

# Theoretische und praktische Aspekte bei der Anwendung der Ladungstitrationsmethode zur schnelleren Vorhersagbarkeit der kolloidalen Stabilität untergäriger Biere

Jean-Baptist Manuel Titze

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

Doktor-Ingenieurs

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. M. Rychlik

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. (i. R.) Dr. Dr. h. c. H. Parlar
2. Prof. Dr. V. Ilberg  
(Hochschule Weihenstephan-Triesdorf)
3. Priv.-Doz. Dr. H. Evers  
(Technische Universität Berlin)
4. Univ.-Prof. Dr. Th. Becker

Die Dissertation wurde am 11.01.2012 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 04.10.2012 angenommen.



## **Vorwort**

Mein erster Dank gilt allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst danke ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. Harun Parlar, für die Möglichkeit an seinem Lehrstuhl zu promovieren, für die Überlassung des Themas und die Übernahme der Korrektur.

Auch danke ich Herrn Prof. Dr. Michael Rychlik und Herrn Priv.-Doz. Dr. Hartmut Evers für ihre Bereitschaft, den Prüfungsvorsitz zu übernehmen bzw. als externer Prüfer und Gutachter zur Verfügung zu stehen.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Thomas Becker für den Einsatz als Prüfer und die Erstellung des vierten Gutachtens.

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. Vladimír Ilberg für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung aussprechen. In ihm fand ich einen Betreuer, der mit großem Engagement, Diskussionsbereitschaft und persönlicher Unterstützung entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

An dieser Stelle möchte ich mich ebenfalls für die erfolgreiche wissenschaftliche Zusammenarbeit und die vielen gemeinsamen Publikationen mit Herrn Dr. Manuel Christian im Rahmen der Forschungsgruppe Partikelanalytik bedanken.

Dem Geschäftsführer des Forschungszentrums Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, Herrn Dr. Fritz Jacob, möchte ich für die guten Rahmenbedingungen bei der Bearbeitung des Themas dank sagen.

Nicht weniger danken möchte ich Herrn Hubert Walter und Herrn Markus Schmidt, stellvertretend für alle Mitarbeiter des Forschungszentrums Weihenstephan, die mich auf großartige Weise unterstützt haben.

Ich danke allen Diplomanden, Praktikanten und studentischen Mitarbeitern für ihre experimentelle Unterstützung.

Weiterhin danke ich Frau Carolin Kühnel für die Zeit und Mühe, die sie in die Korrektur des Manuskripts investiert hat.

Besonderer Dank gebührt meinen Eltern, Erika und Jürgen Titze, die mir mein Studium ermöglichten und mich bei der Erreichung meiner Ziele in jeglicher Hinsicht unterstützten.

Ebenfalls möchte ich mich bei meiner Frau Claudia Titze und meinen Schwiegereltern, Christine und Helmut W. Huber bedanken, die mit viel Verständnis und Geduld zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.



## Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis .....	VI
Formelverzeichnis .....	VIII
Abbildungsverzeichnis .....	XIV
Tabellenverzeichnis .....	XXIV
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Einführung in die Problematik .....	1
1.2 Aktuelle Ausgangssituation und Zielsetzung der Arbeit .....	2
1.3 Schwerpunkte der Arbeit .....	3
<b>2 Kolloidchemie (Grundlagen der Partikelanalytik)</b> .....	<b>5</b>
2.1 Gegenstand und Abgrenzung .....	5
2.2 Bier als kolloidales System .....	6
2.3 Kolloide und Partikel .....	7
2.3.1 Partikelgröße .....	8
2.3.2 Partikeloberfläche .....	9
2.3.3 Partikeloberflächenladung .....	10
2.4 Elektrische Doppelschicht .....	12
2.4.1 Schichtenmodelle dispergierter Partikel .....	12
2.4.2 Aufbau der elektrischen Doppelschicht .....	15
2.4.3 Ionenverteilung in der diffusen Schicht .....	19
2.4.4 Potentialverteilung in der diffusen Schicht .....	20
2.4.5 Dicke der diffusen Schicht .....	22
2.5 Zeta-Potential .....	25
2.5.1 Vorzeichenwechsel des Zeta-Potentials durch Ladungsumkehr .....	29
2.5.2 Erhöhen des Zeta-Potentials durch Peptisatoren .....	32
2.6 Physikalische Stabilität von Dispersionen .....	32
2.6.1 DLVO-Theorie .....	34
2.6.2 Weiterführende Überlegungen zur DLVO-Theorie .....	39
2.7 Elektrokinetische Effekte .....	40
2.8 Proteine als kolloidale Partikel im Bier .....	41
2.8.1 Aufbau und Primärstruktur .....	42
2.8.2 Raumstrukturen .....	43
2.8.3 Faltung und Stabilität .....	43

2.9	Chemisch-physikalische Bierstabilität .....	45
2.9.1	Trübung durch Komplexbildung .....	46
2.9.2	Trübung durch Aggregation .....	48
<b>3</b>	<b>Elektrochemie (Grundlagen elektrochemischer Analysemethoden) .....</b>	<b>49</b>
3.1	Elektrische Leitfähigkeit .....	49
3.1.1	Einflussgrößen auf die elektrische Leitfähigkeit.....	52
3.1.1.1	Stoffmengenkonzentration .....	52
3.1.1.2	Art des Elektrolyten.....	53
3.1.1.2.1	Molare und Äquivalentleitfähigkeit .....	54
3.1.1.2.2	Starke Elektrolyte.....	56
3.1.1.2.3	Schwache Elektrolyte.....	56
3.1.1.3	Temperatur .....	56
3.1.2	Bestimmen der elektrischen Leitfähigkeit.....	59
3.1.2.1	Leitfähigkeitsmesszellen .....	60
3.1.2.2	Temperaturkompensation .....	61
3.1.3	Leitfähigkeitsmessungen in der Lebensmittelindustrie .....	62
3.1.3.1	Temperaturverhalten und Leitfähigkeit flüssiger Lebensmittel .....	62
3.1.3.2	Bedeutung der Leitfähigkeit für Bier .....	63
3.2	pH-Wert.....	65
3.2.1	pH-Definition und Aktivitätsbegriff.....	65
3.2.2	pH-Messung .....	66
3.2.2.1	pH-Messkette (Einstabmesskette) .....	67
3.2.2.2	Bedeutung der pH-Messung für Bier und Würze.....	69
3.3	Begriff des Puffersystems .....	69
<b>4</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>71</b>
4.1	Oberflächenpotential- und Oberflächenladungsmessung .....	71
4.1.1	Probenvorbereitung .....	71
4.1.1.1	Entgasen .....	72
4.1.1.2	Filtrieren .....	72
4.1.1.3	Temperieren.....	72
4.1.1.4	Verdünnen .....	72
4.1.2	Partikeloberflächenpotential- und Partikelladungsmesseinrichtung .....	73
4.1.2.1	Aufbau von Messzelle und -kolben.....	73
4.1.2.2	Messprinzip .....	74

4.1.2.3	Ausbilden des Messsignals.....	76
4.1.2.4	Polyelektrolyttitration.....	79
4.1.2.5	Berechnen der Oberflächenladungsdichte .....	82
4.1.2.6	Justieren des Messsignals .....	83
4.1.2.7	Reinigen von Messzelle und -kolben .....	84
4.1.2.8	pH-Messung während der Polyelektrolyttitration .....	85
4.1.2.9	Strömung und Strömungsprofil im Messspalt.....	85
4.2	Leitfähigkeitsmessung.....	89
4.2.1	Leitfähigkeitsmesseinrichtungen.....	89
4.2.2	Kalibrieren und Reinigen .....	90
4.2.3	Temperaturkompensation.....	90
4.3	pH-Messung .....	90
4.3.1	pH-Messeinrichtungen .....	91
4.3.2	Kalibrier- und Aufbewahrungsmittel .....	91
4.3.3	Kalibrieren.....	91
4.3.4	Temperaturkompensation.....	91
4.4	Partikelgrößenbestimmung .....	91
4.4.1	Partikelgrößenmesseinrichtung .....	92
4.4.2	Ergebnisdarstellung der Partikelgrößenverteilung .....	92
4.5	Forciertest.....	92
4.6	Würzekochen.....	94
4.7	Kurzzeiterhitzen .....	94
4.7.1	Aufbau der Versuchsanordnung .....	95
4.7.2	Aufheiz- und Abkühlverhalten der Edelstahlwendel .....	96
4.8	Bestimmen des noch koagulierbaren Stickstoffs der Würze.....	98
4.9	Probematerial .....	98
4.9.1	Bier .....	98
4.9.2	Reinstwasser.....	98
4.9.3	Standardwürze .....	98
4.9.4	Hopfen.....	100
4.9.5	Molkenproteine .....	101
4.10	Statistische Ergebnisbewertung .....	101
4.10.1	Korrelationsberechnung zwischen PLD und Referenzanalytik.....	101
4.10.2	Interpretation der Einzelergebnisse .....	101
4.10.3	Bestimmen der Präzisionsmaße.....	102
4.11	Versuchsablauf.....	102

<b>5 Ergebnisse und Diskussion</b> .....	103
5.1 Einflüsse auf die Signalauswirkung und die Präzision der Ergebnisse.....	103
5.1.1 Temperatureinfluss auf das titrierte Volumen.....	103
5.1.2 Einsatz von Polyelektrolytlösungen als Titrationsmittel.....	105
5.1.3 Justieren des Messsignals.....	111
5.1.4 Darstellen der Titrationskurven.....	112
5.1.5 Statistische Messfehlerbetrachtung der Titrationskurven .....	115
5.1.6 Mathematische Ermittlung von Potential und titriertem Volumen.....	118
5.1.7 Messbereiche des Potentials und des titrierten Volumens .....	119
5.1.8 Wiederholbarkeit von Potential und titriertem Volumen.....	119
5.1.9 Einfluss der Elektrolytbeschaffenheit .....	121
5.1.9.1 Elektrolytkonzentration und -wertigkeit.....	121
5.1.9.2 Leitfähigkeit des Biers.....	123
5.1.9.3 Partikelgrößenverteilung des Biers.....	127
5.1.10 Einfluss des pH-Werts.....	128
5.2 Charakterisierung unterschiedlich stabilisierter Biere während der Alterung .....	131
5.2.1 Trübungskurven und -ausbildung während des Alterungsprozesses .....	131
5.2.1.1 Trübungsverlauf im Real-Time-Test .....	131
5.2.1.2 Trübungsverlauf während eines Langzeit-Forciertests .....	133
5.2.1.3 Trübungsausbildung bei Kälte- und Wärmebehandlung.....	135
5.2.1.4 Trübungsverlauf eines schwach stabilisierten Biers.....	139
5.2.1.5 Trübungsverlauf eines stark stabilisierten Biers.....	140
5.2.2 Änderung von Potential und titriertem Volumen während der Alterung.....	141
5.2.2.1 Ladungstitation eines schwach stabilisierten Biers.....	141
5.2.2.2 Ladungstitation eines stark stabilisierten Biers.....	144
5.2.3 Änderung der Partikelgrößenverteilung .....	147
5.3 Experimentelle Untersuchung der Einflussgrößen auf die kolloidale Stabilität .....	150
5.3.1 Einfluss des Alkoholgehalts .....	151
5.3.2 Einfluss des pH-Werts.....	154
5.3.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts.....	157
5.4 Untersuchung der Vorhersagbarkeit der kolloidalen Bierstabilität.....	159
5.4.1 Forciertest von Bieren unterschiedlicher Chargen .....	160
5.4.2 Korrelationen zwischen Forciertest und Ladungstitation .....	161
5.4.2.1 Zusammenhang von Trübungszunahme und Potential bzw. Gesamtladung .....	163
5.4.2.2 Beurteilung des Forciertests als Referenzmethode.....	164



