2
20	1,0	5,7
30	1,0	5,7
40	1,0	6,2

Auf die Wirkung der Ascorbinsäure wird im Folgenden bei der Untersuchung alkoholfreier Getränke nochmals eingegangen (siehe 4.4.3).

#### 4.3.2.4 Diskussion und Zusammenfassung

Die Ergebnisse der Versuche mit Chelatoren und Metallionen bestätigen die Richtigkeit des gewählten Ansatzes, mittels der Wirkung spezifischer Chelatoren auf die beteiligten Spezies zurückzuschliessen. Nach den vorliegenden Ergebnissen werden die ersten Aktivierungsschritte des molekularen Sauerstoffs überwiegend durch Kupferionen katalysiert, wohingegen die Radikalgenerierung der Kettenreaktion (Fenton- / Haber-Weiss-Schritt) überwiegend durch Eisenionen katalysiert wird. Ein mögliches Coreduktion der Kupferionen stellt Gallussäure (Trihydroxyphenol) dar. Mögliche Coreduktone der Eisenionen sind Fumarat (Endiol) und Cystein.

Die Bedeutung des stabilen Zwischenproduktes  $H_2O_2$  für die Ausbildung der Lagtime und als Precursor des Hydroxylradikals, sowie den Einfluss von Sulfite auf die Sauerstoffaktivierung konnten bereits UCHIDA und ONO in vergleichbaren Experimenten aufklären (Uchida and Ono 1996).

Die aktuellen Ergebnisse passen auch zu Daten von IRWIN et al. die bereits zeigen konnten, dass Kupfer in Modelllösungen vor allem in Kombination mit Polyphenolen, darunter auch Gallussäure, ein starkes Oxidationssystem bildet (Irwin et al. 1991). Eisen zeigte seine höchste Aktivität in Verbindung mit



Ascorbinsäure (Endiolstruktur). Die Bedeutung der aktuellen Untersuchungen liegt darin, dass die Reaktionen nun im Bier (*im Lebensmittel*) untersucht wurden. IRWIN et al. konnten in den Modelllösungen auch die Kinetik der Reaktion nicht beschreiben, da sie nur die Konzentrationsabnahme eines Eduktes zu einem festgelegten Zeitpunkt bestimmten. Ein Vorteil ihrer Herangehensweise lag darin, dass die Versuche und Messungen bei Raumtemperatur stattfanden, womit die Relevanz der Ergebnisse auch für niedrige Lagertemperaturen bei der Alterung des Bieres aufgezeigt wurde.

Offen bleibt, ob die endogenen Metallionen des Bieres chelatiert vorliegen, und welche Stoffe als Chelatoren in Frage kommen. Catechin als Polyphenol mit der Fähigkeit zur Chelatbildung zeigte in Versuch 29 keine nennenswerte Veränderung der Aktivität des Eisens. Die widersprüchlichen Ergebnisse der Kombination mit Kupfer in Versuch 30 lassen diesbezüglich allerdings Spielraum für Spekulationen. Entweder greift Catechin in Kombination mit Kupferionen mittels zweier unabhängiger Mechanismen in die Sauerstoffaktivierung ein, oder Catechin verändert durch Chelatierung das Redoxpotential des Kupfers, so dass es nun den Fentonschritt anstatt des Beginns der Sauerstoffaktivierung katalysiert. Auch Gallussäure kann Metallionen komplexieren, so dass bezüglich ihrer prooxidativen Wirkung auch über eine Veränderung der Aktivität der Metallionen spekuliert werden kann. Die Tatsache, dass bereits der alleinige Zusatz von EDTA oder Desferrol zum Bier (V16—V19) die Reaktionskinetik verändert, deutet allerdings darauf hin, dass Metallionen des Bieres noch chelatiert werden können, d.h. zumindest teilweise in freier Form vorliegen.

Untergärige Biere verhalten sich im oxidativen Forciertest am ESR allgemein chemisch stabiler als obergärige. Die Radikalgenerierung der Pilsener ist gegenüber dem Münchener Hell der selben Brauerei oft leicht erhöht. Dunkle Biere weisen gegenüber den hellen Bieren der selben Brauerei eine stark erhöhte Radikalgenerierung auf.

Als Fazit der Untersuchung der Wirkung von Einzelsubstanzen im Bier kann festgestellt werden, daß redoxaktive Stoffe gleichzeitig in verschiedene Schritte der Sauerstoffaktivierung und Oxidationsreaktionen eingreifen können, so dass gleichzeitig pro- und antioxidative Wirkungen auftreten.

Von allen getesteten Einzelsubstanzen hat Sulfite mit Abstand die stärkste antioxidative Aktivität in Bier. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Angaben früherer Untersuchungen (Andersen et al. 2000; Nakamura et al. 2001). Polyphenole zeigen im Bier nur geringe Aktivitäten, wobei sowohl pro- als auch antioxidative Wirkungen möglich sind. Gallussäure als Vertreter der Trihydroxyphenole wirkt durch eine Verminderung der Lagtime deutlich prooxidativ. Reduktone mit Endiolstruktur wirken sich stark prooxidativ aus. Maillardprodukte und Sulfite sind bezüglich der chemischen Stabilität von Bier Gegenspieler. Cystein wirkt ebenfalls prooxidativ. Für Glutathion (Franz 2004) wird in der Literatur eine antioxidative Wirkung und für Methionin (Andersen et al. 2000) ein neutrales Verhalten angegeben, so dass vermutet werden kann, dass sich die Thiole ähnlich ambivalent verhalten wie die Polyphenole. Bei Proteinen wird nach Literaturangaben überwiegend von einer antioxidativen Wirkung ausgegangen (vgl. 2.5.5). Synergistische Effekte konnten nicht nachgewiesen werden, bleiben wegen der geringen Anzahl an getesteten Substanzen und Kombinationen aber nicht ausgeschlossen.

Die Oxidation von Bier läuft nach den vorliegenden Ergebnissen überwiegend nach einer eisenkatalysierten Radikalkettenreaktion ab. Die Reduktionsäquivalente hierfür stammen überwiegend von Reduktionen mit Endiolstruktur sowie von Cystein. Kupfer kann zwar noch stärkere Oxidationssysteme bilden, scheint aber, möglicherweise aufgrund niedriger Gehalte im untersuchten Bier, keine dominante Rolle zu spielen. Die Aktivierung des Sauerstoffs bis zum Wasserstoffperoxid scheint allerdings auf Kupfer in Verbindung mit geeigneten Polyphenolen zu beruhen. Die pro- oder antioxidative Wirkung von Inhaltsstoffen stellt sich zudem konzentrationsabhängig dar, wie am Beispiel von Ascorbinsäure gezeigt werden konnte. Auch die Alterungsbedingungen, wie Temperatur und Sauerstoffbelastung können z.B. das Verhalten von Polyphenolen verändern, wie THUM bereits für Catechin, Gallussäure und Kaffeesäure anhand der Carbonylbildung nachweisen konnte (Thum 1997). Bezüglich der Geschmacksstabilität des Bieres ist die „Netto“-Wirkung von Metallionen und Polyphenolen anhand dieser Ergebnisse schwer abzuschätzen. Eine grundsätzliche Verminderung der Gehalte redoxaktiver Stoffe im fertigen Bier kann ein richtiger Weg sein. Das steht im Einklang mit einer Reduzierung der Polyphenolgehalte durch eine Stabilisierung und der Vermeidung des Eintrags von

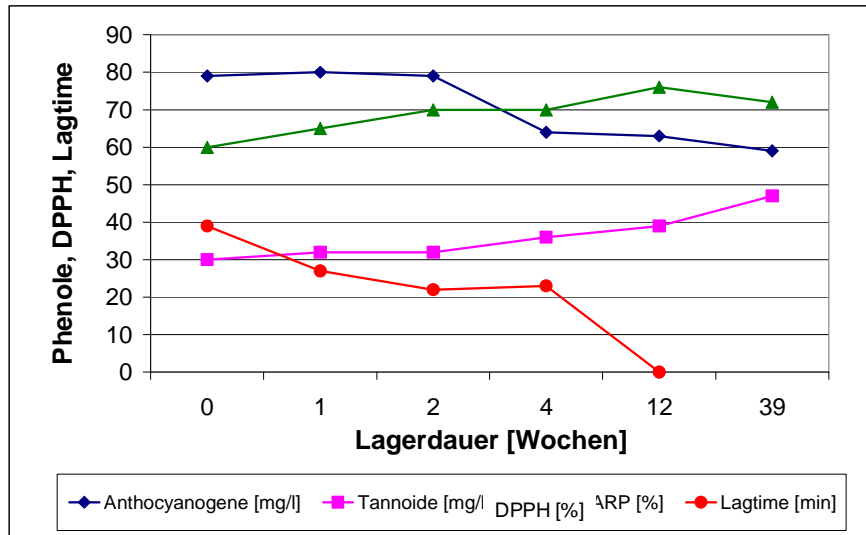
Metallionen. Thermische Belastungen sind wegen der eindeutig negativen Wirkungsweise von Maillardprodukten zu minimieren und die Schwefeldioxidbildung sollte moderat gefördert werden.

### **4.4 Beeinflussung der antioxidativen Aktivität des Bieres durch Sauerstoffbelastungen**

Als wesentliches Edukt sämtlicher im Bier ablaufenden Oxidationsreaktionen gilt der molekulare Sauerstoff. Er gelangt in der Regel durch unvermeidbare Einträge bei der Abfüllung sowie durch Diffusion durch die Kompoundmasse des Kronkorkens in das Bier. Im Folgenden wird untersucht, wie sich Sauerstoffbelastungen auf die antioxidative Aktivität des Bieres auswirken und wie sich das analytisch äußert.

#### **4.4.1 Verhalten der Polyphenole**

In einem Vorversuch wurde die Alterung eines sauerstoffbelasteten (fehlerhafte HDI-Einstellung) Bieres (Brauerei C) analytisch verfolgt (Abbildung 33). Mit dem Absinken der Lagtime auf 20 min, was mit dem Zeitpunkt der restlosen Aufzehrung des SO<sub>2</sub>-Gehaltes gleichgesetzt werden kann, begannen Veränderungen der phenolischen Fraktionen. Der Gehalt der Anthocyanogene verminderte sich zugunsten der Tannoide. Das Reduktionsvermögen (DPPH) steigt über den Verlauf der Alterung leicht an.



**Abbildung 33: Ausgewählte Analysenmerkmale im Verlauf der Alterung eines sauerstoffbelasteten Bieres.**

Anhand der vorliegenden Daten stellt sich die Frage, welche Bedeutung der Veränderung der Polyphenole nach der Aufzehrung des  $\text{SO}_2$  zukommt. Wird hier eine ‚zweite Ebene‘ des Oxidationsschutzes dokumentiert, d.h. werden die Polyphenole aufgrund ihrer Wirksamkeit nach dem Verlust des  $\text{SO}_2$  ebenfalls durch Oxidation verbraucht? Oder zeigen die beginnenden Veränderungen der phenolischen Fraktionen bereits die oxidative Schadenssetzung an? Zur Klärung dieser Frage wurde die Wirkung von Polyphenolen im Verlauf der Alterung im folgenden Versuch genauer untersucht.

#### 4.4.1.1 Veränderung der Polyphenole unter Sauerstoffbelastung

Um die Wirkung von Polyphenolen unter Sauerstoffbelastung zu untersuchen, wurden einem Bier niedermolekulare Polyphenole zugesetzt. Es wurde wieder das Münchener Hell der Brauerei A verwendet, das sich durch niedrige  $\text{SO}_2$ -Gehalte eine geringe Stabilität auszeichnet. Aufgrund einer starken Stabilisierung enthielt es keine Tannine mehr. Bei HPLC-MS-Untersuchungen waren nur die Proanthocyanidin-Dimere „GC“ (Prodelphinidin B3) und „CC“ (Procyanidin B3) quantitativ erfassbar. Sie waren in sehr geringen Gehalten von 1,2 mg/l (ProD B3) bzw. 1,7 mg/l (ProC B3) enthalten. Im Bier wurde ein vernachlässigbarer  $\text{SO}_2$ -Gehalt von 0,6 mg/l gemessen. Um eine unbeabsichtigte, undefinierte

Sauerstoffbelastung zu vermeiden, erfolgte die Zugabe der Reinsubstanzen vor der Abfüllung auf Flaschen in einem 25 l-KEG. Nach der Zugabe wurde der Kopfraum mit CO<sub>2</sub> gespült. Ein Teil des Bieres wurde daraufhin ohne Vorevakuierung und ohne Vorspannen mit CO<sub>2</sub> abgefüllt, so dass von einer mäßigen Belastung mit O<sub>2</sub> ausgegangen werden konnte.

In Tabelle 11 sind die zugegebenen Mengen phenolischer Substanzen abgebildet.

**Tabelle 11: Gehalte der ausgewählten phenolischen Substanzen im Versuchsbier und zugegebene Mengen.**

Substanz	Natürlicher Gehalt im Bier [mg/l]	Zugabe [mg/l]
Catechin	2,6	7,9
Epicatechin	0,8	3,1
p-Cumarsäure	1,4	3,3
Ferulasäure	2,5	7,1
Sinapinsäure	0,5	3,0

Die Biere wurden während einer natürlichen Alterung (20 °C) über 19 Wochen analytisch untersucht, sowie zusätzlich nach einer forcierten Alterung. Die Ergebnisse der nasschemischen Polyphenolbestimmung, die Verkostungsergebnisse und der Bestimmung der chemischen Stabilität sind im Anhang in Tabelle A\_ 16 zusammengefasst. Die Sauerstoffbelastung führte im forciert gealterten Bier und nach einer siebenwöchigen natürlichen Lagerung zu deutlichen Abstrichen bei der sensorischen Bewertung. Die zugegebenen monomeren Polyphenole wurden in der Fraktion der Gesamtpolyphenole (MEBAK) wiedergefunden. Durch die Zugabe wurde das Reduktionsvermögen (DPPH) erhöht. Andere Analysenmerkmale wurden nicht beeinflusst. Über den gesamten Zeitraum betrachtet nahm der Anthocyanogehalt bei allen Bieren kontinuierlich ab. Die Tannoide blieben unter der Nachweisgrenze. Der Gehalt an Gesamtpolyphenolen stieg bei allen Bieren während der ersten 4 Wochen an und blieb dann im weiteren Verlauf der Alterung auf konstantem Niveau. Das Reduktionsvermögen (DPPH) stieg über den gesamten Alterungsverlauf leicht an. Die Lagtime sank bei allen Bieren innerhalb der ersten 4 Wochen von etwa 30 auf etwa 10 min und die Radikalgenerierung F(LT/60) schwankte bei allen Bieren um ein konstantes Niveau zwischen 8 und 9, wobei sich unter den vier Bieren keine

Unterschiede zeigten (nicht dargestellt). Die Verläufe der Gehalte von Epicatechin und Cumarsäure sind im Anhang in Abbildung A\_ 7 und Abbildung A\_ 8 dargestellt.

Deutlich ist zu erkennen, dass der Abbau von Epicatechin im sauerstoffbelasteten Bier (rote und grüne Linie, im Vergleich zur blauen und gelben Linie) beschleunigt ablief. Das ebenfalls zur Gruppe der Flavanole gehörende Catechin verhielt sich ähnlich. Eine mit dem Abbau der monomeren Flavanole einhergehende Bildung von oligomeren Proanthocyanidinen konnte nicht festgestellt werden, möglicherweise blieben die gebildeten kondensierten Polyphenole unter der Nachweisgrenze. Die forcierte Alterung wirkte sich auf die monomeren Flavanole nicht aus, was darauf hindeutet, dass ihr Abbau von zeitabhängigen Reaktionsmechanismen abhängt.

Wie das Beispiel von p-Cumarsäure verdeutlicht, sind die Hydroxycimtsäuren über den Zeitraum der Lagerung wesentlich stabiler als die Flavanole.

#### 4.4.1.2 Beeinflussung der Stabilität des Bieres durch Polyphenole

Die Zugabe phenolischer Substanzen wirkte sich nur im Forciertest positiv auf die sensorische Bewertung der Biere aus. Überraschenderweise konnten die vier Biere im forcierten Zustand anhand der Alterungsindikatoren nicht unterschieden werden. Nach 7 Wochen natürlicher Alterung unterschieden sich die vier Biere weder anhand der Sensorik noch anhand der Alterungskomponenten. Nach 19 Wochen zeigten die natürlich gealterten Proben anhand der Alterungsindikatoren schließlich eine deutliche positive Wirkung der Polyphenole. Sie waren zu diesem Zeitpunkt sensorisch allerdings schon sehr stark gealtert (Sherry). Bei den sauerstofffrei abgefüllten Bieren wurde dasjenige mit den zugegebenen Polyphenolen sensorisch etwas besser bewertet. Das Bier mit Polyphenolzugabe und Sauerstoffbelastung wurde mit Abstand am schlechtesten bewertet.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Wirkung der Polyphenole auf die Sensorik nicht nur von der Lagerungstemperatur, sondern auch von der Sauerstoffbelastung abhängt. Ein positiver Effekt kann bei kurzen Lagerzeiten, niedrigen Sauerstoffbelastungen und gegenüber erhöhten Temperaturen festgestellt werden. Die Unterschiede waren vermutlich nicht auf eine antioxidative Wirkung zurückzuführen, da sich keine Unterschiede in der Radikalgenerierung und in den

Alterungsindikatoren zeigten. Vielmehr wirkten sich die Polyphenole direkt auf den Geschmack aus. Dementsprechend unterschieden sich die forcierten Biere nur in der Akzeptanz und nicht in der Alterungsnote. Bei den Bieren mit niedriger Akzeptanz gaben viele Verkoster eine unangenehme Bittere an. Nach 19 Wochen natürlicher Alterung kann dagegen anhand der Alterungsindikatoren eine antioxidative Wirkung belegt werden, sie wirkt sich jedoch sensorisch nicht mehr aus. In Übereinstimmung hierzu stellte THUM analytisch eine schwache Verminderung der Carbonylbildung durch bestimmte Polyphenole im Falle hoher Sauerstoffbelastungen fest (Thum 1997).

### 4.4.1.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen, dass Sauerstoff den Verlauf der Alterung sowohl analytisch als auch sensorisch deutlich beeinflusst. Molekularer Sauerstoff ist somit ein wichtiges Edukt der ablaufenden Reaktionen und in Übereinstimmung mit dem überwiegenden Teil der Literaturangaben der Auslöser der Ausbildung des Alterungsaromas.

Mit der Aufzehrung des  $\text{SO}_2$ -Gehaltes beginnen bei der Alterung des Bieres unter Sauerstoffbelastung auch Veränderungen der Polyphenole. Die Polyphenole sind somit an den Oxidationsreaktionen des Alterungsprozess beteiligt. Unter Sauerstoffbelastung findet eine Abnahme der Flavanole bzw. Anthocyanogene statt. Durch Polymerisationsreaktionen entstehen dabei möglicherweise stark reduzierende Tannoide. Hydroxyzimtsäuren sind stabiler und werden nicht so leicht abgebaut.

Im Bier konnte eine leichte antioxidative Wirkung der Polyphenole festgestellt werden, die im Forciertest zu einer besseren sensorischen Bewertung führte und sich bei hoher Lagerzeit chemisch in den Alterungsindikatoren bemerkbar machte. Polyphenole können dabei die Bewertung der gealterten Biere verbessern, aber die Alterung nicht hinauszögern oder verhindern. Die Wirkung der Polyphenole auf die chemische und sensorische Stabilität hängt zudem von den Lagerbedingungen ab. Bei geringen Sauerstoffbelastungen bieten Polyphenole einen antioxidativen Schutz und verbessern die Stabilität. Im Fall hoher Sauerstoffbelastungen ist dieser Schutz nicht mehr gegeben und oxidierte Polyphenole wirken sich sensorisch negativ aus.

#### 4.4.2 Beeinflussung der ESR-Analytik von Bier

##### 4.4.2.1 Veränderung von Lagtime und Radikalgenerierung nach starker Sauerstoffbelastung

Der Einfluss einer starken Sauerstoffbelastung auf die Analytik der Lagtime und Radikalgenerierung wurde in einem Vorversuch untersucht. Hierzu wurden zwei Biere ausgewählt. Als wenig stabiles Bier mit niedrigem  $\text{SO}_2$ -Gehalt wurde wieder das Münchner Hell der Brauerei A gewählt, wobei es sich um eine besonders schlechte Charge, die bereits in frischem Zustand keine Lagtime mehr ausbildete, handelte. Zusätzlich wurde ein weiteres Münchener Hell mit bekanntermaßen hoher Geschmacksstabilität untersucht (Brauerei B). Flaschen beider Biere wurden über mehrere Tage bei Raumtemperatur in geöffnetem Zustand gelagert. Abbildung 34 und Abbildung 35 stellen die Veränderung der chemischen Stabilität der beiden Biere im Verlauf einiger Tage unter Sauerstoffbelastung dar.

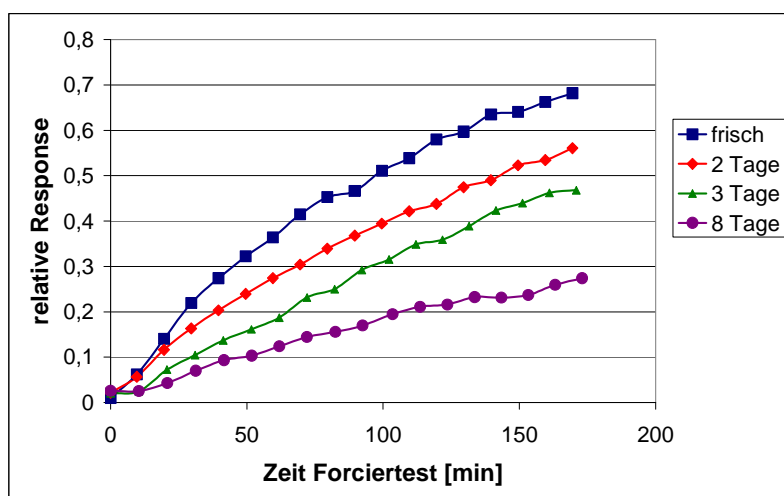


Abbildung 34: Radikalgenerierung in Bier A bei Alterung unter hoher Sauerstoffbelastung.



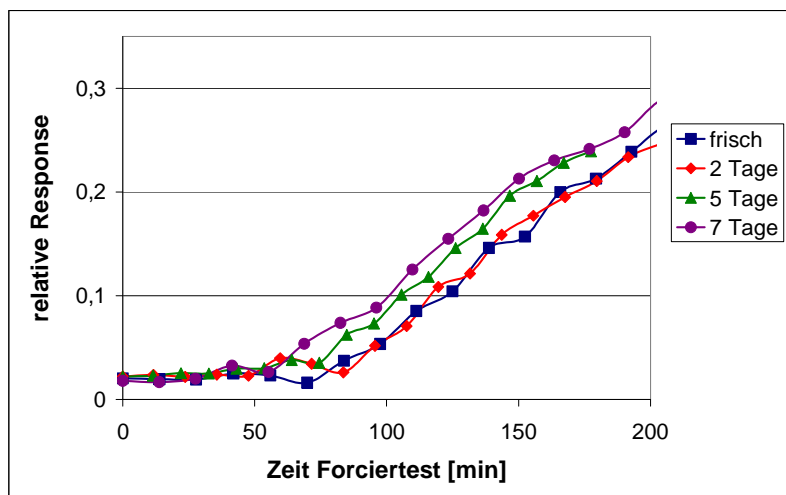


Abbildung 35: Radikalgenerierung in Bier B bei Alterung unter hoher Sauerstoffbelastung.

Man erkennt, dass im wenig stabilen Bier (Bier A; kaum  $\text{SO}_2$ , keine Lagtime), die Radikalgenerierung zügig abnahm, was mit einem Abreagieren von Inhaltsstoffen bereits vor dem oxidativen Forciertest der Analyse erklärt werden kann. Im Verlauf der Alterung stellt eine Abnahme der Radikalgenerierung anscheinend ein Maß für bereits abgelaufene chemische Veränderungen dar. Die Verläufe von Bier B offenbarten die Schutzwirkung des vorhandenen  $\text{SO}_2$ . Während die Lagtime kontinuierlich abnahm, was mit der Zehrung des  $\text{SO}_2$  und anderer Antioxidantien erklärt werden kann, blieb die Radikalgenerierung konstant, d.h. relevante Inhaltsstoffe wurden vor der Messung noch nicht in nennenswertem Umfang oxidiert.

#### 4.4.2.2 Veränderung von Lagtime und Radikalgenerierung bei einer natürlichen Alterung

Im Folgenden wurde dieses Ergebnis unter praxisnäheren Alterungsbedingungen überprüft. Hierfür wurde die Veränderung der Radikalgenerierung im Verlauf der Alterung in geschlossenen Flaschen untersucht. Als wenig stabiles Bier wurde wieder das Münchner Hell der Brauerei A (Hell A) herangezogen, dessen aktuelle Charge dieses Mal eine niedrige Lagtime aufwies. Sensorisch stabile Biere wurden von einer anderen Brauerei (Hell D und Pils D) zur Verfügung gestellt. Die Sauerstoffbeaufschlagung erfolgte durch Einblasen von Luft in den Kopfraum der Flaschen.

Die Veränderungen von Lagtime und Radikalgenerierung sind in Abbildung 36 und Abbildung 37 dargestellt.

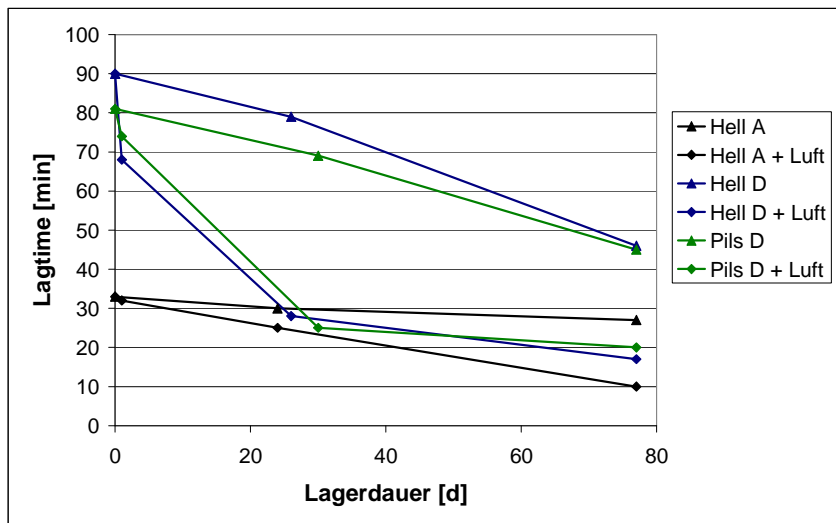


Abbildung 36: Die Veränderung der Lagtime im Verlauf der Alterung.

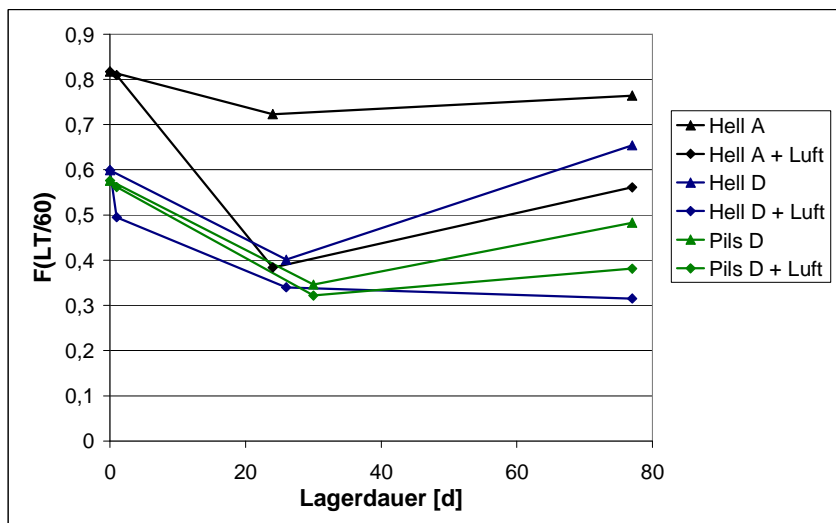


Abbildung 37: Die Veränderung der Radikalgenerierung im Verlauf der Alterung.

Die Lagtime nahm in allen Bieren kontinuierlich ab. In sauerstoffbelasteten Bieren verlief dieser Prozess beschleunigt. Nach Erreichen der kritischen Schwelle von 30 min verlangsamte sich die Abnahme der Lagtime. (Erfahrungsgemäß werden 20 bis 30 min der Lagtime durch andere Eigenschaften als den SO<sub>2</sub>-Gehalt verursacht.)

Die Radikalgenerierung nahm über die ersten Wochen in sämtlichen Bieren ab, wobei der Prozess in den sauerstoffbelasteten Proben wiederum beschleunigt ablief. Dass die Verminderung der Radikalgenerierung auch in den Bieren mit einer Lagtime deutlich über 30 min stattfand, bedeutet, dass sich die beiden Phasen der Alterung, wie sie sich im Vorversuch dargestellt haben, bei moderater Sauerstoffbelastung und langen Lagerzeiten nicht klar getrennt voneinander ausbilden. Mit längeren Lagerzeiten nahm die Radikalgenerierung in den meisten Bieren unerwarteter Weise wieder zu.

### 4.4.2.3 Entwicklung eines Schnelltests

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde ein Schnelltest zur Sauerstoffempfindlichkeit entwickelt: Dazu wird die Probe mit Luftsauerstoff versetzt (öffnen, Luft in den Kopfraum blasen, verschließen, schütteln) und über einen bestimmten Zeitraum (z.B. 10 Tage) bei Raumtemperatur oder über 24 h bei 40 °C gelagert. Jeweils in der frischen und in der mit Luft beaufschlagten Probe werden daraufhin Lagtime und Radikalgenerierung sowie vorzugsweise zusätzlich das Reduktionsvermögen mittels DPPH gemessen. Falls Oxidationsreaktionen stattgefunden haben, werden alle drei Werte vermindert sein („Abreagieren von Inhaltsstoffen“). Das Maß der Veränderung der Analysenmerkmale ist ein Maß für die Instabilität der Probe. Da diese Methode erst gegen Ende der Arbeit entwickelt wurde, konnte sie nicht mehr in größerem Umfang eingesetzt und getestet werden und wurde deshalb in den Untersuchungen der folgenden Kapitel noch nicht systematisch angewendet.

Eine Abwandlung dieses Tests bietet die Möglichkeit Sauerstoffeinträge im Produktionsprozess aufzuspüren, was allerdings eine sauerstofffreie Probennahme voraussetzt. Der Belüftungsschritt wird hierzu einfach weggelassen. Tritt dennoch eine Veränderung auf, deutet das darauf hin, dass die Probe bereits mit Sauerstoff belastet war (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Einfluss einer Wärmebehandlung (48 h) auf die Lagtime einer sauerstoffbelasteten Bierprobe.**

	Lagtime [min] frisch (2 Tage nach Probennahme)	Lagtime [min] nach Wärmebehandlung
Bier, sauerstoffbelastet	77	57
Bier, unbelastet (Vergleich)	82	79

#### 4.4.2.4 Diskussion und Zusammenfassung

Molekularer Sauerstoff ist der Auslöser der bei der Alterung ablaufenden chemischen Umsetzungen. Eine starke Sauerstoffbelastung führt im Forciertest zu einer zügigen Abnahme der Lagtime, zu einer raschen Verminderung der Radikalgenerierung und zu einer deutlichen Verminderung des Reduktionsvermögens. Relevante Inhaltsstoffe reagieren dabei (bereits vor dem Forciertest der ESR-Messung) ab. Durch den analytischen Vergleich frischer und gealterter Proben kann so der Alterungszustand mit den ESR-Methoden beschrieben werden. Durch die Veränderung einer Probe unter Sauerstoffbelastung bei definierten Lagerbedingungen kann die Sauerstoffempfindlichkeit bzw. Stabilität von Getränken bestimmt werden.

Aus diesen Ergebnissen ergibt sich die Möglichkeit eines neuen Analysenmerkmals zur Beschreibung der Stabilität. Anstelle der Lagtime und der Radikalgenerierung der frischen Biere könnte die Veränderung der Radikalgenerierung bei Beaufschlagung mit Luft als Indiz für die Stabilität eines Bieres gegenüber oxidativen Einflüssen herangezogen werden. Je geringer die Veränderung der Analysenmerkmale Lagtime, Radikalgenerierung (und Reduktionsvermögen), umso stabiler ist die Probe gegenüber oxidativen Einflüssen. Diese Methode eignet sich auch für AfG. Im Rahmen der folgenden Versuche konnte sie leider noch nicht systematisch eingesetzt werden, da die Methodenentwicklung zum Zeitpunkt der Durchführung der Versuche noch nicht abgeschlossen war.

Die untersuchten Biere ließen sich analytisch eindeutig bezüglich ihrer Geschmacksstabilität differenzieren: Die sensorisch stabilen Biere aus Brauerei D zeichneten sich durch höhere Lagtime und niedrigere Radikalgenerierung in den frischen Bieren sowie eine geringere Beeinflussung der Radikalgenerierung bei

Beaufschlagung mit Luft aus. Das wenig stabile Hell A zeigte dagegen eine starke Beeinflussung der Radikalgenerierung.

Die Alterung des Bieres lässt sich theoretisch in zwei Phasen unterteilen. In der ersten Phase wird  $\text{SO}_2$  durch den eindiffundierenden Sauerstoff aufgezehrt, wobei eine weitergehende Oxidation von Inhaltsstoffen verhindert wird. In der zweiten Phase der Alterung ist das  $\text{SO}_2$  unter eine kritische Schwelle abgesunken und die Oxidation von Inhaltsstoffen schreitet zügig voran. Bei einer natürlichen Alterung treten diese beiden Phasen nicht mehr streng getrennt voneinander auf. Aufgrund ihrer kontinuierlichen Abnahme erscheint in diesem Fall die Lagtime dazu geeignet, den Alterungsverlauf und -zustand abzubilden.

### **4.4.3 Beeinflussung der ESR-Analytik von Biermischgetränken und malzbasierten alkoholfreien Getränken**

#### **4.4.3.1 Sauerstoffempfindlichkeit der Mischgetränke**

Ein Münchener Radler sowie drei unterschiedliche alkoholfreie Getränke auf Malzbasis wurden mit Luft beaufschlagt und zwei Tage bei Raumtemperatur gelagert. Zum Vergleich wurde ein Münchner Hell der Brauerei A herangezogen. Von den frischen und gealterten Proben wurden jeweils das Reduktionsvermögen, die Lagtime und die Radikalgenerierung bestimmt. Das Reduktionsvermögen der Proben ist in Tabelle 13 dargestellt. Die Sauerstoffempfindlichkeit der untersuchten Getränke (Veränderung der Radikalgenerierung nach der Beaufschlagung mit Luft) ist in Abbildung 38 bis Abbildung 41 dargestellt, wobei die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen zu beachten ist. Über die Zubereitung der alkoholfreien Getränke ist nichts bekannt, es kann aber vermutet werden, dass der Malzanteil in der Limonade relativ gering und im Malzgetränk relativ hoch war.

Tabelle 13: Veränderung des Reduktionsvermögens der Proben unter Lufteinfluss bei Raumtemperatur.

Probenbezeichnung:	Restextrakt scheinb. [%mas]	frisch		nach Lagerung unter Luft	
		Redv. (DPPH) [%]	Redv. (DPI) [%]	Redv. (DPPH) [%]	Redv. (DPI) [%]
Bier (Hell, ug.)	2,0	65	36	57	28
Malzlimonade	6,9	89	100	82	100
Malzgetränk	5,1	32	44	32	35
Biergemischgetränk (Radler)	n.b.	77	99	45	97

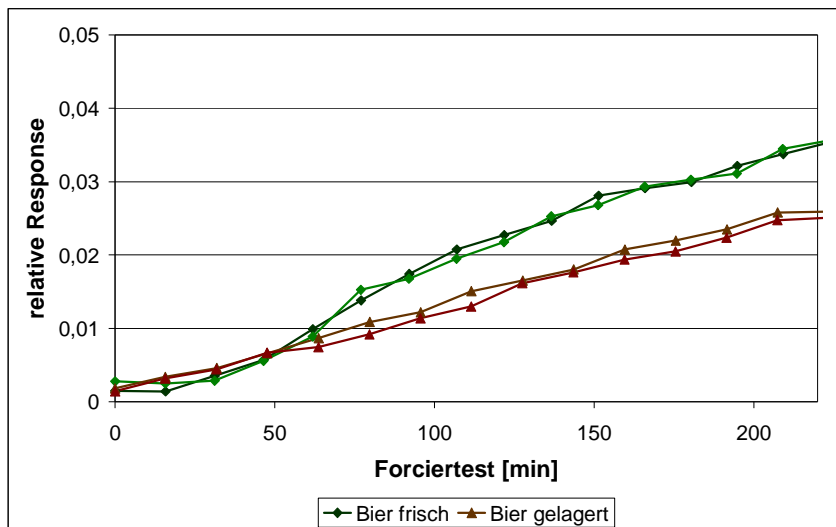


Abbildung 38: Die Sauerstoffempfindlichkeit von Bier.

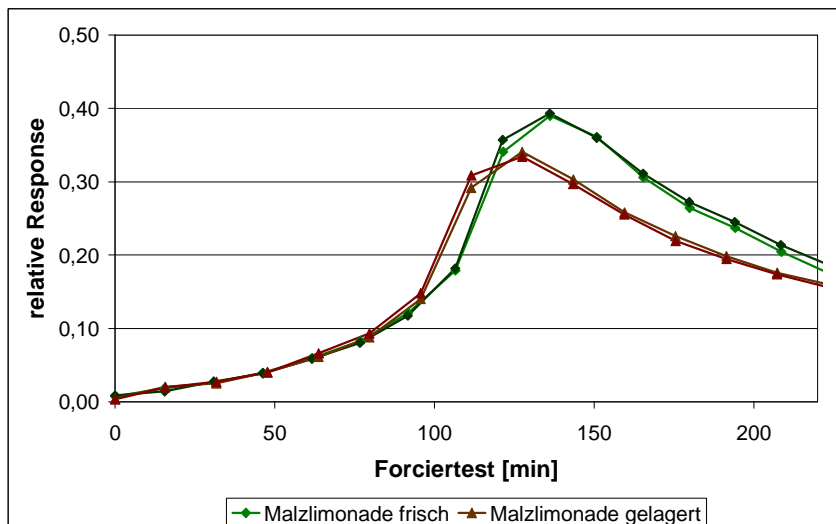


Abbildung 39: Die Sauerstoffempfindlichkeit einer Malzlimonade.

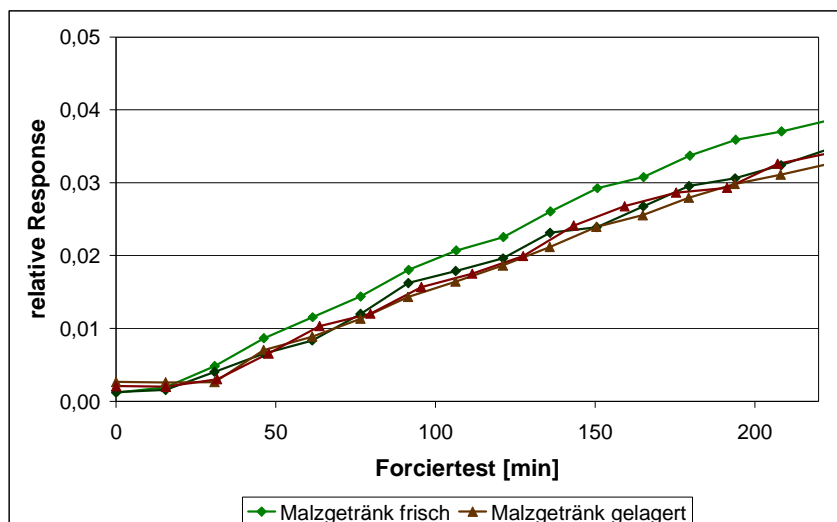


Abbildung 40: Die Sauerstoffempfindlichkeit eines Malzgetränkes.

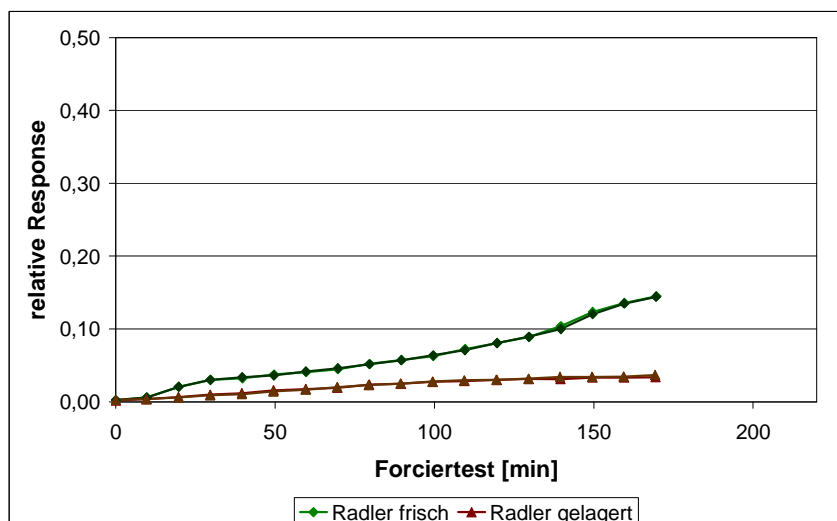


Abbildung 41: Die Sauerstoffempfindlichkeit eines Biermischgetränkes (Radler).

Die Radikalgenerierung von Bier und Malzgetränk lag in der selben Größenordnung, möglicherweise aufgrund der vergleichbaren malzbasierten Getränkematrix. Die Radikalgenerierung der Limonade lag um den Faktor 10 höher. Sie zeigte zudem ein charakteristisches Maximum der Reaktionskinetik im Bereich von 140 min, das auf die enthaltene Ascorbinsäure zurückzuführen war. Die Charakteristik des Verlaufes des Radler konnte durch die Addition der Läufe von Bier und Limonade erklärt werden (es wurde allerdings nicht dieselbe Limonade zur Ausmischung verwendet).

Das Malzgetränk erschien mit Abstand am stabilsten, das Reduktionsvermögen (DPPH) sowie die Radikalgenerierung waren nach dem Sauerstofftest

unverändert, obwohl sich keine nennenswerte Lagtime ausbildete. Nur das Reduktionsvermögen (DPI) wurde leicht vermindert. Bei Bier, Malzlimonade und Radler veränderte sich die Radikalgenerierung deutlich, womit die Getränke gegenüber Sauerstoff als chemisch instabil zu bewerten waren. Der Ascorbinsäurepeak der Malzlimonade verlagerte sich in Richtung kürzerer Zeiten, während sich die Werte des Reduktionsvermögens (DPPH) bereits leicht veränderten. Auch die erhöhte Response (im Vergleich zum Bier und zum Malzgetränk) vor dem Ascorbinsäurepeak deutete auf den bereits beginnenden Übergang in den prooxidativen Konzentrationsbereich hin. Mit einer weiteren Aufzehrung der Ascorbinsäure war mit einer weiteren Verlagerung des Peaks nach vorne und mit einem vollen Durchbrechen der Oxidation zu rechnen.

Die Ascorbinsäurekonzentration des Radler lag im prooxidativen Bereich und die Inhaltsstoffe wurden bereits angegriffen, wie aus den Veränderungen der Radikalgenerierung und des Reduktionsvermögens (DPPH) geschlossen werden kann. Ein Rest des Ascorbinsäurepeaks war bei 20 bis 30 min zu erkennen. In diesem Bereich war die prooxidative Wirkung proportional zur Ascorbinsäurekonzentration und der äußerst geringe Gehalt im Radler verhinderte vermutlich stärkere Reaktionen.

Die hohen Werte des Reduktionsvermögens (DPI) bei Limonade und Radler haben keine Aussagekraft. Die Analyse wurde durch die Ascorbinsäure dominiert und die wahren Werte lagen außerhalb des Messbereichs.

Die verfügbare quantitative HPLC-Methode zur Bestimmung der Ascorbinsäurekonzentration erwies sich in einem Test als sehr unsicher, weshalb deren Werte hier nicht berücksichtigt werden.

#### 4.4.3.2 Wirkung von Ascorbinsäure unter Sauerstoffbelastung

Um die beobachteten Ergebnisse zu überprüfen, wurde im Folgenden Ascorbinsäure zu frischen Proben von Limonade und Malzgetränk zugesetzt (Abbildung 42 und Abbildung 43).



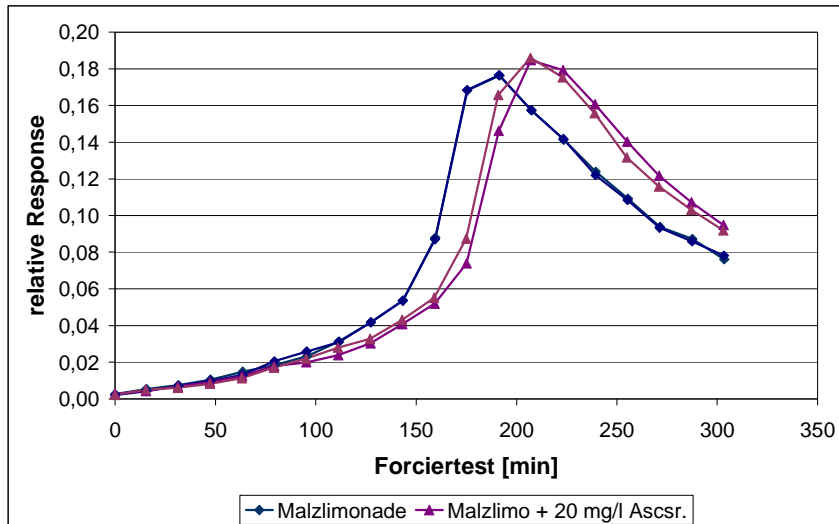


Abbildung 42: Radikalgenerierung in Limonade unter Zusatz von Ascorbinsäure.

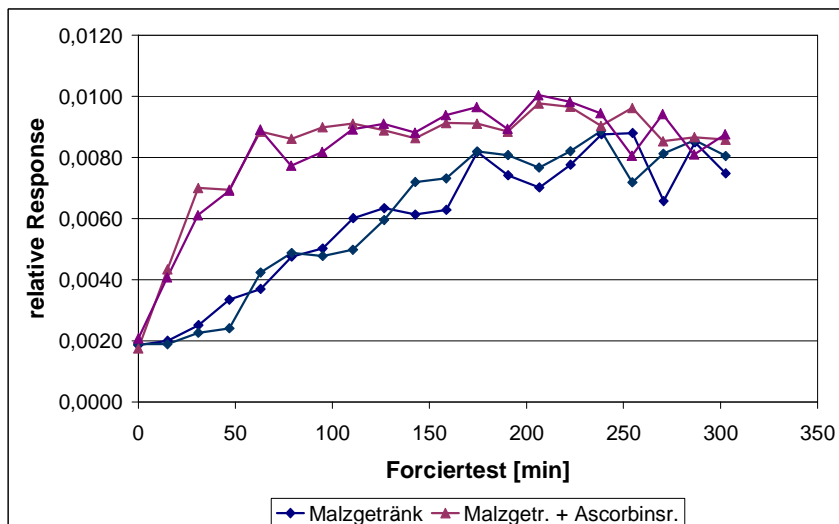


Abbildung 43: Radikalgenerierung in einem Malzgetränk unter Zusatz von Ascorbinsäure.

Der Zusatz von 20 mg/l Ascorbinsäure führte in beiden Proben zu einer Erhöhung der Radikalgenerierung und bestätigte damit die obigen Schlussfolgerungen. Im Malzgetränk ist der Effekt eindeutig als prooxidativ zu bewerten. In der Limonade nahm der Peak der Ascorbinsäure zu und trat gleichzeitig erst zu einem späteren Zeitpunkt auf. Die Response vor dem Peak (~Basislinie) nahm gleichzeitig ab.

### 4.4.3.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die untersuchten Getränke lassen sich anhand des unter 4.4.2.3 vorgestellten Schnelltests der Sauerstoffempfindlichkeit sehr gut bezüglich ihrer chemischen Stabilität differenzieren. Die konzentrationsabhängige, überwiegend prooxidative Wirkung der Ascorbinsäure bestätigt sich auch in alkoholfreien Getränken.

Die ambivalente Wirkung der Ascorbinsäure wird durch zwei unabhängige Wirkmechanismen bedingt. Einerseits kann Ascorbinsäure die Sauerstoffaktivierung, vermutlich durch die Löschung von elementarem Sauerstoff, Superoxid und Wasserstoffperoxid, unterdrücken und so die Ausbildung einer Lagtime verursachen. Andererseits treibt Ascorbinsäure die Bildung des Hydroxylradikals aus Wasserstoffperoxid an. Beide Eigenschaften sind konzentrationsabhängig.

Für die Wirkung der Ascorbinsäure konnte dementsprechend das folgende Modell aufgestellt werden: Im Falle sehr hoher Konzentrationen verschiebt sich der Oxidationspeak der Ascorbinsäure sehr weit nach rechts zu hohen Zeiten („in die Zukunft“, im Bier in Abbildung 32; Kapitel 4.3.2, durch einen Zusatz von 500 mg/l erreicht); die Radikalbildung zu Beginn des Forciertests wird damit im frischen Getränk unterdrückt. Das Getränk ist somit geschützt, wenngleich es chemisch nicht absolut stabil ist: Ascorbinsäure wird ständig aufgezehrt, und der Oxidationspeak verlagert sich zu niedrigeren Zeiten. Wenn die Ascorbinsäurekonzentration schließlich in einen kritischen Konzentrationsbereich abfällt, entfaltet die Ascorbinsäure ihre starke prooxidative Wirkung (Oxidationspeak sichtbar oder starker Anstieg der Radikalgenerierung zu Beginn des Forciertests). Als Ursache für dieses Verhalten können zwei verschiedene, jeweils konzentrationsabhängige Wirkmechanismen postuliert werden: Anscheinend kann Ascorbinsäure einerseits als Reduktor den Fentonschritt beschleunigen (Radikalgenerierung, Oxidationspeak) und andererseits die Induktionsphase verlängern (Ausbildung einer Lagtime). Denkbare Mechanismen sind die Löschung von molekularem Sauerstoff, Superoxid oder Wasserstoffperoxid sowie eine Inaktivierung der Kupferionen durch Komplexbildung.

Für die Getränketechnologie bedeuten diese Ergebnisse, dass eine Stabilisierung mittels Ascorbinsäure ungeeignet ist. Auch wenn eine Konzentration im

antioxidativen Bereich erreicht wird, wird sie durch die Zehrung im Verlauf der Lagerung doch unweigerlich in die prooxidative Größenordnung absinken. Falls dennoch eine Zugabe von Ascorbinsäure angewendet wird, sollte die Konzentration möglichst hoch angesetzt werden, um die prooxidative Wirkung so lange wie möglich hinauszuzögern.

Da Ascorbinsäure eine Endiolstruktur aufweist, gilt sie auch als Modellsubstanz für reduzierende Maillardprodukte und verrät somit einiges über das Verhalten der Melanoidine. Wahrscheinlich ist die pro- oder antioxidative Wirkung dieser Stoffe ebenfalls konzentrationsabhängig. Im Falle heller, untergäriger Biere liegt ihre Konzentration nach allen bisherigen Ergebnissen im prooxidativen Bereich. Es gibt nur einen Bericht über eine antioxidative Wirkung von Melanoidinen im Fall einer Zugabe einer Karamellzubereitung zu hellem Bier (Stasko et al. 2005).

Für die Brau- und Getränketechnologie bestätigt sich in den Ergebnissen dieses Kapitels die Bedeutung der Minimierung sämtlicher Sauerstoffeinträge. Unabhängig von der Stabilität eines Getränkes wird eingedrungener Sauerstoff früher oder später immer zu Oxidationsreaktionen führen. Die Vermeidung von Sauerstoffeinträgen ist neben dem Streben nach einer guten chemischen Stabilität und antioxidativen Aktivität eine der Hauptsäulen der Geschmacksstabilität. Ascorbinsäure stellt (im Bier oder in AfG) keinen zufriedenstellenden Schutz dar. Vielmehr sollte man sich im Fall ascorbinsäurehaltiger Getränke Gedanken machen, wie eine Zehrung der Ascorbinsäure, und damit ein Absinken ihrer Konzentration in den prooxidativen Bereich, verhindert werden kann.

### **4.5 Natürliche Alterungsprozesse im Bier**

Die Veränderung analytischer Merkmale und der sensorischen Bewertung heller untergäriger Biere wurde über den Verlauf natürlicher Alterungsprozesse der bekannten Brauereien A (wenig stabil) und B (sehr stabil) im Rahmen einer Studienarbeit untersucht (Teagle 2010).

Aufgrund negativer Erfahrungen in vorangegangenen Versuchen wurde die DLG-Bewertung durch eine neue Notenskala und die Alterungsverkostung nach EICHHORN durch eine Profilprüfung ersetzt. Bereits in früheren Arbeiten hatte sich bestätigt, dass das DLG-Schema und die Alterungsverkostung oft nicht

aussagekräftig sind (Schönberger et al. 2004). Das DLG-Schema ist für wissenschaftliche Arbeiten ungeeignet.

Die Verkostungen wurden blind durchgeführt, d.h. die Verkoster wurden nicht über die Identität der Proben und deren Alterungszustand informiert. Zwischendurch wurden gelegentlich frische, leicht gealterte oder forciert gealterte Biere zur Verkostung gegeben, um das Verkostungsteam zu überprüfen und eine Vorhersage der zu erwartenden Proben zu erschweren. Dieses Hilfsmittel erwies sich als äußerst hilfreich. Während es zu Beginn der Untersuchung oft vorkam, dass in Erwartung einer bestimmten Probe z.B. frische Biere als alt bewertet wurden, steigerte sich die Konzentration und Treffsicherheit der Verkoster nach den ersten entsprechenden Rückmeldungen schnell. Stark vom Mittel abweichende Daten einzelner Verkoster wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt. Ebenfalls nicht berücksichtigt wurden Verkostungsbögen, die widersprüchliche Angaben enthielten, z.B. deutliche Alterungsattribute bei gleichzeitig ‚frischer‘ Notenbewertung.

Technologische Verbesserungen in Brauerei A hatten inzwischen zu einer deutlichen Verbesserung der Situation bezüglich der Geschmacksstabilität geführt. Von Brauerei B wurde zusätzlich das Pils (deutliche Bittere, ausgeprägte Hopfenblume) sowie eine Charge des Münchener Hell mit luftbeaufschlagtem Kopfraum (Spülen des Flaschenhalses mit Luft, Verschließen, Schütteln, Kühlen) in die Untersuchung einbezogen, so dass die folgenden vier Proben zur Verfügung standen:

- Münchner Hell, Brauerei A,
- Münchner Hell, Brauerei B,
- Pils, Brauerei B,
- Münchner Hell, Brauerei B, sauerstoffbelastet.

Die Biere wurden geschützt vor direkter Sonneneinstrahlung bei Raumtemperatur gelagert. Die Analysenzeitpunkte und die zugehörigen Temperaturen im Lager sind in Tabelle A\_ 17 im Anhang zusammengefasst.

Exemplarisch wurde außerdem von jeder Brauerei eine Würze untersucht (siehe Anhang, Tabelle A\_ 18). Die Pilswürze hob sich dabei von den beiden Hellen durch eine höhere Stammwürze, höhere Gehalte an Streckeraldehyden und

## Ergebnisse

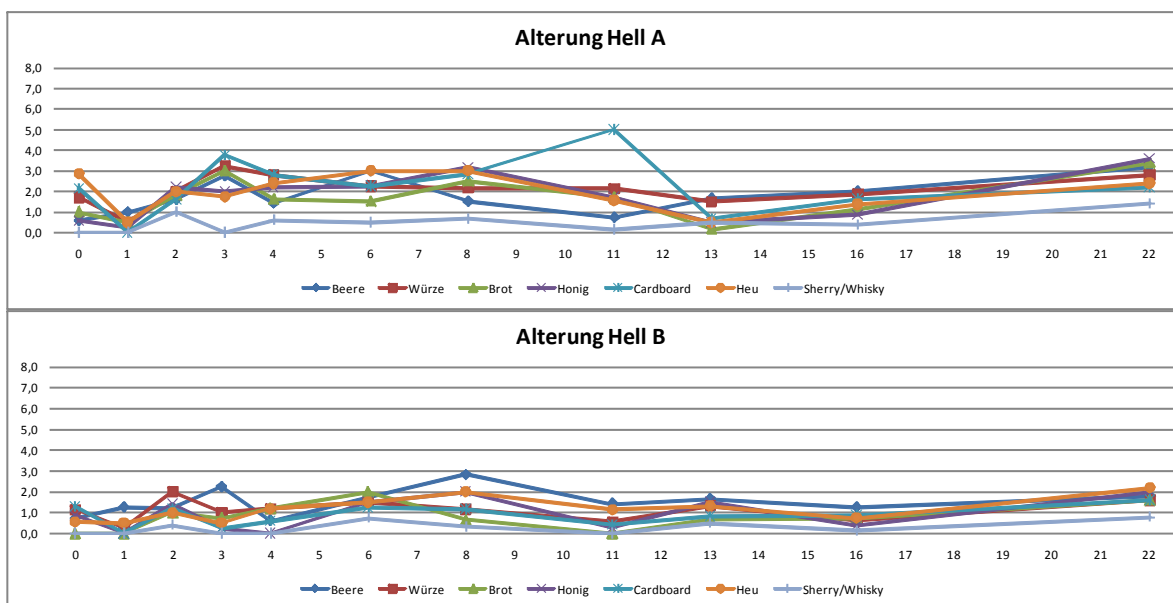
Furfural sowie durch höhere Gehalte an phenolischen Substanzen und natürlich Linalool ab. Sie wies das höchste Reduktionsvermögen (DPPH) und im Forciertest (ESR) die beste chemische Stabilität auf. Die helle Würze A fiel durch den höchsten Polymerisationsindex und die niedrigste chemische Stabilität auf.

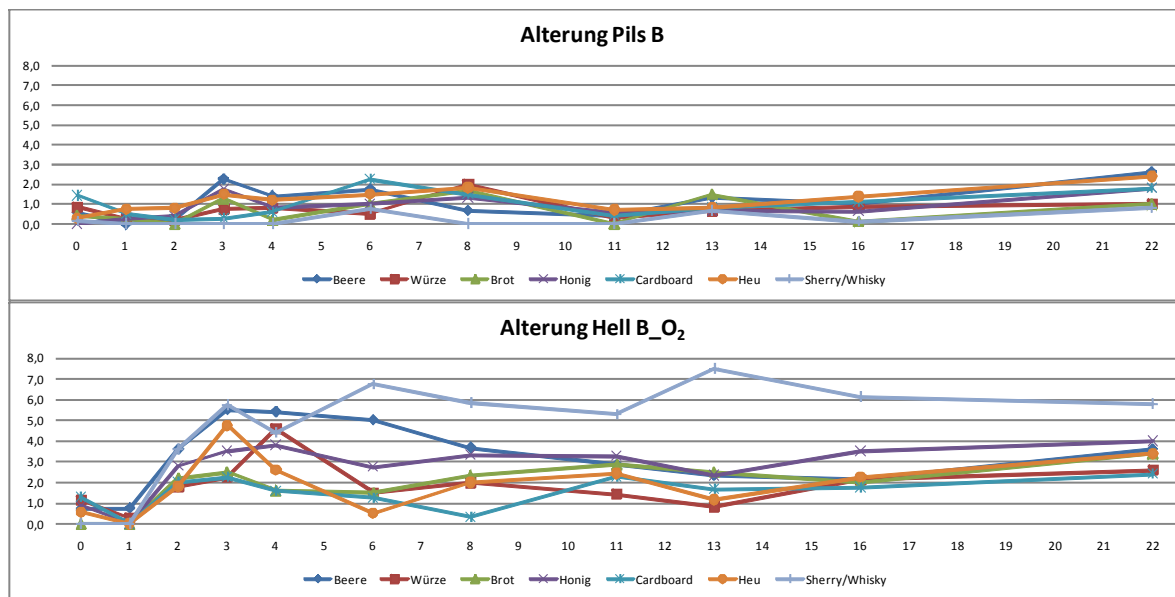
Die Analysenergebnisse der Biere sind im Anhang in Tabelle A\_ 19 bis Tabelle A\_ 25 zusammengefasst.

### 4.5.1 Veränderungen der Sensorik

#### 4.5.1.1 Bildung des Alterungsaromas

Abbildung 44 stellt die Entwicklung der Alterungsaromen der Biere dar (y-Achse: Punktebewertung nach Intensität; x-Achse: Lagerdauer in Wochen).





**Abbildung 44: Verläufe der Alterungsaromen in den untersuchten Bieren.**

In den unbehandelten Bieren der Brauerei B trat kein Aromaeindruck an mehreren Messpunkten in Folge mit einer Intensität größer als 2 auf. Im (wenig stabilen) Bier der Brauerei A wurden sämtliche abgefragten Aromaeindrücke mit Ausnahme des Sherryaromas festgestellt, allerdings in sehr niedriger Ausprägung. Würze-, heu- und honigartiger Eindruck erreichten an mehreren Messpunkten in Folge mehr als 2 Punkte. Ausgeprägt war das Cardboard-Aroma, das in der 11. Woche ein Maximum erreichte und bei den folgenden Verkostungen nicht mehr festgestellt wurde ( $\leq 2$  Punkte). Im sauerstoffbelasteten Bier traten in den ersten Wochen beeren-, würze- und heuartige Aromaeindrücke auf, die mit fortschreitender Lagerdauer wieder abnahmen. Der honigartige Eindruck trat ebenfalls zu Beginn der Lagerung auf, blieb aber auf annähernd konstantem Niveau. Dominantester Aromaeindruck war das Sherryaroma, das bis zur sechsten Woche anstieg und dann auf einem Intensitätsniveau von rund 6 Bewertungspunkten blieb.

Bei allen vier Bieren traten die stärksten Veränderungen innerhalb der ersten sechs Wochen auf. Ab der 13. Woche liefen die Intensitäten der Aromaeindrücke (Ausnahme: Sherry) auf niedrigem Niveau zusammen.

Die Ergebnisse decken sich insofern mit der Untersuchung von KOMAREK, als dass der honigartige Eindruck durch 2-Phenylacetaldehyd als das dominanteste Alterungsaroma angegeben wird und im Zusammenhang mit Sauerstoffbelastungen ansteigt (Komarek 2001). Eine starke Sauerstoffbelastung führte bei KOMAREK ebenfalls nicht zur Ausbildung eines Cardboardaromas. Die

Untersuchungen sind allerdings nicht direkt vergleichbar, da sich die Ergebnisse von KOMAREKS Arbeit auf nur eine Bierprobe stützen, die nach einer extremen Alterung (14 Tage unter O<sub>2</sub>-Belastung bei 45 °C bzw. 34-monatige Lagerung bei Raumtemperatur) analysiert wurde. In einer neueren Untersuchung von BUSHNELL et al. werden Cardboard, heuartig und weinartig als die Hauptaromen der Alterung angegeben (Bushnell et al. 2003). Auch diese Autorengruppe sieht eine Sauerstoffbelastung als die Hauptursache für die Ausprägung des Alterungsaromas.

Die forcierten Biere (siehe Anhang) bildeten in der vorliegenden Untersuchung ein anderes Aromaprofil als die natürlich gealterten Biere aus. Den selben Effekt stellte bereits LUSTIG in seiner Arbeit fest (Lustig 1994).

### 4.5.1.2 Verlust der biertypischen Aromaeindrücke

Die Veränderungen der positiv bewerteten, biertypischen Aromen sind im Anhang in Abbildung A\_ 9 dargestellt. In den beiden Hellen wurden die Aromaeindrücke blumig, fruchtig und biertypisch am höchsten bewertet, im Pils kam der zitrusartige Eindruck hinzu. Ein malziges Aroma, das von KOMAREK als der dominanteste Aromaeindruck des Bieres angegeben wird (Komarek 2001), konnte von den Verkostern nur im Hell B eindeutig festgestellt werden. Im Verlauf der Lagerung der unbehandelten Biere wurden keine nennenswerten Abbauprozesse von Aromaeindrücken dokumentiert, was aber auch an den allgemein niedrigen Punktebewertungen liegen könnte. Im sauerstoffbelasteten Bier nahmen sämtliche dargestellten Aromaeindrücke ab. Der biertypische Eindruck ging innerhalb der ersten drei bis vier Wochen verloren. Die Aromaeindrücke fruchtig und blumig wiesen im belasteten Bier höhere Anfangsgehalte als im Vergleichsbier auf, was in einer Verwechslung mit Alterungsaromen begründet sein könnte.

4.5.1.3 Veränderungen des Geschmacks

Die Veränderung der Geschmacksattribute ist in Abbildung 45 dargestellt.

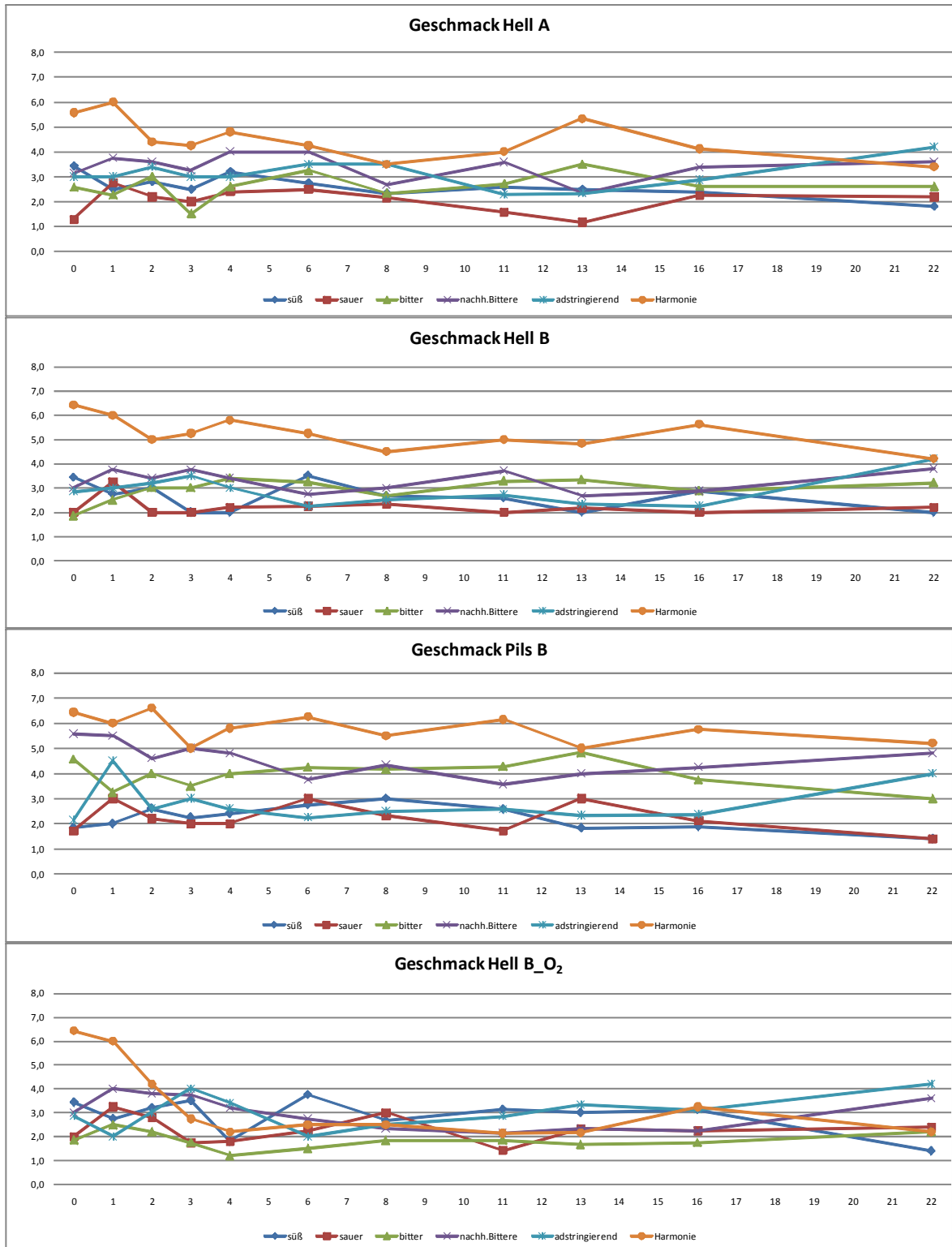


Abbildung 45: Veränderung des Biergeschmacks im Verlauf der Alterung.



Die Grundgeschmacksmerkmale zeigten im Verlauf der Alterung keine signifikanten Veränderungen auf, wohl aber das Hilfsmerkmal der Harmonie. In den Bieren aus Brauerei B wurde die Harmonie eindeutig höher bewertet als im Bier aus Brauerei A. Im sauerstoffbelasteten Bier ging die Harmonie innerhalb der ersten vier Wochen nahezu vollständig verloren.

#### 4.5.1.4 Abnahme der Bierqualität und Ausbildung des Alterungseindrucks

Die Darstellung der Alterungsnote und Akzeptanz nach EICHHORN und der Qualitätsnote (Abbildung 46 bis Abbildung 48) zeigt deutliche Veränderungen innerhalb der ersten vier bis sechs Wochen. Im folgenden Zeitraum änderte sich die Qualität aus Sicht der Verkoster anscheinend nicht mehr grundlegend.

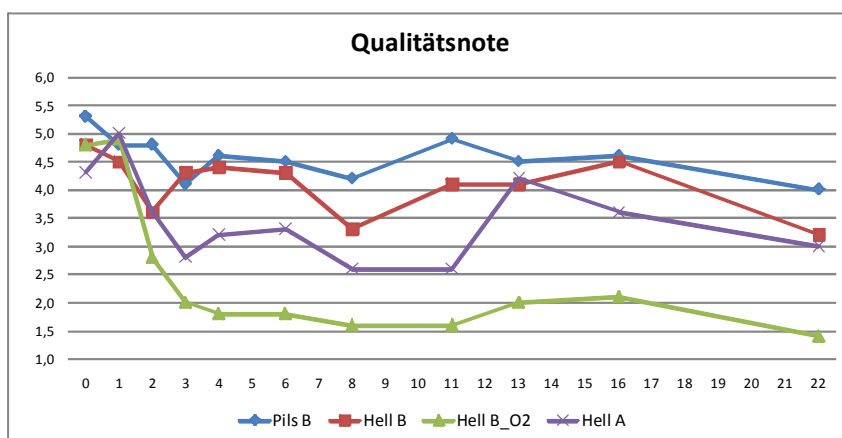


Abbildung 46: Veränderung der Qualitätsnoten im Verlauf der Alterung.

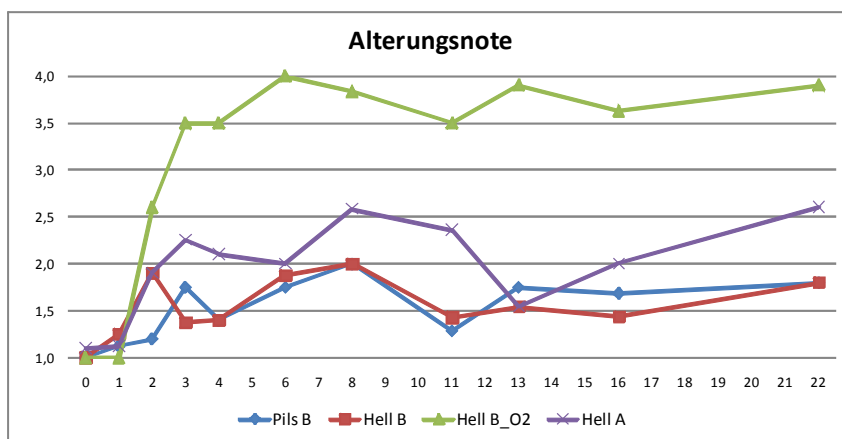


Abbildung 47: Veränderung der Alterungsnoten im Verlauf der Alterung.

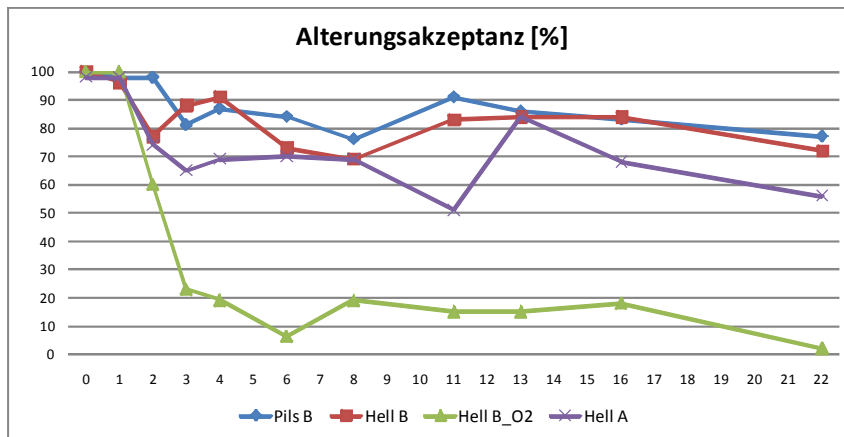


Abbildung 48: Veränderung der Alterungsakzeptanz im Verlauf der Alterung.

Die Biere unterschieden sich folglich in erster Linie im erreichten bzw. gehaltenen Qualitätsniveau. Des Weiteren können die Biere anhand des Zeitpunkts, zu dem die qualitative Bewertung erstmalig an zwei Messpunkten in Folge unter eine kritische Grenze fällt, differenziert werden:

Qualitätsnote < 4,25; Alterungsakzeptanz < 80 %; Harmonie < 5.

Bemerkenswert war die signifikante Verbesserung des Hell A am Messpunkt 13, die mit dem Verschwinden des heuartigen, des honigartigen und des Cardboard-Aromas korrelierte. Der erneute Abfall der Qualität ab der 13. Woche fiel mit einem verstärkten Auftreten der Adstringenz sowie analytisch mit einem Anstieg des Polymerisationsindex zusammen. Beim Hell B fand sich am Messpunkt 11 eine tendenzielle Verbesserung. Hier verschwand das Beerenaroma; der Unterschied war aber nicht signifikant. Bereits in den Untersuchungen von EICHORN ist ein Fall dokumentiert, in dem bei einem Bier die Alterungsnote nach Erreichen eines Maximums wieder leicht abnahm (Eichhorn 1991). Thum stellte nach einer siebenmonatigen Alterung in einem Bier geringere Carbonylgehalte als nach fünf Monaten fest (Thum 1997).

#### 4.5.1.5 Korrelationen zwischen den sensorischen Attributen im Verlauf der Alterung

Korrelationen zwischen den sensorischen Attributen aller vier Biere sind im Anhang in Tabelle A\_ 26 dargestellt. Es muss berücksichtigt werden, dass es sich bei den Proben um keine Zufallsauswahl handelte, sondern dass die Proben und

damit die variierten Parameter in hohem Maße abhängig waren. Des Weiteren wurden die Zusammenhänge stark durch den Unterschied zum sauerstoffbelasteten Bier beeinflusst.

Bedeutsam sind die scharfen Korrelationen zwischen den Merkmalen ‚biertypisch‘ und ‚Harmonie‘ und der Qualitätsnote. Die hohen Korrelationskoeffizienten lassen vermuten, dass der Verkoster mit diesen Begriffen diejenigen Eigenschaften in Verbindung brachte, die ihm für die Bewertung der Biere ausschlaggebend erschienen. Umso bezeichnender ist, dass es sich bei beiden Attributen um Hilfsmerkmale handelt, die bis jetzt nicht exakter definiert werden konnten. Biertypisch bezeichnete den typischen, wiedererkennbaren Geruch untergäriger, heller Biere, der eben nicht die Summe der einzelnen bekannten, positiven Aromaeindrücke des Flavourrades fruchtig, blumig, zitrusartig und hefig ist. Harmonie bezeichnet als umfassender Begriff die Qualität des Geschmacks. Vermutlich waren hier neben der Ratio (süß / sauer) und der Qualität der Bittere noch andere Eindrücke, die sich nicht einfach mit den Grundgeschmacksarten erklären lassen, von Bedeutung (z.B. metallische Geschmackseindrücke, usw.). Auch die Vollmundigkeit und in geringerem Maße die Rezenz wirkten sich möglicherweise auf die Harmonie aus. Da Glycerin zum Mundgefühl des Bieres beitragen soll, wurde dessen Gehalt in den Bieren bestimmt. Im sensorisch instabilen Hell A wurde ein Gehalt von 1250 mg/l und in den Bieren der Brauerei B ein Gehalt von 1350 mg/l festgestellt. Die Gehalte änderten sich im Verlauf der Alterung in den vier Bieren allerdings nicht.

Die Alterungsaromen mit den stärksten Zusammenhängen zur qualitativen Bewertung der Biere waren ‚whiskey / sherry‘ und honigartig. Entsprechend wurden solche Biere als weniger ‚harmonisch‘ und untypisch (nicht ‚biertypisch‘) wahrgenommen.

Bemerkenswert ist außerdem, dass Cardboardaroma und Adstringenz keinen signifikanten Zusammenhang zur qualitativen Bewertung über alle Biere und Messpunkte aufwiesen. Innerhalb des Hell A bestand allerdings ein Zusammenhang zwischen dem Cardboard-Aroma und der Qualitätsnote mit  $r = 0,84$ .

### 4.5.1.6 Diskussion und Zusammenfassung

Als die dominantesten Alterungsaromen werden innerhalb der ersten 6 Wochen das beerenartige, das würzeartige, das honigartige und in einigen Bieren auch das Cardboard-Aroma gebildet. Unter starker Sauerstoffbelastung tritt das Cardboardaroma nicht auf, stattdessen wird das Sherryaroma dominant. Ein Verlust der biertypischen Aromen tritt unter Sauerstoffbelastung innerhalb der ersten vier Wochen auf.

Die Alterungsnote und die Qualitätsnote verändern sich ebenfalls innerhalb der ersten vier Wochen am deutlichsten. Die Qualitätsnote weist dabei die schärfsten Korrelationen zu den Hilfsmerkmalen ‚biertypisch‘ und ‚Harmonie‘ auf. Anhand der Harmonie konnten die beiden Biere A und B bereits in frischem Zustand eindeutig differenziert werden. Unter Sauerstoffbelastung geht die Harmonie innerhalb der ersten vier Wochen verloren.

Die Bierqualität fällt dementsprechend innerhalb der ersten vier bis sechs Wochen rasch auf ein bestimmtes Niveau ab, das dann grob gehalten wird. Bezüglich der Geschmacksstabilität eines Bieres ist folglich in erster Linie das erreichte Niveau relevant und weniger der Zeitraum bis zur Wahrnehmung der sensorischen Veränderungen. Die Geschmacksstabilität ließe sich dementsprechend relativ sicher durch die Verkostung vier Wochen alter Rückstellproben bewerten.

Durch das Verschwinden von dominanten Aromaeindrücken kann auch der Fall eintreten, dass ein Bier im Verlauf der Alterung wieder besser bewertet wird (Harmonie, Qualitätsnote und Alterungsakzeptanz). Dies trifft auch auf die Alterungsnote zu und zeigt, dass diese der Erwartung, die Abfolge der Alterungsstadien weitgehend objektiv darzustellen, nicht gerecht wird. Durch die Alterungsnote nach EICHHORN wird demnach keine zusätzliche Information gewonnen. Zur Beschreibung der Alterung genügt es, den Abfall der Qualitätsnote festzustellen oder die Alterungsakzeptanz (nach EICHHORN) aufzunehmen.

Die Einstufung der Biere ohne Sauerstoffbelastung als eindeutig gealtert (Abwertung um ein bis zwei Qualitätsnotenpunkte gegenüber den frischen Proben; Alterungsakzeptanz im Bereich von 70–80 %) steht im Widerspruch zu den niedrigen festgestellten Intensitäten der Alterungsaromen. Die Verläufe der Qualitätsnote (1-6; nicht DLG!) korrelierten in dieser Untersuchung nicht eindeutig

mit den Alterungsaromen. Hierfür gibt es zwei Erklärungsansätze: Zum einen stellte sich im Verlauf der Untersuchung heraus, dass einige Verkoster trotz vorangegangener Schulung zwischen den Attributen „würzeartig“, „brotartig“ und „honigartig“ nicht klar differenzieren konnten. D.h. auch wenn sich alle Verkoster über das Vorhandensein des Aromaeindrucks einig waren, wich dessen Benennung oft ab, so dass die Verkoster ihre Kreuze nicht zwangsläufig bei dem selben der drei ähnlichen Attribute setzten. In der Auswertung führte das zu niedrigen Mittelwerten und hohen Standardabweichungen. Bei den Aromaeindrücken fruchtig und blumig konnte derselbe Effekt beobachtet werden. Entsprechend empfiehlt es sich für zukünftige Untersuchungen, Attribute zusammenzufassen, ohne den Aromaeindruck klar zu definieren (z.B. „fruchtig / blumig / vergleichbarer Eindruck“). Die Anzahl der Attribute könnte so sinnvoll verringert werden. Die Attribute beerenartig, heuartig und Cardboard wurden nicht von allen Verkostern sicher erkannt, so dass oft von einem Teil der Verkoster ein hoher Wert angegeben wurde und einzelne Verkoster gleichzeitig eine Null eintrugen. In Folge dessen waren bei diesen Attributen ebenfalls erniedrigte Mittelwerte und erhöhte Standardabweichungen zustande gekommen. Ein weiterer Grund für die vom Alterungsaroma abweichende qualitative Bewertung der Biere ohne übermäßige Sauerstoffbelastung liegt vermutlich darin, dass der negative Gesamteindruck heutzutage nur noch zweitrangig auf dem ausgebildeten Alterungsaroma beruht (die Abwesenheit gravierender Prozessfehler vorausgesetzt). Die dominantere Einflussgröße scheint die Veränderung des Geschmacks und des Mundgefühls zu sein. Die mit der Qualitätsnote korrelierenden Verläufe der Harmonie deuten darauf hin. Beim Hell A ging der Abfall der Harmonie mit einem wahrnehmbaren saueren Eindruck und einer tendenziellen Zunahme (nicht signifikant) der nachhängenden Bittere und Adstringenz einher. Vermutlich waren noch weitere Attribute ausschlaggebend, die durch die verwendete Profilprüfung, die weitgehend auf das Aroma fokussiert war, nicht erfasst wurden. Es ist zu beachten, dass die Harmonie nur ein Hilfsmerkmal darstellt. Welche Kombinationen von geschmacklichen und haptischen Sinneseindrücken für sie ausschlaggebend sind, gilt es noch zu erforschen. Obwohl Veränderungen der Vollmundigkeit und der Bittere im Verlauf der Alterung bekannt sind, wurde der Veränderung der Geschmacksmatrix bei der Alterung durch die Forschung bislang nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der sensorische Qualitätsverlust des Bieres bei der Alterung heutzutage in erster Linie durch Veränderungen der Geschmacksmatrix, die zum Verlust der Harmonie führen, bedingt ist. Diese Veränderungen können in der Verkostung durch den Abfall der Qualitätsnote und die Abnahme des Hilfsmerkmals der Harmonie nachvollzogen werden. Es konnten noch keine konkreten sensorischen Attribute oder analytischen Merkmale identifiziert werden, die ursächlich für diese Veränderungen verantwortlich sind.

Des Weiteren ist im Alterungsprozess die Ausbildung von Alterungsaromen sowie ein Verlust des biertypischen Aromas festzustellen.

Die direkte Ausbildung des Alterungsaromas trägt bei normalen, niedrigen Sauerstoffbelastungen heutzutage nur noch zweitrangig zur Abwertung gealterter Biere bei. Die wichtigsten Aromaeindrücke sind hierbei der beerenartige, der honigartige und, falls vorhanden das Cardboardaroma. Im Falle erhöhter Sauerstoffbelastungen wird die Beeinflussung der Bierqualität durch das Alterungsaroma wesentlich stärker.

### 4.5.2 Analytische Veränderungen

Das sensorisch instabile Hell A unterschied sich analytisch in vielen Merkmalen von den unbelasteten Bieren der Brauerei B: Die Würze fiel durch einen erhöhten Polymersiationsindex und eine starke Radikalgenerierung auf. Der  $\text{SO}_2$ -Gehalt des Bieres und die Gehalte an Gesamtpolyphenolen, Anthocyanogenen und Tannoiden waren vergleichsweise niedrig, der Polymerisationsindex dagegen deutlich erhöht. Das Hell A wies außerdem ein niedrigeres Reduktionsvermögen (DPPH), eine niedrigere Lagtime und eine höhere Radikalgenerierung als die Biere aus Brauerei B auf. Die höheren Alkohole und Ester lagen im Hell A in niedrigerer Konzentration vor als im Hell B. Dafür wies Hell A einen höheren Acetaldehydgehalt auf. Im frischen Bier konnten bereits leicht erhöhte Gehalte an Sauerstoffindikatoren festgestellt werden und im Verlauf der Alterung bildete sich ein erhöhter Gehalt an  $\beta$ -Damascenon aus. Zum Untersuchungszeitpunkt konnten der Flavanoidgehalt und das Reduktionsvermögen (DPI) aufgrund von Problemen mit der Methode und eines Defekts des Analysengerätes leider nicht bestimmt werden.

#### 4.5.2.1 SO<sub>2</sub>, Lagtime und Radikalgenerierung

Die Verläufe von SO<sub>2</sub>-Gehalt, Lagtime und Radikalgenerierung (F(LT/60)) bei der Alterung sind in Abbildung 49 bis Abbildung 51 dargestellt. SO<sub>2</sub> und Lagtime fielen im Verlauf der Alterung in allen Bieren stetig ab. Beim SO<sub>2</sub>-Gehalt fand der stärkste Abfall innerhalb der ersten sechs Wochen statt, wohin gegen die Lagtime über die gesamte Lagerdauer weitgehend gleichmäßig abfiel. In den unbelasteten Bieren unterschritt der SO<sub>2</sub>-Gehalt dabei die Schwelle von 2 mg/l zu keinem Zeitpunkt wesentlich. In Bier A fand nach der ersten Woche keine weitere Sulfitezehrung mehr statt. Die Radikalgenerierung nahm im sauerstoffbelasteten Bier über den gesamten Untersuchungszeitraum kontinuierlich leicht ab, wohingegen sie bei den unbelasteten Bieren zunahm.

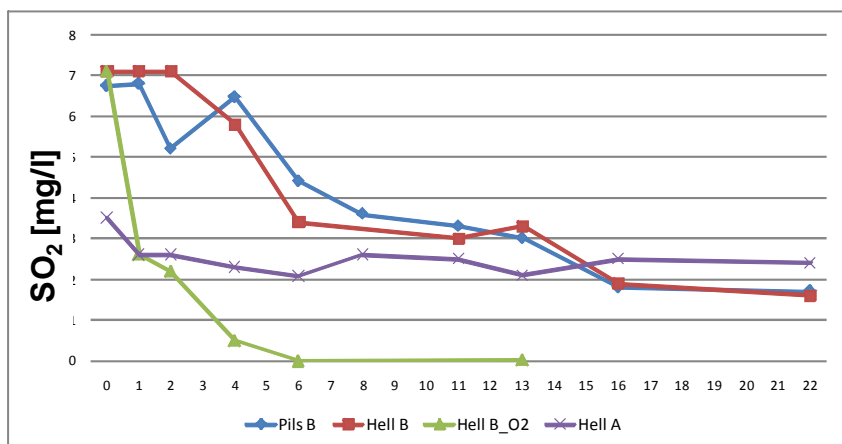


Abbildung 49: SO<sub>2</sub>-Gehalt der Biere im Verlauf der Alterung.

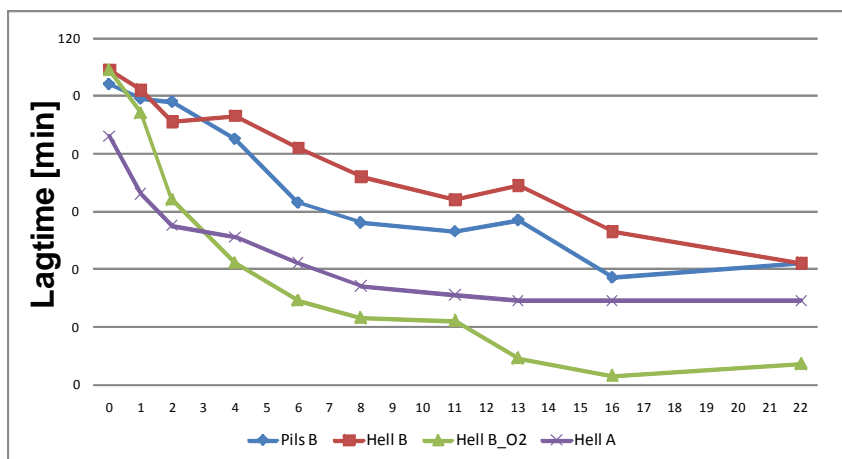


Abbildung 50: Verlauf der Lagtime während der Alterung.

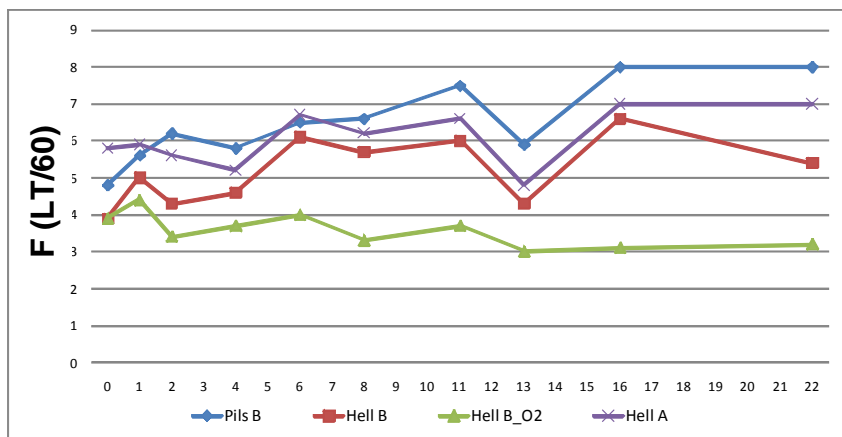


Abbildung 51: Veränderung der Radikalgenerierung im Verlauf der Alterung.

#### 4.5.2.2 Gärungsnebenprodukte

Die Gehalte sämtlicher Alkohole blieben im Untersuchungszeitraum in allen vier Bieren unverändert (nicht dargestellt). Die Verläufe der höheren Alkohole ließen somit keine Rückschlüsse auf die Frage zu, inwieweit sie im Verlauf der Alterung direkt oxidiert wurden und somit als Precursor für die Alterungscarbonyle dienen konnten. Die Stoffumsätze bei der Ausbildung des Alterungsaroma sind im  $\mu\text{g/l}$ -Bereich und mögliche Abnahmen der korrespondierenden Alkohole liegen somit unter der Analysengenauigkeit.

Die Veränderungen der Gehalte an Acetaldehyd und Estern (GNP) sind im Anhang in Abbildung A\_ 10 und Abbildung A\_ 11 abgebildet. Der Acetaldehydgehalt stieg im sauerstoffbelasteten Bier bei der Alterung in Übereinstimmung mit KOMAREK leicht an (Komarek 2001) und fiel in den unbelasteten Bieren mit hohen Lagerzeiten ab. Die Estergehalte (GNP) fielen in den unbelasteten Bieren in den ersten Wochen deutlich ab. Im sauerstoffbelasteten Bier konnte keine Abnahme festgestellt werden. Die Ester Bernsteinsäurediethylester, Nicotinsäureethylester und Phenyllessigsäure-ethylester, die auch zu den Alterungsindikatoren gehören, stiegen in allen Bieren über den gesamten Untersuchungszeitraum linear an (nicht dargestellt). Komarek stellte im gealterten Bier auch Zunahmen der Ester Propansäure-2-methylester und Butansäure-2-methylester fest (Komarek 2001; Schieberle and Komarek 2003).

Die Summe der untersuchten Hopfenaromastoffe (ohne Linalool) fiel im Pils, im sauerstoffbelasteten Bier und im (wenig stabilen) Hell A über den Untersuchungs-



zeitraum ab (siehe Anhang, Abbildung A\_ 12). Die Abnahme war dabei in erster Linie auf den Verlust von  $\alpha$ -Terpineol zurückzuführen. Der Linaloolgehalt nahm im sauerstoffbelasteten Bier sehr rasch ab. Im Hell A war eine Zunahme zu verzeichnen (siehe Anhang, Abbildung A\_ 13).

Im sauerstoffbelasteten Bier stieg im Verlauf der Alterung der Diacetylgehalt bis in den Bereich des Geschmacksschwellenwertes. DMS wies in allen Bieren am letzten Messpunkt erhöhte Gehalte auf. Die DMS-Werte sollten nicht berücksichtigt werden, da die vier Proben im selben Analysenlauf gemessen wurden und ein Analysenfehler nicht ausgeschlossen werden kann. Es standen keine Proben mehr für eine Wiederholungsmessung zur Verfügung.

### 4.5.2.3 Alterungsindikatoren

Die Zunahme der Sauerstoff- und der gesamten Alterungsindikatoren in den Bieren ist in Abbildung 52 dargestellt.

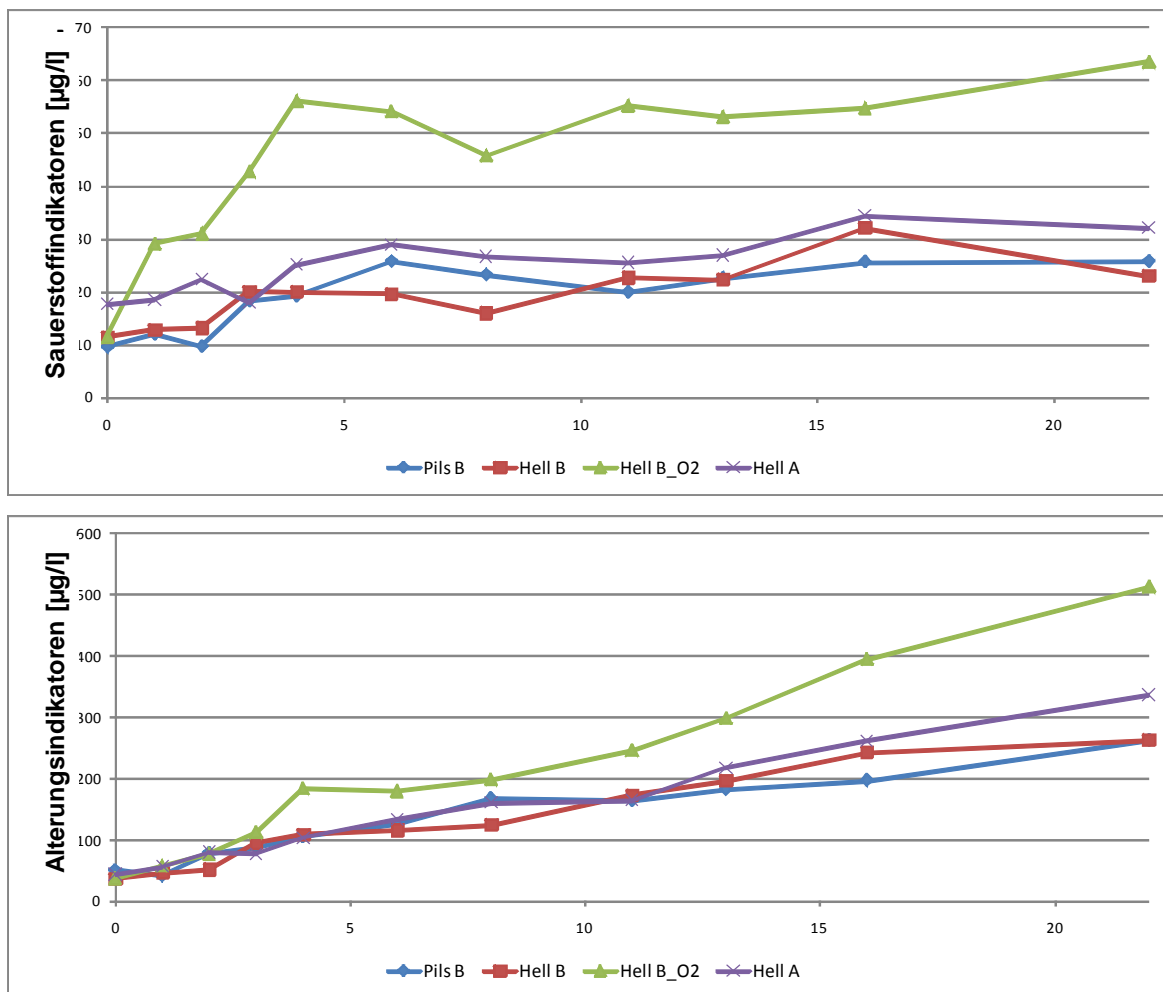


Abbildung 52: Verlauf der Sauerstoff- und Alterungsindikatoren bei der Lagerung.

Die Sauerstoffindikatoren stiegen innerhalb der ersten vier bis sechs Wochen an und ließen eine frühzeitige Differenzierung des sauerstoffbelasteten und des wenig stabilen Bieres A zu. Neben dem 2-Phenylethanal und dem 3-Methylbutanal stieg hierbei in Übereinstimmung mit KOMAREK auch das Methional an (Komarek 2001; Schieberle and Komarek 2003). Dessen Bestimmung war allerdings mit der vorhandenen Methode schlecht reproduzierbar, so dass es bei der Auswertung der vorliegenden Ergebnisse nicht berücksichtigt wurde. Die Bildung der Streckeraldehyde verlief sauerstoffabhängig, was in Übereinstimmung mit den Arbeiten von EICHHORN und von KOMAREK steht (Eichhorn 1991; Komarek 2001). Die Aminosäurekonzentration stellt im Vergleich zur Sauerstoffkonzentration eine zweitrangige Einflussgröße dar (Komarek 2001).

Die Summe der Alterungsindikatoren, die von wärme- und lagerzeitabhängigen Indikatoren dominiert wird, stieg in Übereinstimmung mit Ergebnissen von LUSTIG (Lustig 1994) dagegen über die gesamte Lagerdauer in allen Bieren kontinuierlich

an. Dass auch hier das sauerstoffbelastete Bier die höchsten Werte erzielte, ist nicht in erster Linie auf die Sauerstoffindikatoren, sondern auf die Beeinflussung des Gehaltes an 2-Furfural durch die Sauerstoffbelastung zurückzuführen. Die Entwicklung der Wärmeindikatoren und der Summe aller erfassten Substanzen lieferte vergleichbare Kurvenverläufe (nicht dargestellt).

### 4.5.2.4 Diskussion und Zusammenfassung

Die Brauereien A und B können bereits anhand ihrer Würzequalität sowie anhand von relevanten Analysenmerkmalen der frischen Biere bezüglich der zu erwartenden Geschmacksstabilität unterschieden werden. Das weniger stabile Hell A weist in der Würze einen höheren Polymerisationsindex und eine erhöhte Radikalgenerierung auf. Im frischen Bier sind der  $\text{SO}_2$ -Gehalt, der Polyphenolgehalt sowie die Konzentrationen an aromapositiven Gärungsnebenprodukten erniedrigt und der Polymerisationsindex erhöht.

Der Verlust des biertypischen Aromas korrelierte in der vorliegenden Untersuchung stark mit der qualitativen Abwertung gealterter Biere. Abnahmen von Bieraromastoffen konnten allerdings nur für einige Ester und  $\alpha$ -Terpineol nachgewiesen werden. Unter Sauerstoffbelastung wurde Linalool rasch abgebaut. Hinweise auf eine Oxidation höherer Alkohole ergaben sich mit Ausnahme einer möglichen Acetaldehydbildung aus Ethanol nicht, allerdings kann dieser Mechanismus anhand der vorliegenden Ergebnisse auch nicht ausgeschlossen werden. KOMAREK konnte für den Fall des Streckeraldehyds Methional nachweisen, dass es bei der Alterung von Bier nicht aus zugesetztem Methionol gebildet wird (Komarek 2001). Dagegen konnte EICHORN die Bildung von 2- und 3-Methylbutanal und von 2-Furfural bei der Alterung durch Zusatz der korrespondierenden Alkohole erhöhen. HASHIMOTO stellte eine Oxidation von Alkoholen in Gegenwart von Melanoidinen (Hashimoto 1972) und IRWIN et al. in Gegenwart von Metallionen fest (Irwin et al. 1991). Vermutlich hängt der Stoffumsatz der direkten Oxidation von Alkoholen stark von den Rahmenbedingungen (Temperatur, Sauerstoffbelastung, Anwesenheit von Katalysatoren und Reduktionen) und der untersuchten Einzelsubstanz ab, die in den einzelnen Untersuchungen voneinander abwichen.

KOMAREK und SCHIEBERLE geben (nach FD-Faktoren bei der AEVA) 2-Phenylethanol (süß, blumig),  $\beta$ -Damascenon (Bratapfel), 4-hydroxy-2,5-dimethyl-2(5H)furanon und 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)furanon (karamellartig), 3-Methylbutanol (malzig), Oktansäureethylester und ähnliche Ester (fruchtig) sowie 4-Vinylguajacol (gewürznelkenartig) als die dominantesten Aromastoffe frischer Biere an (Komarek 2001; Schieberle and Komarek 2003). Eine schnelle Abnahme bei der Alterung konnten sie nur für Oktansäureethylester nachweisen, was in der vorliegenden Untersuchung im Untersuchungszeitraum nur beim Hell A feststellbar war. Sonst konnten keine Abnahmen dieser Schlüsselaromastoffe festgestellt werden. Der Verlust des biertypischen Aromas kann damit analytisch nicht nachvollzogen werden. Daraus kann geschlossen werden, dass das biertypische Aroma im Verlauf der Alterung durch andere Substanzen maskiert wird, ohne dass ein merklicher Abbau der meisten (positiven) Aromastoffe stattfindet, oder dass die derzeit zur Verfügung stehenden Analysemethoden und die Auswahl der Schlüsselaromastoffe noch nicht geeignet sind, das Bieraroma zu beschreiben. Als maskierende Substanzen kommen die gebildeten Streckeraldehyde in Frage. Möglicherweise geschieht die Maskierung des biertypischen Aromas bereits bei niedrigen Gehalten, noch bevor sich die typischen Alterungsaromen ausbilden.

Die sensorischen Veränderungen während der Alterung der Biere stellen sich als nicht linearer Prozess dar. Die gewonnenen Daten offenbaren die Problematik der analytischen Beschreibung des Alterungsaromas: Die nicht nach Geschmacksschwellenwerten oder Aromabeiträgen gewichtete Summe der Alterungsindikatoren nimmt bei der Alterung im Gegensatz zu den sensorischen Veränderungen zeitabhängig und kontinuierlich zu. Sie ist damit nicht geeignet die sensorischen Veränderungen des Bieres zu beschreiben. Die Verläufe der Lagtime und der Sauerstoffindikatoren korrelieren dagegen gut mit der Veränderung der Qualität der vier Biere im Verlauf der Alterung und sind somit geeignet die Geschmacksstabilität zu beschreiben. EICHORN konnte im Alterungsverlauf einen guten Zusammenhang zwischen Heptanal und dem Alterungsgeschmack feststellen (Eichhorn 1991). In der vorliegenden Untersuchung konnte dieser Zusammenhang nur im Hell B nachgewiesen werden (nicht dargestellt). Die Heptanalbestimmung erwies sich dabei als schwer

reproduzierbar und die gebildeten Gehalte waren gering, so dass dieser Ansatz nicht weiter berücksichtigt wurde.

Aus dem Zusammenhang zwischen den Sauerstoffindikatoren und der sensorischen Bewertung der Biere kann auch geschlossen werden, dass die Ausbildung des Alterungsaromas heutzutage (moderne Kochsysteme, weitgehend optimierte Brauprozesse) überwiegend von dem bei der Abfüllung eingetragenen und durch den Kronkorken eindiffundierenden Sauerstoff abhängig ist. Da bei einer längeren Lagerzeit bei jedem Bier mit einer Diffusion von Sauerstoff über die Compountmasse des Kronkorkens in die Flasche gerechnet werden muss, sind diese Ergebnisse mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die meisten Biere übertragbar (die Abwesenheit erheblicher technologischer Mängel vorausgesetzt). Eine positive Wirkung von sauerstoffabsorbierenden Kronkorken konnte dementsprechend bereits auf die Analytik (Lustig 1994) und auf die sensorische Geschmacksstabilität (Link 2004) nachgewiesen werden.

### **4.6 Geschmacksstabilität des Bieres**

Zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen der Geschmacksstabilität (Sensorik), den potentiellen Einflussparametern und ausgewählten Analysenmethoden wurde eine Marktanalyse mit 43 kommerziell erhältlichen, deutschen, untergärigen Bieren durchgeführt. Die Besonderheit dieser Herangehensweise liegt darin, dass innerhalb dieser Untersuchung, im Gegensatz zu einem Versuch, sämtliche bekannten und unbekannt Parameter (von der Rohstoffqualität über die Brau- und Gärungstechnologie und -technik bis hin zur Abfüllung) variieren. Es handelte sich um eine Zufallsauswahl weitgehend unabhängiger Proben, wodurch eine statistische Auswertung ermöglicht wurde und eine allgemein hohe Übertragbarkeit der Ergebnisse erreicht wurde. Die Biere stammten aus dem Gebiet der gesamten Bundesrepublik, wobei ein überwiegender Teil der Brauereien (29) in Bayern ansässig ist. Die Biere wurden jeweils in frischem Zustand, nach einer forcierten Alterung und nach einer dreimonatigen Lagerung bei Raumtemperatur (natürliche Alterung) untersucht. Durch einen Bearbeitungsfehler umfasste die forcierte Alterung sämtlicher Biere in

diesem Versuch nur drei Tage bei 40 °C anstelle der am Lehrstuhl üblichen vier Tage. Dieser Umstand schränkte die Aussagekraft der Ergebnisse allerdings in keinster Weise ein, muss jedoch beim Vergleich mit Daten aus anderen Untersuchungen berücksichtigt werden. Die sensorische Bewertung erfolgte durch ein Team aus fünf bis sieben geschulten Verkostern. Da die Untersuchung zu einem früheren Zeitpunkt als die oben beschriebene Untersuchung der Alterungsverläufe (vgl. 4.5) durchgeführt wurde, konnten die dargestellten Erkenntnisse zum Verlauf der Alterung und zum Verkostungsschema hier noch nicht berücksichtigt werden. Zusätzlich zu den Bieren wurden bei 17 Brauereien auch Würzen untersucht, die aus organisatorischen Gründen allerdings nicht aus der selben Charge stammten. Die Auswahl bezog sich aus Gründen der Probennahme auf Brauereien aus dem ober- und niederbayerischen Raum. Wegen des großen Umfangs der Untersuchung (bis zu 135 Analysenmerkmale pro Sorte) gelang es im Fall einiger Proben nicht vollständige Datensätze zu gewinnen, so dass die Anzahl der gewerteten Proben je nach Art der gegenübergestellten Analysenmerkmale abweichen kann. Da die fehlenden Daten zufällig gestreut liegen, wird die Aussagekraft der Ergebnisse hierdurch nicht beeinflusst. Die Untersuchung fand im Sommer 2007 statt, d.h. Gersten der eingebrauten Malze stammten aus der Ernte 2006.

Nach ähnlichen Vorgehensweisen, aber mit deutlich geringerem analytischen Umfang, untersuchten bereits EICHHORN, FORSTER und FRANZ die Geschmacksstabilität (Eichhorn 1991; Forster et al. 1999; Franz 2004). Aufgrund der umfassenden Herangehensweise der vorliegenden Arbeit und der Analysenmethoden, die inzwischen deutlich an Aussagekraft und Leistungsfähigkeit gewonnen haben, wurden neue, weiterführende Erkenntnisse erzielt. Die Ergebnisse der Untersuchung der Würzen und Biere sind im Anhang in Tabelle A\_ 29 bis Tabelle A\_ 39 zusammengefasst.

### **4.6.1 Korrelationen von Analysenmerkmalen innerhalb der Würzen**

Die Zusammenhänge zwischen den Analysenmerkmalen der untersuchten Würzen sind anhand ihrer Korrelationskoeffizienten im Anhang in Tabelle A\_ 40 dargestellt.

#### 4.6.1.1 Polyphenole, Reduktionsvermögen und thermische Belastung

Bei den nasschemischen Summenparametern korrelierten die Ergebnisse von Anthocyanogenen und Gesamtpolyphenolen gut. Auch die Tannoide wiesen einen signifikanten Zusammenhang zu den Gesamtpolyphenolen auf. Daraus kann geschlossen werden, dass die Analysen auf ähnliche Substanzgruppen ansprechen, sich überschneiden, oder dass die Konzentrationen der erfassten Substanzen in der Würze von den selben Parametern abhängen. Im Gegensatz dazu wiesen die Flavonoide keinen eindeutigen Zusammenhang zu den anderen polyphenolischen Fraktionen auf. Hiermit wird anscheinend eine spezifische, von den anderen Summenanalysen weitgehend unabhängige Substanzgruppe erfasst. Wie durch einen Zugabeversuch (Tabelle 14) bestätigt wurde, sprach die Analyse, wie erwartet, zwar auf Flavanoide an, jedoch nicht auf glycosidisch gebundene Phenolcarbonsäuren.

**Tabelle 14: Flavanoidgehalte bei Zugabe von Polyphenolen zum Bier.**

<b>Bier (ug. hell)</b>	<b>Vergleich</b>	<b>+ 20 mg/l Catechin</b>	<b>+ 20 mg/l Tannin</b>
Flavonoide [mg/l]	30	52	28

Bemerkenswert war außerdem der negative Zusammenhang zwischen der Thiobarbitursäurezahl (TBZ) und den Anthocyanogenen. Substanzen dieser Gruppe wurden anscheinend durch thermische Belastung zerstört bzw. reagierten im Rahmen der Maillardreaktion. Die Flavanoide zeigten einen entsprechenden Trend zur TBZ. Die Thiobarbitursäurezahl gilt in der Brautechnologie als Maß für die thermische Belastung von Malz. Sie erfasst unspezifisch verschiedene Aldehyde und vermutlich noch weitere unbekannte Substanzen. Da die Thiobarbitursäurezahl auch stark durch oxidative Prozesse und durch die Ausdampfung beeinflusst wird, hat sie im weiteren Brauprozess keine eindeutige Aussagekraft mehr.

Das Reduktionsvermögen mittels DPI (MEBAK) zeigte keinen Zusammenhang zum Reduktionsvermögen mittels DPPH, woraus geschlossen werden kann, dass die beiden Analysen unterschiedliche Merkmale aufzeigen und durch

unterschiedliche Parameter beeinflusst werden. Allerdings zeigte das Reduktionsvermögen (DPI) einen negativen Zusammenhang zur DPPH-Messung ab der ersten Messminute (DPPH 2-10 min), einen negativen Trend zur TBZ und einen positiven Trend zu den Flavanoiden. Dementsprechend wies der DPPH-Abfall ab der ersten Minute (DPPH 2-10 min) einen positiven Zusammenhang zur TBZ und einen negativen Zusammenhang zu den Flavanoiden auf. Das Reduktionsvermögen mittels DPPH korrelierte entsprechend mit dem Abfall der DPPH-Konzentration während der ersten Messminute. Die DPPH-Messung ab („nach“) der ersten Messminute (2 – 10 min) präsentierte sich hier als neues, unabhängiges Analysenmerkmal.

Entgegen der Erwartung besteht in der Würze kein Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen (DPPH) und den Summenanalysen der Polyphenole. Der Abfall der DPPH-Konzentration ab der ersten Minute (DPPH 2-10 min) verhielt sich gegenüber den Zusammenhängen des Reduktionsvermögens mittels DPI genau invers. Ein derartiges Verhalten deutet in der Regel darauf hin, dass die gefunden Zusammenhänge nicht kausaler Natur sind, sondern auf einer gemeinsamen Beeinflussung der untersuchten Analysenmerkmale durch unbekannte, dritte Parameter beruhen.

### 4.6.1.2 Lagtime und Radikalgenerierung

Lagtime und Radikalgenerierung verhielten sich in den Würzen signifikant indirekt proportional. Dieser Zusammenhang war zu erwarten und kann einerseits durch die Wirkung variierender Konzentrationen antioxidativer Inhaltsstoffe sowie andererseits durch die gegenseitige Abhängigkeit der beiden Analysenmerkmale erklärt werden: Durch die Akkumulation von  $H_2O_2$  durch Folgeprodukte des Fentonschrittes ( $\sim F(0/120)$ ; Rückkopplung der Kettenreaktion) werden endogene Antioxidantien ( $\sim$  Lagtime) beschleunigt aufgezehrt. Die beiden charakteristischen Merkmale des Verlaufs der Radikalgenerierung im Forciertest beeinflussen sich dementsprechend gegenseitig. Die Lagtime der Würze zeigte des Weiteren einen positiven Trend zu den Gesamtpolyphenolen und Anthocyanogenen sowie einen signifikanten Zusammenhang zum Gehalt an Flavanoiden (Abbildung 53), allerdings keinen Zusammenhang zum Reduktionsvermögen (DPPH). Die



Radikalgenerierung wies einen positiven Trend gegenüber der TBZ auf, allerdings keinen Zusammenhang zum Reduktionsvermögen (DPI).

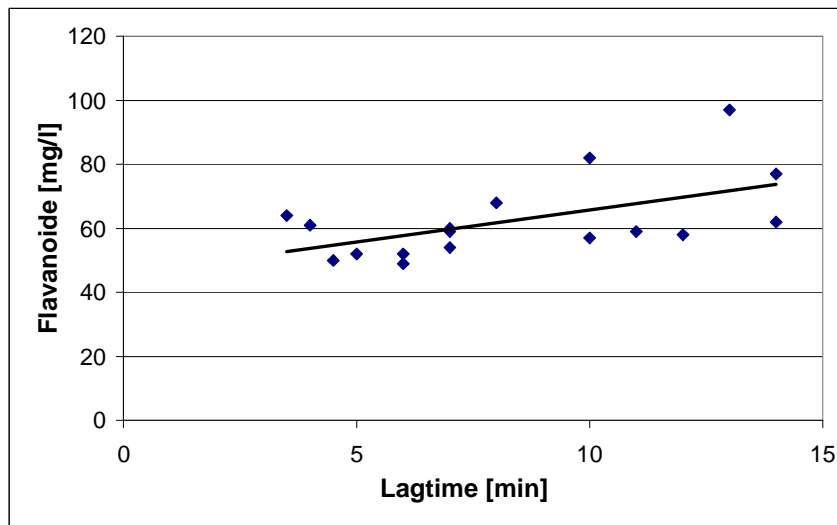


Abbildung 53: Korrelation zwischen der Lagtime und dem Gehalt an Flavonoiden in Würze.

### 4.6.1.3 Diskussion und Zusammenfassung

In den Würzen korrelieren die Gehalte der Anthocyanogene und Gesamtpolyphenole gut miteinander, die Flavanoide scheinen eine davon unabhängige Stoffgruppe zu erfassen.

Zwischen der TBZ und dem Reduktionsvermögen (DPI) wurde ein negativer Zusammenhang festgestellt. Diese Ergebnisse entlarven die umgangssprachlich oft gleichgesetzte Verwendung der Begriffe ‚thermische Belastung‘, ‚TBZ‘ und ‚Reduktionsvermögen (DPI; MEBAK)‘ zumindest für Würzen heller Vollbiere (100 % Gerstenmalz) als falsch. Nach den vorliegenden Daten wird das Reduktionsvermögen (DPI) durch die Reduktionskraft der Flavanoide und weitere, noch unbekannte Einflussgrößen, geprägt. Der negative Trend der Flavanoide zur TBZ könnte auf ihre Zerstörung durch thermische Prozesse hindeuten und somit auch den negativen Zusammenhang zwischen der TBZ und dem Reduktionsvermögen (DPI) erklären. Da die mittels der TBZ erfassbaren Substanzen bei der Kochung ausgedampft werden können, ist die Aussagekraft der Analyse in gekochten Würzen fraglich. Die Zusammenhänge der TBZ sollen deshalb in dieser Arbeit nur unter Vorbehalt berücksichtigt werden.

Nach den vorliegenden Ergebnissen werden Polyphenole durch thermische Belastung vermindert, weshalb vermutet werden kann, dass sie an der Maillardreaktion beteiligt sind. In der Würze verursachen Polyphenole die Ausbildung einer Lagtime. Das Reduktionsvermögen (DPPH) der Würze korrelierte entgegen der Erwartung nicht mit den Polyphenolgehalten.

### **4.6.2 Korrelationen von Analysenmerkmalen der Würzen zu den korrespondierenden Bieren**

#### 4.6.2.1 Polyphenolgehalte

Die Zusammenhänge der phenolischen Fraktionen in Würze und Bier sind im Anhang in Abbildung A\_ 19 und Abbildung A\_ 20 veranschaulicht. Die Polyphenolgehalte der Würze gaben dabei grob das Niveau der Polyphenolgehalte der Biere vor. Die Abweichungen waren vermutlich zu einem großen Teil auf Ausfällungen bei der Gärung und auf die Stabilisierung zurückzuführen. Die Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) für die Konzentrationen der polyphenolischen Inhaltsstoffe zwischen Würze und Bier betragen für Gesamtpolyphenole 0,64; für Anthocyanogene 0,52 und für Flavanoide 0,34. Allein bei den Tannoiden zeigte sich kein Zusammenhang, was vermutlich auf ihrer Sensibilität gegenüber der (zwischen den Brauereien variierenden) Stabilisierung beruhte.

#### 4.6.2.2 Beeinflussung der chemischen und sensorischen Stabilität der Biere

Die Beeinflussung der chemischen und sensorischen Stabilität der Biere durch die Würzequalität ist im Anhang in Tabelle A\_ 41 bis Tabelle A\_ 43 dargestellt. Das Reduktionsvermögen (DPPH) der Biere wurde anscheinend durch den Polyphenolgehalt (Anthocyanogene, Gesamtpolyphenole) der Würzen festgelegt. Das ist bemerkenswert, da dieser Zusammenhang innerhalb der Würzen nicht festgestellt werden konnte. Die Fraktion der Flavanoide beeinflusste das Reduktionsvermögen (DPPH) der Biere dagegen nicht signifikant. Die Gesamtpolyphenole der Würze wiesen zudem eine negative Korrelation zum

Reduktionsvermögen (DPI) der Biere auf. Des Weiteren war die Verschlechterung der chemischen Stabilität der Biere (Lagtime und Radikalgenerierung) mit steigenden Polyphenolgehalten der Würzen (Anthocyanogene und Gesamtpolyphenole) bemerkenswert. Auch hier schienen die Flavanoide keine Wirkung zu zeigen. Weitere nennenswerte Zusammenhänge bestanden zwischen der Lagtime der Würzen und dem Reduktionsvermögen (DPI) der Biere.

Das Reduktionsvermögen von Würze und Bier scheint, unabhängig von der Bestimmungsmethode, nicht durch bestimmte Inhaltsstoffe verursacht zu werden. Die Ergebnisse deuten vielmehr darauf hin, dass es sich bei dem Reduktionsvermögen von Würze und Bier um eine endogene Eigenschaft des Produktes handelt. Des Weiteren besteht der Verdacht, dass die Polyphenole jeweils das Reduktionsvermögen des folgenden Prozessschrittes prägen. D.h. das Reduktionsvermögen der Würze hängt vom Polyphenolgehalt des Malzes ab und das Reduktionsvermögen des Bieres vom Polyphenolgehalt der Würze. Mögliche Mechanismen sind eine Beeinflussung des Redoxstatus der gesamten Produktmatrix durch die Reduktionskraft der Polyphenole sowie die Veränderung des Redoxpotentials der Polyphenole durch Umwandlung in andere Reduktone bei der Maillardreaktion. Die beiden Methoden mittels DPI und DPPH sprechen dabei auf unterschiedliche Eigenschaften an.

Bei Betrachtung der Aromastoffmessungen in frischen und gealterten Bieren stachen zuerst die negativen Zusammenhänge zwischen den Anthocyanogenen und Gesamtpolyphenolen der Würze und den Alterungsindikatoren ins Auge. Die Zusammenhänge beruhten auf den Konzentrationen der Wärmeindikatoren 2-Furfural und  $\gamma$ -Nonalacton, die den Hauptanteil der Alterungsindikatoren ausmachten und traten im Fall der natürlichen Alterung dominanter auf als bei der forcierten Alterung. In den natürlich gealterten Bieren war auch zu den Sauerstoffindikatoren ein entsprechender Zusammenhang zu finden. Diese Zusammenhänge belegen eine antioxidative Wirkung der Polyphenole, stehen jedoch im Widerspruch zu der gleichzeitig feststellbaren Verschlechterung der Lagtime und der Radikalgenerierung. Die ESR-Messung unterscheidet sich von der natürlichen und forcierten Alterung durch erhöhte Temperaturen und höhere Sauerstoffbelastungen. Die pro- und antioxidative Aktivität der Polyphenole ist damit anscheinend von den Rahmenparametern der Alterung abhängig.

Die Flavanoide der Würze und das Reduktionsvermögen mittels DPI wiesen dagegen signifikante positive Korrelationen zu den Sauerstoffindikatoren der frischen Biere auf. Damit wird eine prooxidative Wirkung bereits im Brauprozess belegt. In den natürlich gealterten Bieren schien sich der Trend allerdings wieder umzukehren.

Bemerkenswert ist außerdem, dass sich die Lagtime der Würze vorteilhaft auf die Wärmeindikatoren der frischen und die gesamten Alterungsindikatoren der natürlichen gealterten Biere auswirkte. Die Zusammenhänge verhielten sich gleichlaufend zu denen der Polyphenolgehalte.

Bei der Betrachtung der Verkostungsergebnisse der frischen und der gealterten Biere kann festgestellt werden, dass sich die analytisch nachweisbare Schutzwirkung der Polyphenole sensorisch nicht auswirkte. Die Flavanoide bewirkten eine merkliche Verschlechterung der sensorischen Bewertung der forciert gealterten Biere. Das Reduktionsvermögen (DPI) der Würzen wies ebenso eindeutige Korrelationen zur sensorischen Bewertung der Biere nach forcierter Alterung auf. Je höher das Reduktionsvermögen der Würzen, umso schlechter wurden die Biere bewertet.

Um zu überprüfen, inwieweit die dargestellten Zusammenhänge zwischen der Würzequalität und der Stabilität der Biere durch die Wirkung des  $\text{SO}_2$ -Gehaltes beeinflusst wurden, wurden die Biere nach ihrem  $\text{SO}_2$ -Gehalt in Klassen eingeteilt (0 – 2 mg/l, 2 – 4 mg/l, über 4 mg/l; Daten nicht abgebildet). Die Streuungen sämtlicher untersuchter Analysenmerkmale innerhalb einer Klasse waren hierbei um ein vielfaches größer, als die klassenbedingten Unterschiede. Zudem lagen die  $\text{SO}_2$ -Gehalte der meisten Biere unter 5 mg/l. Daraus kann geschlossen werden, dass die dargestellten Zusammenhänge zwischen der Würzequalität und der Stabilität der resultierenden Biere nur in vernachlässigbarem Maße durch den  $\text{SO}_2$ -Gehalt beeinflusst wurden.

### 4.6.2.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die vorliegenden Ergebnisse widerlegen eindeutig die weitverbreitete Annahme, mit dem Reduktionsvermögen (DPI) würden Reduktone und Maillardprodukte

erfasst, die sich positiv auf die Geschmacksstabilität auswirken. Die tatsächlichen Zusammenhänge stellen sich als äußerst komplex dar und können anhand des vorliegenden Datensatzes nicht restlos aufgeklärt werden. Die verschiedenen Stoffgruppen verhalten sich in den einzelnen Prozessschritten unterschiedlich und die Methoden des Reduktionsvermögens kommen in Würze und Bier zu unterschiedlichen Aussagen. Bei vergleichbaren zukünftigen Untersuchungen wird es nötig sein, bereits die Malzqualität mit einzubeziehen.

Anhand dieser Daten kann sicher festgestellt werden, dass das Reduktionsvermögen der Würzen (DPI) möglichst niedrig gehalten werden sollte. Es korreliert mit einer sensorischen Abwertung der resultierenden Biere bei der Alterung. Das Reduktionsvermögen (DPI) wird in Würze anscheinend in erster Linie durch Inhaltsstoffe des Malzes und den Flavanoidgehalt der Würzen geprägt. Unklar bleibt, wodurch der Flavanoidgehalt der Würze vorrangig geprägt wird (hopfen- oder malzseitig) und wie groß der Einfluss der Maillardprodukte auf das Reduktionsvermögen der Würze und auf die Geschmacksstabilität ist. Das Reduktionsvermögen (DPPH) der Würze wird nicht durch Polyphenole beeinflusst, korreliert aber mit dem Reduktionsvermögen (DPI) der resultierenden Biere.

Das Reduktionsvermögen (DPPH) des Bieres wird durch den Anthocyanogehalt der Würze bestimmt, der sich zumindest analytisch positiv auswirkt. Das Reduktionsvermögen (DPI) des Bieres korreliert negativ mit der Lagtime und den Polyphenolgehalten der Würze und positiv mit dem Reduktionsvermögen (DPPH) der Würze. Es führt zu einer analytischen Verschlechterung der Sauerstoffindikatoren in den resultierenden Bieren. Hier findet sich möglicherweise ein erster Hinweis auf die Melanoidine. Diese Zusammenhänge könnten die Zerstörung der Polyphenole und gleichzeitig die Bildung von Melanoidinen durch thermische Prozesse widerspiegeln.

Das Reduktionsvermögen mittels DPI und mittels DPPH stellen sich als jeweils unabhängige Methoden dar. Beide Methoden besitzen in Würze und in Bier unterschiedliche Aussagen. Die Festlegung der ‚Reduktionsvermögen‘ geschieht nicht durch bestimmte Inhaltsstoffe der Probenmatrix sondern im vorangegangenen Prozessschritt. Die Einflussgrößen für das Reduktionsvermögen (DPPH und DPI) der Würze liegen vorrangig in der Malzqualität und im Maischprozess und konnten nicht vollständig aufgeklärt werden. Ergebnisse anderer Versuche deuten darauf hin, dass das

Reduktionsvermögen (DPPH) durch Maillardprodukte (vgl. 4.2.1.3) und das Reduktionsvermögen (DPI) durch bestimmte Polyphenole (vgl. 4.1.3) beeinflusst werden. Im letzteren Fall stehen unter anderem die Flavanoide unter Verdacht. Durch das sowohl pro- als auch antioxidative Verhalten der Polyphenole sowie die wahrscheinliche Beteiligung der Polyphenole an der Maillardreaktion werden hier sichere Differenzierungen erschwert.

Bei der Bewertung dieser Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass der Probenumfang im Verhältnis zur Anzahl der variierenden Probenparameter immer noch klein war, und somit die Chance, unscharfe (multivariable) Zusammenhänge nachzuweisen, sehr gering ist. Eine Wiederholung dieser Untersuchung mit einer deutlich höheren Anzahl an Würzproben würde vermutlich ein klareres Bild zutage treten lassen.

Bezüglich der Stabilität der resultierenden Biere stellen sich die Polyphenole widersprüchlich dar. So wird zum Beispiel die chemische Stabilität der Biere nach der ESR-Analytik negativ und nach der Aromastoffanalytik positiv beeinflusst. Sensorisch wirken sich nur die Flavanoide aus. Ihr Gehalt in der Würze korreliert mit einer Abwertung der forcierten Biere. Im Bier zeigen die Tannoide nach der Analytik der Alterungskomponenten ein prooxidatives Verhalten.

### **4.6.3 Korrelationen von Analysenmerkmalen der Biere zu deren chemischer und sensorischer Stabilität**

Die Korrelationskoeffizienten der Qualitätsmerkmale der untersuchten Biere sind im Anhang in Tabelle A\_ 44 dargestellt. Wegen des großen Umfangs der Daten werden im Folgenden nur die wichtigsten Zusammenhänge dargestellt.