---

5.4.2.3	Definition des Stabilitätswerts.....	166
5.5	Grenzen der Ladungstitrationsmethode .....	172
5.6	Weitere Applikationsbeispiele der Ladungstitation.....	173
5.6.1	Ladungstitation zur Charakterisierung hoch-molekularen Stickstoffs .....	173
5.6.1.1	Stickstoffkoagulation während des Würzekochens.....	174
5.6.1.2	Zusammenhang zwischen koagulierbarem Stickstoff und titriertem Volumen .....	174
5.6.1.3	Korrelation zwischen Molkenproteinkonzentration und titriertem Volumen .....	178
5.6.1.4	Änderung der Stickstoffkonzentration in Abhängigkeit der Lagerbedingungen .....	179
5.6.1.5	Änderung der Partikelgrößenverteilung während der Kochung.....	181
5.6.2	Verbesserung der kolloidalen Stabilität durch den Einsatz der KZE.....	183
5.6.2.1	Einfluss der KZE auf filtrierte Biere .....	184
5.6.2.2	Einfluss der KZE auf naturtrübe Biere.....	186
5.6.3	Vorhersage des Gushingpotentials alkoholfreier Getränke .....	189
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>193</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>199</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>215</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

aq	gelöst oder in wässriger Lösung
A <sup>-</sup>	Säureanion (konjugierte Base)
Å	Ångström (= 10 <sup>-10</sup> m)
A-EBC	Analytica-EBC (Methodensammlung der EBC)
ATC	Auto Temperature Compensation
BE	Bittereinheiten
CAS	Charge Analyzing System
CRC	Chemical Rubber Company
DIN	Deutsches Institut für Normung
DLVO	DERJAGUIN LANDAU VERWEY OVERBEEK
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPI	Drittes Physikalisches Institut
EBC	European Brewery Convention
EN	Europäische Norm
HA	Säure
IEP	Isoelektrischer Punkt
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KIT	Kyushu Institute of Technology
KZE	Kurzzeiterhitzung
M	molar
MEBAK	Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission
n	normal
NIST	National Institute of Standards and Technology
nLF	nichtlineare (Kompensations-)Funktion
NTC	Negative Temperature Coefficient (negativer Temperaturkoeffizient)
PE	Pasteurisationseinheit
PES-Na	Polyethylensulfonsaures Natrium (Polyanion)
PLD	Partikelladungsdetektor
Poly-DADMAC	Polydiallyldimethylammoniumchlorid (Polykation)

---

PTB	Physikalisch-Technische Bundesanstalt
PTFE	Polytetrafluorethylen oder auch Polytetrafluorethen (Teflon)
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
PZC	Point of Zero Charge
WT	Warmtag (1 WT = 48 Stunden [MIEDANER 2002])
WTW	Wissenschaftlich-Technische Werkstätten

## Formelverzeichnis

### Lateinische Kleinbuchstaben

Zeichen	Bedeutung
$a$	Seitenlänge einer quadratischen Elektrode
$a$	Abstand zwischen zwei Partikeln
$a$	Anfangstrübungswert/Blindwert
$a_m$	mittlerer Abstand zwischen zwei Partikeln
$a_{\text{H}_3\text{O}^+}$	Aktivität der Oxoniumionen
$a_{\text{OH}^-}$	Aktivität der Hydroxidionen
$b$	Trübungswert nach $n$ Warmtagen
$b_{0^\circ\text{C}}$	Temperaturkoeffizient bei $0^\circ\text{C}$
$b_{20^\circ\text{C}}$	Temperaturkoeffizient bei $20^\circ\text{C}$
$c$	(Stoffmengen-)Konzentration
$c_{\text{A}^-}$	Konzentration der Säureanionen
$c_{\text{HA}}$	Konzentration der Säure
$c_m$	molare Konzentration eines Elektrolyten
$c_{\text{eq}}$	Äquivalenzkonzentration eines Elektrolyten
$c_{\text{H}_3\text{O}^+}$	Konzentration der Oxoniumionen
$d$	Partikeldurchmesser (Größenmaß für kugelförmige Partikel)
$d_e$	hydraulischer oder äquivalenter Durchmesser
$e$	EULERSCHE Zahl/Basis der natürlichen Logarithmen (= 2,71828 ... [BRONSTEIN et al. 1999])
$e_0$	Elementarladung (= $1,602176 \cdot 10^{-19}$ C [ATKINS und PAULA 2006])
$f$	Aktivitätskoeffizient
$f$	thermischer Ausdehnungsfaktor
$f$	Frequenz
$f$	Funktion
$f_c$	charakteristische Funktion
$f_c'$	erste Ableitung der charakteristischen Funktion
$f_c''$	zweite Ableitung der charakteristischen Funktion
$f_{\text{H}_3\text{O}^+}$	Aktivitätskoeffizient der Oxoniumionen

$j$	Stromdichte
$k_B$	BOLTZMANN-Konstante ( $= 1,38065 \cdot 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$ [ATKINS und PAULA 2006])
$l$	Abstand zwischen zwei Elektroden
$m$	Masse
$m$	Steigung der NERNSTSCHEN Geradengleichung zur pH-Wertbestimmung
$n$	Anzahl
$n_i$	Anzahldichte/Konzentration der Ionen
$n_i(\infty)$	Anzahldichte/Ionenkonzentration außerhalb der diffusen Schicht
$n_+$	Anzahldichte/Konzentration der Kationen
$n_-$	Anzahldichte/Konzentration der Anionen
$n_{\text{eq}}$	Äquivalentzahl (Betrag der Ladungszahl $z$ )
$p$	Druck
$p_0$	Druck, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
$p$	Massengehalt
$pH$	pH-Wert
$pH_a$	pH-Wert bezogen auf die Aktivität
$pH_c$	pH-Wert bezogen auf die Konzentration
$pK_S$	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante $K_S$
$pOH$	pOH-Wert
$q$	spezifische Ladung
$q$	Raumladungsdichte
$q_{\text{spez.}}$	spezifische Ladungsmenge
$r$	Wiederholbarkeit
$s$	(empirische) Standardabweichung
$s_r$	Wiederholstandardabweichung
$s_R$	Vergleichsstandardabweichung
$S_0$	Enthropie, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
$t_U$	Umlaufzeit oder Periodendauer
$v$	Strömungsgeschwindigkeit
$w$	Feststoffgehalt der Probe bzw. deren Wirksubstanz
$x$	Abstand zur Partikeloberfläche

$\bar{x}$	arithmetischer Stichprobenmittelwert
$y$	$= z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_0 \cdot (k_B \cdot T)^{-1}$
$y$	Amplitude
$z$	Kompressibilitätsfaktor
$z$	stöchiometrische Wertigkeit
$z_i$	Ionenwertigkeit oder Ladungszahl
$z_+$	Ionenwertigkeit oder Ladungszahl der Kationen
$z_-$	Ionenwertigkeit oder Ladungszahl der Anionen

### Lateinische Großbuchstaben

Zeichen	Bedeutung
$A$	HAMAKER-Konstante
$A_B$	Querschnittsfläche der Bohrung
$A_{\text{Kreisring}}$	Fläche eines Kreisrings
$A_{\text{spez.}}$	spezifische Oberfläche
$A_{\text{Strömung}}$	Strömungsquerschnitt
$C_p$	Wärmekapazität bei konstantem Druck $p$
$E$	elektrische Feldstärke
$E_A$	VAN DER WAALS-Anziehung (= Dispersionsenergie)
$E_B$	BORNSCHE Abstoßung
$E_{\text{Bez}}$	Potential an der Bezugselektrode
$E_I$	Wechselwirkungsenergie
$E_{\text{max}}$	Energiebarriere
$E_{\text{Mess}}$	Potential an der Messelektrode
$E_R$	elektrostatische Anziehung
$F$	FARADAY-Konstante ( $= 9,64853 \cdot 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ [ATKINS und PAULA 2006])
$G$	Leitwert
$G$	freie GIBBSsche Enthalpie oder GIBBS-Energie
$G_0$	GIBBS-Energie, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
$G_D$	GIBBS-Energie eines Proteins im denaturierten Zustand
$G_N$	GIBBS-Energie eines Proteins im nativen Zustand

<i>I</i>	Ionenstärke
<i>I<sub>S</sub></i>	Strömungsstrom
<i>K</i>	Konstante von KOHLRAUSCHS Quadratwurzelgesetz
<i>K</i>	Koeffizient, abhängig von der Stöchiometrie des Elektrolyten
<i>K<sub>a</sub><sup>H<sub>2</sub>O</sup></i>	Ionenprodukt des Wassers (Gleichgewichtskonstante)
<i>K<sub>S</sub></i>	Säurekonstante
<i>L<sub>D</sub></i>	Länge der Kapillare oder des Diaphragmas
<i>O</i>	Oberfläche
<i>P</i>	Wahrscheinlichkeit des Vertrauensbereichs
<i>Q</i>	Partikeloberflächenladung
<i>Q<sub>A</sub></i>	Oberflächenladungsdichte
<i>Q<sub>D</sub></i>	Querschnitt der Kapillare oder des Diaphragmas
<i>R</i>	Vergleichbarkeit
<i>R</i>	allgemeine Gaskonstante (= 8,314 J·(mol·K) <sup>-1</sup> [CERBE 1992])
<i>R</i>	elektrischer Widerstand
<i>R<sup>2</sup></i>	Bestimmtheitsmaß (= Quadrat des Korrelationskoeffizienten)
<i>Re</i>	REYNOLDS-Zahl
<i>Re<sub>krit</sub></i>	kritische REYNOLDS-Zahl
<i>S</i>	Enthropie
<i>S<sub>0</sub></i>	Enthropie, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
<i>T</i>	Temperatur <sup>1</sup>
<i>T<sub>0</sub></i>	Temperatur, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
<i>T<sub>Raum</sub></i>	Normal- bzw. Raumtemperatur (= 293,15 K bzw. 20 °C [DIN 524 1922])
<i>U</i>	Potentialdifferenz (Spannung)
<i>U</i>	Umfang
<i>U<sub>0</sub></i>	Normalspannung
<i>U<sub>m</sub></i>	mittlerer Umfang
<i>U<sub>S</sub></i>	Strömungsspannung oder Strömungspotential
<i>U<sub>U</sub></i>	umspülter Umfang
<i>V</i>	Volumen oder titriertes Volumen

---

<sup>1</sup> Der Formelbuchstabe *T* wird in dieser Arbeit nicht nur für die Bezeichnung der absoluten Temperatur in Kelvin sondern auch für die Temperatur in Celsius verwendet.