### 4.6.3.1 Einfluss der Polyphenole

Die Anthocyanogene konnten wegen des immensen Analysenaufwandes und Engpässen im Labor nicht in allen Bieren bestimmt werden. Gesamtpolyphenole und Flavanoide korrelierten in den untersuchten Bieren gut. Die Tannoide zeigten einen Zusammenhang mit den Flavanoiden, was darin begründet sein kann, dass letztere als die Vorstufe der Tannoide gelten können. Die Gesamtpolyphenole zeigten positive Zusammenhänge zur DPPH-Messung und einen negativen Zusammenhang zur Lagtime. Weitere Zusammenhänge zwischen phenolischen Substanzen und den Analysemethoden des Reduktionsvermögens und der chemischen Stabilität konnten nicht nachgewiesen werden. Die Flavanoide korrelierten positiv mit den Wärmeindikatoren (2-Furfural und  $\gamma$ -Nonalacton) und der DLG-Note der frischen Biere. In den natürlich gealterten Bieren verminderten sich die gesamten Alterungsindikatoren mit steigenden Gehalten an Flavanoiden und Gesamtpolyphenolen, was sich allerdings sensorisch nicht auswirkte. Die prooxidative Wirkung der Flavanoide schien auf das Sudhaus beschränkt zu sein. Allerdings korrelierten die Flavanoide ebenfalls mit der Verminderung der DLG-Note bei der Alterung ( $\Delta$ -DLG). Die Tannoide korrelierten dagegen mit einer Zunahme der Alterungsindikatoren und wirkten somit eindeutig prooxidativ, was sich ebenfalls nicht auf die Sensorik auswirkte. Hierbei bleibt offen, ob es sich um eine direkte Wirkung handelte, oder ob die Tannoide im Bier z.B. die Wirkung der Flavanoide in der Würze widerspiegeln.

### 4.6.3.2 Einfluss des SO<sub>2</sub>-Gehalts und des Hefestamms

Der SO<sub>2</sub>-Gehalt spiegelte sich in Übereinstimmung mit Forster et al (Forster et al. 1999) in der Lagtime und der Radikalgenerierung wider und wirkte sich eindeutig positiv auf die Sensorik der forciert gealterten Biere aus. Die gaschromatographischen Analysen waren nicht in der Lage, dieses Ergebnis widerzuspiegeln. In den natürlich gealterten Bieren konnte keine Wirkung des SO<sub>2</sub> mehr festgestellt werden. SO<sub>2</sub> wirkt anscheinend vor allem bei starker Sauerstoffbelastung (Dörr 2003) (oxidativer Forciertest am ESR) sowie bei erhöhten Temperaturen und kurzen Lagerzeiten (Forciertest, ESR). Eine weitere

Erklärung dafür ist, dass die meisten Biere nur geringe SO<sub>2</sub>-Gehalte aufwiesen, die vermutlich rasch aufgezehrt wurden. Die Zusammenhänge zwischen SO<sub>2</sub>-Gehalt und Ethanolgehalt, höheren Alkoholen, linearen Alkoholen und Fettsäureestern waren vermutlich in den bekannten Abhängigkeiten von den Gärparametern und der Hefequalität begründet.

Von einigen Brauereien konnte der Hefestamm in Erfahrung und in Zusammenhang mit dem SO<sub>2</sub>-Gehalt gebracht werden, wie in Abbildung 54 dargestellt ist. Eine weitere signifikante Einflussgröße des SO<sub>2</sub>-Gehaltes war im Rahmen der erhobenen Daten der Extraktgehalt der Anstellwürze (vgl. Anhang, Tabelle A\_ 41).

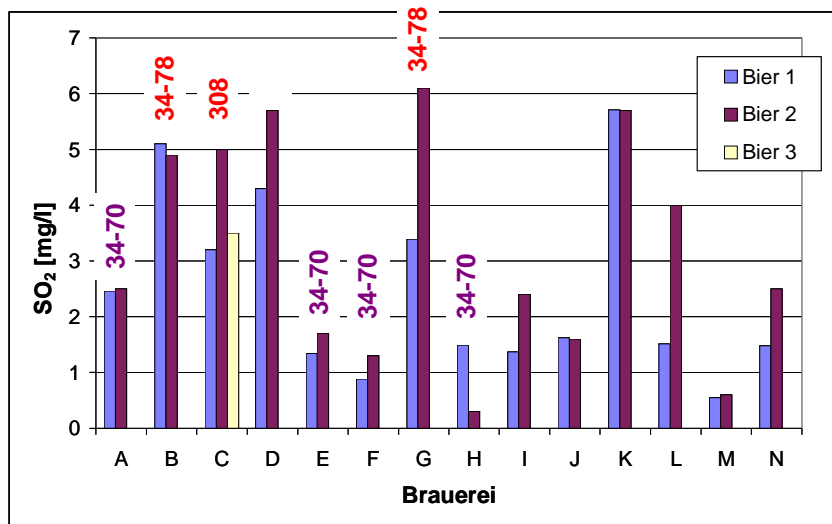


Abbildung 54: SO<sub>2</sub>-Gehalt der Biere in Abhängigkeit vom Hefestamm und von der Brauerei.

Die SO<sub>2</sub>-Gehalte unterschiedlicher Sorten der selben Brauerei lagen in den meisten Fällen auf einem ähnlichen Niveau. Das Niveau der SO<sub>2</sub>-Bildung wurde in der Praxis anscheinend in erster Linie durch den Hefestamm festgelegt. Hierbei fiel der vielfach verwendete Stamm 34/70 durch äußerst geringe Gehalte auf.

#### 4.6.3.3 Bedeutung des Reduktionsvermögens

Das Reduktionsvermögen (DPI) zeigte wie erwartet wiederum positive Korrelationen zu den Sauerstoffindikatoren. Die DPPH-Messungen spiegelten die Polyphenolgehalte im Bier (geprägt durch den Anthocyanogehalt der Würzen)



wider und zeigten positive Zusammenhänge zum Hopfenaroma. Das Hopfenaroma wies allerdings keinen Zusammenhang zu den phenolischen Fraktionen auf. Neben den Anthocyanogenen der Würze schien das Reduktionsvermögen (DPPH) folglich durch Hopfeninhaltsstoffe geprägt zu werden, die nicht zu den Polyphenolen gehörten. Dieses Ergebnis stimmte mit den Erkenntnissen aus den Versuchen zur Hopfengabe (vgl. 4.2.2.1) überein.

### 4.6.3.4 Beeinflussung der Sensorik durch Eisenionen

Unter den Metallionen zeigte das Eisen eine positive Korrelation zur Radikalgenerierung und eine entsprechende Tendenz zur sensorischen Bewertung. Entgegen der Erwartung wirkte sich Eisen nach erfolgter natürlicher Alterung positiv auf die sensorische Bewertung der gealterten Biere aus. Da die Alterungsindikatoren dieses Ergebnis nicht widerspiegeln, liegt die Ursache möglicherweise nicht im Bereich einer pro- oder antioxidativen Wirkung. Der Effekt muss auf einer Beeinflussung anderer Inhaltsstoffe oder auf einer Veränderung der Geschmacksmatrix beruhen. Letzteres ist aufgrund des Zusammenhangs zwischen der geschmacklichen Harmonie der Biere und der Alterungsakzeptanz wahrscheinlich. Die vorhandenen Daten der Marktanalyse lassen allerdings keine Rekonstruktion des genauen Zusammenhangs zu.

### 4.6.3.5 Zusammenhänge zur sensorischen Bewertung

Die sensorische Bewertung der Biere (frisch und gealtert) korrelierte mit den folgenden Inhaltsstoffen: Flavanoide,  $\text{SO}_2$ , Lagtime, Eisenionen, Ethanolgehalt, Höhere Alkohole, Ester, Acetaldehyd, lineare Alkohole, Fettsäureester, Fettsäuren, Hopfenaroma. Auf die sensorische Bewertung der natürlich gealterten Biere wirkte sich nur noch der Gehalt an Eisenionen aus. Wegen des gegenläufigen Trends bei erhöhten Temperaturen (forcierte Alterung und Radikalgenerierung) kann dieses Ergebnis nicht auf eine reale Alterung übertragen werden. Außerdem korrelierte die DLG-Note der frischen Biere signifikant negativ mit der Geschmacksstabilität natürlich gealterter Biere. D.h.

Biere, die in frischem Zustand besser bewertet wurden, altern überproportional stärker.

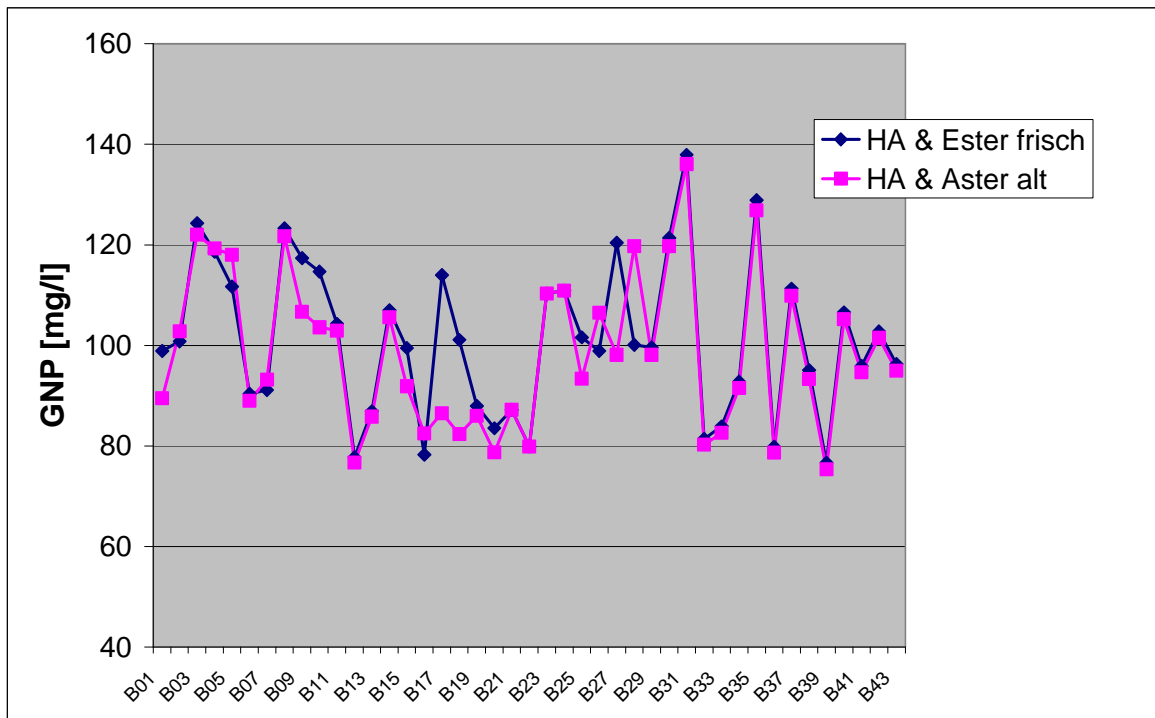
### 4.6.3.6 Analytische Bestimmung und Vorhersage der Geschmacksstabilität

Die sensorische Bewertung natürlich gealterter Biere konnte mittels der Analytik der Alterungsindikatoren nicht beschrieben und nicht vorhergesagt werden. Auch die Verkostung forciert gealterter Biere lieferte keinen Hinweis auf die Qualität der Biere nach natürlicher Alterung. Alterungsindikatoren und Lagtime korrelierten nur innerhalb der forcierten Biere gut mit der Sensorik. Der Zusammenhang der DLG-Note war wegen des gegenläufigen Trends bei erhöhten Temperaturen (in den forcierten Bieren) nicht geeignet. Eine Vorhersagemöglichkeit verbleibt dennoch: Die sensorische Bewertung der natürlich gealterten Biere, und damit die Geschmacksstabilität, korrelierte mit dem Delta (frisch – forciert) der Sauerstoffindikatoren. Einen vergleichbaren Zusammenhang konnte bereits FRANZ nachweisen (Franz 2004). EICHHORN stellte in einer Marktanalyse Zusammenhänge zwischen der Sensorik natürlich gealterter Biere und der Konzentrationen an Nikotinsäureethylester, 2-Furfural, 3-Methylbutanal und 2-Phenylethanal fest (Eichhorn 1991). Die bereits diskutierten Zusammenhänge des Reduktionsvermögens (DPI) und des Flavanoidgehalts der Würze zur Geschmacksstabilität könnten ebenfalls zur Vorhersage herangezogen werden.

### 4.6.3.7 Bedeutung maskierender Effekte

Maskierende Effekte bestätigten sich nur im Fall der forcierten Alterung. Wie oben bereits zusammengefasst wurde, erscheinen Biere mit höheren Gehalten an höheren Alkoholen und Estern, mit höheren Konzentrationen an Hopfenaromastoffen oder mit besserer Bewertung im frischen Zustand gegenüber der forcierten Alterung sensorisch stabiler, was in Übereinstimmung mit Literaturangaben als Beleg für die vermuteten maskierenden Effekte aufgefasst werden kann. Allerdings gehen diese Effekte im Fall der natürlichen Alterung verloren oder kehren sich wie im Fall der DLG-Note sogar um. Die Gärungsnebenprodukte korrelierten neben der Sensorik auch mit dem SO<sub>2</sub>-Gehalt

und der Lagtime, so dass anhand der vorliegenden Daten nicht entschieden werden kann, welcher Zusammenhang ursächlich und welcher sekundär ist. Ein merklicher Abbau der Aromastoffe kommt nicht in Frage, um den Verlust des maskierenden Effektes bei der natürlichen Alterung zu erklären, wie in Abbildung 55 und Abbildung 56 anhand der höheren Alkohole und Ester und anhand des Linalool dargestellt ist.



**Abbildung 55: Höhere Alkohole und Ester in den frischen und in den natürlich gealterten Bieren.**

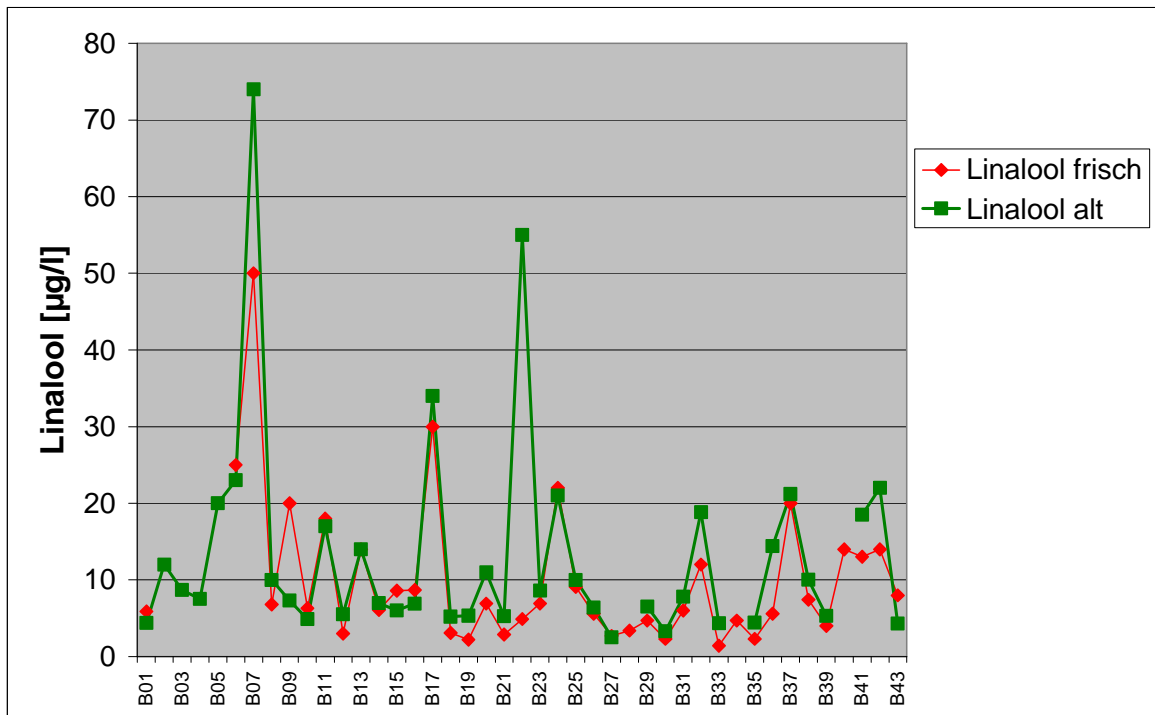


Abbildung 56: Linaloolgehalt der frischen und der natürlich gealterten Biere.

Bei einem Großteil der Biere lagen die dargestellten Konzentrationen der frischen und gealterten Biere auf dem selben Niveau. Da die Bedingungen bei der Alterung sämtlicher Biere identisch waren, konnte davon ausgegangen werden, dass es sich bei den wenigen Abweichungen um Messfehler handelte.

#### 4.6.3.8 Auswirkung der Stabilisierung

Im Folgenden wurden die Auswirkungen der Stabilisierung untersucht. Die Proben wurden hierfür nach der Art der Stabilisierung in Klassen unterteilt (siehe Anhang, Tabelle A\_ 45). Klasse 1 steht hierbei für eine polyphenolseitige Stabilisierung, Klasse 2 für eine eiweißseitige Stabilisierung und Klasse 3 für eine kombiniert polyphenol- und eiweißseitige Stabilisierung. Unstabilisierte Biere standen nicht zur Verfügung und die PVPP-Dosagen lagen weitgehend auf einem vergleichbaren Niveau. Die deutlichsten Abweichungen zwischen den Klassen wurden bei den Merkmalen Lagtime, Sauerstoffindikatoren nach forcierter Alterung und Akzeptanz nach natürlicher Alterung gefunden (siehe Anhang, Abbildung A\_ 21 bis Abbildung A\_ 23).

Tendenziell scheinen Biere, die sowohl polyphenol-, als auch eiweißseitig stabilisiert wurden, bezüglich ihrer Stabilität sowohl analytisch als auch sensorisch etwas besser abzuschneiden, als nur einseitig stabilisierte Biere. Die Daten lassen jedoch keinen Schluss auf die sensorische Stabilität unstabilisierter Biere zu. Am Lehrstuhl stand leider keine geeignete Anlage zur Verfügung, die Stabilisierungsversuche ohne nennenswerten Sauerstoffeintrag zugelassen hätte. Allerdings korrelierten die Tannoidgehalte der Biere im Gegensatz zu den anderen Polyphenolfractionen mit einer analytischen Verschlechterung der Geschmacksstabilität der natürlich gealterten Biere, was auf einen positiven Effekt der Stabilisierung hindeutet. Nach BUSHNELL et al. hat die Stabilisierung keinen signifikanten Einfluss auf die Geschmacksstabilität (Bushnell et al. 2003). Bei der Verwendung von PVPP schnitten unstabilisierte Biere in Abwesenheit einer Sauerstoffbelastung besser ab; unter Sauerstoffbelastung waren stabilisierte Biere besser.

### 4.6.3.9 Diskussion und Zusammenfassung

Die Wirkung reduzierender Inhaltstoffe stellt sich in der Marktanalyse oft indifferent und teilweise widersprüchlich dar. Die pro- oder antioxidative Wirkung (bestimmt mittels Alterungsindikatoren, Lagtime und Radikalgenerierung) stimmt in vielen Fällen nicht mit der sensorischen Bewertung überein. Mögliche Erklärungen hierfür sind die im vorangegangenen Kapitel bereits aufgezeigten Defizite der Analytik sowie die Möglichkeit eines unmittelbaren Geschmacksbeitrages von Polyphenolen und Maillardprodukten, der sich nicht gleichlaufend mit einer pro- oder antioxidativen Wirkung verhält.

Stark vereinfacht kann die Situation wie folgt dargestellt werden: Flavanoide wirken im Brauprozess prooxidativ. Bei der Alterung des Bieres wirken Gesamtpolyphenole (Anthocyanogene) und Flavanoide antioxidativ, wohingegen Tannoide und Melanoidine (Reduktionsvermögen mittels DPI der Biere) prooxidativ wirken.

Eine beidseitige Stabilisierung (polyphenol- und eiweißseitig) wirkt sich im Gegensatz zur einseitigen Stabilisierung nach den vorliegenden Ergebnissen positiv auf die Geschmacksstabilität aus.

Das einzige Antioxidans, das sich eindeutig positiv auf die Sensorik gealterter Biere auswirkt ist das Schwefeldioxid. Mit langen Lagerzeiten nivelliert sich die Wirkung allerdings. Im (zeitlich kurzen) Forciertest waren im Bier vermutlich noch ausreichend wirksame  $\text{SO}_2$ -Konzentrationen vorhanden. Seine Wirkung im Forciertest wird durch die Lagtimemessung belegt, die ja ebenfalls einen Forciertest darstellt. Im Verlauf der natürlichen Alterung wurde das  $\text{SO}_2$  vermutlich bereits deutlich vor dem Verkostungszeitpunkt durch eindiffundierenden Sauerstoff aufgezehrt, so dass der Schutz in Folge dessen relativ zügig verloren ging und das Bier rasch zu altern begann. Da der überwiegende Teil der untersuchten Biere sehr niedrige  $\text{SO}_2$ -Gehalte aufwies, war die Wirkung des  $\text{SO}_2$  bei der natürlichen Alterung in diesem Datensatz vermutlich nicht mehr signifikant nachzuweisen. Der  $\text{SO}_2$ -Gehalt hängt in der Praxis in erster Linie vom Hefestamm und von der Stammwürze ab.

Bemerkenswert ist die ambivalente Beeinflussung der Sensorik gealterter Biere durch Eisenionen. Da die Alterungsindikatoren dabei nicht beeinflusst werden und die ESR-Analytik eine prooxidative Wirkung aufzeigt, dominiert hier möglicherweise ein direkter Geschmacksbeitrag der Metallionen gegenüber einer pro- oder antioxidativen Wirkung. Eine eindeutige positive Wirkung von Eisenionen auf die Sensorik kann wegen des widersprüchlichen Verhaltens in Abhängigkeit von den Lagerbedingungen ausgeschlossen werden.

Die Bieraromastoffe sind im Verlauf der Alterung keinem merklichen Abbau unterworfen. Dennoch können maskierende Effekte nur für den Fall der forcierten Alterung nachgewiesen werden. Bei natürlicher Alterung zeigen sie keine Wirkung. Biere die in frischem Zustand besser bewertet werden, altern tendentiell sogar stärker. Die vorliegenden Ergebnisse stellen die Bedeutung maskierender Effekte stark in Frage. Vermutlich spielen sie nur in der Anfangsphase der Alterung eine bedeutsame Rolle und können ein deutlich ausgeprägtes Alterungsaroma nicht mehr überdecken. Möglicherweise ist der Zusammenhang auch zufällig (sekundär) und beruht auf anderen Einflüssen, die durch die selben Parameter bedingt werden. Die Gehalte vieler Bieraromastoffe werden z. B. als Gärungsnebenprodukte parallel zu vielen anderen Mechanismen durch die Anstellparameter und die Hefevitalität beeinflusst, so dass kaum nachvollzogen werden kann, wodurch eine messbare Wirkung unmittelbar verursacht wird. Anhand dieser Überlegungen tritt erneut das  $\text{SO}_2$  als mögliche wirksame Spezies

in den Vordergrund. Entsprechend korrelieren die Gehalte an höheren Alkoholen und Estern auch mit dem SO<sub>2</sub>-Gehalt.

Die forcierte und die natürliche Alterung bringen meist unterschiedliche und in manchen Fällen sogar gegenläufige Abhängigkeiten hervor und sind somit nicht miteinander zu vergleichen. Wegen der Möglichkeit der Kombination von höheren Temperaturen und langen Lagerzeiten bei realen Alterungsprozessen, kann hierfür ein gemischtes bzw. additives Auftreten der Zusammenhänge vermutet werden. Grundsätzlich verhalten sich auch die sensorische Bewertung der Biere und die Analytik (ESR und GC) in den meisten Fällen nicht gleichlaufend. Die einzige Methode, die eine Vorhersage der Geschmacksstabilität erlaubt ist nach den vorliegenden Ergebnissen das  $\Delta SI$  (frisch – forciert).

Die anhand dieser Daten offensichtlichen Abweichungen von Analytik und Sensorik sind ein Beweis dafür, dass die zur Verfügung stehenden analytischen Methoden noch lange nicht geeignet sind, Aroma und Geschmack des Bieres sowie deren Veränderungen vollkommen umfassend zu beschreiben. Obwohl HERRMANN in Zugaberversuchen bereits einen Aromabeitrag der Alterungsindikatoren nachweisen konnte (Herrmann 2008; Herrmann et al. 2008), ist die bestehende GC-Analytik noch nicht in der Lage, den tatsächlichen Aromaeindruck zu beschreiben.

Bei der Bewertung der vorliegenden Ergebnisse muss der multifaktorielle Versuchsansatz berücksichtigt werden. Zusammenhänge, die in diesem Versuchsansatz nicht nachgewiesen werden können, haben unter Umständen innerhalb einer technologischen Versuchsreihe oder Brauerei durchaus ihre Gültigkeit. Sie sind allerdings nicht allgemein übertragbar und somit nicht für den Vergleich von Brauereien und die Bewertung technologischer Konzepte geeignet. Auch ist die Gültigkeit dieser Ergebnisse auf helle untergärige Biere und die angewandten Lagerungsbedingungen eingeschränkt. Bereits die hier dokumentierten Unterschiede zwischen forciert und natürlich gealterten Bieren machen das deutlich. Eine neue Auswertung der Daten der von FRANZ 2004 durchgeführten Marktanalyse (Franz 2004) ergab beispielsweise zwischen der Radikalgenerierung der frischen und der Akzeptanz der natürlich gealterten Biere (3 Monate) einen Korrelationskoeffizienten  $r$  von -0,41 ( $N = 40$ ;  $\alpha \leq 0,05$ ) (Wurzbacher and Back 2007), während in der vorliegenden Untersuchung ein

vergleichbarer Zusammenhang nur zu den forciert gealterten Bieren gefunden werden konnte (Lagtime signifikant, Radikalgenerierung nicht signifikant). Der Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen (DPPH) und dem Gehalt an Anthocyanogenen wies in der Marktanalyse von 2004 einen Korrelationskoeffizienten  $r$  von 0,88 auf, während er in der aktuellen Studie lediglich 0,49 betrug. Mit der Alterungsakzeptanz der natürlich gealterten Proben wies das Reduktionsvermögen (DPI) 2004 einen signifikanten, negativen Korrelationskoeffizienten  $r$  von  $-0,36$  auf, wohingegen in den Daten von 2007 kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden konnte. Als Ursache können unterschiedliche Lagerungsbedingungen sowie erntebedingt variierende Rohstoffqualitäten vermutet werden. Um die Ergebnisse weiter abzusichern, sollte diese Untersuchung folglich über mehrere Jahre in Folge wiederholt werden.



## **5 Diskussion und Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen aller Versuche**

Ausgangspunkt der Untersuchungen waren Abweichungen und starke Unschärfen beim Vergleich verschiedener Brauereien zwischen der Analytik (Lagtime, Reduktionsvermögen und Alterungsindikatoren) und der sensorisch bestimmbar, tatsächlichen Geschmacksstabilität. Eine Literaturrecherche brachte zudem teilweise widersprüchliche Berichte zur Wirkungsweise von antioxidativen Inhaltsstoffen des Bieres hervor. Durch diese Erfahrungen und Berichte wurde das bestehende Verständnis der Geschmacksstabilität stark in Frage gestellt. In zahlreichen vorhandenen Untersuchungen war die Geschmacksstabilität zudem nicht sensorisch, sondern nur analytisch bestimmt worden, was deren Aussagekraft minderte. Gleichzeitig wurden Versuche dokumentiert, in denen technologische Maßnahmen zu einer gleichzeitigen Verschlechterung der analytischen und einer Verbesserung der tatsächlichen Geschmackstabilität führten.

Ausgehend von dieser Situation untersucht diese Arbeit die Einflüsse antioxidativer Inhaltsstoffe auf die Geschmacksstabilität neu und durchleuchtet dabei die Zusammenhänge zwischen antioxidativer Aktivität, Geschmacksstabilität und Analytik. Hierfür wurden einige der vorhandenen Analysemethoden weiterentwickelt sowie ein neuer empirischer und soweit wie möglich differenzierter Untersuchungsansatz gewählt. Das theoretische Verständnis der bei der Alterung ablaufenden Prozesse sowie der Geschmacksstabilität und ihrer Einflussgrößen konnte anhand der Ergebnisse verfeinert werden.

## **5.1 Schlussfolgerungen zur Analytik der antioxidativen Aktivität und zur sensorischen Bestimmung der Geschmacksstabilität**

### **5.1.1 Der Versuchsansatz zur Untersuchung von Reduktionsvermögen, antioxidativer Aktivität und Geschmacksstabilität**

Die Geschmacksstabilität hängt von einer Vielzahl von Parametern ab und ist somit ein multifaktorielles Problem, was beim Versuchsansatz besonders berücksichtigt werden muss. Für jeden technologischen Versuch gilt, dass nur die Wirkung variiertes Parameter nachgewiesen werden kann. Die Ergebnisse sind entsprechend nur für diesen Versuch gültig und können vermeintlich widersprüchliche Wirkungen anderer (im Versuch nicht variiertes) Parameter nicht ausschließen. Innerhalb einer Brauerei oder Versuchsreihe entsprechen die Proben abhängigen Zufallsvariablen und ein Großteil der Parameter bleibt konstant. Die Ergebnisse spiegeln deshalb nur die Auswirkung des variierten Parameters und den Blickwinkel des Forschers wider, lassen aber keinen allgemeingültigen Schluss auf die Bedeutung des untersuchten Zusammenhangs für den gesamten Brauprozess zu. Die Ergebnisse sind damit nur für den konkreten Versuchsaufbau bzw. die untersuchte Brauerei gültig. Abgeschlossene Versuchsreihen mit wenigen variierten Parametern sind deshalb ungeeignet, multifaktorielle Zusammenhänge wie die der Geschmacksstabilität zu durchleuchten. In dieser Problematik ist das Versagen der Analytik beim Vergleich verschiedener Brauereien und bei der Vorhersage der Geschmacksstabilität begründet. Bei Zugaberversuchen ergibt sich zusätzlich das Problem, dass die Wirkung der Zugabe einer Substanz ungleich der Wirkung einer technologischen Erhöhung ihres Gehaltes ist. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Problematik durch den empirischen Ansatz der Marktanalyse gelöst. Gegenüber vorangegangenen Arbeiten, in denen bereits verschiedene Brauereien verglichen wurden (Eichhorn 1991; Forster et al. 1999; Franz 2004), wurden in der vorliegenden Arbeit die Würzequalität und technologische Parameter des Brauprozesses soweit wie möglich mit einbezogen.

Durch die Verknüpfung der gewonnenen Ergebnisse mit der ausgewerteten Literatur kann ein neues gedankliches Modell der antioxidativen Aktivität

aufgestellt werden, dass bei der Durchführung von Versuchen und der Interpretation der Ergebnisse richtungsweisend ist: Eine reduzierende Substanz neigt zur Elektronenabgabe, wobei sie selbst eine Reaktion eingeht und sich verändert. D.h. eine aktive, reduzierende Substanz ist immer reaktiv und damit niemals stabil. Dieses einfache Gedankenexperiment widerlegt die in der Fachliteratur oft angewendete Gleichsetzung der Begriffe: Reduktionskraft des Bieres = Antioxidative Aktivität des Bieres = Geschmacksstabilität.

Ein Stoff mit einer hohen Reduktionskraft kann also ein höheres System vor der Oxidation bewahren, wird dabei aber selbst oxidiert. Für das Bier bedeutet das, dass die Stabilität zwar durch die Reduktionskraft einzelner antioxidativer (nicht wertgebender, d. h. sensorisch, optisch und ernährungs-physiologisch irrelevanter) Inhaltsstoffe gesteigert werden kann. Diese Definition eines endogenen Antioxidans trifft im Bier nur auf das Schwefeldioxid zu. Die analytisch feststellbare Reduktionskraft des Bieres als Summengröße korreliert dagegen oft negativ mit der Stabilität. Die Reduktionskraft des Bieres ist weniger ein Schutzmechanismus, als vielmehr eine zu schützende und nach Möglichkeit zu erhaltende wertgebende Eigenschaft bzw. ein Qualitätsmerkmal des Bieres.

Eine zweite Erkenntnis die nahe legt, dass die bisherige Vorstellung von der antioxidativen Aktivität des Bieres revidiert werden muss, ist die Tatsache, dass es sich bei der Aktivierung des Sauerstoffs zu reaktiven Spezies um einen reduktiven, und nicht um einen oxidativen Vorgang handelt. Das bedeutet, dass jede reduzierende Substanz, und damit auch jedes Antioxidans, potentiell dazu in der Lage ist, Sauerstoff zu reduzieren und zu aktivieren. In dieser Fähigkeit sind die prooxidativen Wirkungen der Reduktone unter bestimmten Bedingungen begründet.

Ein weiterer Punkt in dem umgedacht werden muss, ist die in dieser Arbeit gewonnene Erkenntnis, dass auch die analytisch feststellbare chemische Stabilität des Bieres nicht immer mit der sensorischen Stabilität korreliert.

Die Begriffe Reduktionskraft, antioxidative Aktivität, chemische Stabilität und Geschmacksstabilität dürfen folglich nicht gleichgesetzt werden. Eine starke Reduktionskraft wirkt sich ganz grundsätzlich nicht immer positiv auf die Geschmacksstabilität aus. Das Reduktionsvermögen wird von verschiedensten Parametern beeinflusst. Je nach Ursache und Prozessschritt kann sich eine

Erhöhung des Reduktionsvermögens positiv oder negativ auf die resultierende chemische Stabilität und Geschmacksstabilität auswirken.

Als Leitlinie für Untersuchungen der antioxidativen Aktivität einer Substanz (z.B. Polyphenol) oder eines Substrates (z.B. Sauergut) und ihres Einflusses auf die Geschmacksstabilität des Bieres können die folgenden Schritte postuliert werden:

- 1) Test der Reduktionskraft der Probe *in vitro*.
- 2) Test der antioxidativen Wirkung durch Zugabe der Probe zum Produkt / Prozess.
- 3) Test der antioxidativen Wirkung und Validierung der Nebenwirkungen einer Konzentrationserhöhung durch technologische Maßnahmen.
- 4) Empirische Herangehensweise: Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Konzentration der Probe (Substanz) im Prozess und der chemischen Stabilität sowie der Geschmacksstabilität in einer großen, unabhängigen Stichprobenanzahl.

Bei 2) und 3) ist jeweils die Wirkung im Prozessschritt und im resultierenden Bier zu bestimmen. Diese können voneinander abweichen.

Falls in allen vier Stufen ein positives Ergebnis erreicht wird, ist die antioxidative Wirkung belegt. Ein alleiniges Ergebnis aus 4), hat ohne die vorangegangenen Stufen nur eingeschränkte Aussagekraft, da es sich um einen nicht kausalen bzw. „zufälligen“ Zusammenhang handeln kann. Da der Einfluss von Sulfid sehr dominant ist, muss dessen Bildung bei der Untersuchung anderer Parameter stets soweit wie möglich unterdrückt werden, sowie das Ergebnis dementsprechend statistisch geprüft werden.

In zukünftigen, weiterführenden Marktanalysen sollte des Weiteren der gesamte Prozess bis hin zur Malzqualität mit einbezogen werden.

### 5.1.2 Sensorische Veränderungen im Verlauf der Alterung

Die aufgenommenen Alterungsverläufe offenbaren, dass die sensorischen Veränderungen bei der Alterung des Bieres nicht annähernd linear mit der

Lagerzeit fortschreiten. Mit dem Verschwinden unangenehmer Aromaeindrücke werden Biere mit zunehmender Alterung in manchen Fällen sogar wieder besser bewertet. Innerhalb der ersten vier bis sechs Wochen der Alterung fallen alle Biere schnell auf ein für sie typisches Qualitätsniveau ab, das dann über den weiteren Alterungsverlauf hin grob gehalten wird. Der Kampf um eine höhere Geschmacksstabilität geht also in erster Linie um die Höhe des haltbaren Niveaus und nicht um den Zeitraum bis zur Ausprägung erster deutlicher Veränderungen.

Die Korrelationen von Qualitätsnote, Harmonie und biertypischem Aroma zur Alterungsakzeptanz lassen dabei vermuten, dass die geschmacklichen Veränderungen (Vollmundigkeit, Bittere) und der Verlust des typischen Biercharakters heutzutage wichtiger für die Bewertung gealterter Biere sind, als das Alterungsaroma.

Der festgestellte Einfluss der Eisenionen auf die Sensorik natürlich gealterter Biere ist bemerkenswert. Die Wirkung ist anscheinend unabhängig von Oxidationsreaktionen und kann anhand der vorliegenden Daten nicht aufgeklärt werden. Ein möglicher Erklärungsansatz ist eine Beeinflussung des Geschmacks des Bieres, entweder durch einen direkten Geschmacksbeitrag oder durch Komplexbildung mit Polyphenolen oder Proteinen. Dafür spricht auch, dass sich der Zusammenhang vor allem in der DLG-Note widerspiegelt.

### 5.1.3 Sensorische Bestimmung der Geschmacksstabilität

Wie sich aus den Untersuchungen der Alterungsverläufe ableiten lässt, kann die Geschmacksstabilität mit guter Sicherheit bereits nach vier Wochen natürlicher Lagerung bestimmt werden.

Die Alterung wird hierbei am besten mithilfe einer Profilprüfung erfasst, die basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit noch optimiert werden kann. Die DLG-Verkostung ist zur Beschreibung der Bierqualität ungeeignet und ihr Einsatz in Forschungsarbeiten ist nicht sinnvoll. Da sich der Großteil der Proben nach DLG-Noten nur in der Nachkommastelle unterscheidet und die Skala zudem nicht linear verhält, sind kaum belastbare Aussagen zu gewinnen. Die Alterungsnote nach EICHHORN kann das Stadium der Alterung nicht sicher widerspiegeln. Ein großer Nachteil des EICHHORN-Schemas ist zudem, dass sich die Bewertung schwerpunktmäßig am Alterungsaroma in Geruch und Trunk orientiert.

Veränderungen von Geschmack, Vollmundigkeit, Bittere und Harmonie gehen kaum in die Benotung mit ein. Bei Verwendung einer sinnvollen Qualitätsnote kann auf die Alterungsverkostung verzichtet werden, da sie keine zusätzlichen Informationen einbringt.

Die in dieser Arbeit verwendete Profilprüfung ist zu umfangreich. Merkmale, die keine eindeutige Veränderung zeigen, können zukünftig ausgeschlossen werden. Außerdem sollten Merkmale, die von vielen Verkostern nicht eindeutig differenziert werden können, zusammengefasst werden. Bezüglich der Alterung ist nur deren Veränderung relevant. Der genaue Eindruck kann vom Verkoster unterstrichen bzw. ergänzt werden. Vermutlich ist eine Bewertung von 0 bis 6 oder 7 Punkte ausreichend, da breitere Skalen von den Verkostern erfahrungsgemäß nicht ausgenutzt werden. Auf Basis der Erfahrungen aus dieser Arbeit kann eine vereinfachte Profil- und Alterungsprüfung für helle untergärige Biere wie folgt vorgeschlagen werden:

- Summe Blumig / rosenartig / fruchtig (dominanten Eindruck unterstreichen, keine Unterscheidung nach Ursache, Hopfen oder GNP)
- Summe Zitrusartig / angenehm hopfenwürzig (dominanten Eindruck unterstreichen)
- Frisch / angenehm schweflig
- Biertypisch (höhere Alkohole)
  
- Beerenartig (schw. Johannesbeere)
- Summe Würze- / brot- / honigartig (dominanten Eindruck unterstreichen)
- Cardboard / papierartig
- Summe Heuartig / strohig / spelzig
- Sherryartig / weinartig
- Sonstige (je nach Probentyp, Festlegung durch beschreibende Prüfung, z. B. kokosartig)
  
- Intensität der Bittere
- Qualität der Bittere (angenehm über nachhängend / breit bis adstringent)
- Vollmundigkeit
- Rezenz

- Harmonie (gesamt)
- Qualitätsnote

Die Alterung eines Bier wird durch den Verlust an Harmonie bzw. der Qualitätsnote gegenüber des frischen Bieres bewertet. Um nahe am Schema nach EICHHORN zu bleiben, kann die Harmonie im Ergebnis prozentual bzw. als prozentualer Verlust berechnet werden. Wenn auf die bekannten Attribute nicht ganz verzichtet werden soll, kann das Schema noch um die Alterungsakzeptanz nach EICHHORN ergänzt werden.

### 5.1.4 Analytische Beschreibung und Vorhersage des Alterungsprozesses

Die dokumentierten Veränderungen der Biere im Verlauf der Alterung und die Zusammenhänge zwischen den Sauerstoffindikatoren und der sensorischen Bewertung lassen den Schluss zu, dass die sensorischen Veränderungen bei der Alterung überwiegend durch die Wirkung von Luftsauerstoff (Einträge bei der Abfüllung, Diffusion durch die Compoundmasse des Kronkorkens) bedingt sind. Dementsprechend korreliert die sensorische Bewertung natürlich gealterter Biere mit den Gehalten an Sauerstoffindikatoren und mit der Lagtime. Das Delta der Sauerstoffindikatoren nach forcierter Alterung,  $\Delta SI(\text{frisch} - \text{forciert})$ , stellte sich in dieser Arbeit als die einzige signifikante Vorhersagemöglichkeit der Geschmacksstabilität bei der natürlichen Alterung heraus. Im Datensatz der Marktanalyse 2004 von FRANZ (Franz 2004) wiesen auch die ESR-Analysen der Lagtime und der Radikalgenerierung signifikante Zusammenhänge zur sensorischen Bewertung der natürlich gealterten Biere auf.

Die sensorische Bewertung der forciert gealterten Biere zeigt keinen signifikanten Zusammenhang zur Bewertung der Biere nach dreimonatiger, natürlicher Alterung und ist damit beim Vergleich verschiedener Brauereien nicht geeignet die Geschmacksstabilität zu bewerten. Durch die Wirkung erhöhter Temperaturen, die Unterdrückung lagerzeitabhängiger Veränderungen sowie das Fehlen der Wirkung des durch den Kronkorken diffundierenden Sauerstoffs bildet sich ein anderes Aromaprofil als in den natürlich gealterten Bieren aus. Da im Falle einer *realen* Alterung gerade auch im Sommer sowohl erhöhte Temperaturen als auch

mehrwöchige Transport- und Lagerungszeiträume möglich sind, muss in der Praxis von einem gemischten Auftreten beider Fälle ausgegangen werden. Um die Aussagekraft der forcierten Alterung zu erhöhen, könnte der Forciertest modifiziert werden: Über den Kronkorken könnte z.B. mittels Anstechens durch ein Septum eine definierte Menge an Luft in die Flasche eingebracht werden. Außerdem könnte zur Berücksichtigung der zeitabhängigen Prozesse an die Lagerung im Wärmeschrank noch eine z.B. 5-tägige Lagerung bei Raumtemperatur angeschlossen werden.

Die Grenzen der vorliegenden Untersuchung wurden meist durch die nur beschränkt zur Verfügung stehenden Analysemethoden gesetzt. Für weiterführende Arbeiten wird eine Ausweitung der Analytik um die folgenden Methoden dringend empfohlen:

- Aminosäurespektrum mittels HPLC.
- Qualitative Aufschlüsselung der Proteine nach Molekülgröße.
- Reduktionskraft der SH-Gruppen.
- Verbesserte qualitative Aufschlüsselung der Polyphenole nach Stoffgruppen und Molekülgröße.
- Reduktionspotential gegenüber Metallionen (FRAP).
- Zwischenprodukte der Maillardreaktion (N-Heterocyclen mittels GC-NPD).
- Luft im Flaschenhals.

## **5.2 Schlussfolgerungen zur pro- und antioxidativen Wirkung von Bierinhaltsstoffen und zur Brautechnologie**

Grundsätzlich bergen alle reduzierenden Stoffe das Potential sowohl pro- als auch antioxidativ zu wirken.

### **5.2.1 Verhalten der Maillardprodukte**

Melanoidine waren mit den verfügbaren Methoden nicht direkt messbar. Die TBZ gilt zwar als eine Maßzahl für die Bildung von Maillardprodukten, reagiert aber sehr unspezifisch, u.a. mit Aldehyden, Dioxolanen, Furanen und möglicherweise



mit weiteren Verbindungen, und gilt in den meisten anderen Bereichen der Lebensmitteltechnologie als Maßzahl für die Oxidation eines Lebensmittels. In Anbetracht der Bedeutung von Oxidationsprozessen sowie der Bildung und Ausdampfung von Aldehyden für diese Arbeit ist die TBZ somit zu unspezifisch. Das Reduktionsvermögen (DPI) wird ebenfalls durch die bei der Maillardreaktion gebildeten Reduktone erhöht, aber gleichzeitig auch durch eine Vielzahl weiterer Bierinhaltsstoffe beeinflusst, weshalb es keine geeignete Methode zur Bestimmung des Gehalts an Melanoidine oder ihres Reduktionsvermögens ist

Durch den Darrprozess wird das Reduktionsvermögen von Malz erhöht, wofür bekanntermaßen die Bildung von Melanoidinen und Endiolen verantwortlich ist. Das Einmaischen mit dunklen Malzen und die anteilige Zugabe dunkler Malze zur Schüttung führen gegenüber dem Einmaischen mit hellen Malzen zu erhöhten Oxidationsreaktionen. SPIELDER konnte mithilfe der in dieser Arbeit weiterentwickelten Chemilumineszenzmethode bereits zeigen, dass die Zugabe von Pronyl-L-Lysin, das als funktioneller Bestandteil von Melanoidinen gilt, die Oxidationsreaktionen beim Einmaischen erhöht (Spieleder 2007). Die Röstsubstanzen des Malzes führen auch zu einer Erhöhung des Reduktionsvermögens und der Radikalgenerierung der resultierenden Würzen. Dunkle untergärige Biere weisen in der Regel eine geringere chemische Stabilität auf als helle untergärige Biere derselben Brauerei.

Die Zugabe der Modellsubstanzen Fumarat und Ascorbinsäure (Endiolstruktur) zum fertigen Bier führen zu einer deutlichen Verminderung der chemischen Stabilität, verursacht durch eine starke Promotion der Radikalgenerierung. Die Wirkung stellt sich konzentrationsabhängig dar. Eine antioxidative Wirkung durch die Ausbildung einer Lagtime kann bei Ascorbinsäure nur durch sehr hohe Konzentrationen (< 200 mg/l) und nur für einen begrenzten Zeitraum erreicht werden.

Die Marktanalyse lässt nur wenige Rückschlüsse auf die Wirkung von Maillardprodukten zu, was einerseits in den oben diskutierten analytischen Problemen liegt sowie möglicherweise auch in der Tatsache begründet ist, dass Maillardprodukte innerhalb der Variationsbreite heller Biere nur eine untergeordnete Rolle spielen. Das Reduktionsvermögen (DPI) der fertigen Biere scheint allerdings in hohem Maße durch Maillardprodukte beeinflusst zu werden und wirkte sich in der Marktanalyse im Fall der natürlichen Alterung negativ auf die

Stabilität der Biere aus. LUSTIG konnte bereits einen Anstieg der Alterungsindikatoren und eine Abnahme der Geschmacksstabilität (forciert) mit zunehmender thermischer Belastung bei der Malzbereitung nachweisen (Lustig 1994). SPIELEDER konnte zeigen, dass im Falle einer gewünschten Farbeinstellung heller Biere die Verwendung möglichst geringer Mengen möglichst dunkler Malze im Schüttungsanteil, die nach den Ergebnissen von HASHIMOTO weniger reaktive Gruppen enthalten müssten (Hashimoto 1972), bezüglich der Geschmacksstabilität (forciert) zu bevorzugen ist (Spieleder 2007).

Zusammenfassend kann anhand der gewonnenen Daten festgestellt werden, dass reduzierende Substanzen mit Endiolstruktur, darunter die Maillardprodukte, in sämtlichen Prozessschritten der Bierbereitung das Reduktionsvermögen erhöhen, dabei prooxidativ wirken und die Geschmacksstabilität des Bieres vermindern.

### 5.2.2 Verhalten der Polyphenole

Neben den Melanoidinen stellen die Polyphenole die zweite große Stoffgruppe reduzierender Substanzen dar. Bereits das Reduktionsvermögen des Malzes korreliert mit seinem Polyphenolgehalt. FRANZ konnte bereits in Zugaberversuchen beim Einmaischen die antioxidative Aktivität niedermolekularer Polyphenole mittels Chemilumineszenz nachweisen (Franz 2004). Eine Zugabe von niedermolekularen Polyphenolen beim Einmaischen zeigte in dieser Arbeit eine bis ins fertige Bier feststellbare leichte antioxidative Wirkung. Auch endogene Polyphenole des Malzes vermindern die Oxidationsreaktionen beim Maischen und führen zu einem erhöhten Reduktionsvermögen und einer niedrigeren Radikalgenerierung der resultierenden Würzen. Im weiteren Prozess zeigen Polyphenole je nach Substanzgruppe sowohl pro- als auch antioxidative Wirkungen: Die Zugabe von Gattwasser zum Einmaischen wirkt sich eindeutig prooxidativ aus, wobei die verantwortliche Substanzgruppe mit den zur Verfügung stehenden Analysen nicht identifiziert werden kann. Gattwasser enthält nahezu keine ungebundenen niedermolekularen Polyphenole mehr. Die Flavanoide der Würze scheinen in der Marktanalyse für die Ausprägung einer Lagtime in Würze verantwortlich zu sein, wirken sich aber auf die Sauerstoffindikatoren des frischen Bieres und auf die sensorische Bewertung nach forcierter Alterung negativ aus. Die Anthocyanogehalte (und Gesamtpolyphenole) der Würze korrelieren in der

Marktanalyse mit dem Reduktionsvermögen (DPPH) der Biere, mit einer Verminderung der chemischen Stabilität (Forciertest, ESR) und gleichzeitig einer Verminderung der Alterungsindikatoren bei natürlicher Alterung. Zur Sensorik war kein Zusammenhang nachweisbar. Der Tannoidgehalt der Würzen zeigt keine relevanten Zusammenhänge.

Die Zugabe von monomeren Polyphenolen zum fertigen Bier wirkte sich bei höheren Temperaturen (Forciertest) sensorisch leicht positiv aus. Die chemische Stabilität wird durch die Zugabe von Polyphenolen je nach Substanzgruppe positiv oder negativ beeinflusst. Sämtliche Aktivitäten sind allerdings gering. Die gewonnenen Daten stimmen mit Literaturangaben überein, nach denen vor allem Trihydroxyphenole prooxidativ wirken sollen. Catechin (Dihydroxyphenol) wirkt sich auf die eisenkatalysierte Oxidation von Bierinhaltsstoffen leicht antioxidativ aus, gegenüber Kupferionen kann sowohl eine prooxidative als auch eine antioxidative Wirkung festgestellt werden. Bemerkenswertester Unterschied zu anderen Reduktionen ist, dass Catechin die eisenkatalysierte Radikalgenerierung nicht durch Elektronenübertragung unterstützen kann, weshalb man davon ausgehen kann, dass reduzierte Dihydroxy-Flavanole und damit die meisten Proanthocyanidine bezüglich der chemischen Stabilität und Geschmacksstabilität unkritisch sind.

Die Auswirkungen der Einbringung von Polyphenolen durch den Hopfen stellt sich widersprüchlich dar. Durch eine Hopfengabe werden die Gehalte sämtlicher Fraktionen der Polyphenole erhöht, wobei die Tannoide den größten Teil ausmachen. Das Reduktionsvermögen (DPPH) und die chemische Stabilität der Würzen werden deutlich erhöht, was allerdings nicht auf die Wirkung der eingebrachten phenolischen Inhaltsstoffe zurückgeführt werden konnte, sondern vermutlich auf der Wirkung der Humulone beruht. Die Humulone könnten somit beim Würzekochen und beim anschließenden Belüftungsschritt einen starken antioxidativen Schutz darstellen. Die Erhöhung der Polyphenolgehalte durch die Hopfengabe prägt vor allem das Reduktionsvermögen (DPPH) der Biere, was sich in der Marktanalyse auch durch die Korrelation zwischen DPPH und Hopfenaroma bestätigt.

Zwischen der chemischen Stabilität der Würzen und der Biere kann bei Variation der Hopfengabe kein eindeutiger Zusammenhang festgestellt werden. Dem gegenüber steht die Erfahrung, dass sich Pilsbiere gegenüber den hellen Bieren

derselben Brauerei meist durch eine leicht erhöhte Radikalgenerierung auszeichnen. Das Reduktionsvermögen (DPPH) des Bieres korreliert in der Marktanalyse entsprechend mit einer Verringerung der chemischen Stabilität, wobei allerdings nicht eindeutig differenziert werden kann, ob der Effekt auf Malz- oder Hopfeninhaltsstoffe zurückzuführen ist. Diese Wirkung wäre insofern plausibel, als dass durch die Hopfengabe die Menge reaktiver Substanzen insgesamt erhöht wird. Einer der am häufigsten genannten Precursoren der Alterungscarbonyle ist zudem die Iso- $\alpha$ -Säure (siehe Anhang, Tabelle A\_ 1). Allerdings scheinen die Reaktionsgeschwindigkeiten im Vergleich zu anderen Alterungsprozessen nicht zu dominieren, da sich in der Marktanalyse die Pilsbiere im Mittel nicht in der Summe der Alterungsindikatoren von den Hellen unterscheiden. In Summe ist die Wirkung der Hopfengabe auf die chemische Stabilität des Bieres anscheinend gering. Im Sudhaus ist eine antioxidative Wirkung feststellbar, die sich aber bis ins fertige Bier nivelliert. Aufgrund der negativen Wirkung der Tannoide im fertigen Bier sollte im Falle hoher Hopfengaben immer eine Stabilisierung durchgeführt werden.

Bei der Untersuchung der Alterungsverläufe weisen die stabileren Biere höhere Polyphenolgehalte und einen niedrigeren Polymerisationsindex auf.

In der Marktanalyse korrelieren der Flavanoid- und der Gesamtpolyphenolgehalt der Biere wiederum mit einer Verminderung der Alterungsindikatoren nach natürlicher Alterung, der Flavanoidgehalt zusätzlich mit einer verbesserten Bewertung der frischen Biere. Die Fraktion der Tannoide korreliert dagegen mit einem Anstieg der Alterungsindikatoren bei der natürlichen Alterung, ohne Beeinflussung der Radikalgenerierung. OWADES konnte zeigen, dass sich ein Großteil des vom Bier aufgenommenen Sauerstoffs in den Polyphenolen wiederfindet (Owades and Jakovac 1966). Bei der natürlichen Alterung spiegelt sich das in der Marktanalyse in unterschiedlichen Aromastoffspektren wider, was durch pro- und antioxidative Wirkungen oder durch die Bildung von Degradationsprodukten direkt aus den Polyphenolen erklärt werden könnte. Die Sensorik wird durch diese Prozesse allerdings nicht beeinflusst.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im Rahmen der technologischen Variationsbreite bei hellen untergärigen Bieren ein überwiegend positiver, antioxidativer Einfluss der Polyphenole auf die chemische Stabilität und die Geschmacksstabilität vorhanden ist. Die analytisch nachweisbare Wirkung

wirkt sich im Vergleich zu anderen Einflussgrößen aber nur schwach auf die Sensorik aus. Bei kurzen Lagerzeiten wirken sich Polyphenole durch ihren Geschmacksbeitrag sensorisch anscheinend unmittelbar positiv auf die Bierqualität aus. Unter hohen Sauerstoffbelastungen und bei erhöhten Temperaturen scheinen negative (prooxidative) Einflüsse zu überwiegen.

Als Ursache für die oft widersprüchlichen Ergebnisse können unterschiedliche Einflussnahmen der Polyphenole vermutet werden, zwischen denen meist nicht eindeutig differenziert werden kann: Polyphenole können pro- oder antioxidativ wirken, Polyphenole tragen direkt zum Geschmack bei und beeinflussen so die Bewertung der Biere und Polyphenole nehmen selbst Sauerstoff auf, wobei sie zu diversen Metaboliten degradiert werden (Irwin et al. 1991). Diese Metaboliten können ihrerseits die Sensorik und die Analytik (z.B. Alterungsindikatoren) beeinflussen.

Prooxidative Wirkungen von Polyphenolen liegen in den folgenden Fällen vor: Das Glattwasser enthält prooxidativ wirkende Polyphenole. Trihydroxyphenole wie z. B. die Gallussäure können prooxidativ wirken. Da Gallussäure Bestandteil der Tannine (hydrolysierbare Gerbstoffe, gebundene Polyphenole) ist, könnte darin die Ursache für die prooxidative Wirkung des Glattwassers und einiger Malzpolyphenole liegen. Zum Reduktionsvermögen (DPI) der Würze, das eine prooxidative Wirkung und eine Verminderung der Geschmacksstabilität verursacht, tragen noch nicht näher identifizierte Polyphenole aus dem Malz bei. Im Bier wirken die Tannoide prooxidativ.

Nach den bisherigen Erkenntnissen sollten die Polyphenole im Sudhaus grundsätzlich angereichert und geschont werden, wohingegen im Kaltbereich eine Abtrennung der negativ wirkenden Tannoide angestrebt werden sollte. Die besten Ergebnisse erzielen hierbei Biere, die sowohl eiweißseitig- als auch polyphenolseitig stabilisiert werden.

### 5.2.3 Bedeutung der Thiole

Thiole können bei Zugabe zum Bier als Reduktone sowohl prooxidativ, was in der vorliegenden Arbeit für Cystein bestätigt wurde, als auch antioxidativ wirken, wie bereits FRANZ für Glutathion nachweisen konnte (Franz 2004). Abgesehen davon ist über den Einfluss der Proteine auf die Geschmacksstabilität wenig bekannt.

Proteine tragen als Redoxpuffer durch die Fähigkeit der Ausbildung von Disulfidbrücken vermutlich maßgeblich zur endogenen antioxidativen Aktivität des Bieres bei. Dabei erfolgt die (reduktive) Elektronenabgabe ohne Bildung reaktiver Produkte. Durch ihre Wechselwirkung mit anderen Prozessen der Bierbereitung und Alterung (z.B. Ausfällung von Polyphenolen, Einfluss auf Bierkolloide und Geschmack, Streckerreaktion) sind die Proteine vermutlich eine wesentliche Einflussgröße der chemischen Stabilität und der Geschmacksstabilität, so dass ihre Untersuchung einige der offen gebliebenen Fragen beantworten könnte. Im Rahmen dieser Arbeit standen keine geeigneten Analysemethoden zur Verfügung.

### 5.2.4 Wirkung des Schwefeldioxid

Die antioxidative Wirkung des endogenen Sulfit sowie sein positiver Einfluss auf die Geschmacksstabilität sind bereits allgemein anerkannt. Sulfit und sein Oxidationsprodukt Sulfat sind sensorisch nicht aktiv, weshalb keine Gefahr der sensorischen Beeinträchtigung des Bieres besteht. Der Vollständigkeit halber sei noch angemerkt, dass sich eine Erzwingung hoher  $\text{SO}_2$ -Gehalte durch ungemessene technologische Eingriffe, wie zum Beispiel die Verwendung von Hefe geringer Vitalität oder die Anwendung niedriger Belüftungsraten bei Erntehefe, zu sensorischen Verschlechterungen des frischen Bieres durch ein verändertes Spektrum an Gärungsnebenprodukten führen (Thiele 2006; Back 2008). Im Zugaberversuch konnten drei unterschiedliche charakteristische Wirkungsweisen des Sulfit nachgewiesen werden: Bekanntermaßen verlängert Sulfit die Lagtime durch die Löschung des stabilen Wasserstoffperoxids und vermutlich auch organischer Peroxide der Radikalkettenreaktion. Interaktionen mit kurzlebigen radikalischen Zwischenprodukten scheiden aus reaktionskinetischen und statistischen Überlegungen aus. Des Weiteren vermindert  $\text{SO}_2$  die Endiol-katalysierte Radikalgenerierung und stellt sich somit als Gegenspieler der Melanoidine dar. Der Wirkmechanismus beruht vermutlich auf einer irreversiblen Addition an die Doppelbindung, da eine direkte Interaktion mit dem Fentonschritt reaktionskinetisch zu vernachlässigen ist. In Kombination mit Kupferionen wirkt Sulfit im Fentonschritt dagegen eindeutig prooxidativ. Die Wirkung geschieht vermutlich durch eine direkte Regeneration oxidierter Kupferionen, wodurch die

beiden Substanzen ein äußerst starkes Oxidationssystem bilden können. In der Praxis ist dieser Mechanismus aber anscheinend wenig relevant, wie die Zusammenhänge der Marktanalyse zeigen. Er könnte allerdings neben den Melanoidinen eine weitere Ursache für unterschiedliche Geschwindigkeiten der Sulfitzehrung in verschiedenen Biere sein.

Bei der vorliegenden Untersuchung der Alterungsverläufe korrelierte der  $\text{SO}_2$ -Gehalt mit dem Zeitpunkt, zu dem eine gewisse Qualitätsmarke dauerhaft unterschritten wurde. Der stärkste Zusammenhang zeigte sich aber zwischen dem  $\text{SO}_2$ -Gehalt des frischen Bieres (ohne Sauerstoffbelastung) und dem schließlich erreichten Qualitätsniveau, das sich bis zur 22. Woche nicht mehr wesentlich änderte.

Der  $\text{SO}_2$ -Gehalt des Bieres wirkt sich eindeutig positiv auf die chemische Stabilität und die Geschmacksstabilität der forcierten Biere aus. Nach einer natürlichen Alterung war der Zusammenhang in der Marktanalyse allerdings nicht mehr feststellbar. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass das  $\text{SO}_2$  durch die Diffusion von Sauerstoff in die Flasche bei den meisten der untersuchten Biere bereits vor Ablauf der drei Monate bis unter eine kritische Grenze aufgezehrt war. Die untersuchten Biere wiesen im Mittel nur knapp 3 mg/l auf. Der Verlauf der Sulfitzehrung und der sensorischen Bewertung der Biere ist bekanntermaßen von der Diffusion von Sauerstoff durch die Compoundmasse des Kronkorkens abhängig (Link 2004). In den Daten der Marktanalyse von 2004 von FRANZ war der Zusammenhang zwischen dem  $\text{SO}_2$ -Gehalt und der Akzeptanz nach natürlicher Alterung mit  $r = 0,38$  signifikant (Franz 2004).

Zusammenfassend stellt sich Sulfid als das stärkste endogene Antioxidans des Bieres dar. Bezüglich der Geschmacksstabilität wirkt es aufgrund der relativ niedrigen erreichbaren Konzentrationen aber nur unterstützend.

Die Ergebnisse der Marktanalyse zeigen, dass der  $\text{SO}_2$ -Gehalt in den Betrieben in erster Linie vom eingesetzten Hefestamm abhängt. Weitere Einflussgrößen sind die Stammwürze und der Ethanolgehalt, was diesbezüglich den Vorteil von high-gravity-Verfahren belegt.

### 5.2.5 Bedeutung von Metallionen für die Stabilität des Bieres

Die Metallionen wirken im Bier durch die Katalyse der Radikalgenerierung prooxidativ. Da hierfür bereits geringste Mengen ausreichen, wirkt sich ihre Konzentration nicht signifikant auf die Geschmacksstabilität aus. Die Oxidation von Bierinhaltsstoffen scheint im Wesentlichen eisenkatalysiert abzulaufen und kann somit durch Sulfit und Catechole nicht angetrieben werden, wie die Ergebnisse der Zugaberversuche und die Korrelationen zur Radikalgenerierung in der Marktanalyse beweisen. Melanoidine scheinen in Kombination mit Eisenionen das relevante oxidative Reduktionssystem zu sein und den Fentonschritt zu katalysieren. Der Gehalt an Eisenionen korreliert signifikant mit der Radikalgenerierung und tendenziell mit der sensorischen Bewertung der forciert gealterten Biere, was im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren zu sehen ist, die eine Wirkung von erhöhten Konzentrationen an Eisenionen im Falle erhöhter Temperaturen (z. B. Forciertest) und unter Sauerstoffbelastung nachweisen konnten (Bishop et al. 1968; Lustig 1994). Im Falle einer natürlichen Alterung reichen anscheinend bereits katalytische Mengen aus, weshalb die Konzentration der Eisenionen bezüglich der chemischen Stabilität in der Praxis eine untergeordnete Rolle spielt. Unabhängig davon scheinen Eisenionen in der Lage zu sein, die Geschmacksmatrix natürlich gealterter Biere positiv zu verändern. In diesem Fall kann keine technologische Empfehlung gegeben werden, da in Abhängigkeit von den realen Lagerbedingungen nicht abgeschätzt werden kann, welcher Effekt dominiert.

Kupfer bildet in Kombination mit Reduktionen in Bier äußerst starke oxidative Reduktionssysteme und katalysiert in Bier vor allem die ersten Aktivierungsschritte des Sauerstoffs. Der geringe Einfluss des Kupfers auf die Bierqualität ist möglicherweise durch die inzwischen nahezu flächendeckende Verwendung von Edelstahl bedingt. IRWIN et al. konnten 1991 die sensorischen Veränderungen bei der Alterung in ihrer Untersuchung noch auf den überwiegenden Einfluss von Kupfer zurückführen (Irwin et al. 1991).



### 5.2.6 Einfluss des Reduktionsvermögens auf die chemische und sensorische Stabilität von Bier

Das Reduktionsvermögen wies in den durchgeführten Versuchen viele, oft widersprüchliche Zusammenhänge zur chemischen Stabilität der Biere auf.

Das Reduktionsvermögen des Bieres spiegelt das Redoxpotential als endogene Eigenschaft der gesamten Produktmatrix wider. Es wird nicht durch eine bestimmte Stoffgruppe beeinflusst. Das Reduktionsvermögen mittels DPI korreliert gut mit dem elektrochemischen Redoxpotential, wohingegen das Reduktionsvermögen mittels DPPH unterschiedlich auf verschiedene Stoffgruppen anspricht. Die Aussagen der Redoxindikatoren sind in Malz, Würze und Bier unterschiedlich. Eine Erhöhung des Reduktionsvermögens kann sich je nach ihrer Ursache pro- oder antioxidativ auswirken.

Das Reduktionsvermögen (DPPH) der Würze wird durch die Produktmatrix des Malzes festgelegt. Es scheint in erster Linie durch dessen Gehalt an Maillardprodukten und des Weiteren durch noch nicht näher bekannte polyphenolische Fraktionen festgelegt zu werden. Das Reduktionsvermögen (DPI) der Würze wird ebenfalls durch noch unbekannte polyphenolische Fraktionen des Malzes, durch den Flavanoidgehalt der Würze, sowie erfahrungsgemäß durch Maillardprodukte geprägt.

In diesem Zusammenhang erweist sich die Differenzierung zwischen Polyphenolen und Maillardprodukten als äußerst schwierig und nicht zielführend. Beide Stoffgruppen besitzen ähnliche redoxaktive Gruppen und die Polyphenole sind an der Maillardreaktion beteiligt. Es kann vermutet werden, dass die Redoxindikatoren weniger eine Aussage über die ursächlichen Stoffgruppen, sondern vielmehr über den Redoxstatus der funktionellen Gruppen machen.

Das Reduktionsvermögen (DPPH) des Bieres wird durch den Anthocyanogehalt der Würze festgelegt, wobei ein wesentlicher Anteil auf Hopfeninhaltsstoffe zurückgeführt werden kann. Das Reduktionsvermögen (DPI) scheint unter den Milieubedingungen im Bier in erster Linie durch Melanoidine geprägt zu werden und wird dementsprechend auch vom Reduktionsvermögen (DPPH) der Würze beeinflusst. In Vorversuchen konnte bereits gezeigt werden, dass das Reduktionsvermögen (DPI) sehr eng mit dem elektrochemischen Redoxpotential korreliert. Dementsprechend kann aus den gefundenen

Zusammenhängen gefolgert werden, dass die Polyphenole vor allem unter den Milieubedingungen in der Würze Redoxaktivität zeigen, wohingegen die Melanoidine auch im fertigen Bier aktiv sind.

Das Reduktionsvermögen (DPI) der Würze und des Bieres korreliert mit Verminderungen der chemischen und der sensorischen Stabilität der Biere. Im Bier kann dieser Einfluss den Melanoidinen zugeschrieben werden. Das Reduktionsvermögen (DPI) der Würzen korreliert mit Verschlechterungen der Sauerstoffindikatoren, der chemischen Stabilität und der Geschmacksstabilität (forciert) der resultierenden Biere und ist damit ein wesentlicher Faktor der Geschmacksstabilität. Da das Reduktionsvermögen (DPI) innerhalb heller Würzen in erster Linie durch die Malzpolyphenole beeinflusst wird, stellt das einen Widerspruch zu der festgestellten antioxidativen Wirkung der Malzpolyphenole dar. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass im Malz Polyphenolfractionen unterschiedlicher Wirkung enthalten sind, die je nach Milieu und Prozessschritt pro- oder antioxidativ wirken können. Die Prooxidative Wirkung der im Glattwasser enthaltenen Polyphenole sowie der stark reduzierenden Tannoide sind hierfür möglicherweise relevant. In großtechnischen Brauversuchen konnte durch die Verwendung proanthocyanidinfreier Mutanten von Caminant Malz allerdings keine Verbesserung der Geschmacksstabilität erreicht werden (Jende-Strid 1997), was gegen eine negative Beeinflussung der Geschmacksstabilität durch Malzpolyphenole spricht. Die Identifizierung der Stoffgruppen, die sich auf das Reduktionsvermögen (DPI) der Würze und damit eindeutig negativ auf die Qualität heller untergäriger Biere auswirken, muss in zukünftigen Arbeiten untersucht werden. Zukünftige Marktanalysen sollten dafür bereits beim Malz ansetzen und neben einer leistungsfähigen Polyphenolanalytik auch eine gaschromatographische Quantifizierung von Maillardprodukten einschließen.

### 5.2.7 Bedeutung maskierender Effekte

Innerhalb von Versuchsreihen (abhängige Probenauswahl) (Kaltner 2000; Thiele 2006; Hanke 2010) sowie im Fall von Zugaberversuchen (Herrmann 2008) wurde die Existenz maskierender Effekte bereits für den Fall der forcierten Alterung nachgewiesen. Die vorliegenden Daten der Marktanalyse stellen die Relevanz maskierender Effekte bei der natürlicher Alterung allerdings stark in Frage. Die

Gehalte höherer Alkohole und Ester sowie das Hopfenaroma zeigen beim Vergleich verschiedener Brauereien keinen Zusammenhang zur sensorischen Bewertung der natürlich gealterten Biere. Biere, die in frischem Zustand besser bewertet werden, scheinen stärker zu altern. Obwohl im Untersuchungszeitraum kein nennenswerter Abbau von Aromastoffen stattfindet, können in natürlich gealterten Bieren keine maskierenden Effekte nachgewiesen werden. Es kann vermutet werden, dass positive Aromen die Alterung nur bis zu einer gewissen Schwelle maskieren können, und dass diese in der vorliegenden Arbeit durch die natürlich gealterten Biere bereits überschritten war. Maskierende Effekte wären somit nur zu Beginn der Alterung wirksam. Ein möglicher Erklärungsansatz für die schlechte Bewertung gealterter Biere, die in frischem Zustand gute DLG-Noten erhalten hatten, ist der Flavanoidgehalt, der sich bei frischen Bieren positiv und bei gealterten Bieren negativ auswirkt.

### **5.2.8 Relative Bedeutung redoxaktiver Inhaltsstoffe und Faktoren der Geschmacksstabilität**

Zwischen den getesteten redoxaktiven Substanzen konnten in den Zugabeversuchen keine kombinatorischen Effekte nachgewiesen werden. Da bei weitem nicht alle denkbaren sinnvollen Kombinationen von Stoffgruppen getestet werden konnten, kann aus diesen Daten noch keine Aussage über die Existenz solcher kooperativer Wirkungen gemacht werden.

Gewichtet man die antioxidativen Inhaltsstoffe bezüglich ihrer Relevanz für die chemische und sensorische Stabilität der Biere, so stellen der  $\text{SO}_2$ -Gehalt und der Gehalt an Maillardprodukten die wesentlichen, gegenläufigen Einflussgrößen dar. Alle weiteren Gruppen an Bierinhaltsstoffen zeigen gegenüber diesen Substanzen innerhalb der Variationsbreite heller Biere nur vernachlässigbare Wirkung. Die Auswirkung der Polyphenole auf die Bierqualität und Geschmacksstabilität hängt stark von ihrer qualitativen Zusammensetzung ab. Die einzelnen Fraktionen können mithilfe der in der Brautechnologie zur Verfügung stehenden Analytik nicht differenziert werden, so dass diesbezüglich noch Untersuchungsbedarf im Rahmen zukünftiger Arbeiten vorhanden ist.

Blickt man über diese unmittelbaren Zusammenhänge hinaus, erweist sich die Geschmacksstabilität als ein sehr umfangreiches Gebiet mit unüberschaubar vielen, teilweise unbekanntem Einflussfaktoren. Obwohl wichtige technologische Regeln, wie z.B. die Vermeidung von Sauerstoffeinträgen im Sudhaus oder die Minimierung thermischer Belastungen in der Praxis flächendeckend umgesetzt werden, variiert die Geschmacksstabilität kommerzieller Biere auch in Abwesenheit offensichtlicher Prozessfehler stark.

Zur Lösung dieser Problematik wird ein empirischer Ansatz aus einem anderen Forschungsbereich herangezogen werden, der an die Herangehensweise MUNTERS angelehnt ist (Munter 2009). MUNTER stand im Feld der Lawinenkunde vor dem Problem, dass auch unter Kenntnis unzähliger analytischer Informationen, wie z.B. Ergebnissen von Stabilitätstests, Untersuchungen des Schneedeckenaufbaus, der Hangexposition und der Witterungseinflüsse keine sichere Vorhersage der Lawinengefahr eines einzelnen Hanges möglich war. Er wählte daraufhin einem empirischen Ansatz und begann dokumentierte Fälle statistisch auszuwerten (was im Prinzip einer „Marktanalyse“ entspricht) und sogenannte Risiko- und Reduktionsfaktoren zu bestimmen. Mithilfe dieser Faktoren konnte er schließlich ohne Kenntnis der konkreten inneren Zusammenhänge die Wahrscheinlichkeit eines Lawinenabgangs an einem konkreten Hang bestimmen. Durch die Einflussnahme auf verhaltensabhängige Faktoren war es ferner möglich, das Restrisiko unter eine vertretbare Schwelle zu drücken.

In dieser Arbeit werden als Faktoren Merkmale des Brauprozess oder des fertigen Bieres herangezogen, die in mindestens einem der durchgeführten Versuche einen eindeutigen Einfluss auf die Geschmacksstabilität aufweisen und in keinem anderen Versuch einen gegensinnigen Effekt. Eine signifikante Korrelation zur Geschmacksstabilität in der Marktanalyse ist keine notwendige Voraussetzung. Der Einfachheit halber werden nur zweiseitige (ja/nein) Faktoren und nur „Positivfaktoren“ anstatt von Risiko- und Reduktionsfaktoren formuliert (Tabelle 15). Die Entscheidungsgrenze wird so gewählt, dass etwa die Hälfte der untersuchten, kommerziellen Biere das jeweilige Kriterium erfüllt.

**Tabelle 15: Faktoren der Geschmacksstabilität.**

	<b>Faktoren</b>	<b>Punkte</b>
<b>Würze</b>	TBZ < 45	
	Reduktionsvermögen (DPI) < 54 %	
	Flavanoide < 60 mg/l	
	Anthocyanogene >110 mg/l	
	Polymerisationsindex < 2	
	Lagtime > 8 min	
	F (0/120) <28	
<b>Bier</b>	Reduktionsvermögen (DPI) < 35 %	
	Tannoide < 30 mg PVP/l	
	Ethanolgehalt > 5,15 %vol.	
	SO <sub>2</sub> > 3 mg/l	
	Lagtime > 60 min	
	Σ GNP > 108 mg/l	
	Linalool > 8 µg/l	
	Stabilisierung beidseitig ?	
	Sauerstoffgehalt nach der Abfüllung	
	<b>Summe (max.)</b>	<b>15</b>

Zur Überprüfung der getroffenen Auswahl an Faktoren werden diejenigen Biere der Marktanalyse herangezogen, von denen auch Würzedaten zur Verfügung stehen. Für jedes erfüllte Kriterium erhält das Bier einen Punkt. Wird ein Kriterium nicht erfüllt oder kann eine Information nicht in Erfahrung gebracht werden, gibt es dementsprechend keinen Punkt. Ein Bier kann damit maximal 15 Punkte erhalten. Da für den Sauerstoffgehalt nach der Abfüllung keine Daten vorliegen, sind in diesem Testlauf maximal 14 Punkte erreichbar. Die erreichten Punkte der untersuchten Biere sind in Tabelle 16 aufgelistet.

Tabelle 16: Erreichte Punkte der Proben aus der Marktanalyse.

Nummer	Punkte
B01	8
B02	8
B03	5
B04	4
B05	8
B06	8
B08	8
B10	7
B12	6
B14	9
B15	9
B16	12
B21	7
B23	7
B25	5

Die Alterungsnote und die Alterungsakzeptanz der natürlich gealterten Biere korrelieren trotz der geringen Stichprobenanzahl hoch signifikant ( $R = 0,71$ ;  $r = 0,68$ ) mit der Punktebewertung (Abbildung 57), obwohl sich die Punkte aus überwiegend nicht signifikanten Faktoren ergeben.

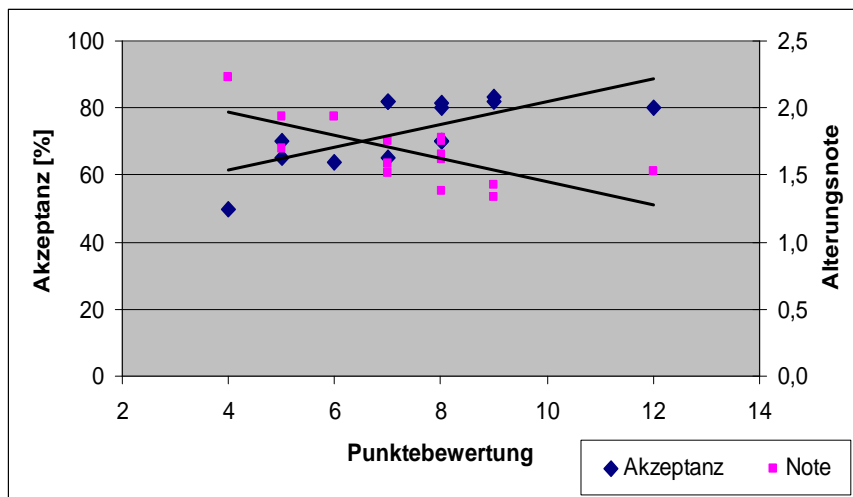


Abbildung 57: Korrelation zwischen der Punktebewertung und der Sensorik.

In Anbetracht der Unsicherheiten der sensorischen Bewertung kann der Zusammenhang sogar als relativ scharf bezeichnet werden. Daraus kann abgeleitet werden, dass die relevanten Einflussgrößen der Geschmacksstabilität

durch die ausgewählten Faktoren weitgehend erfasst werden. Bereits Sudhausarbeit und Rohstoffqualität legen die wesentlichen Grundlagen des Geschmacksstabilität. Für die Praxis lässt sich eine Risikogrenze von mindestens acht Punkten ableiten, bei deren Einhaltung eine hohe Geschmacksstabilität (Akzeptanz von 80 % oder höher sowie eine Alterungsnote unter 1,8) des Bieres wahrscheinlich ist. Die einzelnen Faktoren können weitgehend durch bekannte technologische Maßnahmen beeinflusst werden, so dass in den Betrieben eine diesbezügliche Optimierung des Brauprozesses ohne tiefere Auseinandersetzung mit der komplexen Materie der Geschmacksstabilität möglich ist. Bei Erreichung der 8-Punkte-Marke hebt sich ein Bier bezüglich der Geschmacksstabilität von mehr als 50 % der Produkte der Mitbewerber positiv ab. Für eine realistische Berechnung des Restrisikos, d.h. des Anteils der Biere, die trotz einer Bewertung mit acht und mehr Punkten keine gute Geschmacksstabilität (Akzeptanz  $\geq 80\%$ ; Alterungsnote  $< 1,8$ ) aufweisen, ist ein größerer Datensatz nötig. (Innerhalb der ausgewerteten Biere beträgt das Restrisiko für eine falsch-gute Bewertung 37,5 % und für eine falsch-schlechte Bewertung 28,6 %). Anhand eines umfangreicheren Datensatzes kann die Auswahl der relevanten Merkmale, und damit auch die Treffsicherheit, sicher noch optimiert werden. Aufgrund ihres Zusammenhangs zu Geschmack und Harmonie (Narziß 2004), würde es sich z. B. empfehlen, die kolloidale Stabilität mit aufzunehmen. Da der Fokus der Arbeit anfangs vor allem im Bereich des Alterungsaromas lag, wurde sie nicht gemessen. Ebenfalls muss beachtet werden, dass die Qualitätsgrenze in diesem Beispiel ausgesprochen hoch angesetzt wurde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen und ergänzen somit die bekannten (Back 2008) technologischen Empfehlungen zur Erzielung einer hohen Geschmacksstabilität, die wie folgt zusammengefasst werden können:

- Verwendung polyphenolreicher Gersten.
- Minimierung der thermischen Belastung beim Schwelken und Darren.
- Kurze, nicht zu warme Schrotlagerung, ggf. Begasen.
- Sauerstoffarmes Einmaischen (z.B. Konditionierung).
- Hoch-Kurz-Maischverfahren. Proteolyse und Oxidasesysteme hemmen.
- Lufteinträge beim Abläutern vermeiden, Glattwasser verwerfen.

- Biologische Säuerung.
- Kochsysteme mit hohem Wirkungsgrad und niedriger thermischer Belastung; Edelstahl.
- ggf. späte Hopfengabe.
- Gärtechnologie: Vitale Hefe und gute SO<sub>2</sub>-Bildung.
- Beidseitige Stabilisierung.
- Sauerstoffeinträge vermeiden.
- Kontamination mit Metallionen vermeiden (Kieselgurqualität, Edelstahl-Armaturen).
- Optimale Einstellung des Füllers, speziell HDE; braune Flaschen; ausreichendes Spülen im Falle oxidativer Reinigungsmittel; falls möglich Scavengerkronkorken.

### **5.3 Verfeinerung des Verständnisses der bei der Alterung des Bieres relevanten Reaktionsprozesse und ihrer Kinetik: Ein Modell**

Durch die Verknüpfung des bekannten Wissens (basierend auf der im Theorieteil diskutierten Literatur) mit den vorliegenden Ergebnissen kann das Modell der Sauerstoffaktivierung und Oxidation von Bierinhaltsstoffen auf Basis der Untersuchung von UCHIDA und ONO (Uchida and Ono 1996) weiter verfeinert werden (hier ausgerichtet auf Bier-pH, keine Enzymaktivitäten). Die Mechanismen sollen dabei stark vereinfacht dargestellt werden, da hierdurch ein höherer Erkenntnisgewinn zu erwarten ist, als durch eine differenzierte und damit komplexe Beschreibung aller Reaktionswege und Abhängigkeiten. Man muss sich nur der Tatsache bewußt sein, dass jede Reaktion je nach den Milieubedingungen auf unterschiedlichen Reaktionswegen und mit unterschiedlichen Ausbeuten zu zahlreichen möglichen Reaktionsprodukten und Folgeprodukten führt.



### 5.3.1 Kinetik der Sauerstoffaktivierung

Die Reaktionskinetik der Sauerstoffaktivierung und damit die Initiierung der Oxidation von Bierinhaltsstoffen wird durch die thermodynamischen Eigenschaften der reaktiven Sauerstoffspezies bestimmt. Da der erste Schritt endergonisch ist, laufen Oxidationsreaktionen zunächst nicht spontan ab (vgl. Abbildung 58). Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) stellt das erste stabile Zwischenprodukt der Reaktionsfolge dar. Diese beiden Eigenschaften bedingen die Ausbildung einer relativ langen Induktionsphase (Lagtime) der folgenden Radikalkettenreaktion. Die Oxidationsreaktionen (hier ist die Bildungsrate der Hydroxylradikale geschwindigkeitsbestimmend) setzt erst in nennenswertem Maße ein, wenn sich ausreichende Mengen an  $\text{H}_2\text{O}_2$  akkumuliert haben. Durch diesen Mechanismus wird auch die Wirkungsweise des Schwefeldioxid ( $\text{SO}_2$ ) erklärt: Mittels der Löschung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  vermag es die Induktionsphase zu verlängern.  $\text{SO}_2$  ist nach kinetischen Überlegungen (Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens) aufgrund seiner im Vergleich zu anderen Bierinhaltsstoffen niedrigen Konzentration im Bier nicht in der Lage, reaktive (kurzlebige) Zwischenprodukte der Reaktionsfolge abzufangen. Als stark reduzierende aber stabile Substanz ist es dagegen gut geeignet, das ebenfalls stabile  $\text{H}_2\text{O}_2$  abzufangen (vgl. Abbildung 59).

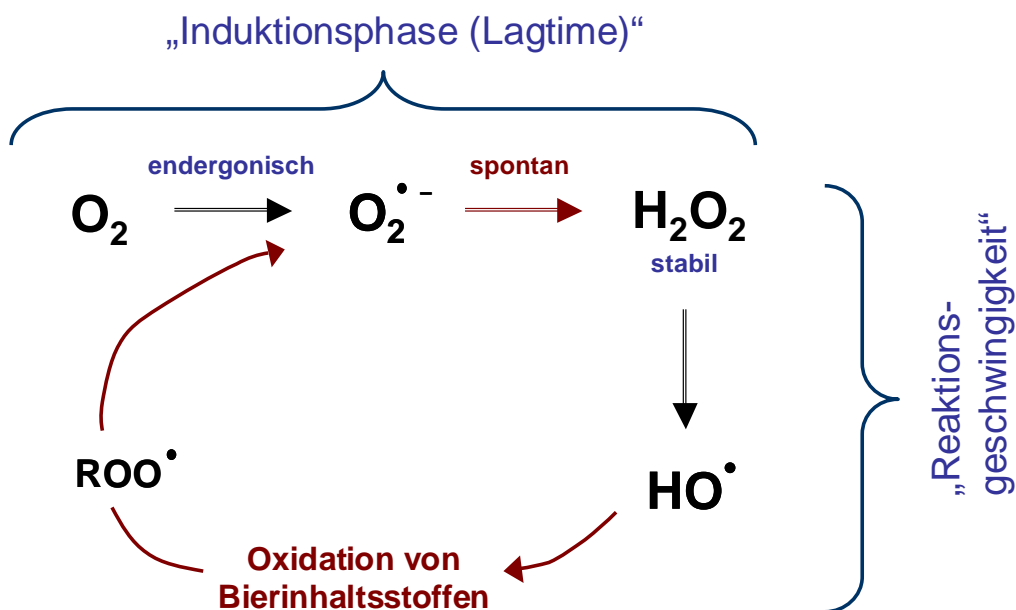


Abbildung 58: Reaktionskinetik der Sauerstoffaktivierung (I).

Eine scharfe Trennung zwischen Induktionsphase und Radikalkettenreaktion gilt vermutlich nur im Falle erhöhter Temperaturen und Sauerstoffbelastungen; entsprechend basieren die Untersuchungen zur Reaktionskinetik auf ESR-Messungen (oxidativer Forciertest; Lufteintrag, 60 °C). Bei Raumtemperatur sind beide Reaktionsphasen nicht eindeutig zu trennen: Ein schleichender Ablauf der Radikalkettenreaktion bereits vor der Erschöpfung der Lagtime trägt im Sinne einer Rückkopplung zur Akkumulation von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bzw. zur Zehrung von  $\text{SO}_2$  bei. Dafür sprechen das schnelle Auftreten von Oxidationsprodukten und Fehlgeruch bereits vor der Aufzehrung des  $\text{SO}_2$ -Gehaltes, die höhere Abhängigkeit der Geschmacksstabilität vom  $\text{SO}_2$ -Gehalt bei forcierter Alterung im Vergleich zur natürlichen Alterung, sowie die Abhängigkeit zwischen Lagtime und Radikalgenerierung ( $F(\text{LT}/60)$ ). Die Lagtime muss somit als ein modellhaftes analytisches Merkmal aufgefasst werden. Bei einer natürlichen Alterung ohne übermäßige Sauerstoffbelastung prägt sie sich nicht aus, beeinflusst aber die Menge an aktiviertem Sauerstoff, die letztendlich gebildet werden kann.

Der erste Schritt, also die Aktivierung des Sauerstoffs zum Superoxidradikalanion erfordert starke Redoxsysteme und ist deshalb auf Metallionen (vorzugsweise Kupfer: stärkeres System; stärkerer Trend zur Verminderung der Lagtime in der Marktanalyse, Auswirkung auf Lagtime in den Zugabeversuchen) in Kombination mit Reduktionen (Cystein, Trihydroxyflavanoide, Melanoidine, Semichinone) zurückzuführen. Laut IRWIN et al. sind Sulfit und Catechole hierzu nicht in der Lage (Irwin et al. 1991), was durch die vorliegenden Ergebnisse insofern gestützt wird, als dass beide Substanzen die Lagtime nicht vermindern können. Cystein, Fumarat und Gallussäure vermögen das sehr wohl und kommen somit für diesen Schritt als Reduktionsäquivalente in Frage. In der Marktanalyse korrelieren die Polyphenolgehalte und das Reduktionsvermögen mittels DPPH mit einer Verminderung der Lagtime, was ebenfalls als Hinweis darauf gesehen werden kann, dass der erste Schritt der Sauerstoffaktivierung durch Substanzen aus der Gruppe der Polyphenole geschieht. Der gleichlaufende Trend der Flavanoide ist nicht signifikant. Ihre Schadenssetzung findet möglicherweise in erster Linie bereits im Sudhaus statt. Das Reduktionsvermögen mittels DPI zeigt ebenfalls keinen Zusammenhang zu einer Verminderung der Lagtime.

Der Schritt vom Superoxid zum Wasserstoffperoxid kann bei Bier-pH spontan und schnell über Dismutation oder  $\text{HO}_2^\bullet$  ablaufen. Parallel ist auch ein

Elektronenübergang von Reduktionen wie beim ersten Aktivierungsschritt denkbar. Die direkte Reaktion von Superoxid mit Bierinhaltsstoffen spielt aufgrund niedriger erreichter Konzentrationen (~ Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens) und der gegenüber dem Hydroxylradikal vergleichsweise geringen Reaktivität vermutlich keine Rolle. Der Schritt ist deshalb nicht geschwindigkeitsbestimmend und somit auch nicht von weiterem Interesse (in Bier, Abwesenheit enzymatischer Prozesse vorausgesetzt).

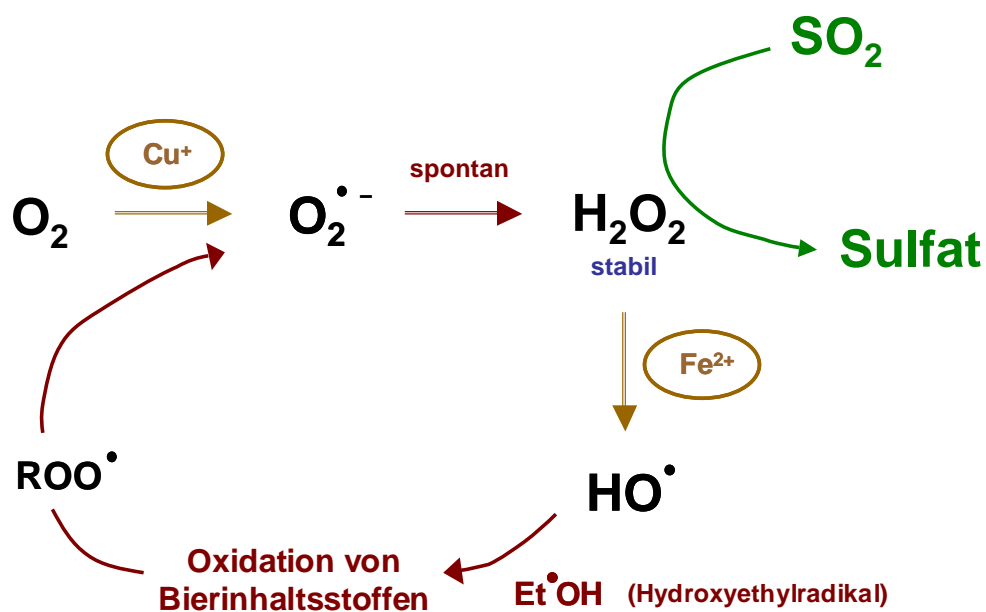


Abbildung 59: Reaktionskinetik der Sauerstoffaktivierung (II)

Die Haber-Weiss-Reaktion (Reduktion von  $H_2O_2$  durch  $\bullet O_2^-$ ) gilt als sehr langsam und scheidet somit aufgrund der niedrigen Konzentrationen und kurzen Halbwertszeiten des Superoxids als relevanter Reaktionsweg aus. Das Wasserstoffperoxid wird folglich hauptsächlich durch einen Fentonmechanismus zum Hydroxylradikal reduziert, wofür wiederum ein Elektronenübergang von Reduktionen nötig ist (vgl. Abbildung 60). Da das Metallion regeneriert wird, sind nur katalytische Mengen nötig, was sich im Zugaberversuch mit unterschiedlichen Konzentrationen bestätigt. In Bier kann die katalytische Wirkung zum überwiegenden Anteil auf Eisenionen zurückgeführt werden (Zugaberversuch). In den Daten der Marktanalyse bestätigt sich das durch den Zusammenhang zwischen Eisenionen und Radikalgenerierung.

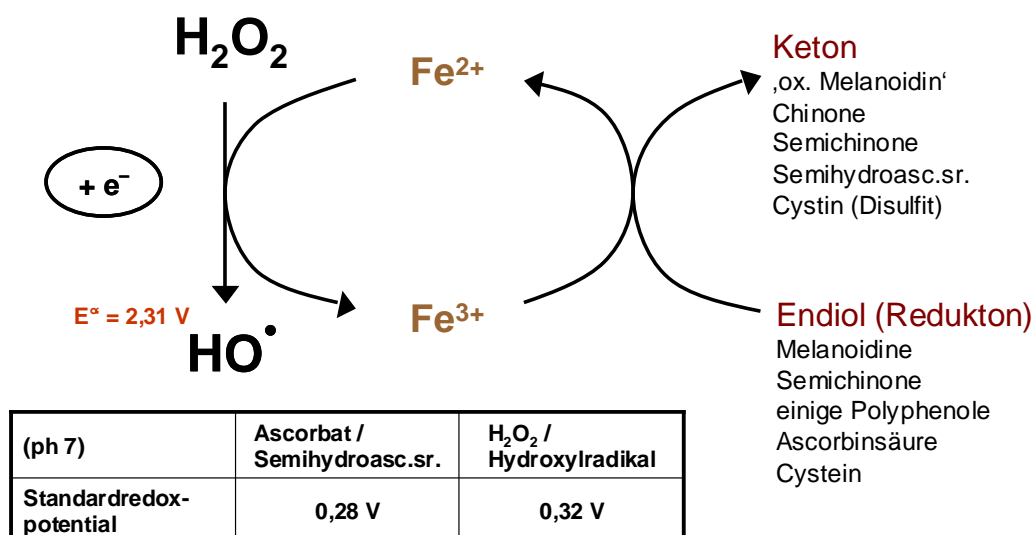


Abbildung 60: Reduktone als Motor der Fentonreaktion im Bier.

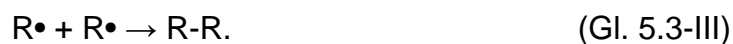
Im aufgestellten Modell ist dieser Schritt nach der Induktionsphase geschwindigkeitsbestimmend für die Gesamtreaktion. Die Reduktone treiben die Reaktion über den Zyklus der Metallionen wie ein Motor an. Als relevante Reduktionssysteme kommen Eisenionen in Kombination mit Semichinonen, Melanoidinen oder Cystein in Frage. Obwohl Kupfer stärkere Reduktionssysteme bilden kann, scheint es für diesen Schritt nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Als relevanter Partner der Eisenionen kommen nach den eindeutigen Ergebnissen der Zugabeversuche und technologischen Versuche in erster Linie Melanoidine in Frage. Nach THUM liegen die Eisenionen im Bier wegen des Überschusses an reduzierenden Substanzen nahezu vollständig in ihrer reduzierten Form als Fe<sup>2+</sup> vor (Thum 1997). Oxidierte Ionen werden zügig wieder reduziert. Bei starken Sauerstoffbelastungen steigt im Verlauf der Alterung die Fe<sup>3+</sup>-Konzentration an (Kaneda et al. 1992). Die Bedeutung der Metallionen für die Sauerstoffaktivierung ist noch nicht restlos geklärt. Die Bildung von Superoxid und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aus molekularem Sauerstoff ist auch direkt durch Dihydroxyfumarat (Modellreduktion) (Halliwell et al. 1982) oder durch Semichinone möglich (Halliwell and Gutteridge 2007), weshalb der Reaktionsschritt möglicherweise auch in Abwesenheit von Metallionen ablaufen kann.

Das entstehende Hydroxylradikal (•OH) ist äußerst reaktiv und kann nahezu sämtliche organischen Inhaltsstoffe unspezifisch angreifen. Aufgrund der Konzentrationsverhältnisse in Bier stellt Ethanol das überwiegende Ziel dar. Dabei

abstrahiert das Hydroxyradikal Protonen vom C-1 (85 %) oder C-2 (13 %) Kohlenstoffatom und bildet Hydroxyethylradikale (Andersen and Skibsted 1998). Da Einelektronenübergänge immer neue Radikale produzieren, läuft die Kettenreaktion immer weiter, wobei unter weiterer Sauerstoffaufnahme Carbonyle (RO) und neue reaktive Spezies (ROO•; HOO•) gebildet werden (Walling 1982; Andersen and Skibsted 1998) (vgl. Gl. 5.3-I und -II), die den Reaktionszyklus von neuem beginnen oder direkt weitere Inhaltsstoffe angreifen können.



Ein Kettenabbruch ist durch ein Aufeinandertreffen zweier radikalischer Produkte oder durch eine Elektronenübertragung zurück auf ein Metallion denkbar (vgl. Gl. 5.3-III und -IV).



Semichinone können durch die Stabilisierungswirkung des aromatischen Rings ebenfalls ein (weiteres) einzelnes Elektron aufnehmen und somit die Reaktionskette abbrechen. Da Sauerstoff aus dem Kopfraum zu einem hohen Anteil in Polyphenolen wiedergefunden werden kann (Owades and Jakovac 1966) und Polyphenole im Zuge von Oxidationsreaktionen degradiert werden (Irwin et al. 1991), scheinen Polyphenole selbst ein wesentliches Ziel des radikalischen Angriffs darzustellen. Da Polyphenole neben Proteinen, Alkoholen, Glycerin und organischen Säuren der Konzentration nach zu den Hauptinhaltsstoffen des Bieres gehören, ist ein Zusammentreffen mit reaktiven Sauerstoffspezies dementsprechend wahrscheinlich. Der festgestellte Zusammenhang zwischen dem Tannoidgehalt und den Alterungsindikatoren könnte somit auf nachfolgenden Degradationsreaktionen beruhen.

Das gesamte Ausmaß der Oxidation ist nach diesem Modell von drei wesentlichen Einflussgrößen abhängig:

- von der Menge des im ersten Reaktionsschritt aktivierten Sauerstoffs (abhängig von der verfügbaren Sauerstoffmenge und von der Kapazität der entsprechenden Reduktionssysteme).
- von der Kapazität des endogenen Redoxpuffers des Bieres zum Abfangen von Wasserstoffperoxid (vor allem  $\text{SO}_2$ )
- von der Kapazität des Reduktionssystems zum Antrieb des Fentonschrittes (Melanoidine und Redoxpotential).

Das entwickelte Modell wird durch die untersuchten Alterungsverläufe (vgl. 4.5) unterstützt, bei denen jeweils ein bestimmtes Niveau erreicht wurde, das stark vom  $\text{SO}_2$ -Gehalt und der Polyphenolausstattung geprägt wurde. Der prooxidative Anteil der Wirkung der Polyphenole spiegelt sich gut in den Sauerstoffindikatoren wider. Unterschiede im Aromastoffspektrum gealterter Biere können mithilfe dieses einfachen Modells noch nicht erklärt werden.

### **5.3.2 Differenzierte Ausprägung des Alterungsaromas durch an die Sauerstoffaktivierung gekoppelte Reaktionsmechanismen**

Nach wie vor ist die Frage nach der genauen Natur der Precursorsubstanzen ungeklärt. Nach der Theorie werden Precursoren der Alterung bei thermischen Prozessen der Bierbereitung gebildet und gelangen bis ins fertige Bier (z.B. Zwischenprodukte des Streckerabbaus). Die bei der Würzekochung gebildeten Carbonyle selbst kommen dafür nicht in Frage, da sie bei der Kochung ausgedampft und bei der Gärung reduziert werden. Als Vorläufer der Alterungscarbonyle sind Polyphenole, iso- $\alpha$ -Säuren, Aminosäuren, Produkte der Maillard- und Streckerreaktion, Lipide und Alkohole denkbar. Die Aminosäuregehalte nehmen bei der natürlichen Alterung in Abhängigkeit von der Sauerstoffbelastung ab (Basarova et al. 1999). Auch für höhere Alkohole, Fettsäure-Ester und Fettsäuren konnten BASAROVA et al. Abnahmen verzeichnen. THUM konnte zeigen, dass Aminosäuren im Bier Precursoren der Alterungscarbonyle sind, d.h. dass der Streckerabbau im Bier stattfindet (Thum 1997). Die Aminosäurekonzentration stellte sich bei Thum nicht als relevante

Einflussgröße heraus. Zugaben reduzierender Zucker führten nicht zur Carbonylbildung, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die ersten Schritte der Maillardreaktion im fertigen Bier höchstens in vernachlässigbarem Umfang ablaufen. Bei Sauerstoffbelastung und Aminosäurezugabe wurde die Carbonylbildung durch bestimmte Polyphenole erhöht, woraus vermutet werden kann, dass letztere zu  $\alpha$ -Dicarbonylen oxidiert werden und somit für den Streckerabbau zur Verfügung stehen (Thum 1997). Unter Lichteinfluss beschleunigt Catechin den Streckerabbau (Komarek 2001). Die Zugabe von Iso- $\alpha$ -Säuren führten nur bei der forcierten Alterung, d.h. bei erhöhten Temperaturen zu einer verstärkten Bildung der hopfenabhängigen Aldehyde (v.a. 2-Methylpropanal) (Thum 1997). Die Zugabe von Alkoholen wirkte sich nicht aus. Die Aussagekraft der Ergebnisse von THUM wird durch die Tatsache eingeschränkt, dass sich seine Untersuchung auf die Messung von nur vier Einzelsubstanzen (Streckeraldehyde und Hopfenabbauprodukte) stützt.

Bei Berücksichtigung des aufgestellten Modells verliert die Frage nach konkreten Precursorsubstanzen als Ursache der Alterungsprozesse an Bedeutung. Das Hydroxylradikal ist in der Lage sämtliche organischen Inhaltsstoffe anzugreifen und der Zusammenhang zwischen thermischer Belastung und Geschmacksstabilität kann durch die Bildung redoxaktiver Maillardprodukte erklärt werden, die den Fentonschritt antreiben, wie in dieser Arbeit gezeigt wurde.

Da die Konzentrationen der meisten der genannten Substanzen im Bier um den Faktor  $10^3$  höher liegen als die der Alterungscarbonyle, sind Stoffumsätze über Konzentrationsabnahmen der Edukte oft nicht nachweisbar. Ebenso kann vermutet werden, dass Konzentrationsänderungen der Edukte (Precursoren) im Rahmen technologischer Maßnahmen sich im Vergleich zu der Wirkung der Reaktionsbedingungen (pH, Temp, Katalysatoren, Antioxidantien, Reduktone) nur in geringem Maße auf die Reaktionsgeschwindigkeiten auswirken.

Dennoch bilden sich bei Alterungsprozessen verschiedener Biere und unter verschiedenen Rahmenbedingungen unterschiedliche Aromaprofile aus. Das kann allein durch eine unspezifische Oxidation von Inhaltsstoffen nicht ausreichend erklärt werden. Anscheinend sind noch andere Reaktionswege von Bedeutung. Dafür spricht auch, dass z. B. die direkte Oxidation von Alkoholen anscheinend nur unter bestimmten Bedingungen in relevantem Umfang abläuft.

Da ein großer Teil des eingetragenen Sauerstoffs in den Polyphenolen wiedergefunden werden kann (Owades and Jakovac 1966), kann spekuliert werden, ob neben der Oxidation von Bierinhaltsstoffen durch  $\text{OH}\cdot$  die Degradation der beteiligten Reduktone selbst der bedeutendere Reaktionsweg zur Bildung der Alterungskarbone ist. Nachdem Polyphenole oder andere Reduktone einen Einelektronenschritt katalysiert haben ( $\rightarrow$ Semichinon) werden sie wegen der räumlichen Nähe selbst zum wahrscheinlichen Ziel des erzeugten Radikals (neben Ethanol). Eine weitere Degradation des oxidierten Reduktions könnte dann zur Bildung spezifischer Alterungskomponenten führen. Hierfür kommen sämtliche Bierinhaltsstoffe mit Endiol- oder mit  $\alpha$ -Dicarbonyl-Struktur (oxidierte Endiolform) in Frage. Endiol- oder  $\alpha$ -Dicarbonyl-Strukturen sind Bestandteil von Polyphenolen, Melanoidinen und Iso- $\alpha$ -Säuren, und treten als Produkte der Amadori-Umlagerung bei der Maillardreaktion auf. Die Sauerstoffaktivierung und Degradationsmechanismen wie z.B. der Streckerabbau sind somit möglicherweise keine unabhängigen, parallel ablaufenden Mechanismen sondern aneinander gekoppelt. Auch der Streckerabbau ist ein oxidativer Mechanismus und beginnt mit der Abstraktion eines Protons durch ein (zuvor) oxidiertes Reduktions. Demzufolge könnte er auch parallel durch das in der Nähe gebildete Hydroxylradikal ausgelöst werden. Dieser Gedanke wird stark durch die Abhängigkeit der Bildung von Streckeraldehyden von der Sauerstoffbelastung (Blockmans et al. 1975; Eichhorn 1991) und von der Anwesenheit von Polyphenolen und Metallionen (Hashimoto and Kuroiwa 1975; Blockmans et al. 1981; Lustig 1994) gestützt. Oxidative Mechanismen bei der Maillardreaktion und beim Abbau von Aldehyden zu Carbonylen wurden im Bier bereits von ZEISE et al. und von SAVEL und ZDVIHALOVA beobachtet (Zeise et al. 1991; Savel and Zdvihalova 1998). THUM konnte im Zugabeversuch die Bildung von 2-Methylpropanal (Streckeraldehyd und Degradationsprodukt der Iso- $\alpha$ -Säure) durch Fentonreagenz steigern, was für die Kopplung dieser Prozesse an die Sauerstoffaktivierung spricht.

Durch diese Erweiterung kann mit dem Modell der Sauerstoffaktivierung nun auch die Bildung unterschiedlicher Spektren an Alterungsindikatoren erklärt werden. Denkbare Reaktionsfolgen sind vereinfacht und idealisiert in Abbildung 61 dargestellt. Wegen der Reaktivität der beteiligten Substanzen und der Möglichkeit



von Interaktionen können die einzelnen Reaktionen nicht streng voneinander abgegrenzt werden.

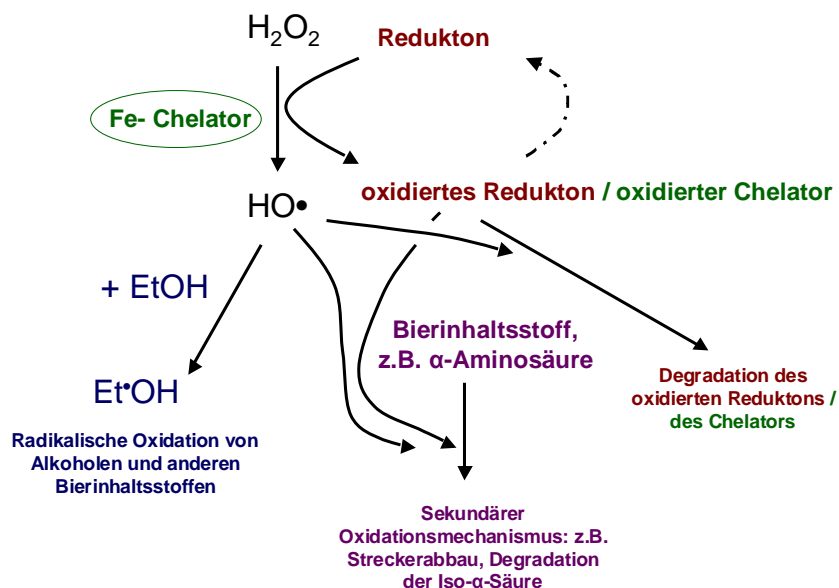


Abbildung 61: An die Sauerstoffaktivierung gekoppelte Abbaumechanismen bei der Alterung des Bieres (Modell).

Weiterer Forschungsbedarf besteht im Feld der Geschmacksstabilität noch hinsichtlich des Beitrags verschiedener Fraktionen der reduzierenden Inhaltsstoffe zum Reduktionsvermögen von Malz, Würze und Bier, vor allem im Bereich der Rohstoffe, zum Einfluss der Proteine auf die Stabilität des Bieres, zum Geschmacksbeitrag der Eisenionen sowie zur Beschreibung der geschmacklichen und haptischen Veränderungen des Bieres im Verlauf der Alterung.

## 6 Zusammenfassung

Die Einflussgrößen der Geschmacksstabilität des Bieres sowie die Bedeutung antioxidativer Inhaltsstoffe sind sehr komplex. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Problemstellung durch die Bestimmung antioxidativer Eigenschaften von Bierinhaltsstoffen sowie die Aufklärung der natürlichen Alterungsprozesse im Bier angegangen. Als Ergebnis konnten praxisrelevante Kriterien herausgearbeitet werden, die den Weg zur Erlangung einer guten Geschmacksstabilität weisen.

Die sensorischen Veränderungen bei der Alterung des Bieres sind heutzutage überwiegend auf eindiffundierenden Sauerstoff zurückzuführen und führen innerhalb der ersten vier bis sechs Wochen nach der Abfüllung zu einem charakteristischen Qualitätsverlust. Gegenüber früheren Erkenntnissen dominieren hierbei nicht die klassischen Alterungsaromen sondern Veränderungen im Geschmacksgefüge sowie ein Verlust des biertypischen Charakters. Die Veränderungen konnten sensorisch mithilfe der entwickelten Profilprüfung sowie analytisch durch die Bestimmung von Sauerstoffindikatoren, Lagtime und Radikalgenerierung nachvollzogen werden.

Da sämtliche Prozesse der Alterung an oxidative Vorgänge gekoppelt sind oder von ihnen ausgelöst werden, wird die Geschmacksstabilität deutlich von den endogen im Bier enthaltenen redoxaktiven Inhaltsstoffen geprägt.

In der Arbeit zeigte sich, dass Maillardprodukte im gesamten Brauprozess und im fertigen Bier stark prooxidativ wirken. Sulfite erwies sich als das stärkste Antioxidans des Bieres und bezüglich der chemischen Stabilität als Gegenspieler der Maillardprodukte. Die Polyphenole wirken beim Maischen in Summe antioxidativ, wobei ein leichter, positiver Nettoeffekt bis ins fertige Bier bestehen bleibt. Einzelne Fraktionen der Polyphenole können in bestimmten Prozessschritten auch prooxidativ wirken. Hierzu gehören noch nicht identifizierte Polyphenolfractionen des Malzes, die Flavanoide, im Glattwasser enthaltene Polyphenole, Gallussäure und vermutlich Gallotannine, sowie im Bier die Tannine. Die antioxidative Wirkung des Hopfens ist in erster Linie auf die Humulone zurückzuführen. Wegen der Beteiligung spezifischer Polyphenole an

prooxidativen Prozessen sollte das fertige Bier stabilisiert werden, wobei sich eine beidseitige Stabilisierung (protein- und polyphenolseitig) als vorteilhaft erwiesen hat.

Die Messung des Reduktionsvermögens des Bieres als Summengröße mittels DPI (MEBAK) erwies sich als geeigneter Indikator für die Geschmacksstabilität und sollte über den gesamten Brauprozess bis ins fertige Bier möglichst niedrig gehalten werden, z. B. durch geringe thermische Belastung.

Da die Aktivierung des Sauerstoffs zu radikalischen, reaktiven Formen ein reduktiver Vorgang ist, kann jedes Redukton potentiell auch prooxidativ wirken. Eine wichtige Erkenntnis der Arbeit ist im Gegensatz zur bisherigen Meinung die Tatsache, dass sich eine Erhöhung des Reduktionsvermögens im Einzelfall pro- oder antioxidativ auswirkt. Dennoch muss eine belegbare antioxidative Wirkung nicht zwangsläufig zu einer verbesserten chemischen oder sensorischen Stabilität führen. Dementsprechend ist ein grundlegendes Ergebnis dieser Arbeit die Erkenntnis, dass die Begriffe Reduktionsvermögen, antioxidative Aktivität, chemische Stabilität und Geschmacksstabilität unabhängige Eigenschaften beschreiben und somit keinesfalls gleichgesetzt werden dürfen.

Durch die gewonnenen Ergebnisse konnte das Verständnis der bei der Alterung ablaufenden Prozesse deutlich erweitert werden. Abschließend wurde ein Modell der bei der Alterung ablaufenden Reaktionsfolgen aufgestellt, das die oxidativen Veränderungen und die Einflüsse verschiedener Stoffgruppen weitgehend erklären kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch zahlreiche Analysemethoden neu entwickelt oder modifiziert, die eine zuverlässigere Bewertung antioxidativer Effekte ermöglichten: Die Bestimmung der Radikalgenerierung, die Übertragung der ESR-Analytik auf Würzen und Malzkaltauszüge, die Standardisierung der DPPH-Messung, die Bestimmung der Sauerstoffempfindlichkeit, die elektrochemische Bestimmung des Redoxpotentials und die Messung der Oxidationsneigung mittels Chemilumineszenz. Hiervon könnten auch zukünftige Forschungsprojekte profitieren.

## Literatur

- Aerts, G., L. De Cooman, I. De Pril, G. De Rouck, B. Jaskula, A. De Buck, B. Van Hijfte, C. De Pauw and J. van Waesberghe (2003). Improved brewhouse performance and beer stability by addition of a minimal, but effective concentration of gallotannins to the brewing and sparging liquor. *29th European Brewery Convention Congress*.
- Aerts, G., L. De Cooman, G. De Rouck, Z. Penzes, A. De Buck, R. Mussche and J. Van Waesberghe (2001). "Evaluation of the addition of gallotannins to the brewing liquor for the improvement of the flavour stability of beer." *Cerevisia* **26**(3): 161–167.
- Amorati, R., G. F. Pedulli, L. Cabrini, L. Zambonin and L. Landi (2006). "Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**(8): 2932–2937.
- Andersen, M. L., H. Outtrup, P. Riis and L. H. Skibsted (1999). Do polyphenols influence the flavour stability of beer? *27th European Brewery Convention Congress*.
- Andersen, M. L., H. Outtrup and L. H. Skibsted (2000). "Potential antioxidants in beer assessed by ESR spin trapping." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**(8): 3106–3111.
- Andersen, M. L. and L. H. Skibsted (1998). "Electron spin resonance spin trapping identification of radicals formed during aerobic forced aging of beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**(4): 1272–1275.
- Andersen, M. L. and L. H. Skibsted (2001). "Modification of the levels of polyphenols in wort and beer by addition of hexamethylenetetramine or sulfite during mashing." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**(11): 5232–5237.
- Antolovich, M., P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald and K. Robards (2002). "Methods for testing antioxidant activity." *Analyst* **127**: 183–198.
- Araki, S., M. Takashio and K. Shinotsuka (2002). "A new parameter for determination of the extend of staling in beer." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **60**: 26–30.
- Back, W., Ed. (2008). *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie*. Nürnberg, Fachverlag Hans Carl.
- Bamforth, C. W. (1983). "Superoxide dismutase in barley." *Journal of the Institute of Brewing* **89**(6): 420–423.
- Bamforth, C. W. (1999). "The science and understanding of the flavor stability of beer: A critical assessment." *Brauwelt International*: 98–110.

- Bamforth, C. W., R. E. Muller and M. D. Walker (1993). "Oxygen and oxygen radicals in malting and brewing: A review." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **51**: 79–88.
- Bamforth, C. W. and M. Parsons (1985). "New procedures to improve flavor stability of beer." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **43**: 197–202.
- Basarova, G. and A. Mikyska (1982). "Origin and significance of sulfur dioxide in beer." *Kvasny Prumysl* **28**(9).
- Basarova, G., J. Savel, J. Janousek and H. Cizkova (1999). "Veränderung des Aminosäuregehaltes während der natürlichen Alterung des Bieres." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **52**: 112–118.
- Belitz, H.-D., W. Grosch and P. Schieberle (2001). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Berlin, Springer.
- Bellmer, H.-G. (1976). Studie über die Polyphenole und deren Polymerisationsindex in den Rohstoffen des Bieres und ihre Veränderung während der Bierbereitung. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Bellmer, H. G., R. Galensa and J. Gromus (1995). "Bedeutung der Polyphenole für die Bierherstellung." *Brauwelt* **135**(28/29): 1372–1379, 1477–1496.
- Benzie, I. F. F. and J. J. Strain (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP Assay." *Analytical Biochemistry* **239**(1): 70–76.
- Billaud, C. and J. Nicolas (2001). "Oxidoreductases involved in malting and brewing." *Sciences des Aliments* **21**(2): 83–131.
- Bishop, D. F., G. Stern, M. Fleischman and L. S. Marshall (1968). "Hydrogen peroxide catalytic oxidation of refractory organics in municipal waste waters." *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development* **7**(1): 110–117.
- Blockmans, C., A. Devreux and M. C.A. (1975). Formation de composés carbonyles et alteration du goût de la bière. *15th European Brewery Convention Congress*
- Blockmans, C., J. van de Meersche, C. A. Masschelein and A. Devreux (1981). Photodegradation and formation of carbonyl and sulfur compounds in beer, Copenhagen.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." *Nature (London, United Kingdom)* **181**: 1199–200.
- Bohmann, J. J. (1985). "Determination of the ageing behavior of beer." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **38**: 79–85.
- Boivin, P. (2001). "Pro- and antioxidant enzymatic activity in malt." *Cerevisia* **26**(2): 109–115.

- Boivin, P., D. Allain, V. Clamagirand, M. N. Maillard, M. E. Cuvelier, C. Berset, H. Richard, J. Nicolas and F. Forget-Richard (1993). Mesure de l'activité antioxygène de l'orge et du malt: approche multiple. *24th European Brewery Convention Congress*, Oslo.
- Bors, W., C. Michel and K. Stettmaier (2000). "Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters." *Archives of Biochemistry and Biophysics* **374**(2): 347–355.
- Bravo, A., E. Scherer, J. Madrid, J. Herrera, H. Virtanen and R. Rangel-Aldao (2001). Identification of  $\alpha$ -dicarbonylic compounds in aged beers: their role in beer ageing process. *28th European Brewery Convention Congress*, Budapest.
- Brewer, J. D. and M. S. Fenton (1980). "The formation of sulfur dioxide during fermentation." *Proceedings of the Convention - Institute of Brewing (Asia Pacific Section)* **16th**: 155–164.
- Brezova, V., M. Polovka and A. Stasko (2002). "The influence of additives on beer stability investigated by EPR spectroscopy." *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **58A**(6): 1279–1291.
- Buggey, L. A. (2001). "A review of polyphenolic antioxidants in hops, brewing and beer." *The Brewer International* **4**: 21–25.
- Bungert, K. and K. Eichner (2000). "Radical scavenging and antioxidative properties of phenolic compounds in relation to their chemical structure." *ACS Symposium Series* **754**: 119–134.
- Burroughs, L. F. and A. H. Sparks (1973). "Sulphite-binding power of wines and ciders. I. Equilibrium constants for the dissociation of carbonyl bisulphite compounds." *J Sci Food Agric FIELD Full Journal Title:Journal of the science of food and agriculture* **24**(2): 187–198.
- Bushnell, S. E., J.-X. Guinard and C. W. Bamforth (2003). "Effects of sulfur dioxide and polyvinylpyrrolidone on the flavor stability of beer as measured by sensory and chemical analysis." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **61**(3): 133–141.
- Canada, A. T., E. Gianella, T. D. Nguyen and R. P. Mason (1990). "The Production of reactive oxygen species by dietary flavanols." *Free Radical Biology & Medicine* **9**: 441–449.
- Chapon, L. (1993). "Nephelometry as a method for studying the relations between polyphenols and proteins." *Journal of the Institute of Brewing* **99**: 49–56.
- Chapon, L., B. Chollot and E. Urion (1661). "Quelques propriétés des troubles reversibles et irréversibles des bières." *Brasserie* **16**: 42–55, 73–83.
- Chapon, L. and K. F. Kretschmer (1969). "Untersuchungen über Tannoidgehalt und Reduktionkraft von Gerste und Malz." *Monatsschrift für Brauerei* **22**(5): 110–113.

- Chapon, L. and C. Louis (1974). "Les reducteurs en brasserie." *Bioscience* **5**(11): 448–456.
- Chapon, L., C. Louis and S. Chapon (1981). Estimation of the reducing power of beer using an iron-dipyridyl complex. *18th European Brewery Convention Congress*, Copenhagen.
- Charalambous, G. (1974). "Progress report on flavour influence and determination of beer polyphenols." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **11**(2): 146–147.
- Cillard, J., P. Cillard and M. Cormier (1980). "Effect of experimental factors on the pro-oxidant behavior of tocopherol." *Journal of the American Oil Chemists' Society* **57**: 255–261.
- Cilliers, J. J. L. and V. L. Singleton (1990). "Autoxidative phenolic ring opening under alkaline conditions as a model for natural polyphenols in food." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **38**: 1797–1798.
- Cirico, T. L. and S. T. Omaye (2006). "Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation." *Food and Chemical Toxicology* **44**: 510–516.
- Clerk, D. and Cauwenberge (1956). *Bulletin Anciens Etudiants en Brasserie*.
- Coghe, S., G. Derdelinckx and F. R. Delvaux (2004). "Effect of non-enzymatic browning on flavour, colour and antioxidative activity of dark specialty malts - a review." *Monatsschrift für Brauwissenschaft*(June): 25–38.
- Coghe, S., B. Gheeraert, A. Micchiels and F. R. Delvaux (2006). "Development of Maillard reaction related characteristics during malt roasting." *Journal of the Institute of Brewing* **112**(2): 148–156.
- Cohen, G. (1977). In defense of Haber-Weiss. *Superoxide and Superoxide Dismutases*. J. A. Fee and J. S. Valentine. London, Academic Press: 317–321.
- Dalgliesh, C. E. (1977). Flavour Stability. *16th European Brewery Convention Congress*, Elsevier.
- De Cooman, L., G. Aerts, H. Overmeire and D. De Keukeleire (2000). "Alterations of the profiles of iso-alpha-acids during beer ageing, marked instability of *trans*-iso-alpha-acids and implications for beer bitterness consistency in relation to tatrahydroiso-alpha-acids." *Journal of the Institute of Brewing* **106**: 169–178.
- De Souza, R. F. V. and W. F. De Giovanni (2004). "Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metall ions." *Redox Report* **9**: 97–104.
- Decker, E. A. (1997). "Phenolics: prooxidants or antioxidants?" *Nutrition Reviews* **55**: 396–407.

- Delcour, J. A., P. Dondeyne, E. K. Trousdale and V. L. Singleton (1982). "The reactions between polyphenols and aldehydes and the influence of acetaldehyde on haze formation in beer." *Journal of the Institute of Brewing* **88**: 234–243.
- Delcour, J. A. and D. Janssens de Varebeke (1985). "A new colorimetric assay for flavonoids in pilsner beers." *Journal of the Institute of Brewing* **91**(1): 37–40.
- Devreux, A., C. Blockmans and J. van de Meersche (1981). Carbonyl compounds formation during aging of beer. *18th European Brewery convention Congress*, Kopenhagen.
- Dörr, C. (2003). Untersuchung der Eignung von Kunststoffflaschen für die Bierabfüllung. Freising, TU München-Weihenstephan.
- Drost, B. W., J. Duidam, S. F. Hoekstra and J. Strating (1974). "Role of individual compounds in beer staling." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **11**(2): 127–134.
- Drost, B. W., P. Van Eerde, S. F. Hoekstra and J. Strating (1971). Fatty acids and staling of beer. *13th European Brewery Convention Congress*.
- Dufour, J.-P., M. Leus, A. J. Baxter and A. R. Hayman (1999). "Characterization of the reaction of bisulfite with unsaturated aldehydes in a beer model system using nuclear magnetic resonance spectroscopy." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **57**(4): 138–144.
- Dufour, J. P. (1991). "Influence of industrial brewing and fermentation working conditions on beer sulfur dioxide level and flavor stability." *Proceedings of the Congress - European Brewery Convention* **23rd**: 209–216.
- Dufour, J. P., B. Carpentier, M. Kulakumba, J. L. van Haecht and A. Devreux (1989). Alteration of SO<sub>2</sub> production during fermentation. *22nd European Brewery Convention Congress*, Zürich, European Brewery Convention.
- Eichhorn, P. (1991). Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Eichhorn, P., T. Komori, H. Miedaner and L. Narziß (1989). Alterungscarbonyl im sub-ppb Bereich. *22th European Brewery Convention Congress*, Zürich.
- Elstner, E. F. (1990). Der Sauerstoff. Mannheim, BI – Wissenschaftsverlag.
- Fenton, H. J. H. (1894). "Oxidation of tartaric acid in presence of iron." *Journal of the Chemical Society, Transactions* **65**: 899–910.
- Forster, A., B. Beck, R. Schmidt, C. Jansen and A. Mellenthin (2002). "On the composition of low molecular polyphenols in different varieties of hops and from two growing areas." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **55**(5/6): 98–102, 104–108.
- Forster, C. (1996). Der Einfluß der Darrtechnologie auf die Malz- und Bierqualität. Freising, TU München-Weihenstephan.



- Forster, C., J. Schwieger, L. Narziß, W. Back, M. Uchida, M. Ono and K. Yanagi (1999). "Untersuchungen zur Geschmacksstabilität von Bier mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie freier Radikale." *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft* **52**(5/6): 86–93.
- Francois, N., C. Guyot-Declerck, B. Hug, D. Callemien, B. Govaerts and S. Collin (2006). "Beer astringency assessed by time-intensity and quantitative descriptive analysis: Influence of pH and accelerated aging." *Food Quality and Preference* **17**(6): 445–452.
- Franz, O. (2004). Systematische Untersuchungen zur endogenen antioxidativen Aktivität von hellem, untergäurigem Bier unter besonderer Berücksichtigung technologischer Maßnahmen beim Brauprozess. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Franz, O. and W. Back (2001). DPPH-scavenging activity of beer and polyphenols measured by ESR. *28th European Brewery Convention Congress*.
- Franz, O. and W. Back (2003). Continuous measurement of oxidation reactions during mashing by chemiluminescence detection. *29th European Brewery Convention Congress*.
- Franz, O., W. Back and R. Galensa (2003). Systematische Untersuchungen zur endogenen antioxidativen Aktivität von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole und ihrer Veränderung beim Brauprozess. Freising / Bonn, AiF – Otto von Guericke.
- Frédéric, V. (1997). Naßoxidation von Phenol mit Sauerstoff unter milden Bedingungen. Zürich, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich.
- Friedrich, W. (2000). Proanthocyanidine in den Braurohstoffen Gerste (*Hordeum vulgare* L.) und Gerstenmalz: HPLC-Bestimmung mit UV- und Elektrodenarray-Detektion. Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität.
- Furusho, S., N. Kobayashi, N. Nakae, M. Takashio, T. Tamaki and K. Shinotsuka (1999). "A developed descriptive sensory test reveals beer flavor changes during storage." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **36**: 163–166.
- Galati, G., O. Sabzevari, J. X. Wilson and P. J. O'Brien (2002). "Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics." *Toxicology* **177**(1): 91–104.
- Gardner, R. J. and J. D. McGuinness (1977). "Complex phenols in brewing: a critical survey." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **14**: 250–260.
- Gebhart, E. (1993). Elektrochemische Bestimmung von Reduktionen in Bier. München, TU München.