$V_0$	Volumen, bezogen auf einen beliebigen Referenzpunkt
$V_F$	Flüssigkeitsvolumen
$V_{\text{Soll}}$	Soll-Volumen
$V_T$	Volumen, bezogen auf eine bestimmte Temperatur
$\dot{V}$	Volumenstrom
$Z$	Faktor zum Bestimmen des Gesamtsauerstoffs bei 20 °C

### Griechische Kleinbuchstaben

Zeichen	Bedeutung
$\alpha$	Dissoziationsgrad
$\beta$	LONDONSCHKE Konstante
$\gamma$	$= (e^{y/2} - 1) \cdot (e^{y/2} + 1)$
$\varepsilon$	Permittivitätskonstante der Dispersionslösung
$\varepsilon_0$	Permittivitätskonstante des Vakuums (= elektrische Feldkonstante = $8,859 \cdot 10^{-12} \text{ A} \cdot \text{s} \cdot (\text{V} \cdot \text{m})^{-1}$ [SONNTAG 1977])
$\varepsilon_r$	relative Permittivität
$\eta$	(dynamische) Viskosität
$\kappa$	DEBYE-HÜCKEL-Parameter
$\kappa$	(spezifische) elektrische oder elektrolytische Leitfähigkeit
$\kappa_{0^\circ\text{C}}$	Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur von 0 °C
$\kappa_{20^\circ\text{C}}$	Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur von 20 °C
$\kappa_{25^\circ\text{C}}$	Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur von 25 °C
$\kappa_T$	Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur von $T$
$\mu$	(arithmetischer) Mittelwert
$\pi$	Kreiszahl/Verhältnis des Kreisumfangs zum -durchmesser (= 3,14159 ... [BRONSTEIN et al. 1999])
$\rho$	Dichte
$\rho$	spezifischer elektrischer Widerstand



**Griechische Großbuchstaben**

Zeichen	Bedeutung
$\Delta$	Differenz
$\Lambda_{\text{eq}}$	Äquivalentleitfähigkeit
$\Lambda_{\text{eq}}^{\infty}$	Äquivalentleitfähigkeit bei unendlicher Verdünnung (= Grenzleitfähigkeit)
$\Lambda_{\text{m}}$	molare Leitfähigkeit
$\Lambda_{\text{m}}^{\infty}$	molare Leitfähigkeit bei unendlicher Verdünnung
$\Psi$	Potential
$\Psi_0$	Grundpotential der Partikeloberfläche = NERNST-Potential
$\Psi_{\text{a}}$	Potential der äußeren HELMHOLTZ-Schicht = STERN-Potential
$\Psi_{\text{i}}$	Potential der inneren HELMHOLTZ-Schicht
$\Psi_{\text{S}}$	STERN-Potential
$\Psi_{\zeta}$	Zeta-Potential = Potential an der Scherebene

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 2.1. Kolloidchemie als Brücke zwischen molekularer Chemie/Physik und Festkörperphysik/-chemie. Die Mittelstellung beruht auf der Betrachtung und Charakterisierung von Partikeln in einer Größenordnung zwischen sehr großen Molekülen und sehr kleinen Festkörpern [modifiziert nach HORN 1998]. .....5
- Abbildung 2.2. Modellvorstellung – Ein Kolloid, z. B. ein komplexes Protein, wird als Kugel mit messbaren Eigenschaften über die dimensionsbehafteten Messgrößen der Masse  $m$  und des Durchmessers  $d$  (Länge) beschrieben [eigene Darstellung, Protein: KIT 2006]. .....8
- Abbildung 2.3. Zusammenhang zwischen Partikelgröße und der totalen Anzahl  $n$  der Partikelatome (A) sowie der prozentuale Anteil an Oberflächenatomen zur Gesamtzahl der Partikelatome in Abhängigkeit der Partikelgröße (B) [TITZE et al. 2010b, PLANK und LERF 2010]. .....10
- Abbildung 2.4. Elektrische Ladungen an einer Partikeloberfläche aufgrund ungesättigter Bindungen bzw. Koordinationssphären. Die Oberflächenladung des Partikels ergibt sich dabei aus der Summe aller Einzelladungen unter Berücksichtigung der Vorzeichen [eigene Darstellung]. .....11
- Abbildung 2.5. Oberflächenladungen von Siliciumdioxid bei saurem pH-Wert (A), am isoelektrischen Punkt (B) und bei alkalischem pH-Wert (C). Der neutrale Zustand der Oberfläche entsteht, wenn keine Gruppen an der Oberfläche Ionen dissoziieren [PLANK und LERF 2010]. .....11
- Abbildung 2.6. Schichtenmodelle nach HELMHOLTZ (A), GOUY-CHAPMAN (B) und STERN (C) für dispergierte Partikel mit den Ladungsverteilungen an der Phasengrenze sowie den dazu korrespondierenden Potentialverläufen in Abhängigkeit des Abstands  $x$  zur Partikeloberfläche [modifiziert nach MÜLLER 1996, DÖRFLER 2002]. .....13
- Abbildung 2.7. Schichtenaufbau eines Partikels mit negativer Oberflächenladung dispergiert in einem 1:1-Elektrolyten. Der Potentialverlauf im Schichtenmodell ist in Abhängigkeit des Abstands  $x$  zur Partikeloberfläche aufgetragen. Der Verlauf ist dreigeteilt, da das Potential  $\Psi_0$  zunächst in der inneren HELMHOLTZ-Schicht linear auf  $\Psi_1$  ansteigt und anschließend in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht linear auf  $\Psi_3$  absinkt, um sich in der diffusen Schicht exponentiell Null anzunähern [modifiziert nach GRAHAME 1947, BOCKRIS et al. 1963, MÜLLER 1996]. .....16
- Abbildung 2.8. Ionenbildung durch Abziehen (A) oder Aufnahme (D) eines Elektrons des neutralen Atoms, dargestellt an den Beispielen Natrium und Chlor. Beim Kation verringert sich durch die Ionenbildung der Durchmesser im Vergleich zum neutralen Atom (B), so dass die elektrostatischen Kräfte des Atomkerns weit in die Ionenumgebung reichen und dadurch mehr Wassermoleküle in der Hydrathülle binden (C). Im Gegensatz zum neutralen Atom (E) vergrößert sich der Durchmesser des Anions bei der Ionenbildung. Die Anziehung der Wassermoleküle ist schwächer und es können weniger Wassermoleküle in der Hydrathülle gebunden werden. (\* verkleinerte Darstellungen) [eigene Darstellung]. .....17
- Abbildung 2.9. Schematische Darstellung der Anreicherung von Gegenionen bzw. Kationen  $n_+(x)/n_+(\infty)$  und Verarmung an Anionen  $n_-(x)/n_-(\infty)$  im Bereich einer negativ geladenen Partikeloberfläche in wässriger 1:1-Elektrolytlösung mit  $z_+ = z_- = 1$  [LAGALY 1984]. .....20
- Abbildung 2.10. Die Dicke der diffusen Schicht ist der Abstand zwischen der Phasengrenze von STERN- und diffuser Schicht zu der Entfernung, bei der das STERN-Potential auf etwa 37 % (=  $1/e$ ) seines Werts abfällt [modifiziert nach MÜLLER 1996]. .....23

- Abbildung 2.11. Vergleich des Potentialabfalls in Abhängigkeit des Abstands  $x$  zur Partikeloberfläche und die sich daraus ergebende Dicke der diffusen Schicht  $1/\kappa$  als Funktion der Ionenkonzentration  $n_i$  eines 1:1-Elektrolyten in einer hochverdünnten (A) und einer stark konzentrierten Dispersionslösung (B), mit  $n_{i(A)} \ll n_{i(B)}$  [modifiziert nach MÜLLER 1996]  
Die Ionen werden vereinfacht nur für die diffuse Schicht dargestellt. ....24
- Abbildung 2.12. Vergleich des Potentialabfalls in Abhängigkeit des Abstands  $x$  zur Partikeloberfläche und die resultierende Dicke der diffusen Schicht  $1/\kappa$  als Funktion der Ionenwertigkeit  $z_i$  eines 1:1-Elektrolyten (A) für NaCl und eines 3:1-Elektrolyten (B) für  $AlCl_3$  bei derselben Anzahl Gegenionenladungen [modifiziert nach MÜLLER 1996]. Es gilt  $z_{+(Al)} = 3 \cdot z_{+(Na)}$ . Es werden nur die jeweiligen Kationen in der diffusen Schicht dargestellt. ....25
- Abbildung 2.13. Schichtenmodell eines negativ geladenen Partikels in Elektrolytlösung (A) und nach Abriss der diffusen Schicht z. B. durch Partikelbewegung (B). Die Scherebene entspricht der Abrissebene, an der nach außen hin eine Potentialdifferenz  $\Delta\Psi$  auftritt: das sogenannte Zeta-Potential  $\Psi_\zeta$  [eigene Darstellung]. ....27
- Abbildung 2.14. Einfluss der Elektrolytkonzentration und -wertigkeit auf das Zeta-Potential: Qualitative Potentialverläufe in der diffusen Schicht sowohl bei niedriger ( $10^{-6}$  M NaCl-Lösung), mittlerer ( $10^{-2}$  M NaCl-Lösung) und hoher Elektrolytkonzentration ( $10^{-1}$  M NaCl-Lösung) eines 1:1-Elektrolyten und eines 3:1-Elektrolyten bei identischem STERN-Potential. Die entsprechenden Zeta-Potentiale  $\Psi_\zeta(n_i; z_i)$  sind an der Scherebene in der diffusen Schicht dargestellt [modifiziert nach MÜLLER 1996]. ....29
- Abbildung 2.15. Adsorption von Kationen auf einer negativ geladenen Partikeloberfläche in der STERN-Schicht bei einer geringen (A) und einer hohen Elektrolytkonzentration (B). Bei niedriger Elektrolytkonzentration fällt das negative Oberflächenpotential  $\Psi_0$  linear auf das STERN-Potential  $\Psi_S$  ab, bleibt aber negativ (A). Bei hoher Elektrolytkonzentration kommt es hingegen zu einer hohen Besatzdichte in der STERN-Schicht. Durch den positiven Ladungsüberschuss erfolgt eine Ladungsumkehr vom negativen Oberflächenpotential  $\Psi_0$  zum positiven STERN-Potential  $\Psi_S$  (B). Das gemessene Zeta-Potential an der Scherebene wechselt sein Vorzeichen und ist positiv [modifiziert nach MÜLLER 1996]. ....30
- Abbildung 2.16. Adsorption von Anionen auf einer positiv geladenen Partikeloberfläche in der STERN-Schicht bei einer geringen (A) und einer hohen Elektrolytkonzentration (B). Bei niedriger Elektrolytkonzentration fällt das positive Oberflächenpotential  $\Psi_0$  linear auf das STERN-Potential  $\Psi_S$  ab, bleibt aber positiv (A). Bei hoher Elektrolytkonzentration kommt es hingegen zu einer hohen Besatzdichte in der STERN-Schicht. Es erfolgt eine Ladungsumkehr von einem positiven Oberflächenpotential  $\Psi_0$  zu einem negativen Potential  $\Psi_S$  der STERN-Schicht (B). Das gemessene Zeta-Potential ist negativ [modifiziert nach MÜLLER 1996]. ....31
- Abbildung 2.17. Partikel bewegen sich aufgrund der BROWNSCHEN Molekularbewegung aufeinander zu, so dass sich die diffusen Schichten überlagern, analog der Überlappung von Magnetfeldlinien zweier sich aufeinander zubewegender Stabmagneten. Die maximale Annäherung stellt das Gleichgewicht aus kinetischer Energie und der Abstoßung aufgrund Überlappung der diffusen Schichten dar [modifiziert nach SONNTAG 1977, MÜLLER 1996]. Die blaue Kurve zeigt die Potentialabstandsfunktion. Bei dieser Betrachtung wird vorausgesetzt, dass die beiden in Wechselwirkung stehenden Partikel dasselbe Oberflächenpotential besitzen. ....33

- Abbildung 2.18. Darstellung der Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktionen zweier kugelförmiger Partikel: Gesamtwechselwirkungsfunktion  $E_1$  gilt als Summe der elektrostatischen Abstoßung  $E_R$  und der VAN DER WAALS-Anziehung  $E_A$  sowie der BORNSCHEN Abstoßung  $E_B$  und der Summenfunktion aus  $E_1 + E_B$  als Funktionen des Abstands  $a$  zwischen den Partikeln (nach DLVO-Theorie) [modifiziert nach MÜLLER 1996]. Ab dem mittleren Abstand  $a_m$  und kleiner dominiert die elektrostatische Abstoßung bis sich eine lokale Energiebarriere  $E_{max}$  aufbaut, die eine Partikelannäherung  $<a_m$  erschwert. Bei starker BROWNSCHER Molekularbewegung kann es aber zu einem Überwinden von  $E_{max}$  kommen. Aufgrund der BORNSCHEN Abstoßung  $E_B$  bildet sich ein primäres Minimum aus und die Partikel verbleiben in diesem Abstand zueinander. Es ist möglich, dass sich auch ein zweites oder sekundäres Minimum ausbildet [LAGALY 1984]. .....36
- Abbildung 2.19. Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktionen kugelförmiger Partikel mit unterschiedlichem Oberflächenpotential  $\Psi_0$  bei konstanter Elektrolytkonzentration. Die angegebenen Werte gelten immer für das jeweilige Partikelpaar [FRENS 1968]. Mit abnehmender Oberflächenladung  $\Psi_0$  der Partikel verschiebt sich die Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktion in den negativen Bereich bis nur noch Anziehungskräfte überwiegen. Für  $\Psi_0 = 0$  mV entspricht die Gesamtwechselwirkungsenergiekurve der Funktion der VAN DER WAALS-Anziehung  $E_A$  aus Abbildung 2.18. ....38
- Abbildung 2.20. Schematische Darstellung der Stabilitätsgrenze zwischen gefaltetem und denaturiertem Zustand eines Proteins nach Gleichung 2.21 für  $\Delta G(p, T) = 0$ . Der Kurvenverlauf (rot) der Funktion ist ellipsenförmig und limitiert den Druck- und Temperaturbereich des Proteins im nativen Zustand (hellblaue Fläche). Mittels Kälte- (blauer Pfeil), Druck- (grüner Pfeil) oder Hitzeeinwirkung (roter Pfeil) geht das Protein in den denaturierten Zustandsbereich über (gelbe Fläche) [SCHROER 2008]. ....44
- Abbildung 2.21. Produktstabilität in Form von chemisch-physikalischer Stabilität, Geschmacksstabilität sowie mikrobiologischer Stabilität als zentrale Voraussetzung einer objektiven Bierqualität [TITZE 2010]. ....45
- Abbildung 2.22. Komplexbildung zwischen trübungsaktivem Protein und trübungsrelevantem Polyphenol bei Kälte- und Dauertrübung [GUZMAN et al. 1999]. Voraussetzung ist das Aufeinandertreffen von Protein und Polyphenol durch BROWNSCHE Molekularbewegung (Index m/n). Die Bindungskräfte zwischen Protein und Polyphenol sind im Wesentlichen Wasserstoffbrücken. Diese entwickeln sich zunächst, da die Partikel noch eine starke Hydratisierung aufweisen. Die lose Bindung ist bei niedrigen Temperaturen beständig und löst sich durch Erwärmen (Index a/b). Erst bei verstärktem Dehydratisieren oder Denaturieren des Proteins geht der Komplex in die Dauertrübung über (Index x/y). Sauerstoff und Schwermetalle unterstützen die fallende Wirkung [NARZISS 2004]. ....47
- Abbildung 3.1. Definition der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  [eigene Darstellung]. .....50
- Abbildung 3.2. Änderung der elektrischen Leitfähigkeit wässriger Elektrolytlösungen in Abhängigkeit der Konzentration  $c$  [modifiziert nach KOHLRAUSCH 1968b]. Mit zunehmender Konzentration  $c$  steigt die Leitfähigkeit  $\kappa$  zunächst an, bis sie schließlich ein Maximum erreicht und mit weiterer Zunahme wieder absinkt. Der vollständige Verlauf ist nicht für alle Elektrolytlösungen dargestellt. Das Maximum beschreibt den Punkt an welchem die Anzahl frei beweglicher Ionen größtmöglich ist. ....53
- Abbildung 3.3. Konzentrationsabhängigkeit der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit bei niedrigen Konzentrationen [KOHLRAUSCH 1968b]. Eine lineare Abhängigkeit der Leitfähigkeit  $\kappa$  und der Konzentration  $c$  gilt nur bei stark verdünnten Elektrolytlösungen. ....54

Abbildung 3.4.	Molare Leitfähigkeit $\Lambda_m$ unterschiedlicher Elektrolytlösungen in Abhängigkeit der Konzentration bei 25 °C [modifiziert nach ANS und LAX 1960, CRC 1968/1969].	55
Abbildung 3.5.	Spezifische elektrische Leitfähigkeit einer KCl-Lösung mit einer Konzentration von 71,4 g·kg <sup>-1</sup> in Abhängigkeit der Temperatur [modifiziert nach KOHLRAUSCH 1996].	57
Abbildung 3.6.	Kurven für jeweils eine feste spezifische elektrische Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur von 25 °C in Abhängigkeit der tatsächlichen Messtemperatur. Die Kurven beschreiben für eine bestimmte Leitfähigkeit, in wie weit sich der tatsächlich gemessene Wert aufgrund einer Abweichung von 25 °C ändert. Die Abweichungen vom tatsächlichen Leitfähigkeitswert (rote Linie) sind im niedrigen Temperaturbereich und für hohe Elektrolytkonzentrationen am größten [eigene Darstellung].	58
Abbildung 3.7.	Bestimmen der elektrischen Leitfähigkeit $\kappa$ durch Anlegen einer elektrischen Gleichspannung und dem Entstehen eines elektrischen Stroms in einem Elektrolyten am Beispiel einer Kochsalzlösung (schematisch) [eigene Darstellung].	60
Abbildung 3.8.	Aufbau einer Einstabmesskette (schematisch) [nach HABER 2008].	68
Abbildung 4.1.	Technische Zeichnung der Messzelle mit Edelmetallelektroden und Verdrängerkolben des verwendeten PLD, Typ Charge Analyzing System (CAS) der AFG Analytic GmbH, Leipzig [eigene Darstellung].	74
Abbildung 4.2.	Schematischer Aufbau des verwendeten PLD, Typ Charge Analyzing System (CAS) der AFG Analytic GmbH, Leipzig [modifiziert nach AFG 2006, TITZE et al. 2008b].	75
Abbildung 4.3.	Ladungsverteilung eines adsorbierten Partikels mit negativer Oberfläche an der PTFE-Zellwand ohne (A) und während Anströmung (B) im Messspalt des PLD. Es kommt zu einem Teilabriss und einem Verschieben der diffusen Schicht. Durch die Trennung von Gegenionen und Partikel wird ein Potential über die Spannung $U$ messbar (C) [TITZE et al. 2008a].	77
Abbildung 4.4.	Messsignalausbildung im Messspalt der PLD-Zelle ohne (A) und während des Anströmens (B). A: Zwei an der Zellwand adsorbierte und zwei in Lösung frei bewegliche Partikel sind jeweils umgeben von einer symmetrischen Gegenionenwolke. B: Durch Anströmen werden die Gegenionenwolken der adsorbierten Partikel an der Zellwand verschoben. Die Ionenwolken der in Lösung befindlichen Partikel werden hingegen gar nicht oder nur sehr gering beeinflusst [TITZE et al. 2007a]. Wird beispielsweise durch die Ladungsverschiebung der Ionenwolken von adsorbierten Partikeln ein Potential von -1.000 mV messbar, liegt der Beitrag durch Ladungsverschiebung der frei beweglichen Partikel nur bei etwa -10 mV [BTG 2008].	79
Abbildung 4.5.	Nach Titration von Polyelektrolytlösung (kationische Makroionen) (A) findet aufgrund spezifischer Adsorption der Makroionen an der Partikeloberfläche eine teilweise Neutralisation der Oberflächenladung statt (B) [TITZE et al. 2008a].	81
Abbildung 4.6.	Elektrische Doppelschicht der Partikeloberfläche ohne (A) und nach (B) Adsorption kationischer Makroionen der Polyelektrolytlösung [eigene Darstellung].	81
Abbildung 4.7.	Verringerung des messbaren Potentials durch spezifische Adsorption von Makroionen an der Partikeloberfläche (A) im Vergleich zu einem Partikel ohne adsorbierte Makroionen (B), vgl. Abbildung 4.3 C [TITZE et al. 2008a].	82
Abbildung 4.8.	Technische Zeichnung des Schnitts A aus Abbildung 4.2 durch Messzelle und Verdrängerkolben (Justierkolben mit einer Nuttiefe von 0,5 mm) [eigene Darstellung].	86
Abbildung 4.9.	Zusätzlich verdrängtes Volumen (rot) durch die Abwärtsbewegung des Verdrängerkolbens aufgrund der Kolbenbewegung im PLD [eigene Darstellung].	87

Abbildung 4.10. Oszillierende Kolbenbewegung im Messspalt des PLD. Die Auf- und Abwärtsbewegungen stellen eine harmonische Schwingung in Form einer Sinuskurve dar [eigene Darstellung].	88
Abbildung 4.11. Fließschema der durchgeführten Forciermethode [TITZE et al. 2007a, TITZE et al. 2010b], modifiziert nach der Brautechnischen Analysenmethode der MEBAK Band II Kapitel 2.15.2.1 [MIEDANER 2002].	93
Abbildung 4.12. Schematischer Aufbau der Anordnung des Corneliusbehälters und der Edelstahlwendel für den KZE-Laborversuch [modifiziert nach TIESCH 2008].	96
Abbildung 4.13. Aufheiz- und Abkühlverhalten von Wasser in der Wendelapparatur bei der 60 °C-, 70 °C- und 80 °C-KZE-Behandlung [modifiziert nach TIESCH 2008].	97
Abbildung 5.1. Bestimmen des Spülvolumens mit einer Titrationslösung, temperiert auf 15 °C, 20 °C, 25 °C und 30 °C. Als Titrationslösung wurde Reinstwasser verwendet. Mit steigender Temperatur sinkt das Spülvolumen im Mittel um etwa $0,0025 \text{ ml} \cdot \text{°C}^{-1}$ . Große Ungenauigkeiten der titrierten Mengen sind bei 30 °C, hohe bis sehr hohe Messgenauigkeiten bei 20 °C und 25 °C zu beobachten [eigene Darstellung].	104
Abbildung 5.2. Abweichung des titrierten Volumens $V_T$ bei konstanter Temperatur $T$ zum Soll-Volumen $V_{\text{Soll}}$ . Bei steigendem titrierten Volumen $V_T$ erhöht sich linear die Abweichung zum Soll-Volumen ( $V_T - V_{\text{Soll}}$ ). Die relative Messabweichung beträgt je nach Temperatur zwischen $-0,73 \%$ (für 15 °C) und $-1,67 \%$ (für 30 °C) [eigene Darstellung].	105
Abbildung 5.3. Entgegengesetzt geladene Polymere (grau und rot dargestellt) bilden einen Ladungskomplex in Form einer Leiter- (A) oder Rührerstruktur (B) [MICHAELS et al. 1965, PHILIPP et al. 1982, DAUTZENBERG et al. 1994].	106
Abbildung 5.4. Symplexbildung zweier entgegengesetzt geladener Polyelektrolyten (grün und rot dargestellt), abgebildet in der Grenzstruktur des Leitermodells als geordnete 1:1-Stöchiometrie im Gegensatz zu einer statistischen 1:1-Stöchiometrie des Rührermodells in Abbildung 5.3 [BTG 2008, TITZE et al. 2010b].	107
Abbildung 5.5. Ladungstitrationskurven einer 0,001 n PES-Na-Lösung titriert mit einer 0,001 n Poly-DADMAC-Lösung bis zur Neutralisation (Potential = 0 mV) mittels Dreifachbestimmung (Probenvorlage 10 ml). Der Titrationskurvenverlauf beschreibt zunächst ein Potentialplateau bei etwa $-1.200 \text{ mV}$ und fällt zwischen 6 ml und 8 ml steil auf 0 mV ab [eigene Darstellung].	108
Abbildung 5.6. Partikelgrößenverteilung als Intensitätssummenkurven einer 0,001 n PES-Na- und einer 0,001 n Poly-DADMAC-Lösung sowie von zwei 1:1-Mischungen beider Substanzen (vgl. Konzentrationsangaben in der Legende) [eigene Darstellung].	109
Abbildung 5.7. Partikelgrößenverteilung als Intensitätssummenkurven eines filtrierte Biers vor und nach der Ladungstitation mit 0,001 n Poly-DADMAC. Aufgrund der Symplexbildung zwischen Titrationsmittel und den Kolloidpartikeln im Bier fand eine deutliche Vergrößerung der Partikel statt [TITZE et al. 2010b].	111
Abbildung 5.8. Potentialverlauf der Justierlösung 0,001 n PES-Na über die Zeit. Nach einer Minute stellt sich ein konstantes Messsignal von etwa $-1.200 \text{ mV}$ ein [TITZE et al. 2007a].	112