- Gijs, L., F. Chevance, V. Jerkovic and S. Collin (2002). "How low pH can intensify beta-damascenone and dimethyl trisulfide production through beer ageing." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 5612–5616.
- Goiris, K., E. Syryn, B. Jaskula, F. Van Opstaele, G. De Rouck, G. Aerts and L. De Cooman (2005). Hop polyphenols: potential for beer flavour and flavour stability. *30th European Brewery Convention Congress*, Praha.
- Gromus, J. and S. Lustig (1999). "Einfluß von Polyphenolen und reduzierenden Verbindungen auf die Bierqualität und ihr Verhalten im Brauprozess." *Brauwelt* **44**: 2028 – 2034.
- Guyot-Declerck, C., N. Francois, C. Ritter, B. Govaerts and S. Collin (2005). "Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data." *Food Quality and Preference* **16**: 157–162.
- Gyllang, H., M. Winge and C. Korch (1989). Regulation of SO<sub>2</sub> formation during fermentation. *22nd European Brewery Convention Congress*, Zürich, European Brewery Convention.
- Haber, F. and J. Weiss (1932). "Über die Katalyse des Hydroperoxydes." *Naturwissenschaften* **20**: 948–950.
- Halliwell, B. (1975). "The superoxid dismutase activity of iron complexes." *Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Letters* **56**(1): 34–38.
- Halliwell, B., R. Aeschbach, J. Loeliger and O. I. Aruoma (1995). "The characterization of antioxidants." *Food and Chemical Toxicology* **33**(7): 601–617.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (2007). *Free radicals in biology and medicine*. New York, Oxford University Press.
- Halliwell, B., R. F. Pasternack and J. De Rycker (1982). Interaction of the superoxide radical with peroxidase and with other iron complexes. *Oxidases and related redox systems*. T. E. King, H. S. Mason and M. Morrison. Oxford, Pergamon Press.
- Hanke, S. (2010). *Untersuchungen zum Einfluss der Hopfungstechnologie auf die Geschmacksstabilität und Harmonie untergäriger Biere*. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Harborne, J. B. and H. H. Baxter (1999). *The handbook of natural flavonoids*. Weinheim, Wiley & Sons.
- Hartong, Klopper, Mendlik, Oppenoorth, v. Veldhuizen and Weisenborn (1955–1956). *Int. Brouwerij en Monerij*.
- Hashimoto, N. (1966). *Report of the Research Laboratories of Kirin Brewery Company* **9**.

- Hashimoto, N. (1972). "Oxidation of higher alcohols by melanoidins in beer." *Report of the Research Laboratories of Kirin Brewery Company* **15**: 7–15.
- Hashimoto, N. (1981). Flavour stability of packaged beers. *Brewing Science*. J. R. A. Pollock. London, Academic Press: 347–405.
- Hashimoto, N. and T. Eshima (1977). "Composition and pathway of formation of stale aldehydes in bottled beer." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **35**: 145–150.
- Hashimoto, N. and T. Eshima (1979). "Oxidative degradation of isohumulones in relation to flavour stability of beer." *Journal of the Institute of Brewing* **85**: 136–140.
- Hashimoto, N. and Y. Kuroiwa (1975). "Pathways for the formation of volatile aldehydes during storage of bottled beer." *Report of the Research Laboratories of Kirin Brewery Company* **18**: 1–11.
- Herrmann, K. (1993). "In pflanzlichen Lebensmitteln vorkommende Flavonoide als Antioxidantien." *Gordian*: 108–111.
- Herrmann, M. (2008). Leitsubstanzen der Bieralterung. 41. *Technologisches Seminar Weihenstephan*, Freising, Fachverlag Hans Carl.
- Herrmann, M. and W. Back (2008). Neubewertung von Leitsubstanzen zur Beurteilung der Bieralterung bei modernen Kochsystemen. Bonn, Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft.
- Herrmann, M., M. Krottenthaler, U. Kattein and W. Back (2008). Neubewertung von Leitsubstanzen zur Beurteilung der Bieralterung bei modernen Kochsystemen. Bonn, Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft.
- Hilz, H., M. Kittler and G. Knape (1959). "Reduction of sulfate by yeast." *Biochemische Zeitschrift* **332**: 151–166.
- Hoffmann, M. R. and J. O. Edwards (1975). "Kinetics of the oxidation of sulfite by hydrogen peroxide in acidic solution." *Journal of Physical Chemistry* **79**: 2096–2098.
- Hysert, D. W. and N. M. Morrison (1976). "Sulfate metabolism during fermentation." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **34**(1): 25–31.
- Ilett, D. R. (1995). "Aspects of the analysis, role, and fate of sulfur dioxide in beer - a review." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **32**(4): 213–221.
- Ilett, D. R. and W. J. Simpson (1995). "Loss of sulfur dioxide during storage of bottled and canned beers." *Food Research International* **28**(4): 393–396.

- Irwin, A. J., R. L. Barker and P. Pipasts (1991). "The role of copper, oxygen, and polyphenols in beer flavor instability." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **49**(3): 140–149.
- Jende-Strid, B. (1985). "Phenolic acids in grains of wild type barley and proanthocyanidin free mutants." *Carlsberg Research Communications* **50**.
- Jende-Strid, B. (1988). Analysis of proanthocyanidins and phenolic acids in barley, malt, hops and beer. *Beer analysis*. H. F. Linskens and J. F. Jackson. Berlin, Heidelberg, Springer: 109–127.
- Jende-Strid, B. (1997). Proanthocyanidin-free malting barley – a solution of the beer haze problem. *26th European Brewery Convention Congress*, Maastricht.
- Jerumanis, J. (1985). "Quantitative analysis of flavanoids in barley, hops and beer by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)." *Journal of the Institute of Brewing* **91**: 250–252.
- Kaltner, D. (2000). Untersuchungen zur Ausbildung des Hopfenaromas und technologische Maßnahmen zur Erzeugung hopfenaromatischer Biere. Freising, TU münchen – Weihenstephan.
- Kamimura, M. and H. Kaneda "Off-flavors in beer." *Developments in Food Science* **28**: 433–472.
- Kaneda, H., Y. Kano, S. Koshino and H. Ohya-Nishiguchi (1992). "Behavior and role of iron ions in beer deterioration." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**: 2102–2107.
- Kaneda, H., Y. Kano, T. Osawa, S. Kawakishi and K. Kamada (1989). "The role of free radicals in beer oxidation." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **47**: 49–53.
- Kaneda, H., Y. Kano, T. Osawa, S. Kawakishi and M. Kamimura (1990). "Effect of free radicals on haze formation in beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **38**: 1909–1912.
- Kaneda, H., Y. Kano, T. Osawa, N. Ramarathnam, S. Kawakishi and K. Kamada (1988). "Detection of free radicals in beer oxidation." *Journal of Food Science* **53**(3): 885–888.
- Kaneda, H., N. Kobayashi, S. Furusho, H. Sahara and S. Koshino (1995a). "Chemical evaluation of beer flavor stability." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **32**(2): 76–80.
- Kaneda, H., N. Kobayashi, S. Furusho, H. Sahara and S. Koshino (1995b). "Reducing activity and flavor stability of beer." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **32**(2): 90–4.
- Kaneda, H., N. Kobayashi, M. Takashio, T. Tamaki and K. Shinotsuka (1999). "Beer staling mechanism." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **36**: 41–47.

- Kaneda, H., T. Osawa, S. Kawakishi, M. Munekata and S. Koshino (1994). "Contribution of carbonyl-bisulfite adducts to beer stability." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**(11): 2428–2432.
- Kaneda, H., M. Takashio, T. Osawa, S. Kawakishi and T. Tamaki (1996). "Behavior of sulfites during fermentation and storage of beer." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **54**(2): 115–120.
- Kaukovirta-Norja, A., R. Raitio, P. Lehtinen, P. Hartwall, P. Reinikainen, J. Siirila and S. Home (2003). Influence of different raw materials on lipid distribution during mashing and wort boiling. *29th European Brewery Convention Congress*.
- Kellner, V., A. Mikyska, J. Prokes, D. Haskova, P. Cejka and J. Culik (2005). The influence of malt polyphenols and individual phenolic substances on beer quality and colloidal and sensory stability. *30th European Brewery Convention Congress, Praha*.
- King, B. M. and C. A. A. Duineveld (1999). "Changes in bitterness as beer ages naturally." *Food Quality and Preference* **10**: 315–324.
- Kocherginsky, N. M., Y. Y. Kostetski and A. I. Smirnov (2005). "Use of nitroxide spin probes and electron paramagnetic resonance for assessing reducing power of beer. Role of SH groups." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**(4): 1052–1057.
- Komarek, D. (2001). Key odorants in beer – Influence of storage on the flavor stability Garching, Technische Universität München.
- Kovats, E. (1958). "Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen – Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone." *Helvetica Chimica Acta* **41**: 1915–1932.
- Lea, A. G. H. and G. M. Arnold (1978). "The phenolics of ciders: bitterness and astringency." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **29**(5): 478–483.
- Lee, K.-G. and T. Shibamoto (2002). "Toxicology and antioxidant activities of non-enzymatic browning reaction products: Review." *Food Reviews International* **18**(2-3): 151–175.
- Lehtinen, P., A. Kaukovirta-Norja, H. Virtanen, P. Selin, P. Hartwall, P. Reinikainen, J. Siirila and S. Home (2005). Oxygen consumption during mashing-in. *30th European Brewery Convention Congress Praha*.
- Lewis, M. J., R. M. Pangborn and L. A. S. Tanno (1974). "Sensory analysis of beer flavor." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **11**: 83–86.
- Liedke, R. (1999). Bildung von  $\alpha$ -Dicarbonylverbindungen beim Abbau von Amadori-Umlagerungsprodukten. Münster, Westfälische Wilhelms-Universität.

- Lindenmeier, M., V. Faist and T. Hofmann (2002). "Structural and Functional Characterization of Pronyl-lysine." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 6997–7006.
- Link, K. (2004). Alterungsstabilität und SO<sub>2</sub>-Gehalt - Erfahrungen und Ergebnisse aus Praxisversuchen. München, Spaten - Löwenbräu - Gruppe.
- Liu, J. and J. Lu (2005). "Peroxidase in barley and malt." *Niangjiu* **32**(2): 40–42.
- Lustig, S. (1994). Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. Freising, TU München-Weihenstephan.
- Lustig, S., H. Miedaner and L. Narziß (1993). Untersuchungen flüchtiger Aromastoffe bei der Bieralterung mittels multidimensionaler Gaschromatographie. *24th European Brewery Convention Congress*, Oslo.
- Mader, F. (1998). Ermittlung geschmacklich relevanter Faktoren zur frühen Bewertung von Braugersten-Neuzüchtungen. Freising, TU München-Weihenstephan.
- Magerum, D. W. (1982). Chemistry of copper(III)-peptide complexes. *Oxidases and related redox systems*. T. E. King, H. S. Mason and M. Morrison. Oxford, Pergamon Press.
- Maillard, M. N., M. H. Soum, P. Boivin and C. Berset (1996). "Antioxidant activity of barley and malt: Relationship with phenolic content." *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* **29**: 238–244.
- Mauron, J. (1981). *Maillard reactions in food*  
E. Eriksson. Oxford, Pergamon-Verlag.
- McMurrough, I., D. Madigan and G. Hennigan (1983). "Content of (+)-catechin and proanthocyanidins in barley and malt grain." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **34**: 62–72.
- McMurrough, I., D. Madigan and R. J. Kelly (1997). "Evaluation of rapid colloidal stabilization with polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **55**: 38–43.
- McMurrough, I., D. Madigan, R. J. Kelly and M. R. Smyth (1996). "The role of flavanoid polyphenols in beer stability." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **54**(3): 141–148.
- McMurrough, I., G. P. Roche and K. G. Cleary (1984). "Phenolic acids in beers and worts." *Journal of the Institute of Brewing* **90**: 181–187.
- MEBAK (1993). Brautechnische Analysenmethoden – Band 2. Weihenstephan, Selbstverlag der MEBAK.
- Meilgaard, M. C. (1972). "Stale flavor carbonyls in brewing." *Brewers Digest* **47**: 48–57.

- Meilgaard, M. C., A. Elizondo and E. Moya (1970). "A study of carbonyl compounds in beer – 2. Flavor and flavor thresholds of aldehydes and ketones added to beer." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **7**: 143–150.
- Meilgaard, M. C. and E. Moya (1970). "A study of carbonyl compounds in beer – 1. Background and literature review." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **7**: 135–142.
- Miedaner, H., L. Narziß and P. Eichhorn (1977). Einige Faktoren der Geschmacksstabilität – sensorische und analytische Bewertung. *23rd European Brewery Convention Congress*, Amsterdam.
- Miedaner, H., L. Narziß and P. Eichhorn (1991). Einige Faktoren der Geschmacksstabilität – sensorische und analytische Bewertung. *23rd European Brewery Convention Congress*, Lisbon.
- Mikyska, A., D. Haskova, M. Hrabak, J. Srogl and T. Horak (2001). The role of polyphenols and oxidation processes in brewhouse on beer quality. *28th European Brewery Convention Congress*, Budapest.
- Mikyska, A., M. Hrabak, D. Haskova and J. Srogl (2002). "The role of malt and hop polyphenols in beer quality, flavour and haze stability." *Journal of the Institute of Brewing* **108**(1): 78–85.
- Milde, J., E. F. Elstner and J. Graßmann (2007). "Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low-density lipoprotein oxidation." *Molecular Nutrition & Food Research* **51**: 956–961.
- Moll, M., G. Fonknechten, M. Carnielo and R. Flayeux (1984). "Changes in Polyphenols from raw materials to finished beer." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **21**(2): 79–87.
- Morales, F. J. (2005). "Assessing the non-specific hydroxyl radical scavenging properties of melanoidins in a Fenton-type reaction system." *Analytica Chimica Acta* **534**(1): 171–176.
- Munter, W. (2009). *3x3 Lawinen – Risikomanagement im Wintersport*. Garmisch – Partenkirchen, Pohl & Schellhammer.
- Murray, C. R., T. Barich and D. Taylor (1984). "The effect of yeast storage conditions on subsequent fermentations." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **21**(4): 189–194.
- Muzolf, M., H. Szymusiak, A. Gliszczynska-Swiglo, I. M. C. M. Rietjens and T. Boz'ena (2008). "pH-Dependent radical scavenging capacity of green tea catechins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**: 816–823.
- Nakamura, T., O. Franz and W. Back (2001). pH dependence of radical scavenging activity of polyphenols, phenolic acid and sulfite. *28th European Brewery Convention Congress*, Budapest.

- Narziß, L. (1986). "Technological factors of flavor stability." *Journal of the Institute of Brewing* **92**: 346–353.
- Narziß, L. (2004). *Abriß der Bierbrauerei*. Weinheim, Wiley Verlag.
- Narziß, L., W. Back, H. Miedaner and S. Lustig (1999). "Influencing the organoleptic stability of beer by variation of the technological parameters." *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft* **52**(11/12): 192-206.
- Narziß, L., H. Miedaner and H. Graf (1985). "Carbonyl and Alterung des Bieres, Teil 1: Analytik." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **10**: 396–402.
- Narziß, L., H. Miedaner, H. Graf, P. Eichhorn and S. Lustig (1993). "Technological approach to improve flavor stability." *Technical Quarterly - Master Brewers Association of the Americas* **30**(2): 48-53.
- Narziß, L., E. Reicheneder and W. Bauer (1985). "Effect of oxygen uptake during mashing on wort and beer quality. Part 1: Existing knowledge and basic investigations." *Brauwelt* **125**(46): 2338, 2340, 2342, 2344, 2346-8, 2353-5.
- Narziß, L., E. Reicheneder, W. Faerber and L. Freudenstein (1986). "The effect of oxygen uptake during mashing, lautering, and on wort and beer properties. Part 2: Aeration trials on the small- and semi-scales." *Brauwelt* **126**(1-2): 11-14, 23-5.
- Narziß, L., E. Reicheneder and S. Lustig (1989). "Oxygen optimization during the preparation of worts - new results at pilot plant and technical scales." *Brauwelt* **129**(8): 302, 311-19.
- Narziß, L., E. Reicheneder and H. Nothaft (1982). "Über den Schwefeldioxidgehalt des Bieres." *Brauwelt* **122**(12): 502, 504–5, 508, 517, 519.
- Nenadis, N., O. Lazaridou and M. Z. Tsimidou (2007). "Use of Reference Compounds in Antioxidant Activity Assessment." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(14): 5452–5460.
- Nicoli, M. C., L. Marzocco, C. R. Lerici and M. Anese (1997). "Antioxidant properties of coffee brews in relation to roasting." *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* **30**: 292–297.
- Noeddekaer, T. V. and M. L. Andersen (2007). "Effects of Maillard and caramelization products on oxidative reactions in lager beer." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **65**(1): 15–20.
- Nordloev, H. (1985). "Formation of sulfur dioxide during beer fermentation." *Proceedings of the Congress - European Brewery Convention 20th*: 291–298.
- Nyborg, M., H. Outtrup and T. Dreyer (1999). "Investigations of the protective mechanism of sulfite against beer staling and formation of adducts with trans-2-nonenal." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **57**(1): 24–28.



- Ogane, O., T. Imai, Y. Ogawa and M. Ohkochi (2006). "Influence of wort boiling and wort clarification conditions on aging-relevant carbonyl compounds in beer." *Technical Quarterly & the MBAA Communicator* **43**(2): 121–126.
- Ohno, T. and R. Takahashi (1986). "Role of wort aeration in the brewing process. Part 2 : The optimal aeration conditions for the brewing process " *Journal of the Institute of Brewing* **92**: 88–92.
- Ohtsu, K., N. Hashimoto, K. Inoue and S. Miyaki (1983). "Flavor stability of packaged beer in relation to the oxidation of wort." *Report of the Research Laboratories of Kirin Brewery Company* **26**: 7–14.
- Owades, I. L. and J. Jakovac (1966). Study of beer oxidation with O18. *Annual Meeting of the American Society of Brewing Chemists*.
- Penninckx, M. (2000). "A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses." *Enzyme and Microbial Technology* **26**(9-10): 737–742.
- Penninckx, M. J. (2002). "An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts." *FEMS Yeast Research* **2**(3): 295–305.
- Perussi, J. R., M. H. Tinto, O. R. Nascimento and M. Tabak (1988). "Characterization of protein spin labeling by maleimide: Evidence for nitroxide reduction." *Analytical Biochemistry* **173**(2): 289–295.
- Poole, L. B., P. A. Karplus and A. Claiborne (2004). "Protein sulfenic acids in redox signaling." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **44**: 325–347.
- Preuß, T. (2001). Technologische Maßnahmen zur Erzielung malzaromatischer dunkler Biere hoher Geschmacksstabilität nach Charakterisierung der Schlüsselaromastoffe in asugewählten dunklen Bieren. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Qureshi, A. A., W. C. Burger and N. Prentice (1979). "Polyphenols and pyrazines in beer during aging." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **37**(4): 161–163.
- Reich, H. and R. M. Bock (1960). Dichlorophenolindophenol-reducing substances in beer. *ASBC Annual Meeting*.
- Rifi, M. R. and F. H. Covitz (1974). Introduction to Organic Electrochemistry. New York, Marcel Dekker.
- Rogers, P. J. and F. M. Clarke (2007). Sustainable redox power from beer proteins. *31st European Brewery Convention Congress, Venezia*.
- Rychlik, M., P. Schieberle and W. Grosch (1998). Compilation of odor thresholds, odor qualities and retention indices of key food odorants, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie.

- Saison, D., D. P. De Schutter, B. Uyttenhove, F. Delvaux and F. R. Delvaux (2009). "Contribution of staling compounds to the aged flavour of lager beer by studying their flavour thresholds." *Food Chemistry* **114**: 1206–1215.
- Sakihama, Y., M. F. Cohen, S. C. Grace and H. Yamasaki (2002). "Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants." *Toxicology* **177**(1): 67–80.
- Sakihama, Y., J. Mano, S. Sano, K. Asada and H. Yamasaki (2000). "Reduktion of phenoxyl radicals mediated by monodehydroascorbate reductase." *Biochemical and Biophysical Research Communications* **279**: 949–954.
- Saucier, C., G. Bourgeois, C. Vitry, D. Roux and Y. Glories (1997). "Characterization of (+)-catechin-acetaldehyde polymers: a model for colloidal state of wine polyphenols." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 1045–1049.
- Saucier, C. T. and A. L. Waterhouse (1999). "Synergetic activity of catechin and other antioxidants." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**(11): 4491–4494.
- Savel, J. and D. Zdvihalova (1998). "Jednoduche metody testovani antioxidantu, a prooxidantu piva." *Kvasny Prumysl* **44**: 171–174.
- Schank, K. (1972). "Reductones." *Synthesis*: 176–190.
- Schieberle, P. (1991). "Primary odorants of pale lager beer – Differences to other beers and changes during storage." *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung* **193**: 558–565.
- Schieberle, P. and D. Komarek (2003). Changes in key aroma compounds during natural beer aging. *Freshness and shelf life of foods*. K. R. Cadwallader and H. Weenen, American Chemical Society.
- Schneeberger, M. (2006). Verwertung von Prozessbieren in der Brauerei. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Schönberger, C., W. Back and P. Schieberle (2004). Sensorische und analytische Charakterisierung nicht-flüchtiger Geschmacksstoffe in hellem und dunklem Bier und Erarbeitung technologischer Möglichkeiten zur Verbesserung des Biergeschmackes. Bonn, Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft.
- Schuster, K., F. Weinfurtner and L. Narziß (1999). Die Bierbrauerei – Die Technologie der Malzbereitung, Wiley.
- Shafiee, M., M. A. Carbonneau, J. B. d'Huart, B. Descombs and C. L. Leger (2002). "Synergistic antioxidative properties of phenolics from natural origin toward low-density lipoprotein depend on the oxidation system." *Journal of Medicinal Food* **5**: 69–78.
- Shahidi, F. and P. K. Wanasundara (1992). "Phenolic antioxidants." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **32**: 67–103.

- Spieleder, E. (2007). Systematische Untersuchungen von reduzierenden Substanzen im Malz und ihr Einfluss auf den Brauprozess, TU München-Weihenstephan.
- Spieleder, E., M. Krottenthaler, W. Back, O. Frank, M. Lenczyk and T. Hofmann (2006). Optimierung der antioxidativen Eigenschaften von Bieren anhand der technologischen Beeinflussung der Gehalte vom Pronyl-L-lysin. Berlin, Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft.
- Staller, B. (2003). Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung – Elektrochemische Messungen. Bonn, Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE).
- Stasko, A., V. Brezova, S. Biskupi, D. Smogroviova and R. Selecky (2005). "Stability comparison of lager with dark and non-alcoholic beers using EPR spin trapping technique." *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft* **58**(6): 35–44.
- Steele, R. H. (2004). Understanding and measuring the shelf-life of food. Cambridge, Woodhead Publishing Limited.
- Stephan, A., A. Bies, T. Kunz and F.-J. Methner (2002). "Determination of antioxidants in brewing: some aspects about the use of selected chemical and physical assays." *Monograph - European Brewery Convention* **31**(Flavour and Flavour Stability): 99–110.
- Swan, T., B. Baldwin, F. Clarke, K. Tonissen, M. Anderson and P. Rogers (2003). The development and application of natural yeast reductants to the stabilisation of beer. *29th European Brewery Convention Congress*.
- Teagle, J. (2010). Veränderung sensorischer und analytischer Merkmale untergäriger heller Biere im Verlauf der Alterung. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Thiele, F. (2006). Einfluss der Hefevitalität und der Gärparameter auf die Stoffwechselprodukte der Hefe und auf die Geschmacksstabilität. , TU München-Weihenstephan.
- Thomas, D. and Y. Surdin-Kerjan (1997). "Metabolism of sulfur amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **61**(4): 503–532.
- Thum, B. (1997). Modellversuche zur Bildung von Carbonylverbindungen bei der Lagerung von Bier. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Thum, B. and W. Back (1999). Schonende Analysenmethoden zur Quantifizierung von Schlüsselaromastoffen in Bier. *27th European Brewery Convention Congress, Cannes*.
- Thum, B., H. Miedaner, L. Narziß and W. Black (1995). Bildung von Alterungscarbonylen – mögliche Mechanismen und Bedeutung bei der Bierlagerung. *25th European Brewery Convention Congress, Brussels*.

- Ting, P. L., L. Lusk, J. Reffling, S. Kay and D. Ryder (2008). "Identification of antiradical hop compounds." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **66**: 116–126.
- Tressl, R., D. Bahri and M. Kossa (1980). Formation of off-flavor components in beer. *The analysis and control of less desirable flavors in food and beverages*. G. Charalambous. New York, Academic Press: 293–318.
- Tressl, R., D. Bahri and R. Silwar (1979). Bildung von Aldehyden durch Lipidoxidation und deren Bedeutung als "Off-Flavour-komponenten" in Bier. *17th European Brewery Convention Congress*, Berlin.
- Uchida, M. and M. Ono (1996). "Improvement for oxidative flavor stability of beer – role of OH-radical in beer oxidation." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **54**(4): 198–204.
- Uchida, M. and M. Ono (1999). "Determination of hydrogen peroxide in beer and its role in beer oxidation." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **57**(4): 145–150.
- Uchida, M., S. Suga and M. Ono (1996). "Improvement for oxidative flavor stability of beer – rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **54**(4): 205–211.
- v. Euler, H. and B. Eistert (1957). *Chemie und Biochemie der Reduktone und Reduktonate*. Stuttgart, Enke Verlag.
- Van Haecht, J. L. and J. P. Dufour (1995). "The production of sulfur compounds by brewing yeast: A review." *Cerevisia* **20**(1): 51–64.
- Vanderhaegen, B., F. Delvaux, L. Daenen, H. Verachtert and F. R. Delvaux (2007). "Aging characteristics of different beer types." *Food Chemistry* **103**: 404–412.
- Vanderhaegen, B. and G. Derdelinckx (2005). "Characterisation of flavour compounds in fresh and aged beer by purge and trap -gas chromatography -mass spectrometry." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **58**(11/12): 1–9.
- Vanderhaegen, B., H. Neven, S. Coghe, K. J. Verstrepen, H. Verachtert and G. Derdelinckx (2003). "Evolution of chemical and sensory properties during ageing of top-fermented beer." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 6782–6790.
- Vanderhaegen, B., H. Neven, H. Verachtert and G. Derdelinckx (2006). "The chemistry of beer aging – a critical review." *Food Chemistry* **95**(3): 357–381.
- Veselov, Y. and V. M. Levacheva (1954). "Catalase and peroxidase activity of beer during the process of fermentation and aging. – I." *Trudy Vsesoyuz. Nauch. Issledovatel. Inst. Pivovar. Prom.*(4): 66–72.

- Vrtelova, H. and A. Dolezalova (1976a). "Beziehungen der Polyphenole zu den wichtigsten analytischen Kriterien des Malzes." *Kvasny' prumysl* **22**(3): 56–58.
- Vrtelova, H. and A. Dolezalova (1976b). "Effect of polyphenols on the analytical criteria which characterizes the quality of malt. Part II. Experimental work." *Kvasny Prumysl* **22**(4): 73–76.
- Walling, C. (1982). The nature of the primary oxidants in oxidations mediated by metal ions. *Oxidases and related redox systems*. T. E. King, H. S. Mason and M. Morrison. Oxford, Pergamon Press.
- Walters, M. T. (1997). "Natural antioxidants and flavour stability." *Ferment* **10**(2): 111–119.
- Walters, M. T., A. P. Heasman and P. S. Hughes (1997a). "Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. Part 1: Forced aging." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **55**(2): 83–89.
- Walters, M. T., A. P. Heasman and P. S. Hughes (1997b). "Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impacts on beer flavor stability. Part 2: extended storage trials." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **55**(3): 91–98.
- Wedzicha, B. L. (1984). Chemistry of Sulfur Dioxide in Foods.
- Whittle, N., H. Eldridge, J. Bartley and G. Organ (1999). "Identification of the polyphenols in barley and beer by HPLC/MS and HPLC/electrochemical detection." *Journal of the Institute of Brewing* **105**(2): 89–99.
- Wijewickreme, A. N. and D. D. Kitts (1998). Metal chelating and antioxidant activity of model maillard reaction products. *Process induced chemical changes in food*. F. Shahidi, C. T. Ho and N. van Chuyen. New York, Plenum: 245–254.
- Wijewickreme, A. N., D. D. Kitts and T. D. Durance (1997). "Reaction conditions influence the elementary composition and metal chelating affinity of non dialyzable model maillard reaction products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 4577–4583.
- Wunderlich, S. (2010). Dissertation in Vorbereitung. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Wurzbacher, M. (2003). Untersuchungen zur Kontrolle und Steigerung des Schwefeldioxidgehaltes während der Hauptgärung unter Berücksichtigung biotechnologischer Aspekte. Lehrstuhl für Technologie der Brauerei 1. Freising, TU München – Weihenstephan.
- Wurzbacher, M. (2006). Einsatzmöglichkeiten der Elektronenspinresonanz - Spektroskopie (ESR) zur Beurteilung der antioxidativen Eigenschaften von Malz, Würze und Bier. 39. *Technologisches Seminar Weihenstephan*, Freising, Fachverlag Hans Carl.

- Wurzbacher, M. (2007). Einsatzmöglichkeiten der Elektronenspinresonanz - Spektroskopie (ESR) zur Beurteilung der antioxidativen Eigenschaften von Malz, Würze und Bier. *40. Technologisches Seminar Weihenstephan*, Freising, Fachverlag Hans Carl.
- Wurzbacher, M. (2008). Kontrolle der SO<sub>2</sub>-Bildung der Brauereihefe zur Verbesserung der Geschmacksstabilität. München, Wissenschaftliche Station München.
- Wurzbacher, M. and W. Back (2007). "Einsatzmöglichkeiten der ESR-Analytik zur Brauereiprozesskontrolle im Hinblick auf die Geschmacksstabilität." *Brauwelt* **147**: 594–599.
- Wurzbacher, M., O. Franz and W. Back (2005a). "Control of sulphite formation of lager yeast." *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **59**: 10–17.
- Wurzbacher, M., C. Kinitz, M. Krottenthaler, W. Back and R. Galensa (2005b). Systematische Untersuchungen zur endogenen antioxidativen Aktivität von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole und ihrer Veränderung beim Brauprozess. Freising / Bonn, AiF – Otto von Guericke.
- Wurzbacher, M., C. Kinitz, M. Krottenthaler, W. Back and R. Galensa (2006). "Endogene antioxidative Aktivität von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole " *Brauwelt* **146**: 964–967.
- Yamasaki, H., S. Takahashi and R. Heshiki (1999). "The tropical fig *Ficus microcarpa* L. f. cv. golden leaves lacks heat-stable dehydroascorbate reductase activity." *Plant and Cell Physiology* **40**: 640–646.
- Zeise, S., J. Klein, L. Kroh and R. Stösser (1991). Radical processes in the maillard reaction, the formation of autooxidants. *6th European Conference of food chemistry*, Hamburg.

# Anhang

**Tabelle A\_ 1: Bei der Alterung des Bieres gebildete Aromastoffe nach Literaturangaben.**

Edukte / Precursor	Edukte allgemein	Reaktionsmechanismus / Bildungsweg	Produkte / Stoffgruppe	Substanz	Aromaeindruck	Relevante Prozessparameter	Einflussparameter bei der Alterung		
Ethanol	Alkohol	Direkte Oxidation	Lineare Aldehyde	Acetaldehyd	stechend, grüner Apfel, fruchtig		Sauerstoff		
Linolensäure	ungesättigte Fettsäuren / Iso- $\alpha$ -Säuren / Alkohole / Aldehyde / ungesättigte Carbonyle	Lipidoxidation / Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren / Aldolkondensation von Aldehyden / Oxidation des korrespondierenden Alkohols / oxidativer Abbau von ungesättigten Carbonylen		Propanal	Lösungsmittel				
				Butanal	grün, stechend	Mälzung, Maischen, Sauerstoff im Sudhaus	Sauerstoff		
Linolensäure				Pentanal	stechend				
Linolensäure				Hexanal	grasig / grün, bitter, weinartig				
Ölsäure, Linolensäure, t-2-Octenal, t-2-Nonenal				Heptanal	bitter, weinähnlich	Sauerstoff im Sudhaus	Wärme, Zeit		
Ölsäure, Linolensäure				Octanal	fettig	Sauerstoff im Sudhaus			
Ölsäure				Nonanal	talig, fruchtig				
Ölsäure				Decanal	Orangenschale, blumig, erdig				
Linolensäure				ungesättigte Fettsäuren / Iso- $\alpha$ -Säuren / Alkohole / Aldehyde	Lipidoxidation / Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren / Aldolkondensation / Oxidation des korrespondierenden Alkohols	Ungesättigte Aldehyde	(E)-2-Butenal	Apfel, Mandel	
Linolensäure			2-Pentenal						
Linolensäure	2-Hexenal	grün, fruchtig							
Ölsäure, Linolensäure, Linolensäure	2-Heptenal	fettig, seifig, fruchtig							
Linolensäure	(E)-2-Octenal	fettig, nussig							
Linolensäure	(Z)-2-Octenal	fettig, fruchtig, grün							
Ölsäure, Linolensäure	(E)-2-Nonenal	nach Pappe (cardboard), Popcorn, ledrig, Salatgurke, talig, papierartig, Butter							
Linolensäure	(Z)-3-Nonenal	grün, Gurke							
Linolensäure	(E)-3-Nonenal	fettig							
Ölsäure	(E)-2-Decenal	talig, orangenartig							
Ölsäure	(E)-2-Undecenal								
	2,4-Hexadienal								
Linolensäure	(E,E / E,Z)-2,4-Heptadienal	fettig / Frittierfett							
	(E,E)-2,6-Nonadienal	Gurke							
Linolensäure	2,4-Nonadienal	grün							
	(E,E)-2,4-Nonadienal	fettig, seifig							
Linolensäure	2,4-Decadienal	talig, fruchtig							
Linolensäure	(E,E)-2,4-Decadienal	Frittierfett, Papier							

Tabelle: Bei der Alterung des Bieres gebildete Aromastoffe nach Literaturangaben -II.

	ungesättigte Fettsäuren	Lipidoxidation	Allylalkohole	1-Octen-3-ol	pilzartig				
			Alkohol	2-Ethyl-1-hexanol					
Iso- $\alpha$ -Säure	Iso- $\alpha$ -Säuren	Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren	Carbonsäuren	2-Methyl-Propionsäure	schweißig				
				2-Methyl-Buttersäure	süß, ranzig				
				3-Methyl-Buttersäure	süß, ranzig				
				Phenyllessigsäure	honigartig				
Ethanol, Alanin	Iso- $\alpha$ -Säuren, Aminosäuren, korrespondierender Alkohol	Streckerabbau / direkte Oxidation des korrespondierenden Alkohols durch ROS oder Reduktion, Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säure	Strecker Aldehyde	Acetaldehyd	stechend, grüner Apfel, fruchtig		Sauerstoff		
Isoleucin, 2-Methylbutanol				2-Methylbutanal	grasig, grün, Bittermandel, Apfel, malzig	Sauerstoff	Sauerstoff, Zeit		
Leucin, 3-Methyl-Butanol				3-Methylbutanal	malzig, apfelartig, unreife Banane, Kirsche, käsig, Bittermandel, grün, Schokolade	Sauerstoff	Sauerstoff, Zeit, Wärme		
Valin				2-Methylpropanal	malzig, grün, stechend, Fimis, fruchtig, Getreide				
Phenylalanin, 2-Phenylethanol	Aminosäuren, korrespondierender Alkohol	Streckerabbau / direkte Oxidation des korrespondierenden Alkohols durch ROS oder Reduktion	Strecker Aldehyde	2-Phenylacetaldehyd	Honigartig, blumig, fruchtig, Veichen, Hyazinthe, Flieder	Sauerstoff	Sauerstoff, Zeit		
Phenylglycin				Benzaldehyd	Mandel, Bittermandel, Kirschkern	Sauerstoff	Sauerstoff, Zeit		
				Isovaleral					
Methionin				Methional	gebratene/gekochte Kartoffel, würzeartig				
Glycin				Formaldehyd					
	Iso- $\alpha$ -Säuren	Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren	Ketone	Aceton					
	Iso- $\alpha$ -Säuren / Aldehyde / ungesättigte Fettsäuren	Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren / Aldolkondensation / Lipidoxidation		3-Methyl-2-butanon	süßlich, Minze		Wärme		
				4-Methyl-2-butanon					
				3- / 4-Methyl-2-pentanon					
				2,3-Pentandion	butterig				
				2-Pentanon		Sauerstoff im Sudhaus			
				3-Penten-2-on					
				1-Octen-3-on	pilzartig, metallisch				
				3-Octen-2-on	würzig, fettig, nussig				
				Methyl-Isobutyl-keton	Fimis				
						2,4-Dimethyl-4-Cyclopenten-1,3-dion			
					Maillardreaktion	Diacetyl	Margarine, buttrig		Sauerstoff
2,3-Butandiol + Aldehyd				Aldehyd + Alkohol	Kondensation, cycl. Acetalbildung mit Aldehyd	Cyclische Acetale	2,4,5-Trimethyl-1,3-dioxolan		
2,3-Butandiol	2-Isopropyl-4,5-dimethyl-1,3-dioxolan								
	2-Isobutyl-4,5-dimethyl-1,3-dioxolan								
	2-sec butyl-4,5-dimethyl-1,3-dioxolan								



Tabelle: Bei der Alterung des Bieres gebildete Aromastoffe nach Literaturangaben -III.

Mono- / Disaccharide				2-Furfural	brotartig, papierartig, süßlich, karamellartig, spelzenartig, nach gekochtem Fleisch	Wärme	Wärme, Zeit
				5-Hydroxymethylfurfural	würzig, Vanille, Mandel, Brot, Karamell		
				5-Methylfurfural	Mandel, Marzipan		Zeit
				2-Acetylfuran	Brotartig, papierartig, Mandel, nussig, verbrannt		Zeit
				2-Acetyl-5-methylfuran	Karamell		
				2-Propionylfuran	Brotartig, süß, karamellartig, Rum		Zeit
				1-(2-Furanyl)-2-Propanon	süß, fruchtig, Karamell, Rum		
				Furan			
				Furfurylethanol			
				2-Furfurylmethanol	Zuckerrohr, holzig		
				2-Ethoxymethyl-5-furfural			
				2-Ethoxy-2,5-dihydrofuran			
				Maltol	caramel, Röstaroma		
				Furaneol	caramel		
				Dihydro-2(3H)-furanon			
				Dihydro-5,5-dimethyl-2(3H)-furanon			
				5,5-Dimethyl-2(5H)-furanon	grün, Minze, grasig		
				weitere Furanone			
				2-Acetylpyrazin	süß, caramel, geröstete Haselnuß		
				2-Methoxypyrazin	getreideartig, Röstaroma		
				2,6-Dimethylpyrazin			
				Trimethylpyrazin			
				Tetramethylpyrazin			
Furfurylethanol + Ethanol	Alkohol + Maillardprodukt	Veresterung von Alkohol und Maillardprodukt	Heterocyclische Substanzen	Furfurylethylether	Lösungsmittel		Zeit
	Aminosäure + red. Zucker	Maillardreaktion					

**Tabelle: Bei der Alterung des Bieres gebildete Aromastoffe nach Literaturangaben -IV.**

	Iso- $\alpha$ -Säure / 2-Phenylethanol + Carbonsäure	Oxidation von Iso- $\alpha$ -Säuren / Veresterung organischer Säuren mit Ethanol	Ethyl-Ester	3-Methyl-Buttersäureethylester	weinartig, Erdbeere, fruchtig, süßlich, Veilchen		
				2-Methyl-Buttersäureethylester	weinartig, fruchtig, Apfel, süßlich, blumig		
				2-Methyl-Propionsäureethylester	fruchtig		
				Propionsäureethylester	fruchtig		
Nicotinsäure, Tryptophan				Nikotinsäureethylester	getreideartig, papierartig, grasig, medizinartig, Lösungsmittel, Anis		Wärme, Zeit
				Brenztraubensäureethylester	Erbsen, nach frisch geschnittenem Gras		
	2-Phenylethanol + Carbonsäure	Veresterung organischer Säuren mit Ethanol		Barnsteinsäurediethylester			Zeit
				Milchsäureethylester	Erdbeere, parfümartig, fruchtig, butterig		
				Essigsäurephenylethylester	Hyazinthe, Flieder		Zeit
				Ameisensäureethylester			
				Zimtsäureethylester	fruchtig, süß, "saure rote Früchte", Banane		
				sonstige Ester	Furancarbonsäure-methylester		
			Essigsäurefurfurylester		nussartig		
			Isoamylacetat		Banane, estrig		
$\gamma$ -Hydroxynonansäure		Lipidoxidation	Laktone	$\gamma$ -Nonalacton	Kokos, Pfirsich, Vanille, Klebstoff, ranzig	Wärme	Wärme, Zeit
				$\gamma$ -Octalacton	Kokos		
				$\gamma$ -Hexalacton	süß		
Hydrogensulfid			Schwefelhaltige Substanzen	Dimethyl Trisulfid	zwiebelartig, nach Kohl, Geranien, erdig, Kartoffel, Blaukraut, faules Obst		
				3-Methyl-3-mercaptobutylformate	Katzenurin, scharze Johannisbeere		
				4-Mercapto-4-methyl-penta-2-on	Scharze Johannisbeere		
Riboflavin+ Iso- $\alpha$ -Säure				3-Methyl-2-buten-1-thiol	Lichtgeschmack, (Stinktief), Hopfen, Schwefel, Knoblauch		Licht (250 – 500 nm); schlechte Glasqualität (Durchlässigkeit)
				3-Methyl-1-thioopropanal	gekochte Kartoffel, Gemüse		
Neoxanthin / glycosidisch geb. Damascenon		Oxidation von Carotenoiden, Abbau / Hydrolyse aus	Ionon	(E)- $\delta$ -Damascenon	Rhabarber, Erdbeere, gekochter Apfel, Kokosnuß, Tabak		
				(E)-Nerolidiol			
				Dihydroactinindiolid	Tee		
				Linalyl-oxid			

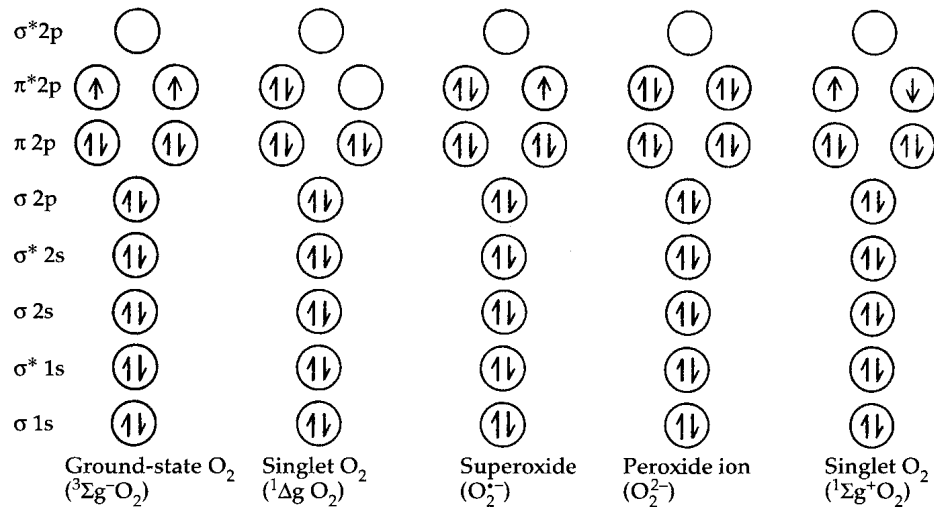


Abbildung A\_ 1: Vereinfachte Darstellung der Elektronenkonfigurationen in den Molekülorbitalen der Sauerstoffspezies (Halliwell and Gutteridge 2007).

**Tabelle A\_2: Biochemisch relevante Standardredoxpotentiale (Halliwell and Gutteridge 2007).**

	Couple	Standard reduction potential (V)
Highly reducing	H <sub>2</sub> O/hydrated electron (e <sub>aq</sub> <sup>-</sup> )	-2.84
	CO <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	-1.80
	O <sub>2</sub> , H <sup>+</sup> /HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	-0.46
	Paraquat/paraquat <sup>•-</sup>	-0.45
	Fe(III)-transferrin/Fe <sup>2+</sup> -transferrin	-0.40 (pH 7.3)
	O <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	-0.33
	NAD <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> /NADH	-0.32
	Fe(III)-ferritin/ferritin, Fe <sup>2+</sup>	-0.19
	FAD, 2H <sup>+</sup> /FADH <sub>2</sub>	-0.18
	Dehydroascorbate/ascorbate <sup>•-</sup>	-0.17
	Fe(III)-EDTA/Fe <sup>2+</sup> -EDTA	-0.12
	Ubiquinone, H <sup>+</sup> /ubisemiquinone	-0.04
	Fe(III)-ADP/Fe <sup>2+</sup> -ADP	~0.10
	Fe(III)-citrate/Fe <sup>2+</sup> -citrate	~0.10
	Ubisemiquinone, H <sup>+</sup> /ubiquinol	0.20
	Ferricytochrome <i>c</i> /ferrocyclochrome <i>c</i>	0.26
	ascorbate <sup>•-</sup> , H <sup>+</sup> /ascorbate <sup>-</sup>	0.28
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O, OH <sup>•</sup>	0.32
	αT <sup>•</sup> , H <sup>+</sup> /αTH (α-tocopherol)	0.50
	HU <sup>•-</sup> , H <sup>+</sup> /UH <sub>2</sub> <sup>-</sup> (urate)	0.59
	RO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , H <sup>+</sup> /ROOH	~0.77-1.44 <sup>a</sup>
	RS <sup>•</sup> /RS <sup>-</sup> (cysteine)	0.92
	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> , 2H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.94
	HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1.06
	RO <sup>•</sup> , H <sup>+</sup> /ROH (aliphatic alkoxy)	~1.60
		(results variable)
		CO <sub>3</sub> <sup>•-</sup> , H <sup>+</sup> /HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Highly oxidizing	OH <sup>•</sup> , H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> O	2.31

**Tabelle A\_3: Elektrodenpotentiale zur Oxidation der funktionellen Gruppe (Rifi and Covitz 1974).**

Funktionelle Gruppe	Elektrodenpotential [V]
Phenole	0,4 – 1,0
Ketone	0,6 – 1,4
-SH	0,8 – 1,2

# Profilprüfung Alterung

Name: \_\_\_\_\_

(Geruch und Trunk)	<u>Aroma Bier</u>										<u>Intensität</u>									
	nicht erkenn- bar	schwach erkennbar			erkennbar		deutlich		dominant											
1. <b>fruchtig</b> (HA & Ester)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
2. <b>blumig</b> (HA&Ester, Hopfen)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
2. <b>zitrusartig</b> (Linalool)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
3. <b>Krautig</b> (hopfenwürzig)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
4. <b>frisch schweflig</b>	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
5. <b>nach Hefe</b> (nicht schweflig!)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
7. <b>biertypisch</b> (HA, Phenylethanol)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
8. <b>ethanolisch</b> (Lösungsmittel)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
9. <b>Acetaldehyd</b> (Apfel, stechend, grasig frisch, Jungbier)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
10. <b>malzig</b> (keine Alterung !!)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										
11. <b>altheilig:</b> (Gelägerhefe, mastig, fuselig, Wurstsuppe)	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>										

Abbildung A\_2: Formblatt der Alterungsprofilprüfung.

	<u>Aroma Alterung</u>			<u>Intensität</u>						
	nicht erkenn- -bar	schwach erkennbar			erkennbar		deutlich		dominant	
<b>1.beerenartig</b> (schw. Jo.beere)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>2a. würzeartig</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>2b. brotartig</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>2c. honigartig</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>3a. cardboard</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>3b. „heuartig“</b> (strohig, grasig/krautig, carbonylig, ‚Ox‘, Hexanal, nicht süßlich/würzeartig)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>4. whisky/sherry</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Abbildung: Formblatt der Alterungsprofilprüfung – Teil II.

<u>Merkmal</u> <u>Geschmack</u>	<u>Intensität / Qualität</u>										
	nicht erkenn- bar	schwach erkennbar			erkennbar		deutlich		dominant		
1. <b>süß (Geschmack)</b> (keine Alterung!)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
2. <b>sauer</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
3. <b>bitter</b> (Antrunk)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
4. <b>nachh. Bittere</b> (Nachtrunk)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
5. <b>adstringierend</b> (nicht bitter !!!)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
6. <b>Harmonie</b> (süß/sauer/Vollmd.k.)	schlecht	1	2	3	4	5	6	7	8	9	sehr gut

**Note in Anlehnung an DLG (GANZNOTENSCHRITTE):** \_\_\_\_\_

- Note 1 wie DLG: schlecht, grauenhaft, Körperverletzung.  
 Note 2 wie DLG: insgesamt mangelhaft.  
 Note 3 wie DLG: (ein) erkennbarer Fehler (sonst noch akzeptabel)  
**Note 4 wie DLG:** akzeptabel, (= keine Fehler, höchstens unterschwellig; **neutrale Note**)  
 Note 5: (entspr. 4,5 n. DLG) Gutes Bier (-> Aroma, Geschmack und Mundgefühl sowie Bittere vorhanden und qual. gut)  
 Note 6: (entspr. 5,0 n. DLG) Hervorragendes Bier (Aroma, Geschmack und Mundgefühl sowie Bittere ausgeprägt und qualitativ sehr gut, harmonisch, „drinkability“)

**Alterungsnote nach Eichhorn:** \_\_\_\_\_ **Akzeptanz:** \_\_\_\_\_

### Alterungsstadium

Bewertung in Halbnotenschritten:

#### zur Orientierung:

- 1 = frisch
- 1,5 = leicht gealtert: Beere
- 2 = leicht gealtert: würzeartig, carbonylig
- 2,5 = deutlich gealtert: wie 2 + evtl. Cardboard
- 3 = stark gealtert: honigartig, später Brotrinde/Toffee (3,5)
- 4 = extrem gealtert: sherryartig

Vielen Dank für Eure Mithilfe !

Abbildung: Formblatt der Alterungsprofilprüfung – Teil III.

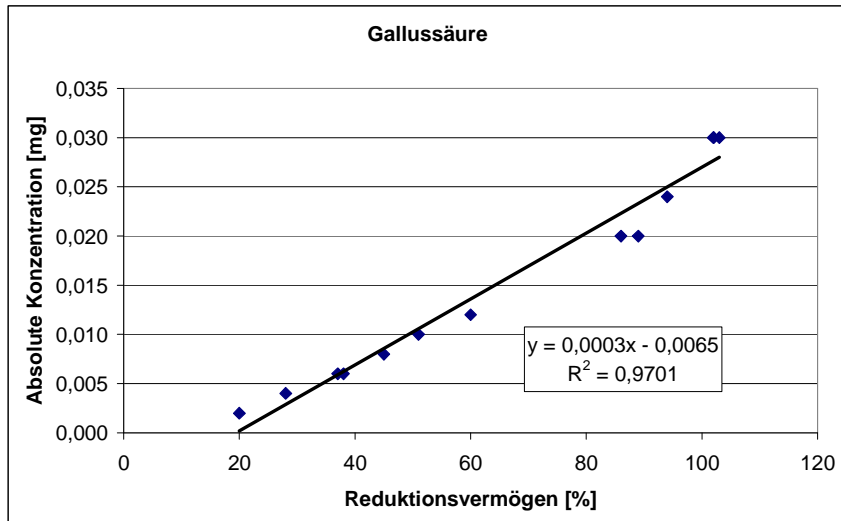


Abbildung A\_ 3: Kalibriergerade (DPPH) für Gallussäure.

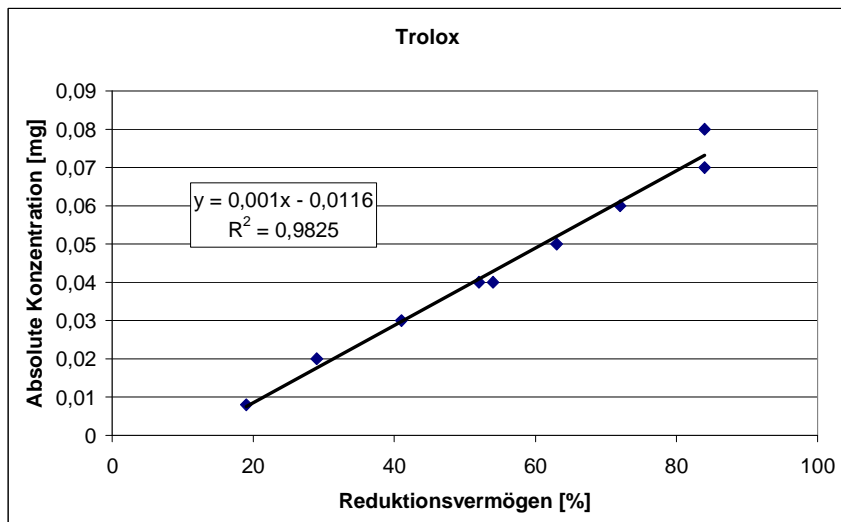
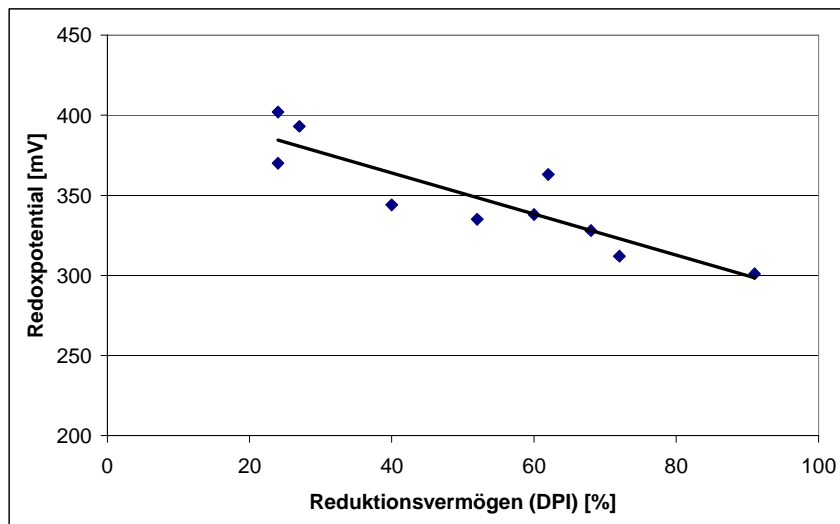


Abbildung A\_ 4: Kalibriergerade (DPPH) für Trolox.





**Abbildung A\_5: Zusammenhang zwischen dem Reduktionsvermögen (DPI) und dem elektrochemischen Redoxpotential in verschiedenen Bieren.**

Tabelle A\_4: Elektrochemisches Redoxpotential in verschiedenen Bieren.

Probe	Redox-potential [mV]	Leitf. [mS]	SO <sub>2</sub> [mg/l]	DPI [%]	DPPH [%]	DPPH (1min) [%]	Lagtime [min]	F(LT/60)	pH	Bier
A	402	1,0	6,1	24	49	18	109	5,8	4,2	Münchener Hell
B	370	1,2	1,1	24	60	23	51	8,1	4,3	Münchener Hell
C	393	1,3	0,2	27	54	20	23	5,8	4,4	Bier B forciert + O <sub>2</sub>
D	312	1,0	n.n.	72	62	31	22	5,4	4,2	Weißbier, hell
E	301	1,1	0,3	91	69	32	6	16,2	4,5	Münchener Dunkel
F	344	1,7	0,3	40	60	24	22	7,1	4,5	Pils (nat. gealtert)
G	363	1,6	n.n.	62	60	26	4	15,6	4,2	Amerikanisches Light (nat. gealtert)
H	328	1,2	Sp.	68	45	10	23	5,9	4,0	Weißbier, dunkel
J	335	1,2	0,2	52	52	19	14	5,7	4,0	Weißbier, hell
K	338	1,6	Sp.	60	59	23	n.n.	8,8	4,1	Weißbier, alkoholfrei

Tabelle A\_ 5: Vergleich der Analysemethoden zur Bestimmung des Schwefeldioxidgehaltes.

Probe	Beschreibung 1	Beschreibung 2	Lehrstuhl destillativ	Institut 2 destillativ	Brauereilabor skalar	Lehrstuhl enzymatisch
A	Flasche Ausland	Brauereiabfüllung	8,8	n.b.	7,1	8,2
B	Dose Ausland	Brauereiabfüllung	5,2	n.b.	2,2	4,2
C	Flasche abgefüllt	Brauereiabfüllung	0,9	1,0	1,2	n.n.
D	Flasche abgefüllt	Brauereiabfüllung	0,6	1,0	1,3	0,6
E	Flasche abgefüllt	Brauereiabfüllung	0,4	1,0	1,3	2,2
F	Flasche abgefüllt	Gärversuch	11,3	14	10,9	11,3
G	Flasche abgefüllt	Gärversuch	6,3	8,0	3,3	7,3
H	Flasche abgefüllt	Gärversuch	6,3	9,0	3,3	5,9
I	Flasche abgefüllt	Gärversuch	1,0	2,0	1,2	1,2
J	Flasche abgefüllt	Gärversuch	4,2	6,0	1,4	6,5
K	Jungbierprobe	Gärversuch	9,5	9,0	7,7	n.A.
L	Jungbierprobe	Gärversuch	3,1	2,0	1,4	3,2
M	Jungbierprobe	Gärversuch	2,3	3,0	1,4	n.A.
O	Flasche abgefüllt	Brauereiabfüllung	4,4	4,0	1,1	4,7
P	Jungbierprobe	Gärversuch	5,1	n.b.	n.b.	6,9
Q	Jungbierprobe	Gärversuch	1,1	n.b.	n.b.	2,2
R	Jungbierprobe	Gärversuch	5,4	n.b.	n.b.	5,1
S	Jungbierprobe	Gärversuch	1,8	n.b.	n.b.	(5,5)

Tabelle A\_ 6: Konzentrationen phenolischer Einzelsubstanzen [mg/l].

	C	ProD B3	ProC B3	ProD C2	ProC C2	GCC	CGC	Cumarsre	Ferulasre
<b>Vorderwürze</b>	3,8	12,8	13,8	3,4	2,9	4,2	3,0	1,0	1,4
<b>Sauergut</b>	3,5	1,1	2,1	0,2	0,1	0,5	0,1	0,3	0,5
<b>Glattwasser</b>	1,8	3,4	5,3	0,8	1,3	1,3	1,0	0,2	0,3

Tabelle A\_ 7: Parameter des Brauprozess.

Schüttung [kg]	10
Hauptguss [l]	40
Stammwürze [%]	12
Einmischtemperatur [°C]	62
Rast 62 °C [min]	30
Aufheizen 72 °C [min]	10
Rast 72 °C [min]	30
Aufheizen 78 °C [min]	7
Rast 78 °C bis Abmaischen [min]	5
1. Nachguss [l]	20
2. Nachguss [l]	14
Sieden [min]	70
Bitterhopfen (15,8 % $\alpha$ , 10 min nach Kochbeginn)	15 BE
Aromahopfen (4,9 % $\alpha$ , 10 min vor Kochende)	5 BE
Whirlpoolrast [min]	20
Anstell-, Gärtemperatur (5 Tage) [°C]	10
Belüftung (p atmosphärisch) [l/hl]	21
Hefegabe dickbreiig [g/l]	10
Reifung nach Schlauchen (5 Tage) [°C]	14
Lagerung (6 Wochen) [°C]	0

**Tabelle A\_ 8: Analysenmerkmale des Malzes.**

Tanninoide [mg PVP/l im Kaltausz.]	43
Mürbigkeit [%]	95
Rohprotein [% wfr.]	10,2
Eiweißlösungsgrad [%]	45,8
Endvergärungsgrad (s.) [%]	78,8

**Tabelle A\_ 9: Analysenmerkmale der Würzen.**

Merkmal	Sud V	Sud P
Extrakt [% mas]	12,68	12,58
Endvergärungsgrad [% s]	77,4	78,3
Farbe [EBC]	9,1	9,6
Niedermolekularer N [mg/100ml]	75,0	69,3
Zink [mg/l]	0,03	0,07

**Tabelle A\_ 10: Phenolische Einzelsubstanzen der Würzen und Biere [mg/l].**

Pfanne-voll-Würze							
Probe	C	EC	ProD B3	ProC B3	ProD C2	ProC C2	CGC
V-Pf	4,3	2,1	3,0	4,0	0,5	0,2	0,4
P-Pf	41,2	21,9	3,6	4,1	0,4	0,6	0,6
Ausschlagwürze							
Probe	C	EC	ProD B3	ProC B3	ProD C2	ProC C2	CGC
V-AW	3,1		6,4	9,2	1,2	2,1	1,8
P-AW	44,6	13,3	7,4	7,5	1,3	0,4	1,8
Bier							
Probe	C	EC	ProD B3	ProC B3	ProD C2	ProC C2	CGC
V (Mittelwert)	5,4	1,9	2,2	3,9	0,3	0,4	0,1
P (Mittelwert)	39,3	15,0	2,6	4,5	0,3	0,4	0,2

Tabelle A\_ 11: Reduktionsvermögen und Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen.

Sud	Malz	Röstmalz- fraktion	F(0/120)	Redv. (DPPH) [%]	Reduktionsäquivalente	
					Trolox [mg]	Gallussäure [mg]
27	PM	0	16,8	34	0,0224	0,0037
16	PM	6	25,7	47	0,0354	0,0076
18	PM	9	26,8	59	0,0354	0,0076
4	PM	12	45,0	74	0,0623	0,0157
11	MM	0	24,1	61	0,0540	0,0132
12	MM	0	24,1	61	0,0497	0,0119
19	MM	6	27,0	51	0,0398	0,0089
21	MM	9	33,4	61	0,0494	0,0118
3	MM	12	46,1	75	0,0637	0,0161
14	CA	0	38,9	66	0,0549	0,0134
23	CA	6	24,2	43	0,0312	0,0063
26	CA	9	22,9	43	0,0313	0,0064
8	CA	12	35,3	66	0,0540	0,0132
7	CA	12	35,6	65	0,0537	0,0131

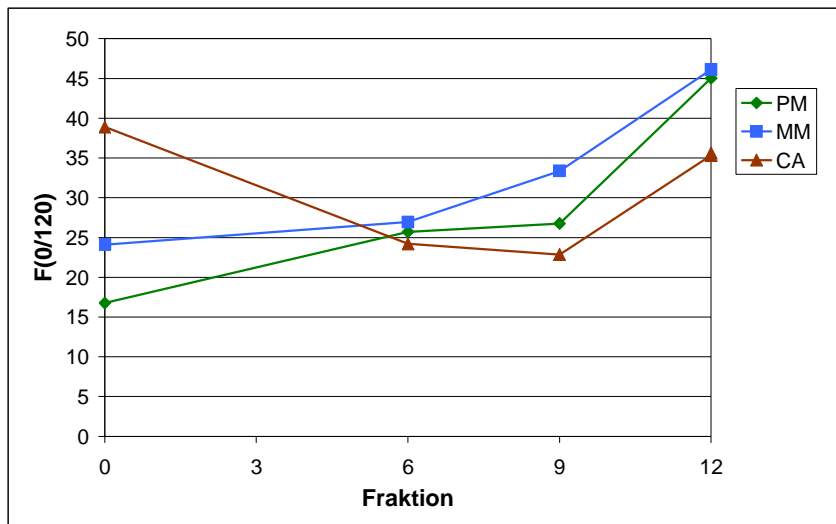


Abbildung A\_ 6: Radikalgenerierung der Röstmalzwürzen in Abhängigkeit von der Röstmalzfraktion.

Tabelle A\_ 12: Einfluss der Hopfengabe auf die chemische Stabilität von Würze und Bier.

Versuchs- durchlauf	Versuch / Hopfen	Art der Hopfengabe	Würze							Bier								
			Bitter- einheiten	Gesamtpolys [mg/l]	Anthocyano- gene [mg/l]	Tannoide [mg PVP/l]	Iso- $\alpha$ -Säure [mg/l]	Lagtime [min]	F (0/120)	Bitter- einheiten	Gesamtpolys [mg/l]	Anthocyano- gene [mg/l]	Tannoide [mg PVP/l]	Iso- $\alpha$ -Säure [mg/l]	Lagtime [min]	F(LT/60)	Redv. (DPPH) [%]	
1	A	ungehopft	3	182	93	86	n.n.	10	31	1	163	64	23	n.n.	76	7,4	49	
	B	Pellet	46	215	85	115	29	~	~	19	180	80	30	25	68	6,5	50	
	C	Pellet	51	201	111	88	30	~	~	22	170	73	32	27	67	6,8	48	
	D	Pellet	48	166	91	80	30	~	~	20	161	74	35	27	83	5,4	45	
	E	Pellet	39	325	148	178	20	17	8,4	21	261	114	72	16	80	6,3	52	
	F	CO <sub>2</sub> entölt	50	203	83	96	32	13	13	24	170	68	22	24	95	6,4	47	
	G	Pellet	45	198	88	108	29	17	12	17	205	83	35	14	82	6,4	46	
	H	Pellet	42	237	116	123	27	21	8,3	21	210	94	53	18	77	5,5	49	
	I	CO <sub>2</sub> ölfreich	49	212	95	99	32	~	~	29	183	71	27	32	80	7,0	52	
	J	Pellet	33	227	106	112	15	26	11	17	185	80	40	16	97	5,9	56	
	K	Pellet	48	207	99	102	29	19	12	25	144	56	17	28	77	8,3	46	
2	L	Pellet	46	223	109	119	20	24	9,1	21	195	82	37	21	96	5,8	51	
	F	CO <sub>2</sub> entölt	52	175	88	116	31	23	12	n.b.						53	6,8	n.b.
	A	ungehopft	2	180	89	103	n.n.	14	23							28	6,4	
	E	Pellet	39	296	156	190	21	18	8,1							37	5,7	
	G	Pellet	46	236	110	135	29	23	8,2							34	6,4	
	H	Pellet	47	262	143	153	23	21	8,0							42	6,9	
	K	Pellet	49	171	95	94	31	22	8,2							38	5,8	
	L	Pellet	51	187	114	113	27	19	7,4							45	6,3	
J	Pellet	39	236	121	130	24	26	5,7	46							6,2		

Tabelle A\_ 13: Einfluss der Hopfengabe auf Reduktionsvermögen, chemische Stabilität und Sensorik.

Probe	Kochsystem Sud	A		B		C		D	
		1	2	1	2	1	2	1	2
AW	Tanninoide [mg PVP/l]	88	98	115	100	138	126	90	95
	Anthos [mg/l]	87	102	114	112	119	126	99	111
	Polyph. ges. [mg/l]	141	202	186	223	240	240	n.a.	214
	Flavanoide [mg/l]	48	48	51	56	52	48	50	43
	Redv. (DPPH) [%]	60	63	68	64	62	64	60	60
	Lagtime [min]	17	15	8	12	21	24	27	24
	F (0/120)	7,3	4,8	6	10,4	6	10,9	n.a.	14,4
KW	Tanninoide [mg PVP/l]	141	133	189	168	154	161	137	173
	Anthos [mg/l]	115	115	144	151	131	142	119	144
	Polyph. ges. [mg/l]	222	265	275	278	299	281	302	295
	Flavanoide [mg/l]	56	56	65	65	58	60	60	59
	TBZ	24	27	22	23	23	21	24	23
	Gesamt N [mg/100 ml]	93,2	91,8	90,8	93,5	92,3	91,8	92,5	91,1
	Koag N [mg/100 ml]	2,3	2,6	2,3	1,7	2	2,9	2,3	2,4
	FAN [mg/100 ml]	16,8	21,5	16,1	22,9	12,2	17,3	12,2	17,2
	Redv. (DPPH) [%]	69	70	75	76	70	71	66	70
	Lagtime [min]	26	23	12	18	35	8	32	20
	F (0/120)	5,9	3,5	4,2	12,1	4,2	8,1	16,6	9,4
Bier, frisch	Tanninoide [mg PVP/l]	26	33	54	57	43	58	43	62
	Anthos [mg/l]	61	71	85	88	80	83	83	86
	Polyph. ges. [mg/l]	202	202	218	222	213	218	202	217
	Flavanoide [mg/l]	34	43	41	48	42	54	40	51
	Gesamt N [mg/100 ml]	75,9	62	73,1	64,1	75,2	63,8	73,6	60,9
	Koag N [mg/100 ml]	1,6	1,6	1	2,1	1,7	2,1	2,2	1,7
	FAN [mg/100 ml]	13,2	12,5	12,4	11,5	12,5	12,2	12	13
	SO <sub>2</sub> [mg/l]	7,0	7,0	7,0	4,3	6,5	5,0	6,3	4,3
	Redv. (DPPH) [%]	52	52	55	56	56	58	45	58
	Lagtime [min]	119	113	120	119	102	117	122	91
	F (LT/60)	11,3	8,5	10,3	13,1	20,5	17	10,1	11,2
Bier, forciert gealtert	Δ WI [µg/l]	1,3	n.a.	1,5	3,6	n.n.	1,0	5,7	16,7
	Δ SI [µg/l]	3,7	n.a.	2,6	6,0	4,6	3,1	8,1	0,2
	Δ AI [µg/l]	5,6	n.a.	3,8	11,8	4,5	4,7	16,7	18,3
Bier, frisch	DLG-Note	4,5	4,6	4,7	4,6	4,4	4,4	4,6	4,8
	DLG-Note	4,1	4,0	4,1	4,0	4,1	3,9	4,0	4,1
Bier, forciert gealtert	Alterungsnote (Eichhorn)	1,6	1,7	1,6	1,7	1,5	1,8	1,7	1,6
	Akzeptanz (Eichhorn)	78	75	76	69	80	70	73	75

Tabelle A\_ 14: Lagtime und Radikalgenerierung im Sortiment einer Brauerei.

Sorte	Lagtime [min]	F(LT/60)
Hell (ug.)	36	7,5
Pils (ug.)	26	8,1
Dunkel (ug.)	16	11,5
Hefeweizen hell (og.)	5	16,8
Hefeweizen dunkel (og.)	11	8,44
Hefeweizen leicht (og.)	15	9,14
Hefeweizen alk.frei (og.)	4	14,9

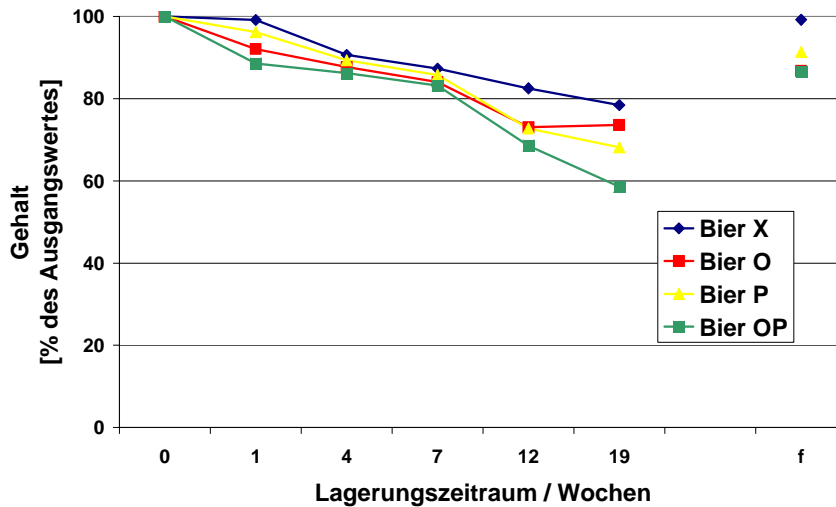


Tabelle A\_ 15: Versuchsmatrix der Zugabeversuche im Bier.

Versuch	Fumarat	Kumarsäure	Gallussäure	Catechin	Cystein	Sulfit	Eisen	Kupfer	EDTA	Desferrol	Bemerkung
1											6 - fach
2	0,5										
3	1										
4		0,5									
5		1									
6			0,5								
7			1								
8				1							
9					0,5						
10					1						
11						1					
12							0,5				
13							1				
14								0,5			
15								1			
16									0,5		
17									1		
18										0,5	
19										1	
20				1		1					
21	1					1					
22								0,5	0,5		
23							0,5		0,5		
24								0,5		0,5	
25							0,5			0,5	
26						1	0,5				
27						1		0,5			
28	1			1		1					EtOH +0,2 %vol.
29				1			0,5				
30				1				0,5			

**Tabelle A\_ 16: Einfluss einer Polyphenolzugabe auf die chemische Stabilität (GC) und die Sensorik bei der Alterung von Bier.**

Probe			Phenole		ESR	GC	Verkostung			
Polys	O <sub>2</sub>	Zeit	Anthos	Gerbst	DPPH	AK [µg/l]	DLG	Alt.note	Akz.	Attribute
		0	48	109	62	60	4,5	-	-	
	X	0	47	116	60	46	4,4	-	-	süß, breite Bittere
X		0	47	130	65	47	4,3	-	-	süß
X	X	0	47	131	65	55	4,3	-	-	süß, breite Bittere
		f	44	118	61	187	3,7	1,8	63	Würze, Beere
	X	f	45	131	62	177	3,6	2,1	48	süß, Mandel
X		f	47	139	70	180	3,7	1,8	73	süß, leichte Beere
X	X	f	47	157	68	178	3,6	2	55	Würze, Beere
		7	43	139	63	153	3,6	1,9	67	Würze, Beere
	X	7	44	133	63	165	3,4	2,4	40	Brot, Sherry
X		7	46	145	70	156	3,5	1,9	60	Würze, Beere
X	X	7	48	144	69	160	3,5	2,3	37	Sherry, Brot
		19	40	130	70	295	3,1	2,7	38	süß, sherry, nachh. Bittere
	X	19	41	129	69	289	3,2	2,6	44	sherry, nachh. Bittere
X		19	45	141	74	272	3,2	2,6	40	sherry
X	X	19	42	146	72	281	3,1	2,8	28	süß, sherry, nachh. Bittere



**Abbildung A\_ 7: Abbau von Epicatechin während der Alterung. X Vergleich, O Sauerstoffbelastung, P Polyphenolzugabe.**

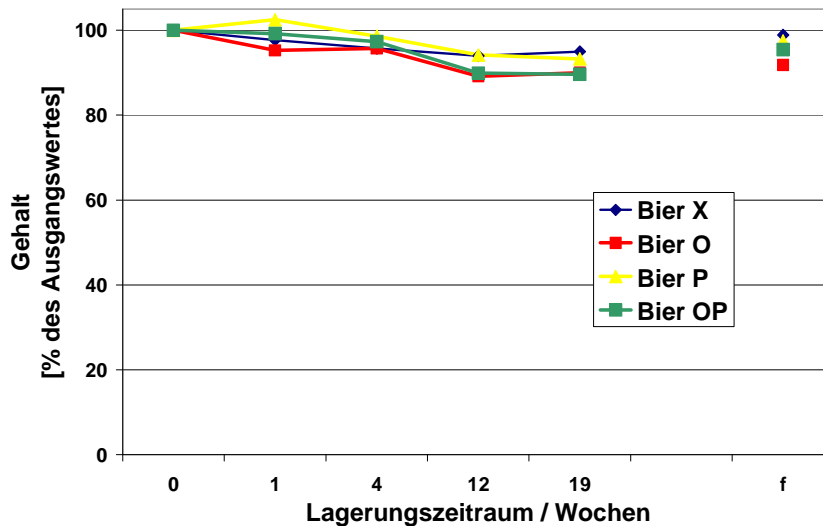


Abbildung A\_ 8: Abbau von p-Cumarsäure während der Alterung X Vergleich, O Sauerstoffbelastung, P Polyphenolzugabe.

Tabelle A\_ 17: Messpunkte und Temperatur im Lager.

Messpunkt	MP 0	MP 1	MP 2	MP 3	MP 4	MP 6
Lagerzeit [Wochen]	0	1	2	3	4	6
Temperatur [°C]	21	21	20	21	23	22
Messpunkt	MP 8	MP 11	MP 13	MP 16	MP 22	forciert gealtert
Lagerzeit [Wochen]	8	11	13	16	22	0,57
Temperatur [°C]	24	23	25	22	20	40

Tabelle A\_ 18: Analysenmerkmale der zugehörigen Würzen.

	Stammwürze [%mas]	vergärbare Zucker [mg/l]	pH	Aromastoffe in µg/l					
				Σ Strecker-aldehyde	2-Furfural	Hexanal	DMS	Linalol	
Pils B	12,2	137,5	5,17	362,6	437	5,7	86	45	
Hell B	11,74	97,9	5,15	285,5	120	3,7	73	8,2	
Hell A	11,81	105,3	5,43	279,9	160	4,6	71	6,6	
	Polyp. ges. [mg/l]	Anthos [mg]	Tannoide [mg PVP/l]	PI	TBZ	Lagtime [min]	F (0/120)	Redv. DPPH [%]	Redv. DPI [%]
Pils B	289	160	121	1,84	45	12	16	65	53
Hell B	201	101	70	1,95	42	5	23	49	50
Hell A	238	94	54	2,53	29	0	35	62	49

Tabelle A\_19: Alterungsverläufe: SO<sub>2</sub>, Polyphenole und antioxidative Aktivität.

Probe	Messpunkt	SO <sub>2</sub> [mg/l]	Polyp. ges. [mg/l]	Anthos [mg/l]	Tannoide [mg PVP/l]	PI	Lagtime [min]	Redv. DPPH [%]	F (LT/60)
Pils B	MP 0	6,8	232	93	63	2,5	104	62	4,8
	MP 1	6,8	~	~	~	~	99	57	5,6
	MP 2	5,2	228	84	58	2,7	98	60	6,2
	MP 4	6,5	227	86	64	2,6	85	63	5,8
	MP 6	4,4	~	~	~	~	63	60	6,5
	MP 8	3,6	238	95	56	2,5	56	57	6,6
	MP 11	4,2	~	~	~	~	53	55	7,5
	MP 13	3,0	224	85	49	2,6	57	49	5,9
	MP 16	1,8	234	88	67	2,7	37	56	8,0
MP 22	1,7	259	70	59	3,7	42	57	8,0	
Hell B	MP 0	7,1	196	91	52	2,2	109	56	3,9
	MP 1	7,6	~	~	~	~	102	55	5,0
	MP 2	7,1	212	77	56	2,8	91	55	4,3
	MP 4	5,8	199	86	55	2,3	93	57	4,6
	MP 6	3,4	~	~	~	~	82	56	6,1
	MP 8	n.b.	196	102	57	1,9	72	50	5,7
	MP 11	3,0	~	~	~	~	64	52	6,0
	MP 13	3,3	224	85	49	2,6	69	60	4,3
	MP 16	1,9	203	86	57	2,4	53	52	6,6
MP 22	1,6	237	66	49	3,6	42	51	5,4	
Hell B_O <sub>2</sub>	MP 0	7,1	196	91	52	2,2	109	56	3,9
	MP 1	2,6	~	~	~	~	94	53	4,4
	MP 2	2,2	207	83	56	2,5	64	50	3,4
	MP 4	0,5	198	87	57	2,3	3	52	3,7
	MP 6	n.n.	~	~	~	~	29	53	4,0
	MP 8	n.n.	205	91	59	2,3	23	47	3,3
	MP 11	n.n.	~	~	~	~	22	46	3,7
	MP 13	n.n.	219	119	46	1,8	9	50	3,0
	MP 16	n.n.	184	92	51	2,0	3	48	3,1
MP 22	n.n.	192	59	45	3,3	7	48	3,2	
Hell A	MP 0	3,5	148	50	19	3,0	86	49	5,8
	MP 1	2,6	~	~	~	~	66	49	5,9
	MP 2	2,6	167	44	20	3,8	55	47	5,6
	MP 4	4,3	146	56	19	2,6	51	51	5,2
	MP 6	2,1	~	~	~	~	42	51	6,7
	MP 8	2,6	151	76	20	2,0	34	44	6,2
	MP 11	2,5	~	~	~	~	31	44	6,6
	MP 13	2,1	173	72	17	2,4	29	55	4,8
	MP 16	2,5	165	46	22	3,6	29	46	7,0
MP 22	2,4	169	30	19	5,6	29	47	7,0	

Tabelle A\_20: Alterungsverläufe: Gaschromatographisch bestimmte Aromastoffe.

Probe	Messpunkt	Aromastoffe in mg/l						Aromastoffe in µg/l						
		Acetaldehyd	∑ höhere Alkohole	∑ Ester	2-Phenyl-ethanol	Diacetyl	2,3-Pentandion	∑ lineare Alkohole	∑ Essig-säureester	∑ Fett-säureester	∑ Fettsäuren	∑ Hopfen-aromen	Linalool	DMS
Pils B	MP 0	6,2	78	25	21	0,06	0,02	52	592	686	8483	63	42	93
	MP 2	7,7	76	21	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 4	6,3	77	18	22	0,04	0,03	44	538	667	8128	n.a.	n.a.	~
	MP 8	5,7	78	18	19	0,03	0,02	49	482	637	7570	47	47	90
	MP 13	6,9	83	20	21	0,06	0,03	39	481	409	6875	46	n.a.	91
	MP 16	6,1	78	17	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 22	4,9	75	20	23	0,06	0,01	50	467	664	6683	28	38	124
Hell B	MP 0	5,3	81	32	24	0,05	0,01	41	995	659	7403	27	11	82
	MP 2	6,4	79	25	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 4	6,4	81	24	25	0,05	0,03	43	957	632	7008	20	11	~
	MP 8	6,2	78	22	26	0,06	0,03	43	977	661	7354	22	12	73
	MP 13	6,4	86	26	27	n.a.	n.a.	44	904	659	7223	31	14	80
	MP 16	5,9	83	22	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 22	4,7	80	24	26	0,05	0,01	43	860	613	7833	32	13	114
Hell B_O <sub>2</sub>	MP 0	5,3	81	32	24	0,05	0,01	41	995	659	7403	27	11	82
	MP 2	5,5	74	26	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 4	7,0	82	30	26	0,08	0,04	41	984	607	6945	27	0,6	~
	MP 8	6,5	78	29	23	0,09	0,04	39	894	585	6968	28	n.a.	84
	MP 13	6,0	77	28	28	0,10	0,03	51	925	617	7120	28	1	70
	MP 16	7,3	80	24	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 22	6,8	82	32	28	0,10	0,02	43	880	571	8294	17	0,8	99
Hell A	MP 0	7,3	69	23	18	0,07	0,02	29	513	482	5961	33	8,4	99
	MP 2	8,5	73	22	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 4	7,9	72	21	18	0,04	0,03	37	529	441	6232	27	11,0	~
	MP 8	7,5	73	20	17	0,06	0,04	32	469	377	5790	26	25	86
	MP 13	7,9	76	19	n.a.	0,04	0,03	39	n.a.	n.a.	6683	22	21	91
	MP 16	4,9	70	19	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
	MP 22	4,0	68	18	18	0,05	0,01	31	485	376	6697	20	25	120

Tabelle A\_21: Alterungsverläufe: Gaschromatographisch bestimmte Alterungsindikatoren.

Probe	Messpunkt	Alterungsindikatoren in µg/l															
		Σ Wärme-indikatoren	Σ Sauerstoff-indikatoren	Σ Alterungs-komponenten	2-Methyl-butanal	3-Methyl-butanal	2-Furfural	Methyl-furfural	Benzaldehyd	2-Phenyl-ethanal	Hexanal	Bernstein-säure-diethylester	Nicotinsäure-ethylester	Phenyl-essigsäure-ethylester	2-Acetyl-furan	δ-Damas-cenon	γ-Nona-lacton
Pils B	MP 0	26	10	51	14	4,5	Sp.	7,3	Sp.	5,1	n.a.	Sp.	5,5	1,2	6,7	8,6	26
	MP 1	24	12	42	17	6	Sp.	4,0	n.n.	6,1	1,4	Sp.	8,4	1,4	Sp.	4,9	24
	MP 2	61	10	79	9	5	22	4,0	n.n.	4,7	1,6	1,8	18	2,0	Sp.	2,9	39
	MP 3	55	18	88	16	7,3	21	6,0	n.n.	11	1,2	2,0	17	1,5	5,6	5,6	34
	MP 4	72	19	106	8	6,2	37	4,0	Sp.	13	1,1	2,4	20	2,1	6,0	3,3	35
	MP 6	80	26	126	17	11	45	9,1	0,7	14	1,8	1,9	22	1,5	8,2	5,8	35
	MP 8	122	23	167	7,7	8	76	8,6	1,2	14	1,1	3,4	37	2,6	7,5	5,3	46
	MP 11	120	20	164	7,1	6,9	81	9,8	2,0	11	1,3	4,7	40	2,3	7,0	4,7	39
	MP 13	135	23	183	13	8,8	97	9,6	0,7	13	1,3	5,4	42	2,4	8,0	6,9	38
	MP 16	143	26	197	9,8	10	100	8,9	0,6	15	1,5	8,2	58	3,1	8,2	7,2	43
	MP 22	199	26	262	7,3	8,8	148	9,9	0,9	16	0,6	13	86	3,4	11,2	7,0	51
	forciert gealtert	72	15	103	15	6,3	38	7,7	Sp.	9,1	1,0	Sp.	16	1,5	6,8	2,5	34
Hell B	MP 0	23	12	37	15	5,9	Sp.	1,9	Sp.	5,6	Sp.	Sp.	4,4	0,8	Sp.	0,9	23
	MP 1	30	13	47	15	7,3	9,3	2,5	Sp.	5,6	Sp.	Sp.	5,4	0,8	Sp.	1,6	21
	MP 2	36	13	52	14	7,1	11	1,9	Sp.	6,1	Sp.	Sp.	7,9	0,8	Sp.	0,9	25
	MP 3	69	20	96	14	9,1	37	3,3	Sp.	11	1,2	1,7	15	1,4	Sp.	1,7	32
	MP 4	74	20	109	13	7,5	43	5,5	0,7	12	0,8	1,0	16	1,7	6,7	12	31
	MP 6	83	20	116	11	8,6	51	4,8	0,7	10	1,3	1,4	19	1,3	6,0	12	32
	MP 8	92	16	125	8,9	6,1	58	6,0	0,7	9,2	1,2	2,2	23	1,7	6,6	10	34
	MP 11	134	23	173	8,3	7,7	102	4,1	1,0	14	1,3	2,5	35	1,5	8,3	10	32
	MP 13	154	22	196	4,6	5,3	118	5,0	1,0	16	1,5	3,4	44	2,7	9,0	13	36
	MP 16	187	32	243	14	14	154	4,8	1,1	17	1,5	4,8	54	2,4	11	13	33
	MP 22	216	23	263	7,2	7,8	168	4,2	1,1	14	1,7	6,6	82	2,4	11	13	48
	forciert gealtert	83	17	114	13	7,3	50	5,0	Sp.	9,2	1,3	Sp.	11	1,3	8,1	13	33
Hell E <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MP 0	23	12	37	15	5,9	Sp.	1,9	Sp.	5,6	Sp.	Sp.	4,4	0,8	Sp.	0,9	23
	MP 1	22	29	58	17	11	Sp.	5,0	1,1	17	1,3	Sp.	5,7	0,9	1,3	1,4	22
	MP 2	40	31	77	17	11	14	3,8	1,0	19	1,3	Sp.	8,1	1,2	0,9	1,1	26
	MP 3	61	43	112	17	13	29	4,5	1,7	28	1,3	Sp.	12	0,9	3,3	1,1	32
	MP 4	112	56	183	8,1	15	78	9,6	3,1	38	1,0	1,2	20	1,5	3,0	5,0	34
	MP 6	114	54	179	15	17	82	4,9	3,1	34	1,8	1,7	19	1,0	3,5	10,6	32
	MP 8	138	46	199	12	15	101	3,7	3,4	27	1,6	1,7	25	1,5	7,8	10	37
	MP 11	178	55	246	11	15	144	n.a.	3,2	37	2,1	2,0	32	1,4	9,1	9,8	34
	MP 13	231	53	298	15	18	198	n.a.	4,1	31	1,5	2,7	40	2,3	8,6	10,5	33
	MP 16	323	55	395	19	18	266	n.a.	3,7	33	1,5	3,9	54	2,7	10	9,7	37
	MP 22	424	64	513	14	18	371	n.a.	4,5	41	1,6	7,8	91	3,3	14	10	53
	Hell A	MP 0	24	18	44	6,3	7,5	Sp.	n.a.	1,3	8,9	1,2	Sp.	3,6	Sp.	2,3	1,0
MP 1		31	19	57	8,1	8,8	10	n.a.	0,8	8,9	0,4	Sp.	4,6	0,8	6,2	2,9	21
MP 2		53	22	80	5,8	9,0	20	n.a.	2,3	11	1,2	Sp.	17	0,8	4,0	10	33
MP 3		54	18	77	5,8	6,9	24	n.a.	Sp.	11	0,5	Sp.	11	0,9	4,5	14,5	30
MP 4		72	25	103	5,1	7,8	41	n.a.	1,3	16	1,0	Sp.	16	1,0	5,6	15,8	31
MP 6		98	29	133	8	9,5	66	n.a.	2,6	17	1,3	Sp.	20	1,0	5,4	36,8	32
MP 8		128	27	161	6,9	7,2	88	n.a.	1,2	18	0,6	Sp.	28	1,1	4,8	34,2	40
MP 11		131	26	164	4,9	7,2	98	n.a.	1,3	17	0,8	Sp.	32	1,0	6,9	35	33
MP 13		182	27	217	7,1	8,6	149	n.a.	1,3	17	0,5	Sp.	36	1,5	7,0	35	33
MP 16		216	34	261	4,3	8,9	173	n.a.	1,5	24	0,7	0,7	57	1,4	8,6	35	43
MP 22		292	32	336	6	7,7	246	n.a.	1,4	23	0,7	1,1	78	1,6	9,3	35	46
forciert gealtert		83	17	115	13	7,3	50	7,6	Sp.	9,3	0,4	Sp.	12	1,2	6,9	8,8	33
		2-Propionylfuran, Methional, Hexadienal, t-2-Nonenal nicht sicher auswertbar.															
		Fett rot angegebene Werte waren nicht auswertbar oder Analysenfehler; eingetragener Wert ist interpoliert um Summengrößen möglichst wenig zu verändern.															

# Anhang

## Tabelle A\_22: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell A.

Hell A	Messpunkt [Wochen Lagerzeit]	0		1		2		3		4		6		8		11		13		16		22		forciert gealtert	
		Attribut	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]
Aroma Bier	fruchtig	3,0	0,88	2,8	0,79	1,6	0,84	2,5	0,82	1,6	0,84	3,5	0,82	2,5	1,10	1,7	1,06	2,7	0,69	1,4	0,88	1,2	0,62	0,5	0,47
	blumig	3,0	0,88	1,5	0,47	2,0	1,16	2,5	1,06	1,0	0,74	3,5	1,42	1,3	1,45	1,7	0,78	2,7	1,45	0,8	0,52	1,8	1,21	0,5	0,47
	zitrusartig	2,1	0,66	1,8	1,40	0,8	0,33	1,0	0,67	0,8	0,62	1,5	1,06	1,5	1,39	0,4	0,49	1,2	0,99	0,1	0,21	0,8	0,62	0,3	0,41
	krautig	1,7	0,78	1,0	0,67	2,0	1,16	3,0	0,95	1,6	0,84	2,3	1,40	2,3	0,55	1,9	1,21	2,8	1,37	1,5	0,70	2,2	1,21	1,5	0,47
	frisch schwellig	1,9	1,16	1,8	0,79	1,8	1,09	0,5	0,47	1,2	1,32	0,8	0,79	0,8	1,06	1,0	0,95	1,3	1,10	0,6	0,53	0,8	0,62	0,3	0,41
	nach Hefe	1,9	1,04	0,8	0,79	2,4	1,43	0,8	0,79	0,8	0,81	n.n.	<0,5	1,0	1,04	0,4	0,71	1,3	1,01	0,6	0,69	0,6	0,40	0,3	0,41
	biertypisch	5,0	1,08	4,3	0,79	3,8	0,33	2,3	1,40	2,8	1,42	3,8	0,41	2,7	0,69	2,6	1,38	3,0	1,70	2,6	0,88	2,8	1,32	2,0	1,34
	ethanolisch	1,4	1,19	1,8	1,40	3,2	0,96	0,6	0,47	0,2	0,33	1,0	1,16	1,7	0,91	n.n.	<0,5	1,3	1,18	1,5	0,98	1,4	0,99	1,0	1,16
	Acetaldehyd	0,4	0,71	0,5	0,82	1,4	0,86	0,5	0,47	0,2	0,33	0,8	0,79	0,8	1,37	0,3	0,47	1,5	1,69	0,6	0,69	1,2	0,62	n.n.	<0,5
	malzig	2,3	1,00	2,5	1,42	2,2	1,83	1,8	1,03	1,2	1,32	2,0	1,16	1,5	1,02	0,6	0,94	1,0	1,04	1,3	0,87	1,6	0,40	0,8	0,79
althefig	n.n.	<0,5	3,3	0,79	2,2	1,68	1,8	1,70	1,2	1,21	1,0	1,65	1,3	1,01	n.n.	<0,5	0,3	0,35	0,9	0,79	0,6	0,40	0,8	0,79	
Aroma Atmung	beerenartig	0,6	0,61	1,0	1,16	1,6	0,40	2,8	1,82	1,4	1,61	3,0	1,16	1,5	0,93	0,7	0,69	1,7	1,10	2,0	0,62	3,2	1,83	2,0	1,50
	würzartig	1,7	0,78	0,5	0,47	2,0	1,56	3,3	1,23	2,8	1,42	2,3	0,79	2,2	0,99	2,1	1,32	1,5	1,02	1,9	0,96	2,8	0,96	2,3	0,79
	brötartig	1,0	0,98	0,5	0,47	1,8	1,37	3,0	1,34	1,6	0,84	1,5	1,06	2,5	1,36	1,7	0,96	0,2	0,27	1,1	0,65	3,4	1,43	2,3	0,79
	honigartig	0,6	0,61	0,3	0,41	2,2	1,59	2,0	1,78	2,2	1,59	2,3	1,40	3,2	0,99	1,7	1,18	0,5	0,56	0,9	0,79	3,6	0,66	1,0	0,95
	cardboard	2,1	1,66	n.n.	<0,5	1,6	1,34	3,8	1,70	2,8	1,68	2,3	0,41	2,8	1,72	5,0	1,76	0,7	0,81	1,6	0,98	2,2	1,59	2,8	0,41
	heuartig	2,9	1,32	0,5	0,47	2,0	1,16	1,8	1,40	2,4	1,69	3,0	1,65	3,0	1,04	1,6	1,24	0,5	0,56	1,4	1,20	2,4	0,99	2,5	1,57
	whisky/sherry	n.n.	<0,5	n.n.	<0,5	1,0	0,90	n.n.	<0,5	0,6	0,40	0,5	0,47	0,7	0,81	0,1	0,24	0,5	0,82	0,4	0,43	1,4	1,61	0,5	0,47
	süß	3,4	0,33	2,5	0,47	2,8	1,02	2,5	1,42	3,2	1,42	2,8	1,03	2,3	1,3	2,6	1,29	2,5	1,10	2,4	0,93	1,8	0,98	2,8	0,79
Geschmack	sauer	1,3	0,86	2,8	0,41	2,2	1,32	2,0	0,67	2,4	0,40	2,5	0,47	2,2	0,79	1,6	0,71	1,2	1,08	2,3	0,68	2,2	0,62	2,5	0,47
	bitter	2,6	0,79	2,3	0,41	3,0	0,52	1,5	0,47	2,6	0,40	3,3	1,03	2,3	1,01	2,7	0,47	3,5	1,10	2,6	0,43	2,2	0,66	2,3	0,79
	nachhängende Bittere	3,1	0,66	3,0	1,03	3,6	0,99	3,0	0,41	4,0	0,52	4,0	1,70	2,7	1,39	3,6	0,71	2,0	1,10	3,4	0,40	3,6	0,66	4,5	0,62
	adstringierend	3,0	0,95	3,0	1,16	3,4	1,99	3,0	1,78	3,0	0,52	3,5	0,82	3,5	1,39	2,3	1,78	3,3	1,45	2,9	1,00	4,2	1,32	4,0	0,95
	Harmonie	5,6	0,87	6,0	0,67	4,4	1,12	4,3	1,03	4,8	0,62	4,3	0,79	3,5	1,33	4,0	1,02	5,3	0,55	4,1	0,65	3,4	0,99	4,0	<0,5
Noten	Note "DLG"	4,3	0,41	5,0	<0,5	3,6	0,66	2,8	0,41	3,2	0,81	3,3	0,79	2,6	0,33	2,6	0,81	4,2	0,27	3,6	0,48	3,0	0,74	2,5	0,47
	Alterungsnote [Eichhorn]	1,1	0,21	1,9	0,21	1,9	0,16	2,3	0,24	2,1	0,48	2,0	0,34	2,6	0,25	2,4	0,30	1,5	0,22	2,0	0,27	2,6	0,31	2,3	0,24
	Alterungsakzeptanz [%]	98	4,1	98	4,1	74	7,7	65	10,6	69	12,3	70	17,8	62	6,9	51	10,4	84	6,9	68	11,2	56	12,3	63	4,1

## Tabelle A\_23: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell B.

Hell B	Messpunkt [Wochen Lagerzeit]	0		1		2		3		4		6		8		11		13		16		22		forciert gealtert	
		Attribut	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für $\alpha \leq 0,1$	Bewertungs- punkte [0 – 9]
Aroma Bier	fruchtig	2,9	0,84	2,3	0,79	2,0	1,38	2,5	1,71	2,6	0,66	3,8	0,79	3,2	1,44	2,3	1,18	2,5	1,18	2,1	0,58	1,0	1,04	n.n.	<0,5
	blumig	2,9	0,84	2,0	<0,5	1,4	0,84	1,8	0,79	2,2	0,96	3,5	0,82	3,0	1,12	2,1	0,76	1,8	1,30	2,1	0,79	1,2	1,21	n.n.	<0,5
	zitrusartig	1,9	0,84	1,8	0,79	1,0	0,74	1,0	1,65	1,8	0,96	3,3	1,03	2,2	1,56	0,9	0,66	1,3	1,18	1,0	0,70	1,0	1,04	n.n.	<0,5
	krautig	2,9	0,91	2,8	0,41	2,0	1,04	1,8	1,03	2,4	1,53	2,8	0,79	1,7	0,92	2,7	0,78	2,8	1,61	1,5	1,08	1,6	1,34	1,3	0,41
	frisch schwellig	1,6	0,79	2,0	1,16	1,6	1,53	1,8	1,32	1,5	1,57	1,8	1,32	1,5	1,79	1,3	1,00	2,3	1,93	0,8	0,60	0,2	0,33	0,3	0,41
	nach Hefe	1,1	1,62	2,0	2,01	1,2	0,62	0,5	0,62	1,6	0,84	0,3	0,41	1,0	1,34	0,1	0,24	1,3	1,57	0,1	0,21	0,6	0,40	0,3	0,41
	biertypisch	3,9	0,91	4,3	0,79	4,2	1,09	3,3	1,23	4,0	0,90	3,8	1,23	3,7	1,01	3,0	1,08	3,0	1,70	3,0	0,88	3,8	0,81	2,8	0,79
	ethanolisch	1,7	1,06	1,8	1,40	1,4	1,43	1,3	0,79	0,8	0,81	1,5	1,06	1,7	0,81	0,9	0,76	1,5	1,10	0,8	0,52	0,8	0,96	1,8	1,70
	Acetaldehyd	1,1	0,66	0,5	0,82	0,2	0,33	0,3	0,41	0,4	0,40	1,0	1,16	1,3	0,81	n.n.	<0,5	1,2	0,89	0,3	0,27	0,4	0,40	1,3	1,23
	malzig	3,7	0,59	1,8	0,79	1,8	1,09	2,0	0,67	2,0	1,16	1,8	1,23	1,2	1,08	1,9	1,16	2,0	1,53	1,4	1,12	0,8	0,81	0,5	0,47
althefig	n.n.	0,00	3,0	2,01	2,2	0,96	2,5	1,57	1,6	1,34	3,0	1,78	1,0	1,04	0,9	0,98	0,3	0,35	0,4	0,62	1,4	1,12	1,5	1,42	
Aroma Atmung	beerenartig	0,7	0,59	1,3	0,79	1,2	0,81	2,3	1,23	0,6	0,66	1,8	1,03	2,8	0,99	1,4	0,71	1,7	1,10	1,3	0,67	1,8	0,81	0,8	1,23
	würzartig	1,1	0,66	0,3	0,41	2,0	0,52	1,0	0,95	1,2	1,21	1,5	0,82	1,2	0,79	0,6	0,71	1,3	1,01	0,6	0,30	1,6	1,23	1,0	0,67
	brötartig	n.n.	<0,5	n.n.	<0,5	1,0	0,90	0,8	0,79	1,2	1,21	2,0	1,50	0,7	0,69	n.n.	<0,5	0,7	0,81	0,8	0,68	1,6	1,12	1,3	0,79
	honigartig	0,9	0,66	n.n.	<0,5	1,4	1,12	0,3	0,41	0,47	<0,5	1,5	1,96	2,0	1,63	0,3	0,47	1,5	1,39	0,4	0,30	2,0	0,90	0,5	0,47
	cardboard	1,3	1,00	n.n.	<0,5	1,2	0,62	0,3	0,41	0,6	0,99	1,3	1,23	1,2	0,89	0,4	0,71	0,8	0,66	0,9	0,79	1,6	1,23	3,3	0,79
	heuartig	0,6	0,94	0,5	0,47	1,0	0,74																		

Tabelle A\_24: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Hell B+O<sub>2</sub>.

Hell B_O <sub>2</sub>	Messpunkt [Wochen Lagerzeit]	0		1		2		3		4		6		8		11		13		16		22		forciert gealtert	
		Attribut	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]
Aroma Bier	fruchtig	2,9	0,84	4,3	0,41	4,4	1,23	1,3	1,23	2,8	1,97	3,0	1,16	1,2	1,30	1,1	1,27	1,3	1,63	1,3	1,19	1,4	1,92		
	blumig	2,9	0,84	2,8	1,40	2,2	1,09	0,5	0,82	0,4	0,40	2,3	1,40	1,3	0,81	n.n.	< 0,5	0,2	0,27	0,4	0,62	0,2	0,33		
	zitrusartig	1,9	0,84	2,5	0,82	1,6	1,12	0,5	0,82	0,2	0,33	0,5	0,47	0,5	0,56	n.n.	< 0,5	0,2	0,56	n.n.	< 0,5	0,2	0,33		
	krautig	2,9	0,91	2,0	1,50	1,0	1,04	0,8	1,23	0,4	0,40	0,3	0,41	1,3	1,25	0,3	0,30	2,2	1,92	0,3	0,27	0,2	0,33		
	frisch schwellig	1,6	0,79	2,0	1,34	1,0	1,27	n.n.	< 0,5	0,2	0,33	0,3	0,41	0,3	0,55	0,1	0,24	0,3	0,35	n.n.	< 0,5	0,2	0,33		
	nach Hefe	1,1	1,62	1,3	1,03	1,2	1,32	n.n.	< 0,5	0,4	0,66	0,3	0,41	1,0	1,65	n.n.	< 0,5	0,8	0,89	0,3	0,41	0,2	0,33	n.b.	n.b.
	biertypisch	3,9	0,91	4,0	< 0,5	3,0	1,38	1,8	1,40	1,4	0,40	0,5	0,47	0,8	0,89	1,0	0,62	1,0	1,12	0,8	0,88	0,8	0,96		
	ethanolisch	1,7	1,06	1,3	1,23	3,0	1,65	1,3	1,56	1,0	1,27	2,8	1,82	1,7	1,39	0,7	0,79	1,7	1,79	0,6	0,82	0,6	0,99		
	Acetaldehyd	1,1	0,66	1,3	1,56	1,0	1,27	0,3	0,41	0,4	0,40	0,5	0,47	0,7	0,81	0,1	0,24	1,3	1,63	0,5	0,64	0,2	0,33		
	malzig	3,7	0,69	2,3	1,03	1,8	0,96	1,5	1,96	1,4	2,30	1,3	2,06	1,3	1,45	1,1	0,91	0,2	0,27	0,9	0,65	0,4	0,40		
althierig	n.n.	< 0,5	2,3	1,23	1,2	0,96	2,0	2,01	1,4	0,99	0,8	1,23	2,0	1,85	0,1	0,24	1,2	1,37	0,9	0,96	0,2	0,33			
Aroma Alterung	beerenartig	0,7	0,69	0,8	0,79	3,6	2,47	5,5	2,07	5,4	2,30	5,0	2,93	3,7	2,02	2,9	2,11	2,3	1,84	2,1	1,22	3,6	1,69		
	würzeartig	1,1	0,66	0,3	0,41	1,8	0,96	2,3	2,16	4,6	1,81	1,5	1,96	2,0	1,90	1,4	1,01	0,8	1,08	2,1	1,33	2,6	2,36		
	brötartig	n.n.	< 0,5	n.n.	< 0,5	2,2	1,51	2,5	2,47	1,6	1,92	1,5	2,47	2,3	1,79	2,9	1,86	2,5	2,03	2,0	1,20	3,4	1,69		
	honigartig	0,9	0,66	n.n.	< 0,5	2,8	1,21	3,5	3,39	3,8	2,95	2,8	2,06	3,3	2,27	3,3	1,55	2,3	1,93	3,5	1,49	4,0	1,47		
	cardboard	1,3	1,00	n.n.	< 0,5	2,0	1,73	2,3	0,79	1,6	1,92	1,3	2,06	0,3	0,35	2,3	1,71	1,7	1,63	1,8	1,27	2,4	2,42		
	heuartig	0,6	0,94	n.n.	< 0,5	1,8	1,83	4,8	1,70	2,6	2,12	0,5	0,82	2,0	1,04	2,4	1,29	1,2	0,99	2,3	1,27	3,4	2,36		
	whisky/sherry	n.n.	< 0,5	n.n.	< 0,5	3,6	2,47	5,8	1,23	4,4	2,18	6,8	0,79	5,8	1,37	5,3	1,82	7,5	1,33	6,1	1,63	5,8	2,41		
Geschmack	süß	3,4	0,79	2,8	0,79	3,2	1,59	3,5	1,71	1,8	1,51	3,8	1,03	2,7	1,01	3,1	1,54	3,0	1,20	3,1	1,22	1,4	1,12		
	sauer	2,0	0,62	3,3	0,79	2,8	0,33	1,8	1,03	0,79	0,96	2,3	1,03	3,0	1,47	1,4	0,79	2,3	1,73	2,3	1,15	2,4	0,66		
	bitter	1,9	0,98	2,5	1,06	2,2	0,62	1,8	1,40	1,2	0,62	1,5	0,47	1,8	0,51	1,9	0,56	1,7	0,92	1,8	0,81	2,2	0,96		
	nachhängende Bittere	3,0	0,51	4,0	1,16	3,8	1,97	3,8	1,23	3,2	0,33	2,8	0,79	2,3	0,69	2,1	0,66	2,3	1,39	2,3	1,07	3,6	1,12	n.b.	n.b.
	adstringierend	2,9	1,04	2,0	1,50	3,0	2,44	4,0	1,16	3,4	0,84	2,0	1,16	2,5	0,70	2,9	1,10	3,3	1,88	3,1	0,79	4,2	1,32		
Harmonie	6,4	0,71	6,0	0,67	4,2	1,32	2,8	0,41	2,2	0,96	2,5	1,67	2,5	0,82	2,1	0,66	2,2	1,67	3,3	1,15	2,2	1,21			
Noten	Note "DLG"	4,8	0,25	4,9	0,52	2,8	0,96	2,0	< 0,5	1,8	0,62	1,8	0,41	1,6	0,45	1,6	0,49	2,0	0,60	2,1	0,56	1,4	0,40	n.b.	n.b.
	Alterungsnote [Eichhorn]	1,0	< 0,5	1,0	< 0,5	2,6	0,71	3,5	0,34	3,5	0,45	4,0	< 0,5	3,8	0,27	3,5	0,47	3,9	0,33	3,6	0,26	3,9	0,16	n.b.	n.b.
	Alterungsakzeptanz [%]	100	< 0,5	100	< 0,5	60	19,5	23	14,0	19	17,3	6	7,8	19	13,2	15	9,2	15	11,5	18	11,0	2	3,3	n.b.	n.b.

Tabelle A\_25: Alterungsverläufe: Sensorische Bewertung des Pils B.

Pils B	Messpunkt [Wochen Lagerzeit]	0		1		2		3		4		6		8		11		13		16		22		forciert gealtert		
		Attribut	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1	Bewertungs- punkte [0 – 9]	Einseitige Abweichung für α ≤ 0,1
Aroma Bier	fruchtig	3,4	0,94	3,3	1,70	3,2	1,32	3,0	1,60	3,0	1,04	3,0	1,16	3,5	0,93	3,6	1,34	2,0	1,27	3,3	1,23	3,2	0,33	1,8	1,40	
	blumig	3,4	0,94	3,5	2,07	4,2	0,96	3,8	0,79	3,8	1,09	4,3	1,70	4,2	0,79	4,6	1,13	4,3	1,51	3,8	1,11	5,2	0,62	2,3	1,40	
	zitrusartig	5,1	0,91	4,5	2,18	4,6	0,66	2,8	1,03	3,4	0,84	4,3	1,82	4,0	0,95	3,1	1,50	5,0	1,70	4,3	0,75	3,6	0,66	2,5	2,37	
	krautig	3,3	1,00	3,0	0,67	3,0	1,16	2,3	0,79	3,0	1,16	3,0	1,16	3,0	1,04	3,4	1,47	3,5	1,26	3,3	0,41	2,8	1,32	2,5	0,47	
	frisch schwellig	1,9	0,91	2,8	1,23	2,0	0,52	1,5	1,42	1,0	0,90	1,5	0,82	1,0	0,85	0,9	0,76	1,5	0,82	0,9	0,65	0,8	0,62	0,8	0,79	
	nach Hefe	n.n.	< 0,5	0,8	0,79	0,4	0,40	n.n.	< 0,5	0,4	0,40	0,5	0,47	1,2	1,37	0,1	0,24	1,0	1,34	0,1	0,21	0,2	0,33	n.n.	< 0,5	
	biertypisch	5,3	0,47	4,8	0,41	4,2	1,21	3,3	1,70	4,2	1,09	4,3	1,03	4,2	0,99	3,4	1,07	3,5	1,26	2,5	0,93	4,4	0,40	3,3	0,79	
	ethanolisch	0,7	1,10	1,0	0,96	1,2	1,21	1,8	1,40	0,4	0,40	1,5	1,67	1,5	0,93	3,4	0,71	1,7	1,51	1,0	0,62	1,8	1,21	0,8	0,79	
	Acetaldehyd	1,3	1,10	0,5	0,47	1,2	0,62	0,8	1,23	0,4	0,40	1,5	0,82	1,0	1,04	0,6	0,71	1,5	1,69	0,5	0,54	1,4	0,84	n.n.	< 0,5	
	malzig	3,0	0,51	1,0	1,65	1,0	0,52	2,0	0,67	1,8	1,21	2,0	1,34	0,8	1,37	1,3	0,78	0,7	0,69	0,5	0,44	1,2	1,21	0,5	0,47	
althierig	n.n.	< 0,5	0,8	1,23	0,6	0,99	1,0	1,65	0,6	0,66	1,5	1,96	0,8	0,89	0,3	0,47	1,0	1,65	0,3	0,27	0,2	0,33	1,0	0,95		
Aroma Alterung	beerenartig	0,6	0,94	n.n.	< 0,5	0,2	0,33	2,3	1,23	1,4	1,23	1,8	1,03	0,7	0,69	0,4	0,49	1,3	1,18	1,0	1,08	2,6	1,23	0,8	0,79	
	würzeartig	0,9	0,91	0,3	0,41	0,2	0,33	0,8	0,79	0,8	1,32	0,5	0,82	2,0	1,95	0,3	0,47	0,7	0,55	0,9	0,65	1,0	1,65	0,3	0,41	
	brötartig	0,4	0,71	0,3	0,41	n.n.	< 0,5	1,3	0,79	0,2	0,33	1,0	1,65	1,7	1,73	n.n.	< 0,5	1,5	1,39	0,1	0,21	1,0	0,90	0,8	0,79	
	honigartig	n.n.	< 0,5	0,3	0,41	0,4	0,66	1,8	1,82	0,8	1,32	1,0	1,65	1,3	1,01	0,6	0,66	0,71	0,7	0,81	0,6	0,69	1,8	1,21	n.n.	< 0,5
	cardboard	1,4	1,38	0,5	0,82	0,2	0,33	0,3	0,41	0,6	0,99	2,3	2,16	1,5	1,39	0,4	0,71	0,8	1,08	1,1	0,79	1,8	1,21	0,8	0,79	
	heuartig	0,3	0,30	0,8	1,23	0,8	0,81	1,5	1,06	1,2	0,96	1,5	1,57	1,8	1,23	0,7	1,18	0,8	0,89	1,4	1,07	2,4	1,61	n.n.	< 0,5	
	whisky/sherry	0,1	0,24	n.n.	< 0,5	n.n.	< 0,5	n.n.	< 0,5	n.n.	< 0,5	0,8	1,23	n.n.	< 0,5	0,8										



# Anhang

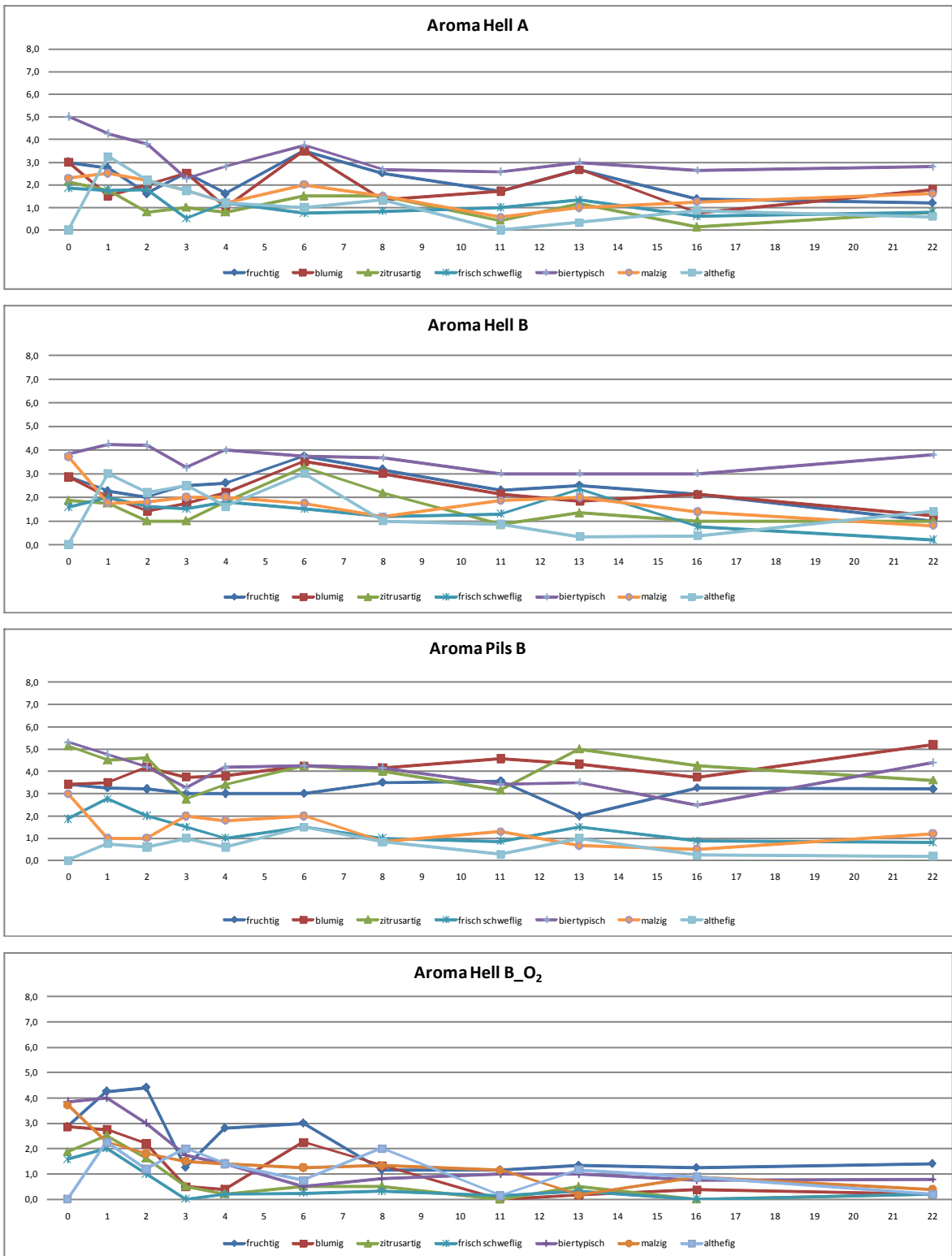


Abbildung A\_9: Veränderung der biertypischen Aromaeindrücke im Verlauf der Alterung.

Tabelle A\_26: Korrelationskoeffizienten sensorischer Attribute innerhalb der Alterungsverläufe.

N = 44	fruchtig	blumig	zitrusartig	frisch schweflig	biertypisch	malzig	beerenartig	würzeartig	brotartig	honigartig	cardboard	heuartig	whisky / sherry	bitter	nachhängende Bittere	adstringierend	Harmonie	Qualitäts- note	Alterungs- note	Alterungs- akzeptanz
fruchtig	1,00	0,69	0,59	0,40	0,53	0,34	-0,24	-0,34	-0,48	-0,42	-0,26	-0,33	-0,33	0,34	0,39	-0,37	0,58	0,55	-0,50	0,52
blumig	0,69	1,00	0,85	0,35	0,63	0,16	-0,42	-0,53	-0,47	-0,56	-0,30	-0,33	-0,55	0,69	0,52	-0,33	0,69	0,67	-0,59	0,62
zitrusartig	0,59	0,85	1,00	0,47	0,64	0,05	-0,49	-0,57	-0,47	-0,52	-0,32	-0,32	-0,45	0,74	0,63	-0,27	0,67	0,68	-0,53	0,58
frisch schweflig	0,40	0,35	0,47	1,00	0,74	0,46	-0,65	-0,51	-0,57	-0,63	-0,34	-0,47	-0,64	0,41	0,38	-0,14	0,74	0,75	-0,76	0,78
biertypisch	0,53	0,63	0,64	0,74	1,00	0,48	-0,67	-0,47	-0,60	-0,70	-0,22	-0,35	-0,84	0,62	0,59	-0,06	0,86	0,86	-0,89	0,90
malzig	0,34	0,16	0,05	0,46	0,48	1,00	-0,25	-0,14	-0,26	-0,25	-0,14	-0,25	-0,34	-0,06	0,08	-0,14	0,48	0,47	-0,51	0,51
beerenartig	-0,24	-0,42	-0,49	-0,65	-0,67	-0,25	1,00	0,57	0,48	0,75	0,15	0,54	0,70	-0,57	-0,24	0,39	-0,79	-0,77	0,78	-0,77
würzeartig	-0,34	-0,53	-0,57	-0,51	-0,47	-0,14	0,57	1,00	0,58	0,71	0,57	0,62	0,24	-0,51	-0,30	0,33	-0,64	-0,68	0,57	-0,57
brotartig	-0,48	-0,47	-0,47	-0,57	-0,60	-0,26	0,48	0,58	1,00	0,80	0,52	0,60	0,60	-0,56	-0,36	0,36	-0,75	-0,76	0,73	-0,70
honigartig	-0,42	-0,56	-0,52	-0,63	-0,70	-0,25	0,75	0,71	0,80	1,00	0,44	0,72	0,70	-0,60	-0,34	0,37	-0,87	-0,90	0,87	-0,86
cardboard	-0,26	-0,30	-0,32	-0,34	-0,22	-0,14	0,15	0,57	0,52	0,44	1,00	0,51	-0,03	-0,38	-0,14	0,16	-0,37	-0,47	0,34	-0,35
heuartig	-0,33	-0,33	-0,32	-0,47	-0,35	-0,25	0,54	0,62	0,60	0,72	0,51	1,00	0,30	-0,34	-0,11	0,51	-0,60	-0,63	0,54	-0,54
whisky/sherry	-0,33	-0,55	-0,45	-0,64	-0,84	-0,34	0,70	0,24	0,60	0,70	-0,03	0,30	1,00	-0,75	-0,44	0,22	-0,83	-0,82	0,94	-0,93
bitter	0,34	0,69	0,74	0,41	0,62	-0,06	-0,57	-0,51	-0,56	-0,60	-0,38	-0,34	-0,75	1,00	0,57	-0,28	0,62	0,67	-0,59	0,61
nachhängende Bittere	0,39	0,52	0,63	0,38	0,59	0,08	-0,24	-0,30	-0,38	-0,34	-0,14	-0,11	-0,44	0,57	1,00	0,18	0,49	0,50	-0,47	0,48
adstringierend	-0,37	-0,33	-0,27	-0,14	-0,06	-0,14	0,39	0,33	0,36	0,37	0,16	0,51	0,22	-0,28	0,18	1,00	-0,33	-0,31	0,22	-0,23
Harmonie	0,58	0,69	0,67	0,74	0,86	0,48	-0,79	-0,64	-0,75	-0,87	-0,37	-0,60	-0,83	0,62	0,49	-0,33	1,00	0,97	-0,95	0,95
Qualitätsnote	0,55	0,67	0,68	0,75	0,86	0,47	-0,77	-0,68	-0,76	-0,90	-0,47	-0,63	-0,82	0,67	0,50	-0,31	0,97	1,00	-0,95	0,96
Alterungsnote	-0,50	-0,59	-0,53	-0,76	-0,89	-0,51	0,78	0,57	0,73	0,87	0,34	0,54	0,94	-0,59	-0,47	0,22	-0,95	-0,95	1,00	-0,99
Alterungsakzeptanz	0,52	0,62	0,58	0,78	0,90	0,51	-0,77	-0,57	-0,70	-0,86	-0,35	-0,54	-0,93	0,61	0,48	-0,23	0,95	0,96	-0,99	1,00
Da es sich um eine abhängige Probenauswahl handelt, kann die Signifikanz der Zusammenhänge nicht allgemeingültig angegeben werden.																				
Für unabhängige Proben errechnet sich bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ein kritischer Korrelationskoeffizient von $r \geq 0,39$ .																				

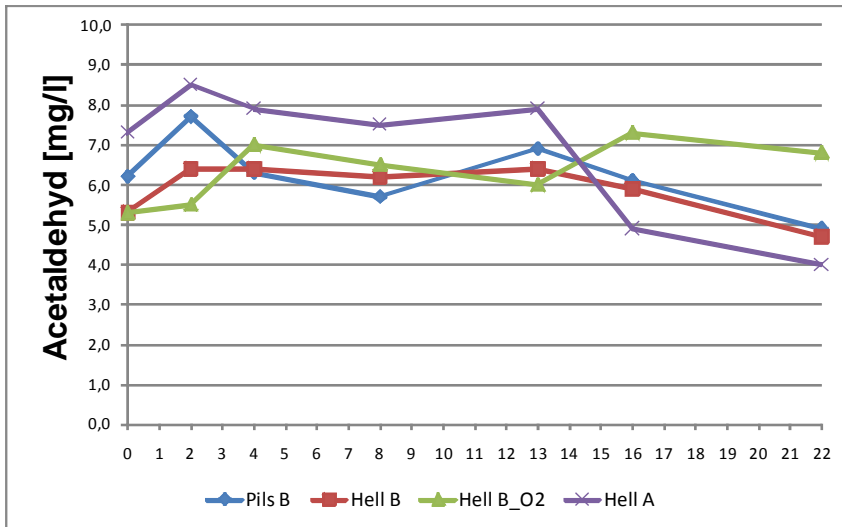


Abbildung A\_10: Veränderung der Acetaldehydhalte der Biere im Verlauf der Alterung.

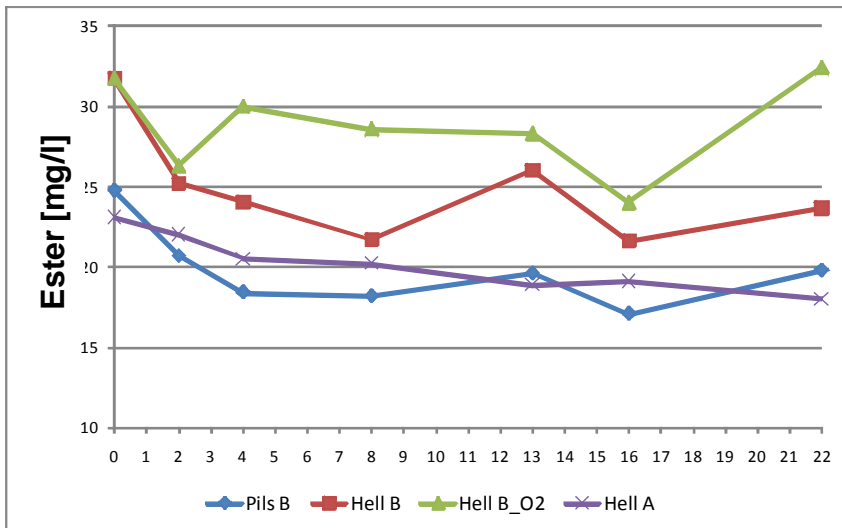


Abbildung A\_11: Veränderung der Summe der Ester (GNP) in den Bieren im Verlauf der Alterung.

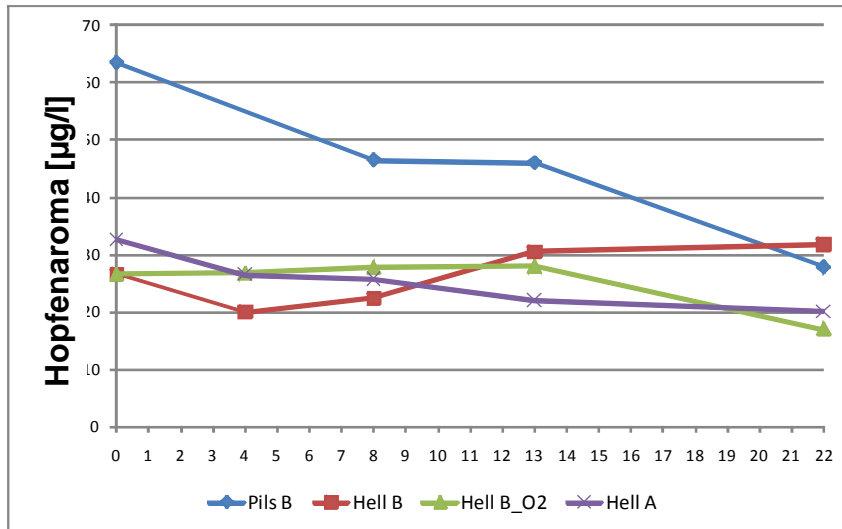


Abbildung A\_12: Veränderung der Hopfenaromastoffe im Verlauf der Alterung.

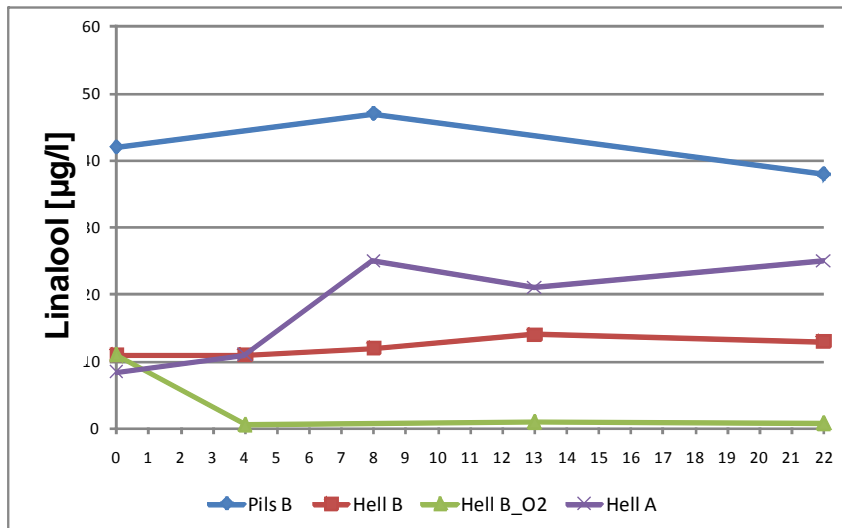


Abbildung A\_13: Veränderung des Linaloolgehaltes im Verlauf der Alterung.

Tabelle A\_27: Analysenmerkmale der Malze, Würzen und Biere aus den Gersten der Ernte 2003.