- Abbildung 5.9. Typische Titrationskurve eines Biers als Potentialfunktion in Abhängigkeit des titrierten Volumens. Die Funktion besitzt im Messbereich ein lokales Minimum, an diesem ist der Betrag des Potentials maximal. Die durch Adsorption an der PTFE-Oberfläche des PLD immobilisierten Partikel werden ab dem Extrempunkt über die Symplexbildung mit dem Titrationsmittel bis zum Neutralisationspunkt neutralisiert (Potential = 0 mV) [eigene Darstellung]. .....113
- Abbildung 5.10. Mittelwertskurve der drei Messungen aus Abbildung 5.9 (A). Für jeden Messpunkt der Mittelwertskurve wird aus den drei Einzelmessungen ein Konfidenzintervall (für  $P = 95\%$ ) errechnet (B). Schließlich wird die Mittelwertskurve über eine charakteristische Funktion  $f_c(V)$  mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9998$  mathematisch angenähert [eigene Darstellung]. .....116
- Abbildung 5.11. Häufigkeitsverteilungen als Anzahl pro Klasse (blaue Balken) und Anzahldichtefunktion (rote Kurve) der Messwertabweichungen zwischen realem Messwert und errechnetem Wert der charakteristischen Funktion  $f_c$ . Die Anzahldichtefunktion wird durch eine Normalverteilung mit einem Mittelwert  $\bar{x} = 0,0156$  mV und einer Standardabweichung  $s = 2,35$  mV bei einer Anzahl  $n = 741$  von Messwertabweichungen beschrieben [modifiziert nach TITZE et al. 2007a]. .....117
- Abbildung 5.12. Bestimmen der Messparameter  $\Delta V$  und  $\Delta \Psi$  anhand der charakteristischen Funktion  $f_c(V)$  durch Berechnen der ersten und zweiten Ableitung sowie der Nullstelle. Für  $f_c'(V) = 0$  und  $f_c''(V) > 0$  ergibt sich ein lokales Minimum bei einem titrierten Volumen von 0,38 ml mit einem Potential von -262 mV. Für die Nullstelle  $f_c = 0$  mV im Messbereich ergibt sich ein titriertes Volumen von  $V = 2,46$  ml [eigene Darstellung]. .....118
- Abbildung 5.13. Potentialkurven von 0,001 n PES-Na-Lösung durch Zutitrieren gesättigter Salzlösungen bei 20 °C. Das zweiwertige Calciumchlorid ( $c_{\text{CaCl}_2} \approx 6,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) wirkt sich am stärksten auf die Kompression der diffusen Schicht aus. Bei den einwertigen Elektrolytlösungen ist der Einfluss der höher konzentrierten NaBr-Lösung ( $c_{\text{NaBr}} \approx 8,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) im Gegensatz zur NaCl-Lösung ( $c_{\text{NaCl}} \approx 6 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) größer [eigene Darstellung]. .....122
- Abbildung 5.14. Potentialkurven von 0,001 n Poly-DADMAC-Lösung durch Zutitrieren gesättigter Salzlösungen bei 20 °C. Analog zu Abbildung 5.13 führt die zweiwertige Calciumchlorid-Lösung ( $c_{\text{CaCl}_2} \approx 6,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) zum stärksten Absinken des messbaren Potentials. Bei den einwertigen Elektrolytlösungen dominiert der Einfluss des höher konzentrierten NaBr ( $c_{\text{NaBr}} \approx 8,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) im Vergleich zum NaCl ( $c_{\text{NaCl}} \approx 6 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) [eigene Darstellung]. .....123
- Abbildung 5.15. Änderung von Potential und Leitfähigkeit des Biers bei steigender Verdünnung mit Wasser. Mit zunehmender Verdünnung steigt der Potentialbetrag von -180 mV auf über -300 mV bei mehr als 50 Vol.-% Wasseranteil. Gemäß der Regressionskurve (rote Strichlinie) durchläuft das Potential ein Maximum bei einem Wasseranteil von 70 Vol.-% bis 80 Vol.-%. Die Leitfähigkeit fällt linear von  $1.850 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (100 Vol.-% Bier) auf etwa  $17 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (100 Vol.-% Wasser). Die Darstellung zeigt die Beträge der Potentiale [eigene Darstellung]. .....124
- Abbildung 5.16. Titrationskurven einer Verdünnungsreihe von Bier mit Wasser. Mit steigender Wasserkonzentration wandert der Ordinatenachsenabschnitt. Das Potential wird größer bis es einen Maximalwert von etwa -325 mV erreicht. Dabei sinkt das titrierte Volumen mit zunehmender Verdünnung des Biers immer weiter ab [TITZE et al. 2010b]. .....125
- Abbildung 5.17. Titriertes Volumen in Abhängigkeit der Bierkonzentration. Der lineare Zusammenhang macht deutlich, dass die Partikelkonzentration der Bierprobe mittels Ladungstitation über das titrierte Volumen bestimmt werden kann [TITZE et al. 2010b]. .....127

Abbildung 5.18. Partikelgrößenverteilungen von mit Wasser verdünnten Bierproben gemäß Tabelle 5.4. Aufgrund der nahezu identischen Kurvenverläufe sind Rückschlüsse auf die Partikelkonzentration in der jeweiligen Probe nicht möglich [TITZE et al. 2010b].	128
Abbildung 5.19. Änderung des pH-Werts und des titrierten Volumens von Bier bei steigender Verdünnung mit Wasser. Mit zunehmender Verdünnung ändert sich der pH-Wert des Biers aufgrund seiner hohen Pufferkapazität fast nicht. Bei reinem Wasser springt er auf einen Wert von 5,30. Das titrierte Volumen hingegen sinkt linear bei steigender Verdünnung von anfangs 0,56 ml (100 Vol.-% Bier) auf 0,05 ml (100 Vol.-% Wasser) [eigene Darstellung].	130
Abbildung 5.20. Trübungsverlauf eines filtrierten Biers im Real-Time-Test, wobei die Trübung über den gesamten Mindesthaltbarkeitszeitraum des Biers (z. B. zwölf Monate) mittels 90°-Streulichtmessung verfolgt wird. Die Kurve lässt sich in drei charakteristische Abschnitte unterteilen: In der <i>Lag Phase</i> ändert sich die ursprüngliche Trübung kaum, bis sie in der <i>Increase Phase</i> einem steilen, fast linearen Anstieg folgt und schließlich in die <i>Stationary Phase</i> mündet, wo sich die Trübung kaum noch ändert und ihren Maximalwert erreicht [MÉLOTTE 2008].	132
Abbildung 5.21. Trübungskurven eines untergärigen, filtrierten Biers während eines Langzeit-Forciertests gemäß Flussdiagramm in Abbildung 4.11 (Kapitel 4.5). Zusätzlich zu den Trübungswerten nach jedem Warmtag bzw. nach der Kältebehandlung (blaue Kurve) wurden auch die Trübungswerte nach der Wärmebehandlung ermittelt (rote Kurve) [TITZE et al. 2010c].	134
Abbildung 5.22. Schematische Darstellung des Austretens von immobilisiertem Wasser durch Absenken der Temperatur auf 0 °C bei der Kältebehandlung im Forciertest. Besonders das in den amorphen Bereichen inkorporierte H <sub>2</sub> O wird nicht mehr in den Zwischenräumen des Partikels gehalten und tritt aus. Die weichmachende Wirkung durch fehlendes immobilisiertes Wasser geht verloren [eigene Darstellung, Proteindarstellung: DPI 2011].	136
Abbildung 5.23. Trübungsverläufe eines gut stabilisierten, filtrierten Biers, das sowohl mit einem 40 °C/0 °C- sowie einem 60 °C/0 °C-Forciertest gealtert wurde. Um schnelle Aussagen über die kolloidale Langzeitstabilität des Biers zu treffen, ist eine Wärmebehandlung bei einer Temperatur von 40 °C ungeeignet, da sich die Trübungswerte auch nach 8 Warmtagen fast nicht ändern und die Trübungskurve noch in der <i>Lag Phase</i> bleibt [eigene Darstellung].	138
Abbildung 5.24. Trübungskurve eines schwach stabilisierten Biers während eines Forciertests (40 °C/0 °C). Die Trübungswerte wurden nach jedem Warmtag bei einer Proben-temperatur von 20 °C ermittelt. Bei etwa 10 Warmtagen war bereits eine Trübungszunahme von $\geq 2$ EBC erreicht [TITZE et al. 2007a, TITZE et al. 2008b, TITZE et al. 2010c].	139
Abbildung 5.25. Trübungskurven mittels Forciertest (40 °C/0 °C) verschiedener Biere mit unterschiedlicher Stabilisierung. Die Länge der <i>Lag Phase</i> ist dabei das Maß für die kolloidale Langzeitstabilität der Biere [TITZE et al. 2007a].	140
Abbildung 5.26. Trübungskurve eines stark stabilisierten Biers. Das Bier wurde bis zum 18. Warmtag mit einem 40 °C/0 °C-Forciertest künstlich gealtert und anschließend einem 60 °C/0 °C-Forciertest unterzogen. Die Trübungswerte wurden bei einer Proben-temperatur von 20 °C ermittelt. Nach 22 Warmtagen war eine Trübung von 2 EBC überschritten und nach 24 Warmtagen eine Trübungsdifferenz von $\geq 2$ EBC erreicht [TITZE et al. 2010c].	141



Abbildung 5.27. Zusammenstellung charakteristischer Funktionen eines schwach stabilisierten Biers während einer künstlichen Alterung (40 °C/0 °C-Forciertest). Mit steigender Anzahl an Warmtagen sinkt sowohl das Potential als auch das titrierte Volumen [TITZE et al. 2007a, TITZE et al. 2008b, TITZE et al. 2010c]. .....	142
Abbildung 5.28. Linearer Zusammenhang zwischen $\Delta V$ und $\Delta \Psi$ der unterschiedlichen Warmtage aus Abbildung 5.27. Mit zunehmender Alterung sinken beide Größen gegen Null ab [TITZE et al. 2007a, TITZE et al. 2008b]. .....	144
Abbildung 5.29. Ladungstitrationskurven, dargestellt als charakteristische Funktionen eines stark stabilisierten Biers während einer künstlichen Alterung (bis zum 18. Warmtag 40 °C/0 °C-Forciertest, danach 60 °C/0 °C-Forciertest). Sowohl das Potential als auch das titrierte Volumen sinken mit zunehmenden Warmtagen [TITZE et al. 2010c]. .....	145
Abbildung 5.30. Korrelation zwischen $\Delta V$ und $\Delta \Psi$ der Ladungstitrationskurven eines stark stabilisierten Biers nach 0, 13 und 24 Warmtagen aus Abbildung 5.25. Analog zu den Ergebnissen für ein schwach stabilisiertes Bier (siehe Abbildung 5.28) lässt sich auch hier ein linearer Zusammenhang zwischen beiden Größen nachweisen [TITZE et al. 2010c]. .....	146
Abbildung 5.31. Potentialverlauf über die Zeit eines schwach und eines stark stabilisierten Biers während einer künstlichen Alterung. Die Potentialkurve des schwach stabilisierten Biers fällt in einem deutlich kürzeren Zeitraum gegen Null ab, während die Kurve des stark stabilisierten Biers nur wenig absinkt [eigene Darstellung]. .....	147
Abbildung 5.32. Titrationskurven eines untergärigen, filtrierten Biers, frisch (0 Warmtage), nach 3 und nach 10 Warmtagen [TITZE et al. 2010b]. .....	148
Abbildung 5.33. Partikelgrößenverteilung als Intensitätssummenkurven eines untergärigen, filtrierten Biers, frisch (0 Warmtage), nach 3 und nach 10 Warmtagen [TITZE et al. 2010b]. .....	150
Abbildung 5.34. Änderung von Potential und titriertem Volumen in Abhängigkeit der Alkoholkonzentration im Bier durch Zugabe von Ethanol. Bei einem Alkoholgehalt von 5,6 Vol.-% könnte das Potential einen Maximalwert von -396 mV erreicht haben (nicht signifikant), wogegen das titrierte Volumen signifikant von anfangs 0,59 ml bei 5,8 Vol.-% auf 0,70 ml ansteigt. Die Darstellung zeigt die Beträge der Potentiale [modifiziert nach MÜLLER 2011]. .....	153
Abbildung 5.35. Änderung von Potential und titriertem Volumen in Abhängigkeit des pH-Werts im Bier durch Zudosieren von HCl zur Absenkung oder NaOH zur Anhebung des pH-Werts. Mit zunehmender Alkalität steigt das titrierte Volumen an, wobei das Potential einen Maximalwert durchläuft. Die Potentiale sind als Beträge dargestellt [modifiziert nach MÜLLER 2011]. .....	156
Abbildung 5.36. Änderung von Potential und titriertem Volumen in Abhängigkeit der Sauerstoffkonzentration im Bier durch Veränderung des Kopfraumvolumens in der Flasche. Während sich für das Potential mit zunehmendem O <sub>2</sub> -Anteil kein signifikanter Verlauf ableiten lässt, steigt das titrierte Volumen signifikant an. Die Potentiale sind als Beträge dargestellt [modifiziert nach MÜLLER 2011]. .....	159
Abbildung 5.37. Zusammenhang zwischen Trübungszunahme und berechneter Haltbarkeit in Warmtagen (WT) von Bieren unterschiedlicher Chargen, d. h. Biere aus verschiedenen Suden, die unterschiedlich filtriert und stabilisiert wurden. Die Ergebnisse wurden über eine Vierfachmessung ( $n = 4$ ) ermittelt. Ohne Berücksichtigung der Ergebnisse dreier Biere (grün), ergibt sich ein rechnerischer Zusammenhang von $R^2 = 0,9391$ [eigene Darstellung]. .....	161

Abbildung 5.38. Potential der Bierproben nach einer Wärmebehandlung von 24 Stunden bei 60 °C (24 h/60 °C) gegenüber dem Potential direkt nach der Abfüllung (Start). Die blaue Linie markiert einen Zustand, bei dem sich keine Potentialänderung ergeben hätte [eigene Darstellung]. .....	162
Abbildung 5.39. Titriertes Volumen der Bierproben nach einer Wärmebehandlung von 24 Stunden bei 60 °C (24 h/60 °C) gegenüber dem titrierten Volumen direkt nach der Abfüllung (Start). Die blaue Linie markiert einen Zustand, bei dem sich keine Titrationsänderung ergeben hätte [eigene Darstellung]. .....	163
Abbildung 5.40. Anfangspotential (Start) der frisch abgefüllten Bierproben in Abhängigkeit der berechneten Haltbarkeit. Das Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,0036$ macht deutlich, dass kein Zusammenhang zwischen beiden Parametern besteht [eigene Darstellung]. .....	164
Abbildung 5.41. Zusammenhang zwischen Trübungszunahme und berechneter Haltbarkeit in Warmtagen von Bieren unterschiedlicher Chargen. Die Ergebnisse zweier Bierproben (grün) zeichnen sich durch sehr große Konfidenzintervalle aus und machen eine signifikante Zuordnung unmöglich [eigene Darstellung]. .....	166
Abbildung 5.42. Änderung von Potential und titriertem Volumen des Biers bei steigendem Wasseranteil im Bier. Während mit zunehmender Verdünnung der Potentialbetrag ansteigt und bei 30 Vol.-% Bieranteil ein Maximum von $-505$ mV durchläuft, fällt das titrierte Volumen von $0,48$ ml (100 Vol.-% Bier) auf etwa $0,11$ ml (10 Vol.-% Bier) mit $R^2 = 0,9849$ linear ab. Die Darstellung zeigt die Beträge der Potentiale [eigene Darstellung]. .....	169
Abbildung 5.43. Zusammenhang zwischen Trübungszunahme (Maß für die Haltbarkeit des Biers) und Stabilitätswert. Je höher der Stabilitätswert, um so geringer war die Trübungszunahme im Zuge der forcierten Alterung [eigene Darstellung]. .....	171
Abbildung 5.44. Ladungstitrationskurven einer Unfiltratprobe. Die Bierprobe wurde dreimal hintereinander als Einzelmessung ( $n = 1$ ) analysiert. Zwischen den Messungen lagen jeweils 10-15 Minuten. Es zeigt sich eine deutliche Verschiebung der Kurve mit der Zeit. Die Titrationskurven wurden über charakteristische Funktionen mit den jeweils angegebenen Bestimmtheitsmaßen gemäß Ausführungen in Kapitel 5.1.4 angepasst [eigene Darstellung]. .....	172
Abbildung 5.45. Kombinierte Partikelanalytik – Kombination aus Partikelladungsmessung (Ladungstitation) und Partikelgrößenmessung [TITZE et al. 2010b]. .....	173
Abbildung 5.46. Änderung der Konzentration des noch koagulierbaren Stickstoffs sowie der Leitfähigkeit in der Würze über die Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG, 2010]. .....	176
Abbildung 5.47. Ladungstitrationskurven der Würzeproben in Abhängigkeit der Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010]. .....	177
Abbildung 5.48. Abnahme der Gesamtladung der Probe (titriertes Volumen) in Abhängigkeit der Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010]. .....	178
Abbildung 5.49. Linearer Zusammenhang zwischen dem titrierten Volumen und der Konzentration des Molkenproteinkonzentrats in der Probe [TITZE und ILBERG 2010]. .....	179
Abbildung 5.50. Abnahme des koagulierbaren Stickstoffs in der Würze in Abhängigkeit der Zeit. Mit zunehmender Lagerung verringert sich die noch analysierbare Stickstoffmenge in der Würzeprobe. Nach 42 Tagen können nur noch 76 % der ursprünglichen Stickstoffkonzentration detektiert werden [TITZE und ILBERG 2010]. .....	180

Abbildung 5.51. Änderung der Stickstoffkonzentration in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur. Bereits nach einem Tag Lagerung fällt die Stickstoffkonzentration um etwa 20-30 %. Dabei scheint der Stickstoffabbau bei niedrigeren Lagertemperaturen zunächst am stärksten ausgeprägt [TITZE und ILBERG 2010].	181
Abbildung 5.52. Partikelgrößenverteilungen als Intensitätssummenkurve filtrierter Würzproben vor Kochbeginn, nach 20 Minuten, nach 60 Minuten und nach 120 Minuten Kochzeit. Im Laufe der Kochung nimmt die Vergrößerung der Partikel in der Würze durch Agglomeration zu. Anhand der Vergrößerung in Ausschnitt A lässt sich eine signifikante Änderung der Partikelgrößenverteilung zu Kochbeginn (0 Minuten) und nach 120 Minuten Kochzeit im Messbereich von 100 nm bis knapp 400 nm erkennen [eigene Darstellung].	183
Abbildung 5.53. Partikelgrößenverteilung als Intensitätssummenkurve eines untergärigen, filtrierten Biers vor und nach dem Kurzeiterhitzer [TITZE et al. 2010a].	185
Abbildung 5.54. 90°-Trübungswerte eines unbehandelten (◆) und eines kurzeiterhitzten Biers (■) sowie die Trübungsdifferenz (▲) zwischen beiden. Die rote Strichlinie skizziert den Trübungsverlauf [TITZE et al. 2010a].	186
Abbildung 5.55. Partikelgrößenverteilungen als Intensitätssummenkurve von Weißbier ohne KZE-Behandlung und nach einer KZE-Behandlung bei 60 °C, 70 °C und 80 °C. Mit zunehmender Temperatur im Kurzeiterhitzer verschwindet der detektierbare Feinanteil und die Vergrößerung der Partikel nimmt zu [TITZE et al. 2010a].	187
Abbildung 5.56. Ladungstitrationskurven, dargestellt als charakteristische Funktionen eines Weißbiers ohne (A) und nach thermischer Behandlung durch eine KZE. Im Zuge der Wärmebehandlung findet eine Ladungsumkehr vom negativen zum positiven Potential statt [TITZE et al. 2010a].	188
Abbildung 5.57. Titrationskurven von fünf unterschiedlichen Grundstoffen für Apfelsaftschorlen. Die Proben A1, A2 und A5 wurden gushing-positiv getestet. Ihre Mengen an titrierbarer Ladung lag bei $\geq 2,5$ ml. Für Probe A2 waren fast 4 ml bis zum Nullpunkt an titrierbarem Volumen notwendig. A3 und A4 hingegen zeigten kein Gushing und lagen mit etwa 2 ml titrierbarem Volumens deutlich darunter [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].	190
Abbildung 8.1. Ausschnitt „Ausführung“ des Kapitels 2.15.2.1 Forciermethode der Brautechnischen Analysenmethode der MEBAK [MIEDANER 2002].	222
Abbildung 8.2. Grenzkonzentrationen für Gold-, Silber-, Platin-, Polystyrol- und Kieselgel-Partikel sowie für biologische Partikel wie Poly-DADMAC, in Abhängigkeit der noch detektierbaren Partikelgröße des verwendeten Messsystems, Nanotrac Ultra von Microtrac der Partikel Metrix GmbH, Meerbusch [PLANZT 2006].	222
Abbildung 8.3. Ladungstitrationskurven, dargestellt als charakteristische Funktionen von Molkenprotein-Wasserlösungen in unterschiedlichen Molkenproteinkonzentrationen. Mit sinkender Molkenproteinkonzentration nimmt das titrierte Volumen ab, wogegen das Anfangspotential ansteigt [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010].	223
Abbildung 8.4. Ausscheidung von hitzeokoagulierbarem Eiweiß während der Aufheizphase auf Kochtemperatur: Der undurchsichtigen und trüben Würze (A) wurde während des Aufheizens Hopfen zugegeben (B). Zunächst sind sehr feine Formen des Bruchs erkennbar (B), die mit der Zeit zu gröberer Ausscheidungen agglomerieren (C), um schließlich als voluminöse Agglomerate auszufallen (D). Die Würze wurde mit einem Labor-Heizpilz in einem 5-Liter-Kolben erhitzt [eigene Darstellung].	224