Sorte	Anbau- gebiet	Malz															
		Mürbigkeit [%]	Eiweiß- lösungsgrad [%]	lost. N [mg/100g]	Rohprotein [% wfr.]	Malzextrakt [% wfr.]	Lumineszenz [(300s) <sup>-1</sup> ·10 <sup>6</sup> ]	Prodelphinidin C2 (GGC) [mg/100g]	Prodelphinidin B3 (GC) [mg/100g]	Trimer GCC [mg/100g]	Trimer CGC [mg/100g]	Procyanidin B3 (CC) [mg/100g]	Procyanidin C2 (CCC) [mg/100g]	Summe Di- und Trimere [mg/100g]	Catechin [mg/100g]	p-Cumar- säure [mg/100g]	Ferulasäure [mg/100g]
1	1	88,3	44,3	666	9,4	83,6	1,80	44	38	52	32	55	43	26	n.a.	0,3	0,7
2	1	90,0	40,7	625	9,6	83,5	1,85	23	36	30	21	55	29	19	6,3	n.a.	0,6
3	1	90,1	42,6	674	9,9	84,3	1,95	39	57	46	32	77	38	29	n.a.	0,4	1,0
4	1	92,9	40,5	609	9,4	84,2	1,65	61	52	52	32	51	27	27	5,0	n.a.	n.a.
5	1	90,2	44,9	733	10,2	84,2	1,75	33	40	32	21	44	24	20	5,7	n.a.	n.a.
6	1	88,4	45,8	733	10,0	84,3	1,70	52	45	57	33	58	38	28	5,1	n.a.	n.a.
7	1	91,7	45,6	679	9,3	85,1	1,70	36	34	36	22	40	25	19	5,4	n.a.	0,6
1	2	80,9	38,5	690	11,2	81,8										0,6	
2	2	84,0	36,8	636	10,8	82,1	1,70	42	56	60	42	101	58	36	n.a.		1,0
3	2	85,4	38,4	694	11,3	82,9	1,35	8	29	29	22	98	57	24	6,9	0,5	0,9
4	2	89,1	38,0	687	11,3	81,9	1,50	35	51	48	29	72	37	27	7,0	0,6	0,7
5	2	83,6	39,3	717	11,4	81,8	1,20	20	32	38	22	51	38	20	6,5	0,3	0,6
6	2	85,1	35,6	678	11,9	81,9											
7	2	89,6	39,0	681	10,9	82,7	1,70	32	36	42	24	42	32	21	6,5	0,5	0,8
1	3	87,1	39,6	634	10,0	84,2	1,65	15	13	28	13	25	19	11	3,5	n.a.	0,7
2	3	86,8	39,0	605	9,7	83,7	1,75	35	34	56	32	64	52	27	5,1	n.a.	0,6
3	3	86,0	37,9	625	10,3	83,7	1,60	26	53	40	28	91	38	28	7,0	0,3	0,8
4	3	90,9	37,0	568	9,6	84,0	1,50	25	54	41	31	88	35	27	9,9	0,3	0,6
5	3	82,3	40,7	704	10,8	84,5	1,75	45	49	59	38	63	35	29	7,4	0,2	0,6
6	3	88,7	41,5	677	10,2	83,8	1,50	73	79	80	50	100	52	43	5,0	0,4	0,9
7	3	91,6	42,0	679	10,1	84,8	1,75	24	19	33	16	29	22	14	5,5	n.a.	0,5
1	4	82,4	41,9	751	11,2	82,8											
2	4	85,0	39,0	681	10,9	82,1	1,55	37	66	53	33	98	47	33	10,1	0,5	0,8
3	4	85,4	38,4	713	11,6	83,3	1,45	49	52	63	37	83	51	34	8,4	n.a.	n.a.
4	4	86,2	37,8	684	11,3	83,0	1,35	30	53	31	18	53	12	20	31,8	n.a.	0,6
5	4	85,2	41,2	797	12,1	83,0	1,45	29	31	46	27	56	40	23	5,4	0,3	n.g.
6	4	81,1	41,0	793	12,1	82,4	1,50	63	73	55	35	70	29	32	6,5	0,5	0,9
7	4	90,2	43,3	796	11,5	83,1	2,15	11	27	22	11	49	26,1	15	11,4	0,7	1,1

Tabelle: Analysenmerkmale der Malze, Würzen und Biere aus den Gersten der Ernte 2003 – Teil2.

Sorte	Anbau- gebiet	Kaltauszug			Sud	Würze					Bier					
		Gesamt- polyphenole [mg/l]	Antho- cyanogene [mg/l]	Tanninoide [mg/l]		Gesamt- polyphenole [mg/l]	Antho- cyanogene [mg/l]	Tanninoide [mg/l]	Reduktions- vermögen (DP) [%]	F(0/120)	Gesamt- polyphenole [mg/l]	Antho- cyanogene [mg/l]	Tanninoide [mg/l]	Reduktions- vermögen (DP) [%]	Reduktions- vermögen (DPPH) [%]	F(0/120)
1	1	127	44	44	A	234	87	97			185	64	23	29		
					B	226	75	90	23		182	60	21	11	68	39,5
2	1	134	31	27	A	198	84	74			147	58	17	24		
					B	186	64	63	20		160	52	16	12	61	35,7
3	1	111	35	31	A	204	74	68			144	62	16	24		
					B	203	56	64	15		153	47	15	6	61	36,0
4	1	133	46	44	A	247	93	100			172	84	24	22		
					B	247	88	98	22		199	69	24	11	68	39,5
5	1	103	34	26	A	207	76	66	35		151	48	14	34		
					B	190	68	70	34		136	18	18	32	69	52,5
6	1	133	45	42	A	250	96	96	32		184	68	16	30		
					B	243	94	95	29		158	18	18	33	61	43,0
7	1	136	34	33	A	176	59	64	32		129	45	14	26		
					B	170	72	71	20		120		17	27	53	57,0
1	2				A	254	92	99	33		196	81	20	29		
					B	210	93	94	28		166		22	32	67	55,5
2	2	149	42	35	A	212	62	66	34		164	52	15	39		
					B	219	91	68	23		186		20	14	69	55,6
3	2	154	39	36	A	217	62	68	33		166	69	14	35		
					B	218	94	68	24		173		16	15	66	58,4
4	2	172	43	36	A	209	62	73	33		159	70	16	22		
					B	216	84	69	25		179		18	16	69	49,0
5	2	166	53	47	A	260	89	99	35		193	72	21	27		
					B	256	123	93	28		199		24	17	73	41,0
6	2				A	234	70	80	40		189	62	21	36		
					B	247	85	84	29					31	70	39,0
7	2	170	43	41	A	205	76	82	37		154	58	22	37		
					B	206	78	76	26					33	71	44,5
1	3	160	51	55	A	240	80	87	39		144	58	18	32		
					B	203	82	88	25					26	70	52,9
2	3	177	44	43	A	210	62	75	40		154	57	18	33		
					B	232	80	81	27	12,1				28	70	55,8
3	3	148	41	32	A	216	76	84		9,3	149	44	15	15	73	35,7
					B	229	69	77	20	10,8						
4	3	163	57	54	A	273	106	116		8,7	190	64	23	14	78	38,1
					B	246	86	101	27	5,7						
5	3	148	45	39	A	214	88	91		8,0	124	55	18	16	78	41,7
					B	226	74	89	25	11,5						
6	3	159	45	58	A	264	117	178		10,6	125	78	27	25	82	29,6
					B	275	88	104	28	8,3						
7	3	139	42	39	A	172	74	61	31		153	49	16	21	68	50,5
					B	197	72	70	17							
1	4				A	243	99	85	34		170	62	20	30	75	49,8
					B	235	77	95	24							
2	4	156	38	41	A	200	86	71	32	9,5	174	63	18	13	71	48,8
					B	231	56	81		14,3						
3	4	142	32	34	A	201	87	68	31	12,4	168	81	16	17	69	54,5
					B	214	69	66		21,4						
4	4	159	40	41	A	237	84	69	42	10,9	168	55	15	26	65	47,5
					B	271	100	95		12,2						
5	4	147	35	33	A	210	86	71	41	12,1	117	67	16	32	66	40,5
					B	207	91	74		13,9						
6	4	157	43	40	A	226	92	80	39	10,1	118	71	18	22	68	
					B	248	79	87		10,8						
7	4	140	34	32	A	196	83	64	38		120	83	18	34	67	
					B	201	76	76								

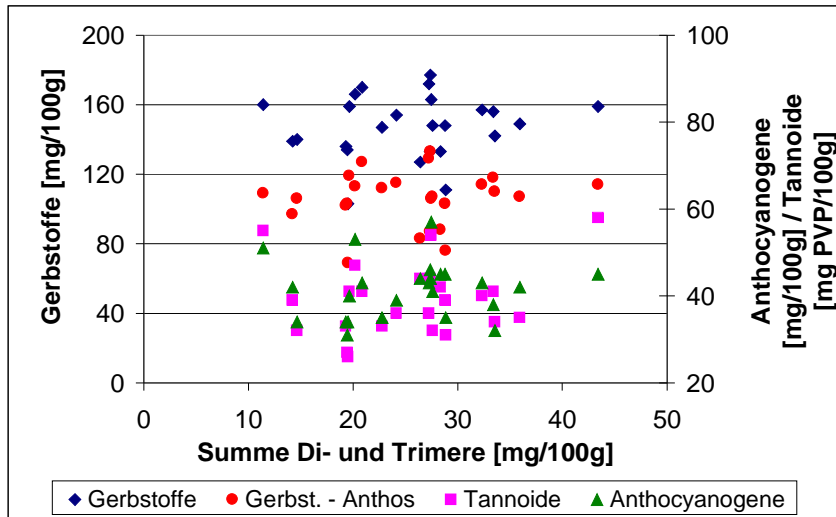


Abbildung A\_ 14: Screening von Malz: 7 Sorten, 4 Standorte. Gegenüberstellung der nasschemischen Analysen im Malzkaltauszug und der Bestimmung von Einzelsubstanzen mittels Lösungsmittlextraktion und HPLC-MS<sup>n</sup>.

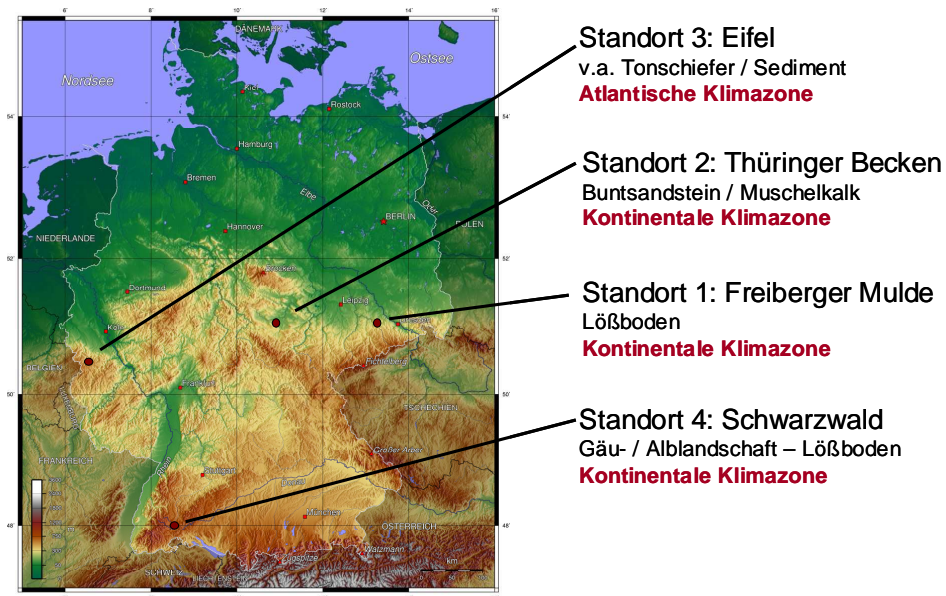


Abbildung A\_ 15: Geographische Lage der untersuchten Gerstenanbaugebiete.

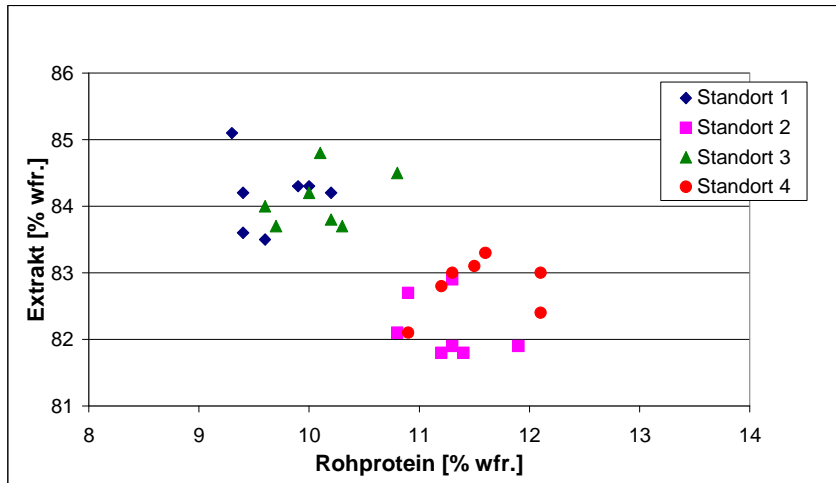


Abbildung A\_16: Extrakt- und Proteingehalt der Malze in Abhängigkeit von den Aufwuchsbedingungen.

Tabelle A\_28: Polyphenolgehalte im Brauprozess bei unstabilisierten Bieren; Korrelationskoeffizienten. Datengrundlage: Tabelle A\_27.

		Malz			Würze			Bier		
		Polys	Anthos	Tannoide	Polys	Anthos	Tannoide	Polys	Anthos	Tannoide
Malz	Polys	1,00	0,51	0,53	0,27	0,00	0,22	0,08	0,13	0,27
	Anthos	0,51	1,00	0,83	0,75	0,37	0,56	0,43	0,09	0,57
	Tannoide	0,53	0,83	1,00	0,74	0,56	0,75	0,27	0,28	0,73
Würze	Polys	0,27	0,75	0,74	1,00	0,67	0,74	0,48	0,43	0,64
	Anthos	0,00	0,37	0,56	0,67	1,00	0,74	0,09	0,49	0,66
	Tannoide	0,22	0,56	0,75	0,74	0,74	1,00	0,09	0,37	0,80
Bier	Polys	0,08	0,43	0,27	0,48	0,09	0,09	1,00	0,15	0,22
	Anthos	0,13	0,09	0,28	0,43	0,49	0,37	0,15	1,00	0,50
	Tannoide	0,27	0,57	0,73	0,64	0,66	0,80	0,22	0,50	1,00
N = 25										
gelb		Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,05$ ( $r \geq 0,40$ )								
rot		Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ( $r \geq 0,51$ )								



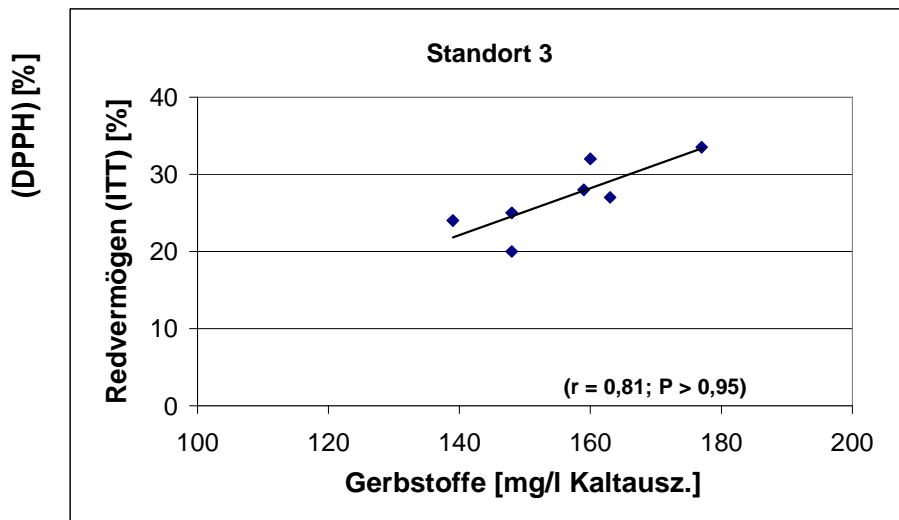


Abbildung A\_ 17: Reduktionsvermögen (DPI) der resultierenden Würze in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt des Malzes.

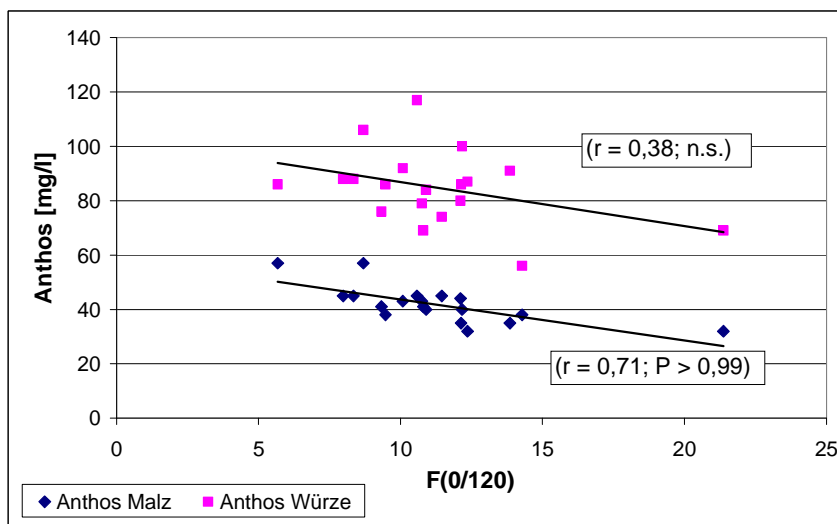


Abbildung A\_ 18: Radikalgenerierung in Würze in Abhängigkeit vom Polyphenolgehalt von Malz und Würze.

# Anhang

**Tabelle A\_29: Marktanalyse: Analysenmerkmale der untersuchten Würzen.**

Nummer	Sorte	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	TBZ	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	Lagtime [min]	F(LT/120)	p (°P)
B01	Hell	70	214	41	52	5,2	82	51	58	5	13,2	11,7
B02	Hell	116	243	34	50	5,3	120	58	55	4,5	24,2	11,7
B03	Hell	95	219	45	64	5,3	100	46	46	3,5	41,8	13,4
B04	Hell	94	166	58	61	5,0	95	56	60	4	40,3	13,4
B05	Pils	51	164	59	54	5,1	155	48	55	7	26,5	13,3
B06	Hell	131	257	37	57	5,3	121	63	46	10	23,2	11,9
B07	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B08	Hell	101	239	56	52	5,4	112	58	44	6	41,2	12,5
B09	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B10	Hell	139	276	46	49	5,3	141	44	54	6	39,3	12,0
B11	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B12	Hell	109	258	53	59	5,3	103	49	41	11	23,5	12,0
B13	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B14	Hell	127	267	60	62	5,3	113	38	52	14	22,9	11,5
B15	Hell	120	222	54	59	5,3	31	63	55	7	39,6	12,0
B16	Pils	127	226	47	58	5,2	100	42	50	12	25,1	13,5
B17	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B18	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B19	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B20	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B21	Hell	166	262	25	82	5,3	127	60	52	10	18,1	12,2
B22	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B23	Hell	135	249	44	97	5,3	113	69	54	13	23,1	11,1
B24	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B25	Hell	159	235	36	60	5,3	121	66	54	7	30,0	11,6
B26	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B27	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B28	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B29	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B30	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B31	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B32	Pils	87	194	43	68	5,3	95	73	46	8	24,6	11,8
B33	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B34	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B35	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B36	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B37	Pils	104	229	41	77	5,3	70	53	43	14	17,9	11,7
B38	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B39	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B40	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B41	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B42	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B43	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~

Tabelle A\_30: Marktanalyse: Allgemeine Analysenmerkmale der frischen Biere.

Nummer	Sorte	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	SO <sub>2</sub> [mg/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	Lagtime [min]	F(LT/60)	Cu [mg/l]	Fe [mg/l]	Ethanol [%vol.]	EVG_s. [%mas.]	p [°P]
B01	Hell	70	160	32	4,5	21	2,5	41	53	68	5,6	0,01	0,10	5,2	81,1	12,1
B02	Hell	56	151	46	4,5	55	5,1	39	52	93	4,8	0,04	0,06	5,3	85,5	11,6
B03	Hell	33	108	27	4,2	15	3,2	37	46	69	6,0	0,05	0,05	5,1	82,3	11,7
B04	Hell	32	104	24	4,4	81	5,0	53	50	77	6,3	0,04	0,04	5,1	83,2	11,6
B05	Pils	36	107	23	4,3	125	3,5	35	47	98	3,5	0,04	0,03	5,2	83,9	11,6
B06	Hell	67	175	38	4,4	n.n.	0,6	35	60	14	7,2	0,05	0,04	5,1	82,2	11,6
B07	Pils	37	144	26	4,3	n.n.	0,6	32	58	14	5,6	0,06	0,04	5,2	82,4	11,8
B08	Hell	74	118	37	4,3	21	4,3	32	47	98	5,1	0,02	0,06	5,2	85,3	11,6
B09	Pils	30	124	26	4,2	23	5,7	33	49	119	4,8	0,01	0,06	5,3	83,8	11,9
B10	Hell	41	193	39	4,3	n.n.	1,3	38	61	33	6,6	0,05	0,05	5,2	82,3	12,0
B11	Pils	37	190	42	4,2	n.n.	1,7	32	63	55	5,6	0,06	0,04	5,5	86,7	11,9
B12	Hell	60	115	48	4,4	n.n.	0,9	32	51	30	6,0	0,05	0,05	4,8	77,1	11,7
B13	Hell	75	162	25	4,3	n.n.	4,5	29	52	88	6,1	0,03	0,09	4,7	77,4	11,4
B14	Hell	73	221	50	4,4	n.n.	3,4	28	57	81	5,1	0,02	0,07	5,1	84,7	11,4
B15	Hell	99	205	43	4,3	24	3,2	34	53	72	6,6	0,05	0,05	5,3	86,0	11,6
B16	Pils	41	111	51	4,2	n.n.	7,0	30	45	101	4,3	0,05	0,03	4,9	83,0	11,2
B17	Pils	77	171	57	4,4	n.n.	6,1	36	63	93	6,2	0,02	0,01	5,7	85,8	12,5
B18	Pils	~	108	58	4,3	n.n.	4,8	28	47	95	4,4	0,05	0,03	5,1	81,6	11,7
B19	Pils	~	123	57	4,4	n.n.	1,0	31	52	49	6,4	0,05	0,03	5,0	82,6	11,5
B20	Pils	38	132	55	4,4	n.n.	1,3	34	53	21	6,5	0,05	0,04	4,9	78,9	11,6
B21	Hell	89	207	56	4,4	36	1,5	30	59	30	5,3	0,03	0,07	5,3	81,8	12,2
B22	Pils	98	216	54	4,4	36	0,3	27	58	24	5,9	0,02	0,07	4,9	82,3	11,2
B23	Hell	75	171	55	4,3	29	1,4	36	60	48	7,4	0,05	0,05	5,2	82,3	11,8
B24	Pils	80	189	56	4,4	33	2,4	36	61	54	7,6	0,08	0,06	5,4	82,1	12,2
B25	Hell	77	166	52	4,2	25	1,6	42	55	37	9,3	0,06	0,08	5,1	82,7	11,6
B26	Pils	83	175	53	4,2	24	1,6	40	54	50	8,2	0,06	0,08	5,1	82,6	11,7
B27	Hell	~	182	43	4,4	n.n.	5,7	46	51	89	5,6	0,06	0,04	5,3	83,4	12,0
B28	Pils	~	166	45	4,4	n.n.	3,9	35	46	76	4,4	0,05	0,02	5,0	85,4	11,1
B29	Pils	~	124	39	4,4	n.n.	2,8	36	49	72	6,3	0,08	0,05	4,8	81,8	11,1
B30	Hell	~	136	47	4,2	n.n.	4,2	32	48	93	5,6	0,04	0,05	5,3	83,0	12,1
B31	Pils	~	119	48	4,2	n.n.	1,1	32	47	26	7,1	0,05	0,06	4,9	84,1	11,1
B32	Pils	28	107	30	4,6	23	2,5	35	49	59	5,7	0,01	0,06	5,0	79,8	11,7
B33	Hell	~	148	44	4,3	n.n.	1,5	40	55	46	4,7	0,05	0,02	4,9	82,1	11,2
B34	Pils	~	102	49	4,4	n.n.	4,0	47	57	69	4,4	0,07	0,02	4,8	81,1	11,1
B35	Pils	~	144	31	4,3	18	1,9	42	52	44	5,6	0,06	0,03	4,7	80,1	11,1
B36	Pils	~	151	51	4,3	44	0,7	31	56	29	5,9	0,04	0,06	4,9	81,0	11,4
B37	Pils	34	120	32	4,5	21	4,9	33	52	98	4,2	0,05	0,03	5,2	83,8	11,6
B38	Pils	~	136	28	4,4	55	1,4	38	59	55	5,4	0,04	0,03	4,8	82,5	11,1
B39	Pils	~	216	51	4,3	13	0,6	32	44	37	5,1	0,04	0,02	4,7	80,2	11,1
B40	Pils	~	175	50	4,2	15	2,3	39	49	51	6,3	0,07	0,04	5,1	78,1	12,2
B41	Hell	~	130	28	4,3	30	1,5	32	55	55	6,0	0,09	0,08	5,1	83,4	11,4
B42	Pils	~	88	25	4,3	31	2,5	32	57	77	5,7	0,08	0,03	4,9	81,7	11,3
B43	Pils	~	163	48	4,2	31	2,3	39	56	53	6,3	0,05	0,03	4,7	80,0	11,1

Tabelle A\_31: Marktanalyse: Gärungsnebenprodukte der frischen Biere.

Nummer	Sorte	Gärungsnebenprodukte in mg/l											
		Acet- aldehyd	Σ GNP	Propanol-1	Ethylacetat	2-Methyl- propanol	3-Methyl- butanol	2-Methyl- butanol	2-Methyl- propylacetat	Buttersäure ethylester	3-Methyl- butylacetat	2-Methyl- butylacetat	Hexansäure ethylester
B01	Hell	5,4	99	8,4	23	9,0	45	11	0,1	0,1	1,9	0,2	0,2
B02	Hell	8,2	101	10	22	11	41	14	0,1	0,1	2,1	0,2	0,3
B03	Hell	2,8	124	11	24	14	56	16	0,1	0,1	2,6	0,2	0,3
B04	Hell	4,4	119	11	26	12	51	15	0,1	0,1	2,8	0,2	0,4
B05	Pils	7,2	112	10	21	14	48	16	0,1	0,1	2,2	0,2	0,3
B06	Hell	9,2	90	13	14	7,9	43	11	Sp.	0,1	1,1	0,1	0,2
B07	Pils	8,8	91	13	17	7,6	42	10	Sp.	0,1	1,1	0,1	0,2
B08	Hell	6,2	123	10	30	13	51	15	0,1	0,1	3,5	0,3	0,3
B09	Pils	11	117	10	25	12	52	15	0,1	0,1	2,8	0,2	0,2
B10	Hell	2,3	115	9,6	27	9,6	51	14	0,1	0,1	2,8	0,2	0,3
B11	Pils	2,4	104	9,1	22	9,3	48	13	0,1	0,1	2,2	0,2	0,3
B12	Hell	4,7	78	9,2	12	5,9	39	10	Sp.	0,1	1,2	0,1	0,3
B13	Hell	8,9	87	8,2	25	6,2	36	9,0	Sp.	0,1	2,1	0,1	0,2
B14	Hell	3,7	107	11	27	9,8	42	14	0,1	0,2	2,4	0,2	0,3
B15	Hell	2,2	100	8,1	22	11	41	15	0,1	0,2	1,8	0,1	0,2
B16	Pils	4,3	78	6,9	14	7,6	37	11	Sp.	0,1	1,4	0,1	0,2
B17	Pils	4,2	114	10	35	8,9	43	14	0,1	0,2	2,3	0,2	0,3
B18	Pils	7,8	101	12	15	14	44	14	0,1	0,1	1,5	0,2	0,2
B19	Pils	2,4	88	15	14	7,5	39	11	0,03	0,1	1,0	0,1	0,2
B20	Pils	3,8	84	10	15	5,8	41	10	0,03	0,1	1,3	0,1	0,2
B21	Hell	2,2	87	9,2	14	10	41	12	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	Sp.
B22	Pils	6,2	80	8,8	10	10	39	11	Sp.	Sp.	0,9	Sp.	0,2
B23	Hell	9,3	110	11	28	13	40	15	Sp.	Sp.	2,7	0,3	0,3
B24	Pils	8,2	111	10	31	12	41	14	Sp.	Sp.	2,4	0,2	0,3
B25	Hell	2,5	102	10	25	8,0	44	12	Sp.	Sp.	2,1	0,2	0,2
B26	Pils	4,4	99	10	27	7,5	41	11	0,2	Sp.	2,0	Sp.	0,2
B27	Hell	6,3	120	10	20	17	57	14	Sp.	Sp.	2,1	Sp.	0,3
B28	Pils	4,1	100	9,2	21	7,9	47	13	Sp.	Sp.	1,8	Sp.	0,2
B29	Pils	6,4	100	11	11	13	49	14	Sp.	Sp.	1,4	Sp.	0,2
B30	Hell	9,1	121	12	24	11	52	19	Sp.	Sp.	2,8	0,3	0,3
B31	Pils	3,1	138	13	34	14	53	19	Sp.	Sp.	4,2	0,5	0,2
B32	Pils	8,3	81	9,4	15	7,8	38	10	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	0,2
B33	Hell	7,9	84	12	13	7,6	38	12	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	0,3
B34	Pils	7,8	93	9,8	18	8,2	42	13	Sp.	Sp.	1,4	Sp.	0,4
B35	Pils	7,8	129	15	8,5	20	66	18	Sp.	Sp.	1,2	Sp.	0,2
B36	Pils	1,9	80	11	11	9,1	36	12	Sp.	Sp.	0,6	Sp.	0,2
B37	Pils	8,0	111	9,7	27	11	45	15	Sp.	Sp.	3,0	0,3	0,3
B38	Pils	7,1	95	21	13	14	37	8,0	Sp.	Sp.	1,7	0,2	0,2
B39	Pils	1,8	77	15	8,8	6,1	35	11	Sp.	Sp.	0,6	Sp.	0,2
B40	Pils	6,1	107	9,0	20	10	51	14	Sp.	Sp.	2,2	0,2	0,2
B41	Hell	6,1	96	9,7	21	6,6	45	11	Sp.	Sp.	2,2	0,2	0,2
B42	Pils	6,1	103	9,9	25	8,2	45	12	Sp.	Sp.	2,3	0,2	0,2
B43	Pils	5,3	96	12	21	8,2	42	11	Sp.	Sp.	1,9	Sp.	0,2

Tabelle A\_ 32: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der frischen Biere.

Nummer	Sorte	Bieraromastoffe in µg/l											
		1-Hexanol	1-Heptanol	1-Octanol	1-Decanol	2-Phenyl-ethanol	Essigsäure-isobutylester	Essigsäure-hexylester	Essigsäure-heptylester	Essigsäure-octylester	Essigsäure-furfurylester	Essigsäure-2-phenyl-ethylester	Buttersäure-ethylester
B01	Hell	16	4,1	17	4,2	17608	28	5,5	1,7	3,6	7,9	336	93
B02	Hell	9,3	n.a.	18	n.a.	23815	76	8,0	n.a.	n.a.	n.a.	646	158
B03	Hell	6,3	n.a.	23	n.a.	29755	86	3,3	n.a.	n.a.	n.a.	473	157
B04	Hell	n.a.	n.a.	34	n.a.	21472	114	6,2	n.a.	3,0	n.a.	371	216
B05	Pils	6,3	n.a.	17	n.a.	23442	98	3,3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	164
B06	Hell	29	6,8	29	8,2	14359	23	7,0	2,0	3,0	5,21	205	93
B07	Pils	35	9,4	20	6,1	15407	20	7,6	3,1	3,2	5,2	212	75
B08	Hell	14	5,3	15	4,2	22031	81	8,8	4,5	4,8	15	747	112
B09	Pils	18	5,0	11	4,9	22432	58	9,1	3,4	5,3	11	632	89
B10	Hell	17	13	21	6,5	10613	50	5,9	5,8	3,0	8,6	353	110
B11	Pils	21	17	19	6,9	9068	37	5,5	6,8	2,6	9,0	286	106
B12	Hell	11	6,4	79	9,4	14108	n.a.	n.a.	3,5	5,1	8,2	254	237
B13	Hell	19	7,4	24	7,8	14384	45	8,2	2,4	4,3	7,5	443	107
B14	Hell	19	5,4	25	8,4	18051	55	8,5	2,3	6,6	14	673	166
B15	Hell	21	4,6	12	5,0	10445	41	5,3	1,4	1,9	8,4	345	87
B16	Pils	15	5,3	16	4,4	11284	25	4,1	2,4	1,9	8,6	260	102
B17	Pils	21	7,7	27	8,9	17302	43	7,3	2,8	5,1	16	544	153
B18	Pils	17	4,4	36	11	31401	68	4,8	1,6	7,4	8,4	592	84
B19	Pils	17	7,2	25	21	26550	24	2,8	1,7	2,0	4,4	277	106
B20	Pils	8,0	3,8	48	11,2	15349	53	3,2	1,8	2,2	1,2	167	132
B21	Hell	13	4,2	19	7,9	16199	40	2,9	1,3	2,2	4,4	271	97
B22	Pils	13	4,9	17	7,7	27043	47	2,3	1,0	2,0	3,2	277	99
B23	Hell	13	15	19	8,5	28761	95	4,6	3,4	1,5	3,6	819	128
B24	Pils	17	11	19	9,2	29102	83	4,5	2,1	2,1	3,7	676	119
B25	Hell	16	12	28	9,8	20557	59	6,9	6,0	3,8	4,4	478	141
B26	Pils	8,9	10	47	14	19876	60	3,4	n.a.	0,7	0,4	389	167
B27	Hell	13	3,8	37	18,9	25501	42	4,1	1,7	8,3	15	541	89
B28	Pils	11	2,9	32	16,2	23279	39	3,5	1,3	6,0	11	465	94
B29	Pils	13	3,8	27	10	34768	65	3,3	1,4	3,4	5,7	508	88
B30	Hell	17	3,4	19	8,9	28344	88	7,0	2,3	4,3	7,7	735	129
B31	Pils	14	3,0	22	11	29104	141	8,9	2,4	5,0	11	1136	122
B32	Pils	9,0	4,7	20	9,2	16543	45	1,3	1,0	1,1	0,5	202	78
B33	Hell	3,8	1,7	122	16	20278	69	2,9	1,7	5,4	1,9	258	203
B34	Pils	16	8,6	39	14	21701	46	5,8	6,0	5,7	6,2	338	137
B35	Pils	21	4,3	21	8,8	50370	59	2,5	1,0	2,2	8,1	466	64
B36	Pils	15	5,1	24	19	19922	21	2,1	0,9	1,3	4,4	178	72
B37	Pils	21	4,3	13	7,5	20703	80	11,7	2,5	4,1	9,3	757	122
B38	Pils	23	5,1	37	23	84338	46	4,4	1,5	8,7	10	794	65
B39	Pils	17	5,4	27	16	18419	21	1,8	1,0	1,3	2,4	168	78
B40	Pils	19	3,7	16	7,3	17540	68	7,9	2,0	3,7	7,7	415	108
B41	Hell	30	6,4	17	6,5	22073	57	17	2,5	2,2	5,2	644	136
B42	Pils	27	6,6	28	7,9	23056	62	16	3,2	3,3	7,2	605	136
B43	Pils	15	4,4	30	11	40791	46	5,3	2,4	4,7	7,7	478	78

Tabelle: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der frischen Biere – Teil II.

Nummer	Sorte	Bieraromastoffe in µg/l												
		Hexansäure- ethylester	Octansäure- ethylester	Decansäure- ethylester	Isovalerian- säure	Hexansäure	Octansäure	Nonansäure	Decansäure	Dodecan- säure	α-Terpineol	Linalool	Nerol	γ-Nona- lacton
B01	Hell	178	244	50	642	1835	5158	14	858	126	5,1	5,9	3,2	31
B02	Hell	183	246	n.a.	n.a.	2733	6730	n.a.	967	49	4,2	n.a.	n.a.	n.a.
B03	Hell	161	229	n.a.	n.a.	2280	5552	n.a.	964	50	8,4	n.a.	n.a.	n.a.
B04	Hell	174	266	41	n.a.	1756	5756	n.a.	1175	61	3,9	n.a.	n.a.	n.a.
B05	Pils	154	229	n.a.	n.a.	2632	5874	14	1209	118	13	n.a.	4,2	n.a.
B06	Hell	127	162	19	838	1210	3560	13	338	41	4,8	25	3,5	38
B07	Pils	134	160	19	941	1440	3653	13	297	23	8,2	50	6,2	42
B08	Hell	178	215	27	626	1446	4221	10	347	26	2,3	6,8	2,0	34
B09	Pils	156	233	32	832	1839	4491	11	450	19	n.a.	20	5,5	36
B10	Hell	169	257	37	1368	2022	5337	13	518	33	5,2	6,3	2,9	33
B11	Pils	182	262	47	1141	2550	6214	19	852	24	8,7	18	4,7	37
B12	Hell	210	209	26	278	601	3973	2,1	490	45	10	3,0	0,8	34
B13	Hell	104	153	22	761	1515	3799	11	315	19	4,1	14	2,1	23
B14	Hell	187	287	24	242	1671	4887	5,7	273	33	8,3	6,1	4,0	30
B15	Hell	178	278	75	941	2362	5799	14	1295	166	6,1	8,6	4,5	32
B16	Pils	145	260	55	85	1569	4908	5	1021	98	7,9	8,7	4,2	22
B17	Pils	169	308	24	286	1797	5283	4,8	304	28	12	30	10	27
B18	Pils	162	164	28	87	1024	2826	1,1	395	36	9,0	3,1	2,3	29
B19	Pils	169	237	74	69	1568	5593	18	1874	120	5,9	2,2	2,3	22
B20	Pils	124	67	14	n.a.	389	2314	24	534	201	6,0	6,9	2,1	59
B21	Hell	90	147	17	88	1022	2600	6,2	273	118	6,7	2,9	2,6	21
B22	Pils	108	124	8,2	401	999	2476	5,3	110	164	6,4	4,9	3,8	24
B23	Hell	148	247	29	332	1517	4640	11	44	119	5,6	6,9	1,3	22
B24	Pils	151	292	47	351	1904	5688	19	835	154	8,8	22	3,1	22
B25	Hell	115	210	25	224	1081	4005	23	303	116	6,1	9,1	3,2	29
B26	Pils	n.a.	178	35	65	520	3488	15	601	178	4,7	5,6	2,1	46
B27	Hell	184	189	47	113	1491	4187	23	679	130	5,2	2,7	2,4	23
B28	Pils	179	195	44	109	1493	4240	23	746	123	5,5	3,4	2,2	16
B29	Pils	124	147	27	58	948	3657	11	604	120	9,0	4,7	2,0	23
B30	Hell	190	176	52	43	1302	4034	14	933	n.a.	5,4	2,3	2,0	21
B31	Pils	148	177	41	82	1132	4381	14	730	125	8,8	6,0	3,0	29
B32	Pils	98	89	15	43	653	n.a.	22	345	14	8,8	12	3,6	37
B33	Hell	175	154	22	93	286	2644	10	532	119	5,0	1,4	0,4	18
B34	Pils	257	231	66	150	1416	5243	18	1414	123	5,9	4,7	1,9	25
B35	Pils	120	103	19	44	967	2475	11	382	169	8,2	2,3	3,6	33
B36	Pils	125	211	72	167	1609	5501	18	1932	144	9,8	5,6	3,4	23
B37	Pils	218	236	47	166	1906	5393	15	745	147	16	20	4,2	22
B38	Pils	115	147	23	57	1315	3712	34	547	173	8,5	7,4	3,6	32
B39	Pils	126	180	40	103	1151	4364	14	52	139	8,8	4,0	2,3	24
B40	Pils	156	193	41	116	1408	1964	11	657	130	9,3	14	3,4	29
B41	Hell	146	216	33	389	1511	4494	8,9	48	136	9,1	13	2,5	34
B42	Pils	147	224	34	458	1204	4404	28	522	135	8,5	14	3,6	33
B43	Pils	127	142	13	105	1167	3398	24	318	131	n.a.	8,0	n.a.	26

Tabelle A\_ 33: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den frischen Bieren.

Nummer	Sorte	Alterungsindikatoren in µg/l											γ-Nona-lacton	
		∑ Wärme-indikatoren	∑ Sauerstoff-indikatoren	∑ Alterungs-komponenten	3-Methyl-butanal	2-Furfural	Methyl-furfural	Benz-aldehyd	2-Phenyl-ethanal	Bernstein-säure-diethyl-ester	Nicotinsäure-ethyl-ester	Phenyl-essigsäure-ethyl-ester		2-Acetyl-furan
B01	Hell	32	13	57	6,2	7,2	5,5	0,7	6,3	1,7	6,9	0,7	3,7	25
B02	Hell	29	11	48	6,3	7,7	4,2	0,6	4,2	1,2	6,6	0,5	1,9	21
B03	Hell	42	12	68	5,4	14	4,4	0,9	5,9	1,5	7,4	0,6	7,2	28
B04	Hell	47	13	77	6,8	14	4,9	1,0	5,6	2,1	8,2	0,8	8,4	33
B05	Pils	42	14	71	9,0	16	6,1	Sp.	5,2	Sp.	5,9	1,1	7,5	26
B06	Hell	42	12	65	8,6	Sp.	6,7	0,6	2,3	1,5	7,1	0,6	2,9	42
B07	Pils	52	18	84	11	10	8,0	0,8	6,0	2,1	7,0	0,8	3,0	42
B08	Hell	43	14	67	6,6	5,2	4,7	0,5	6,8	1,2	7,2	0,5	3,4	38
B09	Pils	38	17	66	10	Sp.	6,0	Sp.	6,7	Sp.	7,1	0,9	4,4	38
B10	Hell	34	8	56	5,5	Sp.	7,3	Sp.	2,7	Sp.	8,7	Sp.	6,5	34
B11	Pils	47	13	73	6,6	11	6,4	1,0	5,7	2,4	14	0,8	3,2	36
B12	Hell	37	12	63	7,4	6,9	5,7	1,8	2,9	1,0	11	0,6	6,3	30
B13	Hell	23	20	53	10	Sp.	5,3	Sp.	9,5	Sp.	4,7	1,0	4,4	23
B14	Hell	32	7	52	3,0	5,1	6,4	1,3	2,7	1,8	7,6	1,0	4,0	27
B15	Hell	31	13	59	6,6	Sp.	5,0	Sp.	6,1	Sp.	6,8	0,9	8,9	31
B16	Pils	16	12	39	8,3	Sp.	5,1	Sp.	3,7	Sp.	6,5	0,9	4,8	16
B17	Pils	22	10	48	6,1	Sp.	8,9	1,1	3,2	1,7	9,1	1,2	3,5	22
B18	Pils	38	16	63	9,2	13	4,1	1,1	5,5	Sp.	11	0,7	4,5	25
B19	Pils	33	8	50	3,7	6,1	6,1	Sp.	4,2	Sp.	18	0,8	2,2	27
B20	Pils	47	17	77	8,7	9,2	7,4	1,4	7,3	Sp.	10	0,8	4,0	38
B21	Hell	27	13	49	5,1	5,5	6,3	1,2	6,2	Sp.	10	0,8	2,5	21
B22	Pils	30	14	60	7,4	8,2	11	1,1	5,2	1,7	8,3	0,8	2,8	22
B23	Hell	20	22	47	13	Sp.	4,3	1,4	7,6	Sp.	8,1	0,6	Sp.	20
B24	Pils	14	20	42	13	Sp.	7,1	1,0	5,6	Sp.	9,9	1,0	Sp.	14
B25	Hell	30	11	51	5,7	Sp.	6,9	1,0	4,1	Sp.	9,0	0,8	2,5	30
B26	Pils	30	16	52	10	Sp.	5,7	Sp.	5,7	Sp.	7,5	1,0	Sp.	30
B27	Hell	22	20	50	13	Sp.	4,9	Sp.	6,8	Sp.	6,9	Sp.	3,6	22
B28	Pils	17	15	36	9,0	Sp.	4,8	Sp.	5,5	Sp.	6,7	Sp.	Sp.	17
B29	Pils	19	14	39	7,5	Sp.	4,7	0,9	6,0	Sp.	8,0	0,7	Sp.	19
B30	Hell	47	29	88	13	12	6,1	5,5	10	Sp.	16	0,8	5,4	35
B31	Pils	36	15	60	6,7	8,6	5,2	1,4	6,8	Sp.	12	0,7	3,7	27
B32	Pils	35	21	67	10	10	6,3	0,9	10	Sp.	7,9	0,9	4,3	25
B33	Hell	26	20	54	9,2	6,2	4,8	0,6	10	Sp.	6,3	0,5	2,5	20
B34	Pils	24	20	50	12	Sp.	5,4	1,3	6,3	Sp.	8,2	0,8	Sp.	24
B35	Pils	47	17	78	9,2	12	6,9	1,4	6,8	1,1	10	0,7	5,0	35
B36	Pils	20	10	36	3,6	Sp.	5,1	1,3	5,4	Sp.	9,5	0,8	Sp.	20
B37	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B38	Pils	36	15	63	7,2	12	5,4	0,6	7,4	Sp.	6,9	0,5	6,1	24
B39	Pils	22	12	42	5,1	Sp.	4,9	1,6	5,6	Sp.	10	0,4	2,7	22
B40	Pils	40	15	66	7,3	4,3	5,6	Sp.	7,2	1,2	19	0,7	3,4	36
B41	Hell	37	13	59	8,9	4,4	6,1	1,9	2,3	Sp.	11	0,6	2,2	33
B42	Pils	33	23	65	11	Sp.	7,7	0,8	11	Sp.	8,9	1,0	Sp.	33
B43	Pils	27	20	58	8,2	Sp.	4,9	1,1	11	Sp.	8,6	1,0	4,5	27

Tabelle A\_ 34: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den forciert gealterten Bieren.

Nummer	Sorte	Alterungsindikatoren in µg/l												
		∑ Wärme-indikatoren	∑ Sauerstoff-indikatoren	∑ Alterungs-komponenten	3-Methyl-butanol	2-Furfural	Methyl-furfural	Benz-aldehyd	2-Phenyl-ethanal	Bernstein-säure-diethylester	Nicotinsäure-ethylester	Phenyl-essigsäure-ethylester	2-Acetyl-furan	γ-Nona-lacton
B01	Hell	137	20	164	10	110	6,9	n.a.	9,9	n.a.	13	n.a.	n.a.	27
B02	Hell	68	17	92	10	44	5,3	n.a.	7,3	n.a.	11	1,1	n.a.	24
B03	Hell	111	16	144	7,7	76	6,3	n.a.	8,5	n.a.	12	1,0	9,0	35
B04	Hell	143	25	184	13	103	6,7	n.a.	12	n.a.	14	n.a.	9,1	40
B05	Pils	125	23	166	13	88	7,2	Sp.	10	Sp.	12	1,2	9,3	37
B06	Hell	116	7	126	3,7	16	2,0	0,3	3,1	Sp.	2,8	0,2	1,0	100
B07	Pils	111	9	136	n.a.	55	8,6	Sp.	9,1	3,3	13	0,9	3,4	56
B08	Hell	99	6	107	2,5	15	1,3	Sp.	3,0	Sp.	2,6	Sp.	1,3	84
B09	Pils	94	8	115	n.a.	46	6,5	Sp.	8,4	Sp.	14	1,0	5,1	48
B10	Hell	100	5	108	1,7	12	1,6	0,3	3,0	Sp.	3,2	0,2	1,2	88
B11	Pils	100	18	131	8,5	64	7,4	1,3	7,9	Sp.	14	1,0	4,8	36
B12	Hell	135	18	167	7,1	96	6,5	2,0	9,2	Sp.	15	0,8	6,4	39
B13	Hell	67	13	92	n.a.	40	5,1	Sp.	13	Sp.	10	0,8	5,9	27
B14	Hell	75	13	99	6,3	41	6,6	Sp.	6,4	Sp.	8,8	1,1	3,6	34
B15	Hell	89	18	121	10	51	5,3	Sp.	7,7	Sp.	17	0,8	7,8	38
B16	Pils	45	12	68	6,0	22	5,4	Sp.	5,5	Sp.	7,5	0,9	4,8	23
B17	Pils	64	16	98	7,3	35	9,6	Sp.	8,5	2,6	12	1,4	4,3	29
B18	Pils	95	8	114	n.a.	56	4,6	Sp.	8,4	Sp.	13	1,0	5,1	39
B19	Pils	57	18	84	8,0	30	5,0	Sp.	10	Sp.	11	0,8	3,3	27
B20	Pils	124	20	158	10	82	6,5	1,1	9,1	0,7	14	0,8	5,5	42
B21	Hell	84	17	112	6,1	51	6,6	0,9	10	Sp.	15	0,8	3,6	33
B22	Pils	74	24	113	11	46	9,2	1,2	12	Sp.	9,2	1,0	4,5	28
B23	Hell	71	24	101	12	46	4,7	1,3	11	Sp.	10	0,9	Sp.	25
B24	Pils	50	16	76	10	30	7,0	1,3	4,5	Sp.	20	1,5	2,1	20
B25	Hell	71	19	99	10	32	7,3	Sp.	8,9	Sp.	13	1,3	Sp.	39
B26	Pils	65	15	90	6,6	31	7,1	0,9	7,2	Sp.	15	0,9	2,4	34
B27	Hell	57	16	84	10	35	5,3	2,0	4,0	n.a.	12	0,6	5,5	22
B28	Pils	73	9	93	n.a.	49	5,2	Sp.	8,8	Sp.	14	1,0	4,5	24
B29	Pils	78	9	96	n.a.	47	5,0	Sp.	8,6	Sp.	13	0,8	3,8	31
B30	Hell	72	41	125	33	34	5,9	Sp.	8,2	Sp.	19	0,9	5,4	38
B31	Pils	62	14	89	6,8	29	4,9	1,1	6,0	1,9	13	0,8	5,0	33
B32	Pils	123	28	163	n.a.	93	6,2	1,6	26	Sp.	11	0,8	5,0	30
B33	Hell	100	27	138	12	68	5,7	0,9	14	Sp.	17	0,7	4,8	32
B34	Pils	99	27	141	14	66	6,4	1,9	11	2,2	18	0,8	5,3	33
B35	Pils	165	34	208	19	127	0,8	1,1	14	Sp.	13	0,9	7,5	38
B36	Pils	91	10	117	n.a.	61	6,6	1,2	8,3	Sp.	17	1,0	8,7	30
B37	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B38	Pils	44	15	71	8,5	20	4,5	0,6	5,6	0,7	7,4	0,5	6,1	24
B39	Pils	58	15	83	6,5	34	5,3	1,5	6,6	Sp.	15	0,5	4,1	24
B40	Pils	48	11	69	5,2	13	5,5	1,3	4,2	Sp.	11	0,9	3,9	35
B41	Hell	63	31	105	17	23	6,5	1,1	13	Sp.	12	0,8	3,5	40
B42	Pils	54	13	79	n.a.	17	7,9	0,9	12	Sp.	8,1	1,0	3,6	37
B43	Pils	42	19	73	9,1	16	4,9	1,0	9,1	Sp.	8,6	0,8	6,3	26



Tabelle A\_ 35: Marktanalyse: Gärungsnebenprodukte der natürlich gealterten Biere.

Nummer	Sorte	Gärungsnebenprodukte in mg/l											
		Acetaldehyd	Σ GNP	Propanol-1	Ethylacetat	2-Methylpropanol	3-Methylbutanol	2-Methylbutanol	2-Methylpropylacetat	Buttersäure ethylester	3-Methylbutylacetat	2-Methylbutylacetat	Hexansäure ethylester
B01	Hell	5,4	90	8,6	14	9,1	45	11	Sp.	0,1	1,4	0,1	0,2
B02	Hell	7,8	103	10	25	11	40	14	0,1	0,1	2,2	0,2	0,2
B03	Hell	2,9	122	11	25	14	54	15	0,1	0,1	2,4	0,2	0,2
B04	Hell	4,3	119	10	27	12	52	15	0,1	0,1	2,6	0,2	0,3
B05	Pils	7,6	118	10	28	14	48	15	0,1	0,1	2,4	0,2	0,2
B06	Hell	8,6	89	12	14	7,7	43	11	Sp.	0,1	1,1	0,1	0,2
B07	Pils	7,0	93	14	17	7,9	43	10	Sp.	Sp.	1,1	Sp.	0,2
B08	Hell	5,8	122	9,5	30	13	50	15	0,1	0,1	3,4	0,3	0,3
B09	Pils	9,8	107	11	17	12	50	14	Sp.	Sp.	2,3	0,2	0,2
B10	Hell	2,0	104	9,9	23	0,7	53	14	Sp.	Sp.	2,6	0,2	0,2
B11	Pils	2,3	103	8,7	22	9,1	48	13	0,1	0,1	2,1	0,2	0,3
B12	Hell	4,4	77	8,8	12	5,8	39	10	Sp.	0,1	1,2	0,1	0,3
B13	Hell	8,4	86	7,8	25	6,1	36	8,9	Sp.	0,1	2,0	0,1	0,2
B14	Hell	3,5	106	11	27	9,6	42	14	0,1	0,2	2,3	0,2	0,3
B15	Hell	2,9	92	9,0	16	11	42	12	Sp.	Sp.	1,6	Sp.	0,3
B16	Pils	5,5	83	7,7	13	8,3	40	12	Sp.	Sp.	1,3	Sp.	0,2
B17	Pils	2,3	87	14	14	7,4	39	11	Sp.	0,1	1,0	0,1	0,2
B18	Pils	3,6	82	9,5	15	5,7	41	10	Sp.	0,1	1,3	0,1	0,2
B19	Pils	2,1	86	8,8	14	9,8	41	12	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	0,0
B20	Pils	5,8	79	8,4	10	9,8	39	11	Sp.	Sp.	0,9	Sp.	0,2
B21	Hell	2,2	87	9,2	14	10	41	12	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	Sp.
B22	Pils	6,2	80	8,8	10	10	39	11	Sp.	Sp.	0,9	Sp.	0,2
B23	Hell	9,3	110	11	28	13	40	15	Sp.	Sp.	2,7	0,3	0,3
B24	Pils	8,2	111	10	31	12	41	14	Sp.	Sp.	2,4	0,2	0,3
B25	Hell	2,8	93	11	15	8,1	45	12	0,04	0,1	1,8	0,1	0,2
B26	Pils	4,7	106	11	31	7,6	43	11	0,04	0,1	1,8	0,1	0,2
B27	Hell	6,0	98	11	11	13	49	14	Sp.	Sp.	1,4	Sp.	0,2
B28	Pils	8,5	120	11	24	11	51	19	Sp.	Sp.	2,7	0,3	0,3
B29	Pils	6,0	98	11	11	13	49	14	Sp.	Sp.	1,4	Sp.	0,2
B30	Hell	8,5	120	11	24	11	51	19	Sp.	Sp.	2,7	0,3	0,3
B31	Pils	2,9	136	12	34	14	52	19	Sp.	Sp.	4,1	0,5	0,2
B32	Pils	7,8	80	9,0	15	7,6	38	10	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	0,2
B33	Hell	7,4	83	11	13	7,4	38	12	Sp.	Sp.	1,0	Sp.	0,3
B34	Pils	7,3	92	9,4	18	8,0	42	13	Sp.	Sp.	1,4	Sp.	0,4
B35	Pils	7,3	127	14	8,5	20	65	18	Sp.	Sp.	1,2	Sp.	0,2
B36	Pils	1,8	79	11	11	8,9	36	12	Sp.	Sp.	0,6	Sp.	0,2
B37	Pils	7,5	110	9,3	27	11	45	15	Sp.	Sp.	2,9	0,3	0,3
B38	Pils	6,7	93	20	13	14	37	7,9	Sp.	Sp.	1,6	0,2	0,2
B39	Pils	1,7	75	14	8,8	6,0	35	11	Sp.	Sp.	0,6	Sp.	0,2
B40	Pils	5,7	105	8,6	20	9,8	50	14	Sp.	Sp.	2,1	0,2	0,2
B41	Hell	5,7	95	9,3	21	6,5	45	11	Sp.	Sp.	2,1	0,2	0,2
B42	Pils	5,7	101	9,5	25	8,0	45	12	Sp.	Sp.	2,2	0,2	0,2
B43	Pils	5,0	95	11	21	8,0	42	11	Sp.	Sp.	1,8	Sp.	0,2

Tabelle A\_ 36: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der natürlich gealterten Biere.

Nummer	Sorte	Bieraromastoffe in µg/l											
		1-Hexanol	1-Heptanol	1-Octanol	1-Decanol	2-Phenyl-ethanol	Essigsäure-isobutylester	Essigsäure-hexylester	Essigsäure-heptylester	Essigsäure-octylester	Essigsäure-furfurylester	Essigsäure-2-phenyl-ethylester	Buttersäure-ethylester
B01	Hell	8,7	3,2	39	5,6	16328	65	4,2	1,5	2,1	0,6	284	152
B02	Hell	20	3,7	14	4,8	20567	60	8,0	1,8	2,2	1,4	567	114
B03	Hell	20	4,7	16	5,7	25496	59	5,5	2,3	3,1	1,6	494	101
B04	Hell	19	4,3	22	6,2	18480	65	6,8	1,8	1,9	1,2	406	125
B05	Pils	20	7,1	15	4,6	22888	74	6,2	2,5	2,1	1,0	545	118
B06	Hell	28	6,9	17	7,4	12345	n.a.	6,4	1,6	1,6	2,3	204	89
B07	Pils	n.a.	18	n.a.	n.a.	24468	25	9,2	Sp.	7,6	n.a.	n.a.	72
B08	Hell	10	5,1	29	8,9	27289	158	6,9	2,9	2,2	3,3	720	205
B09	Pils	12	4,5	19	9,4	19450	39	2,0	0,9	1,2	1,9	247	85
B10	Hell	8,6	7,9	48	9,7	16117	127	5,2	5,4	2,1	2,2	350	261
B11	Pils	14	13	27	12	12371	68	4,4	5,8	1,6	2,0	260	172
B12	Hell	12	6,4	36	9,9	15012	43	4,4	2,5	2,3	1,6	231	115
B13	Hell	17	7,5	n.a.	12	15213	54	6,0	1,4	1,4	2,6	420	151
B14	Hell	15	5,0	25	11	22428	76	5,6	1,9	4,1	2,3	616	153
B15	Hell	11	3,0	25	7,8	16689	114	4,5	1,4	9,8	1,2	335	220
B16	Pils	7,7	3,2	21	5,8	14786	50	3,6	2,0	0,9	1,4	243	158
B17	Pils	20	7,8	19	8,1	14323	37	6,6	2,2	2,8	4,6	553	145
B18	Pils	13	3,2	38	14	39582	68	4,1	1,3	3,9	2,7	512	78
B19	Pils	14	6,6	41	24	29670	35	2,2	1,5	1,0	2,0	290	159
B20	Pils	12	4,5	49	9,0	14157	52	5,4	2,4	2,5	2,7	206	138
B21	Hell	12	4,5	26	9,1	16931	45	2,2	1,1	1,2	1,8	259	108
B22	Pils	37	10	22	13	16593	20	5,9	2,3	2,2	3,5	311	63
B23	Hell	8,2	12	40	8,7	31892	159	4,1	2,4	0,7	Sp.	780	212
B24	Pils	18	11	12	8,5	26897	75	4,1	1,6	1,5	1,5	665	108
B25	Hell	13	12	38	9,5	21859	77	5,9	3,7	1,6	1,3	441	189
B26	Pils	12	12	48	12	19543	64	4,4	3,4	1,3	1,4	457	156
B27	Hell	12	3,7	25	n.a.	22345	39	3,8	1,2	4,9	6,2	539	n.a.
B28	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B29	Pils	15	3,9	19	9,9	31535	48	2,8	1,1	1,9	2,8	511	64
B30	Hell	20	4,0	21	10	28197	86	6,1	2,0	2,7	4,2	788	128
B31	Pils	16	3,4	23	10	32212	157	8,4	2,0	3,1	3,5	1131	136
B32	Pils	12	5,5	21	8,6	14252	37	2,8	1,2	1,5	1,5	254	89
B33	Hell	15	4,4	40	17	20688	34	2,7	1,3	2,7	1,9	293	90
B34	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B35	Pils	15	4,3	20	8,0	43835	58	2,0	0,8	1,1	2,2	414	64
B36	Pils	14	4,7	23	16	19549	22	1,5	0,7	0,8	2,1	168	75
B37	Pils	20	4,4	13	7,4	20971	83	9,3	1,8	1,6	2,1	720	127
B38	Pils	15	3,6	39	19	33320	54	3,1	0,9	4,1	3,8	559	77
B39	Pils	10	4,2	35	14	17885	26	1,7	0,9	0,8	Sp.	156	106
B40	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B41	Hell	32	7,8	16	11	19491	50	14,2	1,9	2,2	3,0	614	121
B42	Pils	30	8,7	22	7,7	19770	63	13	2,3	1,5	3,3	468	134
B43	Pils	8,8	4,0	60	13	23713	70	4,6	2,2	2,8	2,7	453	133

Tabelle: Marktanalyse: Weitere Aromastoffe der natürlich gealterten Biere – Teil II.

Nummer	Sorte	Bieraromastoffe in µg/l												
		Hexansäure-ethylester	Octansäure-ethylester	Decansäure-ethylester	Isovalerian-säure	Hexansäure	Octansäure	Nonansäure	Decansäure	Dodecan-säure	α-Terpineol	Linalool	Nerol	γ-Nona-lacton
B01	Hell	135	170	24	n.a.	777	4115	11	440	23	2,9	4,4	0,7	38
B02	Hell	174	182	37	n.a.	1835	4628	11	598	30	5,0	12	1,5	41
B03	Hell	184	148	19	n.a.	1902	4660	9,9	797	39	3,3	8,7	1,7	49
B04	Hell	174	106	19	n.a.	1868	5352	12	984	54	3,4	7,5	1,1	56
B05	Pils	186	113	18	n.a.	2004	5440	16	1071	114	12	20	1,8	53
B06	Hell	121	134	14	861	1234	1689	13	302	18	3,9	23	3,6	45
B07	Pils	124	237	n.a.	405	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	74	n.a.	n.a.
B08	Hell	130	225	25	158	1010	4062	24	331	135	7,3	10	1,6	50
B09	Pils	91	119	7,3	387	970	2448	32	94	184	7,6	7,3	4,7	38
B10	Hell	160	207	32	346	951	4593	14	520	166	5,5	4,9	2,7	44
B11	Pils	169	207	42	247	1616	518	22	752	113	11	17	3,1	51
B12	Hell	163	119	19	116	920	3796	20	446	107	6,1	5,5	1,9	54
B13	Hell	86	46	22	256	1103	3474	23	299	112	7,9	14	1,8	27
B14	Hell	136	262	20	147	1457	4561	9,0	269	98	6,9	7,0	4,4	46
B15	Hell	167	189	51	45	1155	5071	14	1311	182	5,0	6,0	2,4	41
B16	Pils	125	124	24	23	834	4299	15	1027	173	5,9	6,9	3,4	39
B17	Pils	153	202	18	267	1765	2657	4,9	292	13	10,2	34	9,7	35
B18	Pils	92	149	25	81	866	2553	7,1	390	114	6,1	5,2	1,9	44
B19	Pils	167	162	78	61	1257	5985	18	1873	149	6,2	5,3	2,5	38
B20	Pils	153	109	19	n.a.	667	3321	11	547	162	6,1	11	2,3	52
B21	Hell	83	146	17	102	926	2663	7,2	304	120	6,2	5,3	4,3	38
B22	Pils	122	126	20	186	1721	5872	59	460	356	17	55	7,3	109
B23	Hell	144	298	35	690	1030	5369	24	640	119	5,4	8,6	1,0	30
B24	Pils	138	231	43	342	1899	2890	19	765	64	7,1	21	3,0	26
B25	Hell	101	212	21	210	343	3319	13	272	142	5,1	10	3,0	43
B26	Pils	107	249	42	272	953	4560	17	664	148	4,8	6,4	2,6	42
B27	Hell	167	123	45	102	1389	2549	23	589	61	3,5	2,5	2,4	27
B28	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B29	Pils	111	101	26	38	1161	4037	23	600	117	6,8	6,5	n.a.	38
B30	Hell	174	160	58	23	1323	4278	16	998	121	6,5	3,3	2,6	44
B31	Pils	138	148	43	50	1217	4567	17	691	127	5,5	7,8	3,1	44
B32	Pils	108	137	22	190	1167	3754	22	375	116	8,9	19	4,2	33
B33	Hell	163	102	21	31	1031	3659	21	54	109	5,7	4,3	1,7	36
B34	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B35	Pils	105	54	10	43	795	2220	16	301	105	6,5	4,4	3,3	48
B36	Pils	117	144	61	136	1383	5261	20	1596	106	4,6	14	2,9	30
B37	Pils	178	156	42	161	1689	5142	15	651	109	6,2	21	3,2	31
B38	Pils	110	78	13	46	816	2758	12	367	115	8,6	10	3,8	41
B39	Pils	118	193	38	86	731	4271	11	958	117	5,6	5,3	1,3	35
B40	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B41	Hell	120	219	35	405	1405	4473	12	458	126	13,8	18	4,2	52
B42	Pils	116	240	38	537	1353	4519	17	493	112	6,3	22	5,0	51
B43	Pils	97	154	17	113	573	3032	14	302	114	5,3	4,3	2,0	39

Tabelle A\_ 37: Marktanalyse: Alterungsindikatoren in den natürlich gealterten Bieren.