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1.	Bezeichnungen für Dispersionen je nach Aggregatzustand von Dispersionsmittel (kontinuierlicher Phase) und disperser Phase [modifiziert nach SONNTAG 1977].	6
Tabelle 2.2.	Partikel (Beispiele) im Größenvergleich anhand ihrer Äquivalentdurchmesser [TITZE et al. 2010b].	9
Tabelle 3.1.	Richtwerte der elektrischen Leitfähigkeit ausgewählter Flüssigkeiten für einen Temperaturbereich von $20\text{ °C} \leq T \leq 25\text{ °C}$ [HÜTTER 1988, SCHWISTER 2003, HAMANN und VIELSTICH 2005, SCHWEDT 2008, THUM 2008, HYFOMA 2008].	52
Tabelle 3.2.	Leitfähigkeiten einer wässrigen KCl-Lösung in Abhängigkeit der Temperatur [KOHLEBAUM 1996].	57
Tabelle 3.3.	Richtwerte der Mineralien und Spurenelemente, angegeben als Mittelwerte pro 100 g essbarem Anteil [SOUCI et al. 2008].	64
Tabelle 4.1.	Temperaturen und Dauer der Aufheiz- und Heißhaltephase sowie die errechneten Pasteureinheiten des KZE-Laborversuchs für die KZE-Einstellungen $60\text{ °C}$ , $70\text{ °C}$ und $80\text{ °C}$ [TIESCH 2008].	97
Tabelle 4.2.	Würzgranulatkonzentration in $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ zum Einstellen einer gewünschten Extraktkonzentration [eigene Messungen].	99
Tabelle 4.3.	Analysenwerte einer 11,75 %igen Würze nach den Analysemethoden MEBAK, EBC sowie LUSTIG und FORSTER [eigene Messungen, Methoden nach: LUSTIG 1994, FORSTER 1996, PFENNINGER 1996, EBC 1998, MIEDANER 2002].	100
Tabelle 5.1.	Ergebnisbereich von Potential und titriertem Volumen, bestimmt mit einem PLD für sowohl stark und schwach stabilisierte, als auch frische und gealterte Biere bei $n = 604$ Bierproben. Es wurden ausschließlich Biere mit Partikeln negativer Oberflächenladungen gemessen, daher trägt das Potential ein negatives Vorzeichen. Maximal- und Minimalwert des Potentials werden als Absolutwerte (Beträge) betrachtet [eigene Messungen].	119
Tabelle 5.2.	Ergebnisse der Wiederholungsmessungen ( $n = 5$ ) für das Potential von fünf unterschiedlichen Bieren. Aus den Werten der Einzelmessungen errechnen sich der Mittelwert und die Einzelstandardabweichung [eigene Messungen].	119
Tabelle 5.3.	Ergebnisse der Wiederholungsmessungen ( $n = 5$ ) für das titrierte Volumen von fünf unterschiedlichen Bieren. Aus den Werten der Einzelmessungen errechnen sich der Mittelwert und die Einzelstandardabweichung [eigene Messungen].	120
Tabelle 5.4.	Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.16 [TITZE et al. 2010b].	126
Tabelle 5.5.	Änderung des pH-Werts während der Ladungstitration unterschiedlicher Bierproben [eigene Messungen].	129
Tabelle 5.6.	Determinationskoeffizienten $R^2$ und gemittelte Standardabweichungen ( $s_1$ ) der Messwerte der Einzeltitrationskurven (Dreifachbestimmung) zu denen der Mittelwertskurve sowie die Standardabweichung ( $s_2$ ) der Abweichungen zwischen Mittelwertskurve und charakteristischer Funktion $f_c$ für die Ladungstitrationskurven aus Abbildung 5.27 nach jedem Warntag und deren Gesamtmittelwert [TITZE et al. 2007a].	143
Tabelle 5.7.	Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.29 [eigene Messungen].	146
Tabelle 5.8.	Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.31 sowie der gemessenen Leitfähigkeiten der Bierproben [TITZE et al. 2010b].	148

Tabelle 5.9.	Ergebnisse der Referenzanalyse aus Ladungstitration und Bieranalyse, berechnet als Mittelwert von Bierproben gleicher Charge ( $n = \text{Anzahl der Messungen}$ ) [modifiziert nach MÜLLER 2011].	151
Tabelle 5.10.	Gewünschter Alkoholgehalt, dosierte Ethanolmenge pro 500 ml Bierprobe (berechnet mit Mischungsformel) und tatsächlich eingestellter Alkoholgehalt sowie Leitfähigkeit und pH-Wert der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].	152
Tabelle 5.11.	Gewünschter pH-Wert, dosierte HCl- bzw. NaOH-Mengen auf 500 ml Bierprobe und tatsächlich eingestellter pH-Wert sowie die Leitfähigkeit der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].	155
Tabelle 5.12.	Füll- und Kopfraumvolumen, ermittelter Z-Wert nach MEBAK und daraus berechnete Sauerstoffkonzentration in der jeweiligen Bierprobe sowie pH-Wert und Leitfähigkeit der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].	158
Tabelle 5.13.	Potential und titriertes Volumen der verdünnten und unverdünnten Bierproben. Aus dem Potentialwert und dem entsprechenden titrierten Volumen der verdünnten Biere errechnet sich nach Gleichung 5.5 der Stabilitätswert. Zusätzlich sind Trübungszunahme und Bestimmtheitsmaß der Proben aufgeführt [modifiziert nach MÜLLER 2011].	170
Tabelle 5.14.	Änderungen des pH-Werts und des Extrakts über die Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010].	175
Tabelle 5.15.	Potential und titriertes Volumen von untergärigem, filtrierten Bier vor und nach der Kurzzeiterhitzung im Laufe der Abfüllung [TITZE et al. 2010a].	184
Tabelle 8.1.	Elektrische Leitfähigkeit $\kappa$ wässriger Lösungen bei 20 °C in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ in Abhängigkeit des Massegehalts $p$ der Lösung als Salz (Salze sind wasserfrei gerechnet.) [KOHLRAUSCH 1968b].	215
Tabelle 8.2.	Äquivalentleitfähigkeiten $\Lambda_{\text{eq}}$ verschiedener wässriger Elektrolytlösungen bei 25 °C in Abhängigkeit der Äquivalentkonzentration $c_{\text{eq}}$ [CRC 1968/1969].	216
Tabelle 8.3.	Technische Daten des CAS Partikelladungsmesssystems, Typ Charge Analyzing System der AFG Analytic GmbH, Leipzig [AFG 2008].	216
Tabelle 8.4.	Technische Daten des Partikelladungsdetektors, Typ StabiSizer <sup>®</sup> der Particle Metrix GmbH, Meerbusch [PARTICLE METRIX 2007].	217
Tabelle 8.5.	Technische Daten des Messumformers MPC 227 pH/Conductivity meter von Mettler-Toledo GmbH, Gießen (Deutschland) [METTLER TOLEDO 2000].	217
Tabelle 8.6.	Technische Daten des Sensorelements InLab <sup>®</sup> 730 von Mettler-Toledo GmbH, Gießen (Deutschland) [METTLER TOLEDO 2004].	218
Tabelle 8.7.	Technische Daten des Messumformers Universal-Taschenmessgerät Multi 340i von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 2001, WTW 2008/2009].	218
Tabelle 8.8.	Technische Daten des Sensorelements Standard Leitfähigkeitsmesszelle TetraCon <sup>®</sup> 325 von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 1995, WTW 2008a].	219
Tabelle 8.9.	Technische Daten des Sensorelements SenTix <sup>®</sup> 41-3 pH-Messkette von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 2008a, WTW 2008/2009].	219
Tabelle 8.10.	Technische Daten des Sensorelements pH-Einstabmess EGA133/BNC (Sonderanfertigung) von Meinsberg GmbH, Leipzig (Deutschland) [AFG 2008].	220

Tabelle 8.11.	Technische Daten des Labortrübungsmessgeräts LabScat von SIGRIST PHOTOMETER AG, Ennetbürgen (Schweiz) [SIGRIST-PHOTOMETER AG 2000]. .....	220
Tabelle 8.12.	Analysenergebnisse einer Bierprobe im Langzeitalterungstest über einen Zeitraum vom 15.12.2006 bis 25.04.2007 [TITZE et al. 2008c, TITZE et al. 2009a]. .....	221

## 1 Einleitung

### 1.1 Einführung in die Problematik

Die Gewährleistung einer konstanten Bierqualität zählt heutzutage zu den größten Herausforderungen der Brauindustrie und ist zugleich der wichtigste Erfolgsfaktor für Brauereien. Dabei bildet die Produktstabilität die zentrale Voraussetzung für eine objektive Bierqualität, deren Überprüfung die Hauptaufgabe der Bieranalytik darstellt. Die wesentlichen drei Stabilitätsparameter sind Geschmacksstabilität, mikrobiologische und chemisch-physikalische Stabilität. Die Erhaltung letzterer gewinnt für filtrierte Biere angesichts längerer Distributionswege durch Exportgeschäfte sowie steigender Anforderungen an Garantiezusagen gegenüber Handel und Endverbraucher immer mehr an Bedeutung. Ein vorzeitiges Trübwerden kann vom Verbraucher sofort wahrgenommen werden. Dies hat wiederum den Verlust der Verkehrsfähigkeit zur Folge.

Die chemisch-physikalische Stabilität wird auch als kolloidale Stabilität bezeichnet und in der Literatur als Resistenz filtrierter Biere gegenüber Trübungsneigung definiert [KUNZE 2011]. Um die kolloidale Stabilität des Biers über den gesamten Mindesthaltbarkeitszeitraum zu gewährleisten, sind Filter(hilfs)- und Stabilisierungsmittel unumgänglich. Können damit über mehrere Monate trübungsstabile, glanzfeine Biere hergestellt werden, so führt ihr Einsatz zu wesentlichen Verlusten wertgebender Inhaltsstoffe. Besonders Polyphenole sind mit einem positiven Geschmackseindruck sowie antioxidativen Eigenschaften und ernährungsphysiologischer Bedeutung assoziiert [BAMFORTH 1999]. Gerade die Eigenschaft der Polyphenole als Antioxidantien ist seit langem vom Rotwein bekannt und geschätzt [WALKER et al. 2001]. Neben den Nachteilen einer Stabilisierung kommt hinzu, dass bis heute keine adäquaten Vorhersagemodelle der zu erwartenden kolloidalen Stabilität existieren. Die Brauereien sind also nach wie vor gezwungen, „blind“ zu stabilisieren [PÖSCHL 2008]. Dies verursacht aber unnötige Kosten.

Filtriertes Bier stellt ein Zweiphasensystem dar, in dessen Kontinuum (Wasser-Ethanol-Gemisch) sich neben echt gelösten Substanzen auch eine Vielzahl kolloidal gelöster Moleküle befindet. Bier enthält über 450 Bestandteile, die Makromoleküle ausbilden [STEINER et al. 2011], wobei den proteinischen Substanzen kolloidchemisch die größte Bedeutung zukommt [Narziss 2004, LEIPER und MIEDL 2009]. In vielen Forschungsberichten gelten Proteine und Polyphenole als Haupttrübungsbildner [GOMEZ und LEWIS 1969, GRAMSHAW 1969, GRAMSHAW 1970a, GRAMSHAW 1970b, DADIC und BELLEAU 1980, WACKERBAUER und ANGER 1984, LUCK et al. 1994, CHARLTON et al. 2002, SIEBERT 2006].

Bedingt durch die Fülle trübungsbildender Faktoren, welche die Kinetik der Trübungsbildung beeinflusst, gestaltet sich die Vorhersage der Langzeitstabilität äußerst schwierig. Bereits einige Versuche wurden unternommen, durch gezielte Rohstoffauswahl oder prozess-technische Eingriffe, Problemlösungen für die Praxis zu finden [PAPP 2000, KUSCHE 2005, PÖSCHL 2008]. Bis heute konnten jedoch keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen bestimmten Substanzen, Stoffgruppen oder Prozessschritten und der realen Stabilität des Biers nachgewiesen werden, die eine allgemeingültige Vorhersage erlauben.

Zudem werden entscheidende Einflussparameter auf die Trübungsbildung, wie Stabilisierung, Filtration, Sauerstoffeintrag am Füller oder Kurzzeiterhitzung erst zum Abschluss der Bierherstellung wichtig.

## 1.2 Aktuelle Ausgangssituation und Zielsetzung der Arbeit

Im Zuge routinemäßiger Qualitätskontrollen bleibt den Brauereien nach wie vor nur das bereits fertig abgefüllte Produkt, um die tatsächliche Langzeitstabilität des Biers zu beurteilen. Hierfür wurden eine Reihe von Testmethoden entwickelt [CHAPON 1994, MCMURROUGH und BAERT 1994, O`ROURKE 1994, BAMFORTH 1999, SIEBERT 1999b, SCHNEIDER und RASKE 2000, MIEDANER 2002]. In der Praxis findet die Methodik des Forciertests am häufigsten Anwendung. Durch Lagern bei erhöhten Temperaturen wird der natürliche Alterungsprozess des Biers künstlich beschleunigt, um damit den tatsächlichen Alterungszeitraum des Biers und eine mögliche Instabilität vorherzusagen. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ergebnisse des Forciertests nicht grundsätzlich mit denen der tatsächlichen Haltbarkeitsdauer in Bezug auf die Trübungsfreiheit des Bieres korrelieren müssen [CHAPON 1994]. Trotzdem werden Forciermethoden heutzutage noch immer eingesetzt, da sie nicht zuletzt einen brauchbaren Indikator darstellen, um unterschiedlich stabilisierte Produkte oder Filterhilfsmittelzugaben vergleichbar zu machen.