Nummer	Sorte	Alterungsindikatoren in µg/l											2-Acetyl- furan	γ-Nona- lacton
		Σ Wärme- indikatoren	Σ Sauerstoff- indikatoren	Σ Alterungs- komponenten	3-Methyl- butanal	2-Furfural	Methyl- furfural	Benz- aldehyd	2-Phenyl- ethanal	Bernstein- säure- diethylester	Nicotinsäure- ethylester	Phenyl- essigsäure- ethylester		
B01	Hell	155	27	196	10	114	6,2	Sp.	17	1,9	34	0,8	5,0	41
B02	Hell	96	21	128	10	54	4,7	0,7	10	2,4	35	1,1	3,1	42
B03	Hell	136	21	174	8,4	87	5,5	Sp.	13	2,7	36	0,9	7,8	49
B04	Hell	152	30	202	12	94	6,5	Sp.	18	2,5	41	1,1	10	58
B05	Pils	147	28	195	14	98	7,3	Sp.	14	3,1	38	1,0	8,6	49
B06	Hell	72	14	100	1,0	27	6,8	0,7	12	2,5	24	0,9	4,2	45
B07	Pils	111	23	146	14	36	8,0	0,8	8,5	2,6	27	0,9	Sp.	75
B08	Hell	94	21	126	8,2	42	5,2	0,8	12	1,2	23	0,7	4,2	52
B09	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B10	Hell	87	18	117	5,8	34	5,9	0,8	11	1,8	25	0,8	3,8	53
B11	Pils	98	18	123	7,6	39	6,5	Sp.	10	Sp.	21	0,9	Sp.	59
B12	Hell	118	18	151	6,9	52	6,2	1,5	10	1,3	14	0,9	6,0	66
B13	Hell	54	20	84	10	21	5,5	1,3	8,3	Sp.	20	1,0	4,1	33
B14	Hell	80	17	112	8,8	34	5,9	1,9	6,3	1,4	38	0,8	6,5	46
B15	Hell	86	19	121	7,4	38	5,8	0,6	11	1,1	32	1,2	7,5	48
B16	Pils	70	18	101	7,4	35	5,8	1,1	9,1	2,7	29	1,0	3,8	35
B17	Pils	78	15	113	4,8	24	10	Sp.	10	4,9	27	1,9	3,1	54
B18	Pils	94	16	124	8,7	47	5,0	0,6	6,7	2,5	27	1,2	5,1	47
B19	Pils	75	12	97	4,6	36	6,4	Sp.	7,5	Sp.	24	0,9	2,4	39
B20	Pils	131	20	168	6,5	60	8,4	0,8	13	1,9	23	1,1	5,1	71
B21	Hell	79	13	99	6,0	42	6,8	Sp.	6,5	Sp.	17	0,8	Sp.	37
B22	Pils	75	13	101	5,3	41	8,6	0,8	6,8	1,7	19	0,7	1,8	34
B23	Hell	66	22	96	10	31	4,6	1,0	11	1,8	26	1,2	Sp.	35
B24	Pils	64	16	94	7,6	28	7,0	0,7	8,0	3,1	40	1,8	2,0	36
B25	Hell	77	17	107	6,4	22	8,2	0,6	10	1,4	27	1,2	1,9	55
B26	Pils	64	17	92	7,1	16	5,9	0,7	9,2	1,8	32	1,4	2,1	48
B27	Hell	47	16	74	6,6	Sp.	6,9	1,1	8,4	Sp.	33	1,1	2,9	47
B28	Pils	53	19	83	7,6	29	5,5	1,1	10	1,9	28	0,6	3,1	24
B29	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B30	Hell	86	22	121	9,8	29	6,0	1,2	11	Sp.	30	1,5	5,0	57
B31	Pils	95	20	128	8,7	42	5,7	1,3	10	2,1	27	1,0	4,1	53
B32	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B33	Hell	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B34	Pils	85	28	126	14	40	5,8	1,5	12	2,3	30	0,8	4,8	45
B35	Pils	115	27	157	11	61	7,2	1,5	14	1,5	37	0,9	5,4	54
B36	Pils	132	22	168	11	77	6,3	1,2	10	Sp.	29	0,8	6,9	55
B37	Pils	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~	~
B38	Pils	136	22	173	11	95	6,5	0,6	10	Sp.	32	1	8,2	41
B39	Pils	65	13	87	5,5	28	5,6	Sp.	7,8	Sp.	25	0,6	2,9	37
B40	Pils	80	16	108	8,1	28	5,8	Sp.	8,0	2,2	27	0,8	3,5	52
B41	Hell	104	23	135	11	46	6,9	1,8	10	Sp.	24	0,9	Sp.	58
B42	Pils	122	25	162	12	55	8,7	0,9	12	2,2	26	1,4	2,9	67
B43	Pils	91	23	129	10	45	5,6	Sp.	13	Sp.	30	1,0	8,3	46

**Tabelle A\_ 38: Marktanalyse: Veränderung der Indikatoren bei der Alterung.**

Nummer	Sorte	Δ WI forciert	Δ WI natürlich	Δ SI forciert	Δ SI natürlich	Δ AI forciert	Δ AI natürlich
B01	Hell	105	123	6,7	13,8	107	139
B02	Hell	39	67	6,2	9,6	44	80
B03	Hell	69	94	4,0	9,2	76	106
B04	Hell	96	105	11,6	16,6	107	126
B05	Pils	83	105	8,8	13,8	95	124
B06	Hell	74	30	n.n.	2,2	61	35
B07	Pils	59	59	n.n.	5,5	53	62
B08	Hell	56	51	n.n.	7,1	40	59
B09	Pils	56	~	n.n.	~	49	~
B10	Hell	66	53	n.n.	9,4	52	61
B11	Pils	53	51	4,4	4,3	58	50
B12	Hell	98	81	6,2	6,3	104	88
B13	Hell	44	31	n.n.	0,1	39	31
B14	Hell	43	48	5,7	10,0	47	59
B15	Hell	58	55	5,0	6,3	62	62
B16	Pils	29	54	n.n.	5,6	29	62
B17	Pils	42	56	5,4	4,4	50	65
B18	Pils	57	56	n.n.	0,2	51	61
B19	Pils	24	42	10,1	4,2	34	47
B20	Pils	77	84	2,8	2,9	81	91
B21	Hell	58	53	4,5	0,0	63	51
B22	Pils	44	45	10,5	n.n.	53	41
B23	Hell	51	46	2,3	n.n.	54	49
B24	Pils	36	50	n.n.	n.n.	35	53
B25	Hell	41	47	8,1	6,2	48	56
B26	Pils	35	34	n.n.	1,3	38	40
B27	Hell	35	25	n.n.	n.n.	34	24
B28	Pils	56	36	n.n.	4,2	56	47
B29	Pils	59	~	n.n.	~	57	~
B30	Hell	25	39	12,7	n.n.	38	33
B31	Pils	26	59	n.n.	5,1	28	68
B32	Pils	88	~	6,7	~	95	~
B33	Hell	74	~	7,1	~	84	~
B34	Pils	75	61	7,3	7,9	91	76
B35	Pils	118	68	16,7	9,1	130	78
B36	Pils	71	112	n.n.	11,9	81	132
B37	Pils	~	~	~	~	~	~
B38	Pils	8	100	n.n.	6,4	7	110
B39	Pils	36	43	2,3	1,0	40	45
B40	Pils	8	40	n.n.	1,6	3	43
B41	Hell	26	67	18,0	9,7	46	75
B42	Pils	21	89	n.n.	2,1	15	98
B43	Pils	15	64	n.n.	2,7	16	71

**Tabelle A\_39: Marktanalyse: Sensorische Bewertung der frischen und der gealterten Biere.**

Nummer	Sorte	Frische Biere	Biere nach forcierter Alterung				Biere nach drei Monaten natürlicher Alterung			
		DLG-Note	DLG-Note	Δ-DLG	Alterungs- note	Akzeptanz [%]	DLG-Note	Δ-DLG	Alterungs- note	Akzeptanz [%]
B01	Hell	4,2	3,9	0,4	1,7	74	3,9	0,3	1,8	70
B02	Hell	4,3	4,0	0,3	1,3	86	3,9	0,4	1,4	80
B03	Hell	4,2	3,9	0,3	1,4	87	3,7	0,5	1,7	65
B04	Hell	4,1	3,8	0,4	1,9	62	3,4	0,7	2,2	50
B05	Pils	4,3	3,9	0,4	1,6	80	4,1	0,2	1,6	82
B06	Hell	4,3	3,8	0,5	1,8	65	3,9	0,4	1,7	70
B07	Pils	4,3	4,0	0,3	1,4	90	3,8	0,4	1,7	70
B08	Hell	4,3	3,9	0,4	1,5	80	3,8	0,5	1,8	70
B09	Pils	4,2	4,0	0,2	1,6	80	4,0	0,2	1,4	80
B10	Hell	4,3	4,0	0,3	1,5	78	3,8	0,5	1,8	65
B11	Pils	4,3	3,9	0,4	1,7	72	3,8	0,4	2,0	55
B12	Hell	4,4	3,7	0,7	1,9	68	3,7	0,7	1,9	64
B13	Hell	3,6	3,7	0,0	1,7	72	4,2	n.n.	1,2	85
B14	Hell	4,4	4,0	0,3	1,4	80	3,9	0,4	1,4	82
B15	Hell	4,4	3,8	0,6	1,7	70	4,0	0,4	1,3	83
B16	Pils	4,3	3,8	0,5	1,5	82	3,8	0,5	1,5	80
B17	Pils	4,8	4,5	0,3	1,1	98	3,2	1,6	2,3	48
B18	Pils	4,4	3,9	0,5	1,7	78	3,9	0,5	1,3	83
B19	Pils	4,3	3,7	0,6	2,0	65	3,5	0,9	2,1	62
B20	Pils	4,4	3,8	0,6	2,0	63	3,9	0,5	1,6	80
B21	Hell	4,2	3,6	0,6	2,1	60	3,9	0,3	1,6	82
B22	Pils	4,2	3,5	0,7	2,2	48	3,5	0,7	2,2	52
B23	Hell	4,2	3,7	0,4	2,0	58	3,7	0,4	1,5	82
B24	Pils	4,4	4,1	0,3	1,6	78	3,9	0,6	1,8	72
B25	Hell	4,4	3,9	0,5	1,8	68	3,7	0,7	1,9	70
B26	Pils	4,2	3,7	0,5	2,1	60	3,9	0,3	1,3	90
B27	Hell	4,1	3,7	0,4	1,6	80	3,9	0,1	1,5	90
B28	Pils	4,0	3,6	0,4	1,6	70	3,7	0,3	1,9	65
B29	Pils	4,1	3,8	0,3	1,7	62	4,0	0,1	1,5	85
B30	Hell	4,4	4,0	0,5	1,5	76	3,8	0,7	2,0	72
B31	Pils	4,1	3,6	0,4	1,7	68	4,0	0,1	1,6	75
B32	Pils	4,0	3,3	0,7	2,9	38	4,4	n.n.	1,4	90
B33	Hell	4,1	3,3	0,7	2,3	58	3,7	0,3	2,2	54
B34	Pils	4,1	3,6	0,5	1,9	73	3,8	0,3	1,7	74
B35	Pils	4,1	3,6	0,5	2,3	63	3,5	0,6	1,8	68
B36	Pils	4,3	3,5	0,8	2,2	48	3,9	0,4	1,6	80
B37	Pils	4,5	3,9	0,6	1,7	75	3,6	0,9	2,1	58
B38	Pils	4,2	3,9	0,3	1,3	88	3,7	0,5	2,1	70
B39	Pils	4,3	4,0	0,3	1,4	85	3,6	0,7	1,8	68
B40	Pils	4,1	3,7	0,4	1,4	83	4,0	0,1	1,4	93
B41	Hell	3,9	3,6	0,3	1,8	63	3,8	0,1	1,8	78
B42	Pils	3,9	3,0	0,9	1,8	63	3,8	0,1	2,0	72
B43	Pils	4,0	3,7	0,3	1,7	78	3,9	0,1	1,6	83

Tabelle A\_40: Marktanalyse: Korrelationskoeffizienten der Analysenmerkmale der untersuchten Würzen.

N = 17	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	TBZ	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	DPPH (2-10min)	DPPH (1min)	Lagtime [min]	F(LT/120)	p (°P)
Anthos [mg/l]	1,00	0,74	-0,51	0,32	0,44	0,48	0,18	-0,01	-0,10	0,00	0,35	-0,02	-0,37
Polyph. ges. [mg/l]	0,74	1,00	-0,36	0,12	0,73	0,52	-0,13	-0,31	0,04	-0,37	0,42	-0,17	-0,55
TBZ	-0,51	-0,36	1,00	-0,30	-0,33	-0,33	-0,42	0,03	0,49	-0,14	-0,01	0,45	0,34
Flavanoide [mg/l]	0,32	0,12	-0,30	1,00	0,09	-0,04	0,40	-0,11	-0,56	0,09	0,56	-0,32	-0,30
ph	0,44	0,73	-0,33	0,09	1,00	0,21	0,14	-0,60	-0,34	-0,56	0,26	-0,11	-0,53
Tannoide [mg PVP/l]	0,48	0,52	-0,33	-0,04	0,21	1,00	-0,10	-0,02	-0,06	0,02	0,00	-0,05	-0,06
Redv. DPI [%]	0,18	-0,13	-0,42	0,40	0,14	-0,10	1,00	0,02	-0,58	0,21	-0,09	-0,05	-0,41
Redv. DPPH [%]	-0,01	-0,31	0,03	-0,11	-0,60	-0,02	0,02	1,00	0,39	0,94	-0,38	0,06	0,02
DPPH (2-10min)	-0,10	0,04	0,49	-0,56	-0,34	-0,06	-0,58	0,39	1,00	0,05	-0,16	0,19	0,16
DPPH (1min)	0,00	-0,37	-0,14	0,09	-0,56	0,02	0,21	0,94	0,05	1,00	-0,34	-0,03	-0,02
Lagtime [min]	0,35	0,42	-0,01	0,56	0,26	0,00	-0,09	-0,38	-0,16	-0,34	1,00	-0,55	-0,38
F(0/120)	-0,02	-0,17	0,45	-0,32	-0,11	-0,05	-0,05	0,06	0,19	-0,03	-0,55	1,00	0,47
p (°P)	-0,37	-0,55	0,34	-0,30	-0,53	-0,06	-0,41	0,02	0,16	-0,02	-0,38	0,47	1,00
Tannoide: Wert von B05 als Ausreißer gestrichen													
gelb						Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,05$ ( $r \geq 0,48$ )							
rot						Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ( $r \geq 0,61$ )							

Tabelle A\_41: Marktanalyse: SO<sub>2</sub>-Gehalt, chemische Stabilität (Reaktionskinetik) und Reduktionsvermögen der Biere in Abhängigkeit von der Würzequalität.

N = 17	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	TBZ	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	DPPH (2-10min)	DPPH (1min)	Lagtime [min]	F(LT/120)	p (°P)
SO <sub>2</sub> [mg/l]	-0,31	-0,42	0,29	-0,21	-0,41	-0,25	-0,34	0,11	0,05	0,12	-0,06	0,15	0,51
Redv. DPI [%]	-0,22	-0,52	0,05	-0,20	-0,63	-0,03	0,22	0,57	0,25	0,53	-0,65	0,34	0,19
Redv. DPPH [%]	0,64	0,65	-0,40	0,32	0,24	0,21	0,22	0,22	0,06	0,21	0,31	-0,26	-0,69
DPPH (2-10min)	0,18	0,23	-0,16	-0,01	-0,13	-0,01	-0,17	0,30	0,16	0,28	0,03	-0,02	-0,29
DPPH (1min)	0,49	0,67	-0,27	0,36	0,24	0,18	0,11	0,08	0,07	0,04	0,40	-0,33	-0,60
Lagtime [min]	-0,53	-0,49	0,44	-0,20	-0,33	-0,22	-0,34	0,09	-0,01	0,13	-0,06	0,10	0,38
F(LT/60)	0,53	0,27	-0,25	0,14	0,26	-0,05	0,50	0,16	-0,01	0,13	-0,14	0,24	-0,39
gelb		Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,05$ ( $r \geq 0,48$ )					rot		Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ( $r \geq 0,61$ )				

Tabelle A\_42: Marktanalyse: Chemischen Stabilität (Aromastoffe) der Biere in Abhängigkeit von der Würzequalität.

N = 15	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	TBZ	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	DPPH (2-10min)	DPPH (1min)	Lagtime [min]	F(LT/120)	p (°P)	
WI frisch	-0,52	-0,39	0,41	-0,43	-0,23	0,10	-0,08	-0,17	0,12	-0,19	-0,54	0,47	0,35	
SI frisch	-0,17	-0,29	-0,02	0,65	-0,16	-0,10	0,57	0,09	-0,41	0,23	0,10	-0,10	-0,05	
AI frisch	-0,61	-0,54	0,50	-0,31	-0,37	0,00	-0,03	-0,10	0,15	-0,13	-0,51	0,49	0,42	
Δ WI - forciert gealtert	-0,61	-0,40	0,24	-0,18	-0,37	-0,09	-0,08	0,04	0,43	-0,08	-0,35	-0,05	0,15	
Δ WI - natürlich gealtert	-0,81	-0,71	0,27	-0,26	-0,57	-0,11	-0,31	0,33	0,34	0,25	-0,55	-0,03	0,42	
Δ SI - forciert gealtert	-0,25	-0,52	0,08	0,11	-0,54	-0,14	-0,01	0,55	0,15	0,52	-0,16	-0,20	0,06	
Δ SI - natürlich gealtert	-0,73	-0,66	0,53	-0,62	-0,61	-0,03	-0,48	0,45	0,57	0,29	-0,59	0,25	0,40	
Δ AI - forciert gealtert	-0,62	-0,54	0,24	-0,07	-0,49	-0,12	-0,07	0,17	0,36	0,07	-0,33	-0,11	0,20	
Δ AI - natürlich gealtert	-0,84	-0,75	0,33	-0,32	-0,60	-0,09	-0,34	0,36	0,36	0,27	-0,57	0,01	0,44	
	gelb	Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,05$ ( $r \geq 0,51$ )					rot	Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ( $r \geq 0,64$ )						

Tabelle A\_43: Marktanalyse: Beeinflussung der sensorischen Stabilität der Biere durch die Würzequalität.

N = 17	Anthos [mg/l]	Polyph. ges. [mg/l]	TBZ	Flavanoide [mg/l]	ph	Tannoide [mg PVP/l]	Redv. DPI [%]	Redv. DPPH [%]	DPPH (2-10min)	DPPH (1min)	Lagtime [min]	F(LT/120)	p (°P)	
DLG	0,20	0,36	0,09	-0,14	0,25	-0,22	-0,36	-0,26	0,23	-0,35	0,35	-0,08	-0,19	
DLG - forciert gealtert	0,08	0,27	0,13	-0,40	-0,02	0,18	-0,58	0,21	0,34	0,12	-0,11	0,16	0,05	
Alterungsnote - forc. gealtert	-0,01	-0,24	-0,22	0,46	-0,01	-0,13	0,67	-0,17	-0,39	-0,05	0,15	-0,23	-0,21	
Akzeptanz [%] - forc. gealtert	-0,12	0,15	0,22	-0,50	0,02	0,13	-0,74	0,04	0,33	-0,06	-0,18	0,21	0,33	
DLG - natürlich gealtert	-0,19	-0,04	-0,10	-0,09	0,25	0,03	0,22	-0,07	-0,26	0,01	0,03	-0,27	-0,21	
Alterungsnote - nat. gealtert	-0,10	-0,19	0,11	-0,04	-0,29	0,02	-0,14	-0,08	0,25	-0,15	-0,12	0,14	0,23	
Akzeptanz [%] - nat. gealtert	0,10	0,08	-0,13	0,17	0,27	0,08	0,27	0,09	-0,34	0,20	0,23	-0,29	-0,26	
Δ DLG - forciert gealtert	0,09	0,00	-0,08	0,36	0,25	-0,42	0,39	-0,50	-0,21	-0,47	0,46	-0,28	-0,24	
Δ DLG - natürlich gealtert	0,23	0,20	0,11	0,00	-0,07	-0,12	-0,33	-0,07	0,29	-0,16	0,13	0,16	0,07	
	gelb	Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,05$ ( $r \geq 0,48$ )					rot	Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha \leq 0,01$ ( $r \geq 0,61$ )						



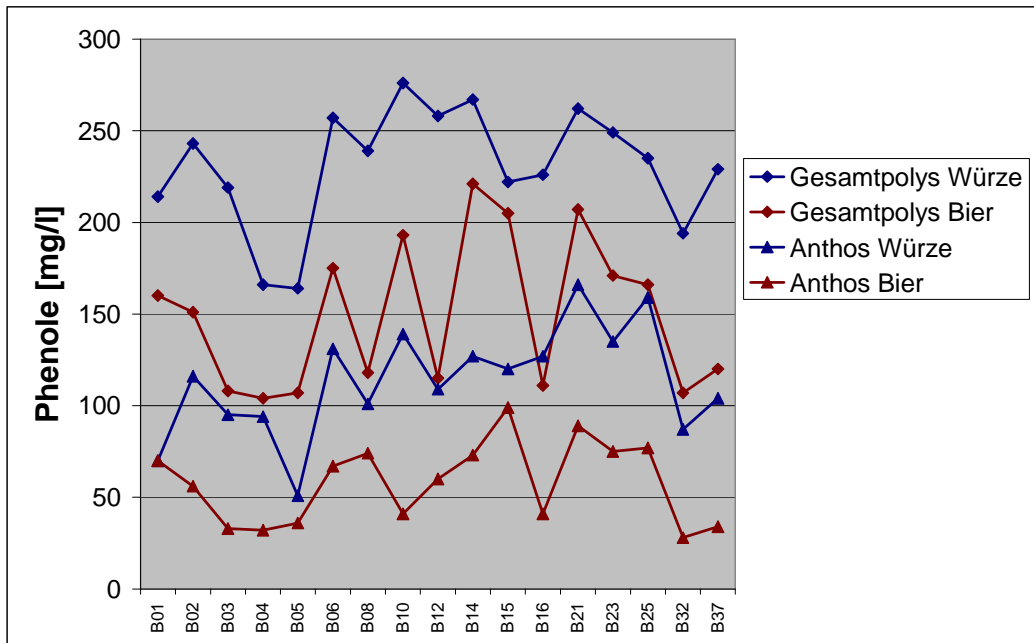


Abbildung A\_19: Marktanalyse: Gesamtpolyphenole und Anthocyanogene in Würze und Bier.

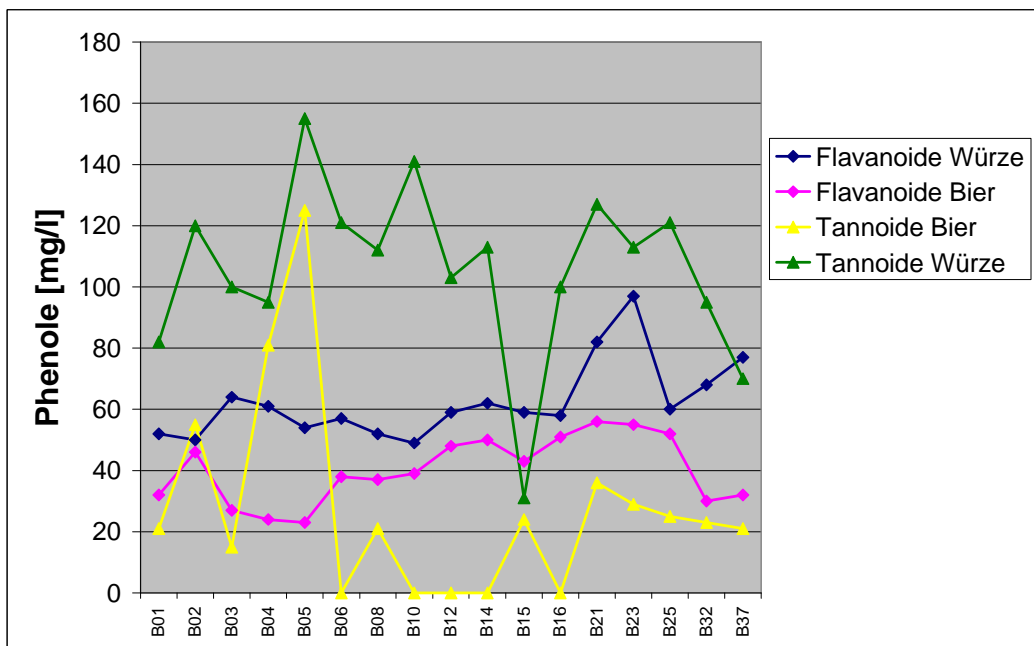


Abbildung A\_20: Marktanalyse: Flavanoide und Tanninoide in Würze und Bier.

# Anhang

## Tabelle A\_44: Marktanalyse: Korrelationskoeffizienten der Analysenmerkmale der Biere.

	N=43 / 38	frische Biere																											
		Polyp. ges. [mg/l]	Flavanoide [mg/l]	pH	Tannine [mg PVP/l]	SO <sub>2</sub> [mg/l]	Redv. DPI	Redv. DPPH [%]	DPPH (2-10min)	DPPH (1min)	Lagtime [min]	F(LT60)	Cu [mg/l]	Fe [mg/l]	Ethanol [vol%]	EVG s. [smas]	p [°F]	Acetaldehyd [mg/l]	HA & Ester [mg/l]	lineare Alk. [µg/l]	2-Phenyl-ethanol [µg/l]	FS-Ester [µg/l]	org. Säuren [µg/l]	Hopfenaroma [µg/l]	WI [µg/l]	SI [µg/l]	AI [µg/l]	DLG-Note	
Polyp. ges. [mg/l]	1.00	0.42	-0.02	-0.14	-0.29	-0.15	0.43	0.33	0.41	-0.33	0.29	-0.14	0.23	0.24	0.13	0.21	-0.30	-0.14	0.04	-0.19	-0.16	0.02	0.06	-0.30	-0.27	-0.31	0.16		
Flavanoide [mg/l]	0.42	1.00	0.03	-0.34	-0.13	-0.18	0.16	-0.02	0.17	-0.26	0.26	0.05	-0.09	0.08	-0.01	0.12	-0.35	-0.24	0.23	-0.15	0.01	-0.14	-0.16	0.44	-0.16	0.47	0.44		
pH	-0.02	0.03	1.00	0.07	0.05	0.07	0.10	0.28	0.17	0.01	-0.20	-0.32	0.02	0.05	-0.01	0.08	0.10	-0.26	-0.03	0.01	-0.08	-0.08	0.01	-0.20	-0.11	-0.21	0.14		
Tannine [mg PVP/l]	-0.14	-0.34	0.07	1.00	0.02	0.23	-0.03	0.00	-0.13	0.15	-0.13	-0.12	0.08	0.06	0.13	-0.02	0.07	0.10	-0.42	0.25	-0.06	0.24	-0.17	0.11	-0.04	0.11	-0.05		
SO <sub>2</sub> [mg/l]	-0.29	-0.13	0.05	0.02	1.00	0.18	-0.35	-0.12	-0.28	0.91	0.41	-0.21	-0.17	0.36	0.34	0.21	0.26	0.34	-0.37	-0.09	0.38	0.28	-0.03	-0.18	0.11	-0.09	0.11		
Redv. DPI	-0.15	-0.18	0.07	0.23	0.18	1.00	0.03	0.25	-0.08	0.04	0.17	0.21	-0.17	0.03	0.00	0.05	0.06	0.31	0.08	0.18	0.08	0.10	-0.27	0.03	0.13	0.06	-0.08		
Redv. DPPH [%]	0.43	0.16	0.10	-0.03	-0.35	0.03	1.00	0.53	0.92	0.39	0.35	0.11	0.07	0.28	0.12	0.27	0.00	-0.12	0.31	0.01	-0.01	0.13	0.39	-0.06	-0.06	-0.06	0.17		
DPPH (2-10min)	0.33	-0.02	0.28	0.00	-0.12	0.25	0.53	1.00	0.40	-0.18	0.03	0.08	0.02	0.12	0.21	0.00	-0.15	-0.04	0.16	-0.14	-0.02	0.26	0.09	-0.19	-0.16	-0.21	-0.07		
DPPH (1min)	0.41	0.17	0.17	-0.13	-0.28	-0.08	0.92	0.40	1.00	-0.31	0.18	0.07	-0.06	0.28	0.12	0.27	0.08	-0.11	0.32	0.06	0.02	0.09	0.40	-0.11	-0.02	-0.09	0.14		
Lagtime [min]	-0.33	-0.26	0.01	0.15	0.91	0.04	0.39	-0.18	-0.31	1.00	0.51	-0.23	-0.10	0.33	0.36	0.14	0.31	0.36	-0.38	0.02	0.43	0.33	-0.09	-0.13	0.15	-0.05	0.05		
F(LT60)	0.29	0.26	-0.20	-0.13	-0.41	0.17	0.35	0.03	0.18	0.51	1.00	0.26	0.41	0.07	-0.14	0.20	-0.24	0.09	0.11	-0.03	0.06	-0.11	0.05	-0.04	-0.05	-0.06	0.06		
Cu [mg/l]	-0.14	0.05	-0.32	-0.12	-0.21	0.21	0.11	0.08	0.07	-0.23	0.26	1.00	-0.23	-0.18	-0.09	-0.16	-0.03	0.05	0.28	0.09	0.11	0.06	0.09	-0.06	0.17	-0.08	-0.17		
Fe [mg/l]	0.23	-0.09	0.02	0.08	-0.17	-0.17	0.07	0.02	-0.06	-0.10	0.41	-0.23	1.00	0.09	0.10	0.19	-0.02	0.01	-0.29	-0.19	0.05	-0.02	0.13	0.00	-0.11	-0.04	-0.04		
Ethanol [vol%]	0.24	0.08	0.05	0.06	0.36	0.03	0.28	0.12	0.28	0.33	0.07	-0.18	0.09	1.00	0.66	0.82	-0.02	0.45	-0.31	-0.30	0.33	0.41	0.14	0.11	-0.14	-0.04	0.53		
EVG s. [smas]	0.13	-0.01	-0.01	0.13	0.34	0.00	0.12	0.21	0.12	0.38	-0.14	-0.09	-0.10	0.66	1.00	0.12	-0.13	0.41	-0.27	-0.05	0.44	0.55	0.13	0.00	-0.26	-0.08	0.34		
p [°F]	0.21	0.12	0.08	-0.02	0.21	0.05	0.27	0.00	0.27	0.14	0.20	-0.16	0.19	0.82	0.12	1.00	0.07	0.27	-0.21	-0.36	0.10	0.16	0.35	0.05	0.01	0.18	0.41		
Acetaldehyd [mg/l]	-0.30	-0.26	0.10	0.07	0.26	0.06	0.00	-0.15	0.08	0.31	-0.24	-0.03	-0.02	-0.02	-0.13	0.07	1.00	0.02	0.24	0.15	-0.22	0.21	0.12	0.62	0.29	-0.22			
HA & Ester [mg/l]	-0.14	-0.24	-0.28	0.10	0.34	0.31	-0.12	-0.04	-0.11	0.36	0.09	0.05	-0.01	0.45	0.43	0.27	0.12	1.00	-0.39	0.00	0.22	0.68	0.28	-0.03	0.29	0.13	0.31		
lineare Alk. [µg/l]	0.04	0.23	-0.03	0.42	-0.37	0.08	0.31	0.16	0.32	-0.39	0.11	-0.28	-0.29	-0.31	-0.27	-0.21	0.02	-0.39	1.00	0.10	-0.14	-0.34	0.03	-0.13	0.14	-0.11	-0.02		
2-Phenylethanol [µg/l]	-0.19	-0.15	0.01	0.25	-0.09	0.18	0.01	-0.14	0.06	0.02	-0.03	0.09	-0.19	-0.30	-0.05	-0.36	0.24	0.22	0.10	1.00	-0.19	-0.19	0.03	0.22	0.08	-0.08	-0.09		
FS-Ester [µg/l]	-0.16	0.01	-0.08	-0.06	0.38	0.08	-0.01	-0.02	0.02	0.48	0.02	0.06	0.11	0.05	0.33	0.41	0.10	0.15	0.48	-0.14	0.23	1.00	0.32	-0.03	-0.08	0.12	-0.06		
org. Säuren [µg/l]	0.02	-0.14	-0.08	0.24	0.28	0.10	0.13	0.26	0.08	0.33	0.11	0.06	-0.02	0.44	0.55	0.16	-0.22	0.28	-0.34	-0.19	0.32	1.00	0.05	-0.07	-0.36	0.16			
Hopfenaroma [µg/l]	0.06	-0.16	0.01	-0.17	-0.03	0.27	0.38	0.09	0.40	-0.09	0.05	0.09	-0.13	0.34	0.13	0.36	0.21	-0.03	0.63	-0.19	-0.03	0.06	1.00	0.13	-0.02	0.16	0.30		
WI [µg/l]	-0.30	-0.41	-0.20	0.11	-0.19	0.03	-0.06	-0.19	-0.11	-0.13	-0.04	-0.06	0.00	0.41	0.00	0.15	0.12	0.29	-0.13	0.03	-0.08	-0.07	0.13	1.00	0.04	0.44	0.07		
SI [µg/l]	-0.27	-0.16	-0.11	0.04	0.11	0.13	-0.06	-0.16	-0.02	0.15	-0.05	0.17	-0.11	-0.14	-0.26	0.01	0.62	0.13	0.14	0.22	0.12	-0.35	-0.02	0.04	1.00	0.33	-0.36		
AI [µg/l]	-0.31	-0.47	-0.21	0.11	-0.09	0.06	-0.06	-0.21	-0.09	-0.05	-0.06	-0.08	-0.04	0.09	-0.08	0.18	0.29	0.31	-0.11	0.08	-0.06	-0.16	0.16	0.41	0.33	1.00	0.00		
DLG-Note	0.16	0.44	0.14	-0.05	0.11	-0.08	0.17	-0.07	0.14	0.05	0.06	-0.17	-0.24	0.53	0.34	0.41	-0.22	0.10	-0.02	-0.09	0.13	0.27	0.30	0.07	-0.36	0.00	1.00		
WI [µg/l]	-0.26	-0.39	0.20	0.12	-0.11	0.25	-0.08	-0.05	-0.07	-0.14	-0.16	-0.24	0.03	-0.03	-0.16	0.07	0.10	0.08	-0.05	-0.18	0.34	-0.04	-0.06	0.56	-0.06	0.51	0.05		
SI [µg/l]	-0.13	-0.05	0.02	0.20	-0.07	0.27	0.01	-0.02	-0.06	-0.02	-0.03	0.04	0.01	-0.08	-0.10	-0.04	0.20	0.05	0.03	0.16	0.01	-0.17	-0.27	0.20	0.45	0.35	-0.09		
AI [µg/l]	-0.29	-0.37	0.18	0.18	-0.10	0.28	-0.08	-0.05	-0.08	-0.13	-0.18	-0.21	0.01	-0.05	-0.16	0.06	0.12	0.08	-0.04	-0.12	-0.32	-0.07	-0.09	0.56	-0.06	0.56	0.04		
Δ WI [µg/l]	-0.20	-0.29	0.31	0.10	-0.06	0.28	-0.07	0.01	-0.04	-0.12	-0.17	-0.25	0.04	-0.08	-0.18	0.03	0.07	-0.02	-0.01	-0.22	-0.37	-0.02	-0.11	0.27	-0.09	0.24	0.04		
Δ SI [µg/l]	-0.10	-0.17	0.04	0.22	-0.06	0.16	-0.01	0.02	-0.08	0.00	-0.07	-0.03	0.14	-0.03	0.01	-0.05	0.04	0.04	-0.09	0.03	-0.03	0.00	-0.20	0.31	0.00	0.32	-0.06		
Δ AI [µg/l]	-0.21	-0.23	0.30	0.17	-0.08	0.31	-0.06	0.04	-0.06	-0.13	-0.18	-0.21	0.03	-0.10	-0.16	-0.01	0.01	-0.05	0.00	-0.18	-0.35	-0.01	-0.17	0.24	-0.07	0.22	0.04		
DLG-Note	0.24	0.18	-0.07	-0.05	0.32	0.01	0.10	-0.12	0.13	0.25	0.05	-0.20	-0.06	0.58	0.37	0.48	-0.04	0.30	-0.24	-0.01	0.26	0.40	0.33	0.04	-0.34	-0.02	0.71		
Δ DLG	-0.17	0.24	0.25	0.02	-0.33	-0.10	0.06	0.09	-0.03	-0.30	0.00	0.09	-0.18	-0.23	-0.14	-0.19	-0.20	-0.31	0.32	-0.08	-0.22	-0.26	-0.13	0.02	0.09	0.03	0.11		
Alterungsnote (n. Eichhorn)	-0.13	0.02	0.24	0.04	-0.37	0.07	0.05	0.12	-0.01	-0.36	0.14	-0.04	0.17	-0.39	-0.35	-0.25	0.07	-0.31	0.20	-0.06	0.40	0.49	-0.26	0.00	0.25	0.05	-0.38		
Akzeptanz [%]	0.05	-0.07	-0.24	-0.08	0.44	0.05	-0.08	-0.13	-0.02	0.40	-0.25	-0.01	-0.29	0.36	0.26	0.27	0.03	0.33	-0.14	0.11	0.32	0.39	0.29	0.07	-0.16	0.05	0.38		
Acetaldehyd [mg/l]	-0.24	-0.35	0.16	0.11	0.23	0.12	-0.08	-0.04	0.02	0.27	-0.23	0.00	-0.01	-0.10	-0.10	-0.05	0.89	0.06	-0.03	0.20	0.09	-0.19	0.08	0.01	0.62	0.18	-0.32		
HA & Ester [mg/l]	-0.18	-0.30	-0.30	0.22	0.21	0.26	-0.22	-0.01	-0.19	0.28	0.03	0.14	0.01	0.26	0.41	0.05	0.12	0.88	0.42	0.23	0.59	0.27	-0.12	0.29	0.16	0.29	-0.08		
lineare Alk. [µg/l]	0.16	0.42	-0.06	-0.02	0.48	0.01	0.29	0.14	0.20	-0.36	0.34	0.10	-0.06	-0.25	-0.15	-0.23	-0.30	-0.24	0.44	0.22	-0.08	-0.23	-0.39	-0.05	-0.08	-0.11	0.04		
2-Phenylethanol [µg/l]	-0.27	0.03	-0.21	0.03	-0.02	0.07	-0.23	-0.32	-0.14	0.08	-0.03	0.26	-0.19	-0.18	0.00	-0.26	0.25	0.47	0.00	0.70	0.38	-0.14	-0.19	0.11	0.24	0.11	-0.04		
FS-Ester [µg/l]	-0.0																												

Tabelle: Marktanalyse: Korrelationskoeffizienten der Analysenmerkmale der Biere – Teil 2.

	N=13 / 38	forciert gealterte Biere										natürlich gealterte Biere																	
		Σ WI [µg/l]	Σ SI [µg/l]	Σ AI [µg/l]	Δ WI [µg/l]	Δ SI [µg/l]	Δ AI [µg/l]	DLG>Note	Δ DLG	Alterungsnote (n. Eichhorn)	Akzeptanz [%]	Acetaldehyd [mg/l]	Σ HA & Ester [mg/l]	Σ lineare Alk. [µg/l]	2-Phenyl-ethanol [µg/l]	Σ FS-Ester [µg/l]	Σ org. Säuren [µg/l]	Σ Hopfen-aroma [µg/l]	Σ WI [µg/l]	Σ SI [µg/l]	Σ AI [µg/l]	Δ WI [µg/l]	Δ SI [µg/l]	Δ AI [µg/l]	DLG>Note	Δ DLG	Alterungsnote (n. Eichhorn)	Akzeptanz [%]	
frisch gealterte Biere	Polyp. ges. [mg/l]	-0,26	-0,13	-0,29	-0,20	-0,10	-0,21	0,24	-0,17	-0,13	0,05	-0,24	-0,18	0,16	-0,27	-0,04	-0,10	0,11	-0,53	-0,58	-0,56	-0,49	-0,33	-0,50	-0,03	0,10	-0,08	0,01	
	Flavonoide [mg/l]	-0,38	-0,05	-0,37	-0,29	-0,13	-0,23	0,18	0,24	0,02	-0,07	-0,35	-0,30	0,42	0,03	0,14	0,09	-0,12	-0,54	-0,65	-0,57	-0,44	-0,50	-0,44	-0,21	0,33	-0,01	0,05	
	ph	0,20	0,02	0,18	0,31	0,06	0,30	-0,07	0,25	0,24	-0,24	0,16	-0,30	-0,06	-0,21	-0,15	0,15	0,13	0,12	-0,06	0,10	0,23	0,12	0,23	-0,04	0,16	0,11	-0,10	
	Tanninoide [mg PVP/l]	0,12	0,20	0,18	0,10	0,24	0,17	-0,05	0,02	0,04	-0,08	0,11	0,22	-0,02	0,03	0,06	0,39	0,09	0,49	0,45	0,51	0,55	0,46	0,56	0,02	-0,07	0,07	0,04	
	SO <sub>2</sub> [mg/l]	-0,11	-0,07	-0,10	-0,06	-0,08	-0,08	0,32	-0,33	-0,37	0,41	0,23	0,21	0,48	-0,02	0,19	0,07	-0,17	-0,14	0,16	-0,07	-0,07	0,11	-0,02	0,00	0,11	-0,14	0,09	
	Redv. DPPH [%]	0,25	0,27	0,28	0,28	0,18	0,31	0,01	-0,10	0,07	0,05	0,12	0,26	0,01	0,07	0,03	-0,04	0,35	0,20	0,48	0,26	0,21	0,38	0,27	-0,18	0,02	0,16	-0,10	
	Redv. DPPH [°]	-0,08	0,01	-0,08	-0,07	0,00	-0,06	0,10	0,06	0,05	-0,08	-0,08	-0,22	0,29	-0,23	-0,01	-0,23	0,40	-0,07	-0,13	-0,09	-0,05	-0,11	-0,07	-0,17	0,20	0,26	-0,26	
	DPPH (2-10min)	-0,05	-0,02	-0,05	0,01	0,02	0,04	-0,12	0,09	0,12	-0,13	-0,04	-0,01	0,14	-0,32	0,04	0,19	0,22	-0,12	0,01	-0,10	-0,05	0,17	-0,01	-0,10	0,02	0,18	-0,22	
	DPPH (1min)	-0,07	-0,06	-0,08	-0,04	-0,07	-0,06	0,13	-0,03	0,01	-0,02	0,02	-0,19	0,20	-0,14	-0,04	-0,29	0,37	-0,11	-0,16	-0,13	-0,08	-0,18	-0,11	-0,16	0,17	0,21	-0,24	
	Lagtime [min]	-0,14	-0,02	-0,13	-0,12	-0,02	-0,13	0,25	0,25	-0,36	0,40	0,27	0,28	-0,36	0,08	0,28	0,19	-0,20	-0,05	0,24	0,01	0,01	0,15	0,05	0,08	0,02	-0,14	0,13	
	FIL T600	-0,16	-0,03	-0,18	-0,17	-0,07	-0,18	0,05	0,00	0,14	-0,25	-0,23	0,03	0,34	-0,03	0,21	-0,01	-0,06	-0,21	-0,25	-0,22	-0,23	-0,24	-0,24	-0,03	-0,07	-0,03	0,06	
	Ca [mg/l]	-0,24	0,04	-0,21	-0,25	-0,01	-0,21	-0,20	0,09	-0,04	-0,01	0,00	0,14	0,10	0,26	0,15	-0,04	-0,05	-0,11	0,10	-0,10	-0,10	-0,15	-0,18	-0,14	-0,04	-0,19	0,02	0,11
	Fe [mg/l]	0,03	0,01	0,01	0,04	0,09	0,03	-0,06	-0,18	0,17	-0,29	-0,01	0,01	-0,06	-0,19	0,11	0,09	-0,04	0,01	-0,02	-0,02	0,02	0,10	0,00	0,06	-0,04	-0,34	-0,37	0,32
	Ethanol [vol%	-0,03	-0,08	-0,05	-0,08	0,00	-0,10	0,48	-0,23	-0,36	-0,36	-0,10	0,36	-0,25	-0,18	0,35	-0,02	0,15	-0,11	-0,19	-0,12	-0,14	0,02	-0,15	-0,10	0,33	0,12	-0,15	
	EVG s. [mas]	-0,16	-0,10	-0,16	-0,18	0,06	-0,16	0,37	-0,14	-0,36	-0,36	-0,10	0,41	-0,15	0,00	0,47	0,16	0,15	-0,10	-0,05	-0,09	-0,11	0,21	-0,07	-0,21	0,23	0,21	-0,27	
	p [pH]	0,07	-0,04	0,06	0,03	-0,04	-0,01	0,48	-0,19	-0,25	0,27	0,05	0,05	-0,23	-0,26	0,13	-0,14	0,10	-0,06	-0,22	-0,08	-0,11	-0,14	-0,15	0,03	0,26	0,01	0,02	
	Acetaldehyd [mg/l]	0,10	0,20	0,12	0,07	0,01	0,01	-0,04	-0,20	0,07	0,03	0,49	0,12	0,30	0,25	-0,02	-0,24	0,22	-0,06	0,30	-0,01	-0,12	-0,21	-0,14	0,14	0,23	-0,22	-0,16	0,17
	Σ HA & Ester [mg/l]	0,08	0,05	0,08	-0,02	0,06	-0,05	0,30	-0,31	-0,31	0,33	0,05	0,48	-0,24	0,47	0,66	0,05	-0,19	0,10	0,31	0,15	0,00	0,19	0,02	-0,10	0,06	0,05	-0,07	
	Σ lineare Alk. [µg/l]	-0,05	0,03	-0,04	-0,01	-0,09	0,00	-0,24	0,32	0,20	-0,14	-0,03	0,42	0,44	0,00	-0,25	-0,34	-0,07	-0,18	-0,23	-0,19	-0,18	-0,34	-0,19	-0,02	-0,16	0,07	0,27	-0,20
	2-Phenylethanol [µg/l]	-0,18	0,16	-0,12	-0,22	0,04	-0,18	-0,01	-0,08	-0,06	0,11	0,20	0,23	0,22	0,70	0,10	-0,09	-0,10	0,23	0,22	0,24	0,24	-0,01	0,22	-0,17	0,01	0,16	0,00	
Σ FS-Ester [µg/l]	-0,34	0,01	-0,32	-0,37	-0,02	-0,35	0,26	-0,22	0,40	0,32	0,09	0,59	-0,08	0,38	0,63	0,21	-0,19	-0,09	0,15	-0,06	-0,07	0,04	-0,04	-0,12	0,13	0,13	-0,10		
Σ org. Säuren [µg/l]	-0,04	-0,17	-0,07	-0,02	0,00	-0,01	0,40	-0,26	0,49	0,39	-0,19	0,27	-0,23	-0,14	0,30	0,38	-0,06	0,19	0,24	0,20	0,27	0,52	0,31	-0,14	0,19	0,13	-0,24		
Σ Hopfenaroma [µg/l]	-0,06	-0,27	-0,09	-0,11	-0,21	-0,17	0,33	-0,13	-0,26	0,29	0,08	-0,12	-0,39	-0,19	-0,12	0,41	0,70	-0,06	-0,14	-0,07	-0,11	-0,15	-0,13	-0,04	0,24	0,12	-0,15		
Σ WI [µg/l]	0,36	0,20	0,56	0,27	0,32	0,24	0,04	0,02	0,00	0,07	0,01	0,29	-0,05	0,11	-0,06	-0,26	0,15	0,56	0,32	0,54	0,25	0,27	0,21	-0,02	0,03	0,13	-0,17		
Σ SI [µg/l]	-0,06	0,45	0,06	-0,09	-0,02	-0,07	-0,34	0,09	0,25	-0,16	0,62	0,16	-0,08	0,24	0,12	-0,20	0,00	-0,08	0,36	-0,03	-0,11	0,46	0,26	-0,17	0,24	-0,32	0,07	0,23	
Σ AI [µg/l]	0,51	0,35	0,56	0,24	0,32	0,22	-0,02	0,03	0,05	0,05	0,18	0,29	-0,11	0,11	-0,05	-0,29	0,20	0,51	0,40	0,51	0,21	0,13	0,16	0,01	0,00	0,15	-0,15		
DLG>Note	0,05	-0,09	0,04	0,04	0,01	0,04	0,71	0,11	-0,38	0,38	-0,32	-0,08	0,04	-0,04	0,15	0,02	0,09	0,06	-0,32	0,04	0,04	0,04	0,44	0,79	0,33	-0,34	-0,34		
forciert gealterte Biere	Σ WI [µg/l]	1,00	0,23	0,96	0,95	0,37	0,91	-0,07	0,16	0,37	-0,25	0,08	0,08	-0,22	-0,04	-0,34	-0,16	-0,03	0,59	0,46	0,60	0,45	0,54	0,46	0,00	0,05	0,07	-0,24	
	Σ SI [µg/l]	0,23	1,00	0,47	0,20	0,82	0,40	-0,23	0,23	0,43	-0,33	0,23	0,09	0,13	0,13	0,11	0,18	-0,01	0,19	0,40	0,22	0,14	0,10	0,10	-0,20	0,11	0,30	-0,15	
	Σ AI [µg/l]	0,96	0,47	1,00	0,91	0,54	0,93	-0,12	0,22	0,44	-0,30	0,11	0,08	-0,19	-0,03	-0,31	-0,10	0,01	0,62	0,53	0,63	0,48	0,53	0,48	-0,06	0,08	0,15	-0,27	
	Δ WI [µg/l]	0,95	0,20	0,91	1,00	0,30	0,96	-0,10	0,18	0,43	-0,32	0,09	-0,02	-0,24	-0,09	-0,38	-0,09	-0,10	0,48	0,42	0,49	0,44	0,52	0,46	0,01	0,05	0,03	-0,22	
	Δ SI [µg/l]	0,36	0,82	0,53	0,30	1,00	0,49	-0,12	0,12	0,32	-0,26	0,03	0,06	0,07	0,06	0,01	0,25	0,09	0,25	0,29	0,25	0,16	0,37	0,15	-0,36	0,24	0,38	-0,33	
	Δ AI [µg/l]	0,91	0,40	0,93	0,96	0,50	1,00	-0,14	0,24	0,49	-0,38	0,05	-0,03	-0,18	-0,08	-0,35	0,01	-0,08	0,51	0,46	0,52	0,48	0,57	0,50	-0,07	0,10	0,11	-0,25	
	DLG>Note	-0,07	-0,23	-0,12	-0,10	-0,11	-0,14	1,00	-0,62	0,73	0,73	-0,14	0,13	-0,24	0,02	0,21	-0,17	0,05	-0,09	-0,23	-0,09	-0,11	0,09	-0,10	-0,27	0,07	0,08	-0,19	
	Δ DLG	0,16	0,23	0,22	0,18	0,17	0,24	0,62	1,00	0,60	0,61	-0,16	-0,27	0,38	-0,07	-0,13	0,27	0,03	0,19	-0,05	0,16	0,21	-0,07	0,18	-0,11	-0,07	0,26	-0,11	
	Alterungsnote (n. Eichhorn)	0,37	0,43	0,44	0,43	0,31	0,49	0,73	0,60	1,00	0,93	0,13	-0,21	0,25	-0,04	-0,29	0,12	-0,03	0,05	0,10	0,04	0,05	-0,05	0,04	0,18	-0,27	-0,04	0,07	
	Akzeptanz [%]	-0,25	-0,33	-0,30	-0,32	-0,26	-0,38	0,73	0,61	0,93	1,00	-0,07	0,19	-0,32	0,10	0,18	-0,28	0,00	-0,03	-0,03	-0,01	-0,05	0,05	-0,04	-0,19	0,30	0,03	-0,08	
natürlich gealterte Biere	Acetaldehyd [mg/l]	0,08	0,23	0,11	0,09	0,01	0,05	-0,14	-0,16	0,13	-0,07	1,00	0,21	-0,29	0,13	-0,01	-0,13	0,16	-0,11	0,34	-0,05	-0,13	-0,17	-0,13	0,25	-0,30	-0,15	0,18	
	Σ HA & Ester [mg/l]	0,08	0,09	0,08	-0,02	0,07	-0,03	0,13	-0,27	0,21	0,19	0,21	1,00	-0,24	0,48	0,66	0,16	-0,17	0,11	0,40	0,16	0,01	0,23	0,05	-0,04	-0,10	0,04	-0,04	
	Σ lineare Alk. [µg/l]	-0,22	0,13	-0,19	-0,24	0,10	-0,18	-0,24	0,38	0,25	-0,32	-0,29	-0,24	1,00	0,02	0,06	0,20	-0,15	-0,04	-0,25	-0,08	-0,03	-0,30	-0,04	-0,29	0,14	0,32	-0,20	
	2-Phenylethanol [µg/l]	-0,04	0,13	-0,03	-0,09	0,06	-0,08	0,02	-0,07	0,04	0,10	0,13	0,48	0,02	1,00	0,34	-0,05	-0,21	0,07	0,22	0,09	0,01	-0,05	0,02	-0,12	-0,02	-0,04	0,13	
	Σ FS-Ester [µg/l]	-0,34	0,11	-0,31	-0,38	0,02	-0,35	0,21	-0,13	-0,29	0,18	0,01	0,66	0,08	0,34	1,00	0,39	-0,19	-0,16	0,13	-0,12	-0,15	-0,01	-0,13	-0,07	0,08	0,04	0,03	
	Σ org. Säuren [µg/l]	-0,16	0,18	-0,10	-0,09	0,26	0,01	-0,17	0,27	0,12	-0,28	-0,13	0,16	0,30	-0,05	0,39	1,00	-0,12	0,06	0,06	0,07	0,18	0,25	0,21	-0,15	0,10	0,11	-0,06	
	Σ Hopfenaroma [µg/l]	-0,03	-0,01	0,01	-0,10	0,09	-0,08	0,05	0,03	-0,03	0,00	0,16	-0,17	-0,15	-0,21	-0,19	-0,12	1,00	-0,02	-0,11	-0,02	-0,07	-0,13	-0,10	-0,19	0,22	0,29	-0,33	
	Σ WI [µg/l]	0,99	0,19	0,62	0,48	0,27	0,51	-0,09	0,19	0,05	-0,03	-0,11	0,11	-0,04	0,														

Tabelle A\_ 45: Marktanalyse: Klassifizierung der Stabilisierung nach Brauereiangaben.

<b>Probe</b>	<b>B01</b>	<b>B03</b>	<b>B04</b>	<b>B05</b>	<b>B06</b>	<b>B07</b>	<b>B08</b>	<b>B09</b>	<b>B10</b>
<b>Art der Stabilisierung</b>	PVPP+Kieselgel	PVPP	PVPP	PVPP	Eiweißseitig	Eiweißseitig	PVPP + Becosorb	PVPP + Becosorb	Divergan
<b>Klasse (nach Art)</b>	3	1	1	1	2	2	3	3	1
<b>Umfang der Stabilisierung [g/hl]</b>	10 + 50	45	45	40	55	55	40 + 30	40 + 30	6
<b>Probe</b>	<b>B11</b>	<b>B14</b>	<b>B15</b>	<b>B16</b>	<b>B17</b>	<b>B21</b>	<b>B22</b>	<b>B27</b>	<b>B28</b>
<b>Art der Stabilisierung</b>	Divergan	Kieselgel	PVPP	PVPP + Eiweißseitig	Kieselgel	Eiweißseitig	Eiweißseitig	PVPP	PVPP
<b>Klasse (nach Art)</b>	1	2	1	3	2	2	2	1	1
<b>Umfang der Stabilisierung [g/hl]</b>	6	40–50	45–48	45 + 35	40–50	60	60	35	35
<b>Probe</b>	<b>B29</b>	<b>B30</b>	<b>B31</b>	<b>B39</b>	<b>B40</b>	<b>B41</b>	<b>B42</b>		
<b>Art der Stabilisierung</b>	PVPP + Kieselgel	PVPP	PVPP	Xerogel	PVPP + Kieselgel	Eiweißseitig	Eiweißseitig		
<b>Klasse (nach Art)</b>	3	1	1	2	3	2	2		
<b>Umfang der Stabilisierung [g/hl]</b>	22 + 40	35	35	35	25 + 20	k. A.	k. A.		

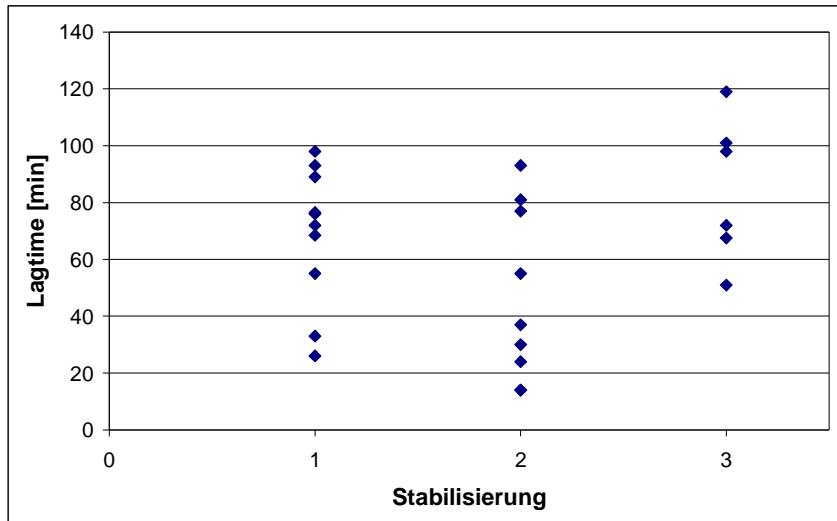


Abbildung A\_21: Marktanalyse: Die Lagtime der Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung.

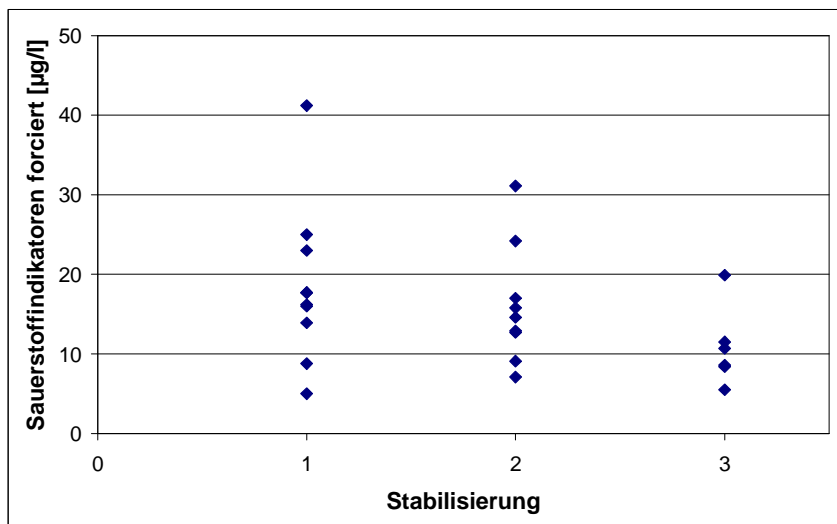
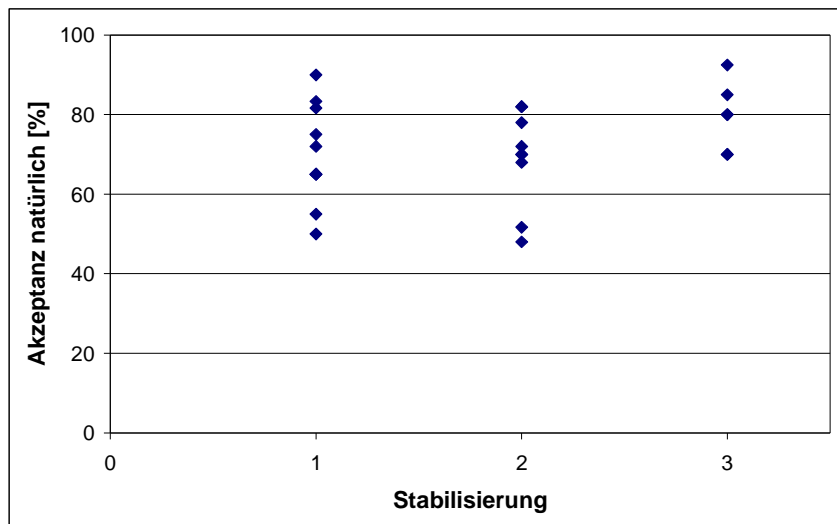


Abbildung A\_22: Marktanalyse: Die Sauerstoffindikatoren nach forciertem Alterung der Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung.



**Abbildung A\_23: Marktanalyse: Die sensorische Akzeptanz (nach Eichhorn) der natürlich gealterten Biere in Abhängigkeit von der Art der Stabilisierung.**

## Bisherige Arbeiten (Auswahl)

Studentische Arbeiten:

Der Einsatz von überkritischen Fluiden in der Lebensmitteltechnologie mit Schwerpunkt auf dem Löseverhalten von überkritischem Kohlendioxid und dem CPF-Verfahren, Semesterarbeit (2002).

Die Bedeutung des Räucherns in der Lebensmitteltechnologie, Seminararbeit (2002).

Wurzbacher, M.: Untersuchungen zur Kontrolle und Steigerung des Schwefeldioxidgehaltes während der Hauptgärung unter Berücksichtigung biotechnologischer Aspekte, TU München – Weihenstephan, Diplomarbeit, 2003.

Wurzbacher, M.; Franz, O.; Back, W.: Control of sulphite formation of lager yeast. *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 59 (2005), S. 10–17.

Wurzbacher, M.; Kinitz, C.; Krottenthaler, M.; Back, W.; Galensa, R.: Systematische Untersuchungen zur endogenen antioxidativen Aktivität von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole und ihrer Veränderung beim Brauprozess. Abschlußbericht zum AiF Forschungsvorhaben Nr. 13873, Freising / Bonn, 2005.

Wurzbacher, M.: Einsatzmöglichkeiten der ESR zur Beurteilung der antioxidativen Eigenschaften von Malz, Würze und Bier. 40. *Technologisches Seminar*, Weihenstephan, 2007.

Wurzbacher, M.; Back, W.: Einsatzmöglichkeiten der ESR-Analytik zur Brauereiprozesskontrolle im Hinblick auf die Geschmacksstabilität. *Brauwelt* 147 (2007), S. 594–599.

Wurzbacher, M.: Bedeutung von Reduktionskraft und antioxidativer Aktivität im Brauprozess. 41. *Technologisches Seminar*, Weihenstephan, 2008.

Mitarbeit bei:

Back, W. (Hrsg.): Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie, 2. Auflage, Fachverlag Hans Carl, 2008.

Marschmann, M.; Wurzbacher, M.: Untersuchung zur Optimierung und Validierung der gaschromatographischen Bestimmung von Linalool unter besonderer Berücksichtigung der Chiralität. Bericht zum internen Projekt des GC-Labors des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie, Weihenstephan, 2009.

Herrmann, M.; Klotzbücher, B.; Wurzbacher, M.; Hanke, S.; Kattein, U.; Back, W.; Becker, T.; Krottenthaler, M.: A new validation of relevant substances for the evaluation of beer aging depending on the employed boiling system. *Journal of the Institute of Brewing* 116 (2010), Nr.1.



Mit freundlicher Genehmigung des Carlsen-Verlags.