Dennoch bringen Forciertests einen entscheidenden Nachteil mit sich: Der Durchführungszeitraum der Analyse kann sich auf mehrere Tage erstrecken. Je nach Version der Testmethode, beträgt die Analysendauer im Mittel 4 bis 10 Tage [VLB 2007]. Um den Zeitraum zwischen Abfüllung und Ergebnisbeurteilung der kolloidalen Stabilität entscheidend zu verkürzen, wurden immer wieder Modifikationen des Forciertests publiziert [SCHUR 1980b, LUDWIG et al. 1986, NARZISS 1994, MCMURROUGH et al. 1999, PAPP 2000, MIEDANER 2002]. Keine der Varianten brachte jedoch eine signifikante Zeitersparnis.

Die hohe Komplexität der Biermatrix ist ausschlaggebend dafür, dass es sich äußerst schwierig gestaltet, die Trübungsneigung des Biers vorauszusagen. Auch die Suche nach Leitsubstanzen als Hauptverursacher der Trübung mit allgemeingültiger Aussagekraft blieb demnach weitestgehend erfolglos. Möglicherweise ist schon allein der Versuch aussichtslos, das multivariante System Bier auf Stoffebene, also aus molekularer Sicht, vollständig zu erfassen. Aus diesem Grund wird ein anderer Ansatz für die Betrachtung der kolloidalen Stabilität gewählt.

Als Zweiphasensystem ist Bier eine Dispersion, die als physikalisch stabil gilt, solange sich ihre Partikelgrößenverteilung mit der Zeit nicht oder nur geringfügig ändert [DROST 1999, HOFMANN 2004]. Bei physikalisch instabilen Dispersionen wächst hingegen während der Beobachtungszeit die Partikelgröße an, da die Kolloide ihre Gesamtoberfläche aus thermodynamischen Gründen nach außen hin durch gegenseitiges Aneinanderlagern minimieren [ATKINS und PAULA 2006]. Der Wechselwirkungsprozess der Partikel wird neben äußeren Faktoren maßgeblich von den Oberflächeneigenschaften der Partikel beeinflusst. Hierbei zählen Grenzflächenerscheinungen, wie das Auftreten von Oberflächenladungen zu den wichtigsten Phänomenen. Sie sind für die Stabilität kolloidaler Systeme mitverantwortlich und gelten als Stabilitätsmaß einer Dispersion.



Ein Verfahren zur Bestimmung von Oberflächenladungen beruht auf der titrimetrischen Analyse elektrischer Ladung von Partikeln mittels Partikelladungsdetektor (PLD). Diese Messmethode wurde erstmals von GERDES 1966 vorgestellt [GERDES 1966] und von SCHEMPP et al. für den Einsatz von Polyelektrolyttitrationsen weiter entwickelt [SCHEMPP und TRAU 1981, SCHEMPP et al. 1982]. Bekannt auch als Ladungstitrationsmethode wurde sie bereits als erfolgreiche Messtechnik insbesondere in der Routineanalytik und Qualitätssicherung der Papierindustrie [PATTON und LEE 1993, STATTER und EISENSCHMID 1993] oder in der Abwasserbehandlung [DENTEL und KINGERY 1988] eingesetzt. Auch in der Lebensmittelanalytik beispielsweise für die Schönung von Säften [DIETRICH et al. 1991] oder zur Gushingkontrolle von Sekt [BACH et al. 2001] findet sie Anwendung. Lediglich Ende der 90er Jahre wurde über Ansätze der Ladungstitrationsmethode zur Beschreibung der Partikelladung im Bier und in der Bierbereitung [LEATHER et al. 1997, RASKE 2000] berichtet. In diesen Arbeiten wurde allerdings nur die titrierbare Gesamtladung und nicht das PLD-Messsignal selbst als Messgröße verwendet. Das Signal resultiert aber aus einem elektrokinetischen Effekt, der zwangsläufig mit den Größen elektrophoretischer Mobilität bzw. Zeta-Potential in enger Verbindung steht [MÜLLER 1996]. Diese Beziehung soll unter bestimmten Voraussetzungen und Randbedingungen als eine zusätzliche Abschätzung der Stabilitätseigenschaften filtrierter Biere evaluiert werden. Bereits ILBERG nutzte die Verbindung in seinen Arbeiten zur Untersuchung des Abscheidemechanismus von Partikeln an Membranen [ILBERG 1996].

Um diese Technik insbesondere unter dem Gesichtspunkt der neusten Erkenntnisse der Wissenschaft für die Verwendung in der Brauanalytik nutzbar zu machen, leitet sich die folgende Aufgabenstellung ab, nämlich die Erarbeitung der

***theoretischen und praktischen Aspekte bei der Anwendung der Ladungstitrationsmethode zur schnelleren Vorhersagbarkeit der kolloidalen Stabilität untergäriger Biere.***

Die Ladungstitrationsmethode fällt in den Bereich der Kolloidchemie, die sich mit physikalischen und chemischen Eigenschaften disperser Systeme sowie Grenzflächenerscheinungen beschäftigt. In der Brauwissenschaft fand dieses multidisziplinäre Gebiet bislang nur wenig Beachtung. Deshalb wird unter anderem ein Schwerpunkt auf die theoretische Erarbeitung einer kolloidchemischen Beschreibung der chemisch-physikalischen Stabilität des komplexen Systems Bier gelegt. Aufbauend darauf soll die Evaluierung der praktischen Umsetzung der Ladungstitrationsmethode für die routinemäßige Qualitätskontrolle zur Vorhersage der kolloidalen Stabilität untergäriger Biere einen weiteren Schwerpunkt darstellen.

### 1.3 Schwerpunkte der Arbeit

Bei der Bearbeitung der Aufgabenstellung wurde großen Wert auf eine vollständige theoretische Betrachtung der Dispersion Bier aus kolloidchemischer Sicht gelegt. Deren chemisch-physikalische Stabilität hängt sowohl von der Beschaffenheit der elektrischen Doppelschicht ab, als auch von zwischenpartikularen Wechselwirkungen nach DLVO-Theorie. Die einzelnen Schwerpunkte der Arbeit gliedern sich in insgesamt sechs Abschnitte.

Nach der **Einleitung** gibt **Kapitel 2** (Kolloidchemie) eine Einführung in die Grundlage der Partikelanalytik. Dazu gehört zunächst die Aufarbeitung von Gegenstand und Abgrenzung der Kolloidchemie. Im Anschluss daran wird Bier als ein kolloidales System definiert, in dem sich Partikel über Größe, Oberfläche und Oberflächenladung charakterisieren lassen. Weiterhin werden die Theorie der elektrischen Doppelschicht und das Zeta-Potential diskutiert. In komprimierter Form werden außerdem die wichtigsten Aspekte der DLVO-Theorie sowie elektrokinetische Effekte erläutert. Auf die Beschreibung der physikalischen Stabilität von Dispersionen wird insbesondere im Hinblick auf die kolloidale Bierstabilität eingegangen, für die hauptsächlich proteinische Substanzen verantwortlich sind.

**Kapitel 3** (Elektrochemie) befasst sich mit der Beschreibung und Herleitung der Grundlagen elektrochemischer Analysenmethoden. Hierbei wird besonders auf die elektrische Leitfähigkeit und den pH-Wert des Biers sowie deren messtechnische Erfassung eingegangen. Das sind die entscheidenden Einflussgrößen auf Partikeloberflächenladung und Beschaffenheit der elektrischen Doppelschicht. In diesem Zusammenhang wird auch die Eigenschaft von Bier und Würze als Puffersysteme besprochen.

Die theoretisch erarbeiteten Ergebnisse der Kapitel 2 und 3 ermöglichen in **Kapitel 4** (Material und Methoden) eine vollständige Beschreibung des Messprinzips der Ladungstitrationsmethode, angefangen von der Probenvorbereitung bis hin zur Ausbildung des Messsignals. Zusätzlich erfolgt eine Berechnung der Strömungsverhältnisse im Messspalt. Alle weiteren Messeinrichtungen, Analysenmethoden und Materialien, die in dieser Arbeit zum Einsatz kommen, werden ebenfalls in diesem Kapitel beschrieben.

In **Kapitel 5** (Ergebnisse und Diskussion) werden die Ergebnisse der praktischen Umsetzung der Ladungstitrationsmethode aufgezeigt und diskutiert. Dies beinhaltet auch die Darstellung der konzeptionell aufgebauten Versuchsabläufe. Zunächst werden die Einflüsse auf die Signalauswirkung und die Präzision der Ergebnisse geprüft. Anschließend folgt eine Charakterisierung unterschiedlich stabilisierter Biere während der Alterung. Mit Hilfe von Modellbieren werden aus der Literatur bekannte Einflussgrößen auf die kolloidale Stabilität experimentell untersucht. Fokussiert wird dabei die Evaluierung der Vorhersagbarkeit der kolloidalen Bierstabilität. In diesem Zusammenhang erfolgt auch eine kritische Betrachtung der Grenzen der Ladungstitrationsmethode. Den Abschluss bildet die Vorstellung drei weiterer Applikationsbeispiele der Ladungstitrations in der Brau- und Getränkeanalytik.

Abschließend stellt die **Zusammenfassung** die Erkenntnisse aller gewonnenen Ergebnisse dar.

## 2 Kolloidchemie (Grundlagen der Partikelanalytik)

### 2.1 Gegenstand und Abgrenzung

Die Kolloidchemie ist ein multidisziplinäres Gebiet innerhalb der physikalischen Chemie. Sie beschäftigt sich mit physikalischen und chemischen Eigenschaften disperser Systeme sowie Grenzflächenerscheinungen, bei denen der Phasengrenzzustand die Eigenschaften maßgeblich bestimmt [SONNTAG 1977]. Die Kolloidchemie ist mit der Grenzflächenchemie sehr eng verbunden, so dass oft von einer Kolloid- und Grenzflächenforschung gesprochen wird.

Der Begriff Kolloid ist abgeleitet vom griechischen Wort Kolla = Leim und wurde erstmals von GRAHAM vorgeschlagen [GRAHAM 1861]. Er nahm an, dass bestimmte Eigenschaften dieser Materie wie die Diffusionsgeschwindigkeit durch Membranen auf der Amorphität oder Leimartigkeit des Stoffs beruhen. Bei anderen Materien wurden diese Eigenschaften bisher eher auf ihre Kristallinität zurückgeführt [SONNTAG 1977, HORN 1998]. Deshalb wurden fortan die Begriffe Kolloid und Kristalloid unterschieden. Die unklare Begriffsbildung führte jedoch zu einem Streit zwischen Wissenschaftlern. Während die einen unter einem kolloidalen Zustand die Verteilung von mikroskopisch unsichtbaren Teilchen verstanden (Heterogenitätstheorie), definierten die Vertreter der Lösungstheorie ein kolloidales System als echte Lösung mit außergewöhnlich hohem Molekulargewicht [HORN 1998]. Heute ist bekannt, dass kolloidale Lösungen heterogene Systeme mit sehr kleinen, fein verteilten und im Lichtmikroskop unsichtbaren Teilchen darstellen [HORN 1998].

Kolloidale Lösungen sind einerseits keine echten molekulardispersen Lösungen, andererseits auch keine grobdispersen Suspensionen. Diese Zwischenstellung macht die Besonderheit der Kolloidchemie aus. Sie beschäftigt sich nicht mehr mit dem Charakterisieren und Optimieren diskreter Moleküle. Vielmehr werden komplexe molekulare Systeme beschrieben, hergestellt oder modifiziert, zu denen einzelne Moleküle ihre funktionellen Beiträge leisten. Die Kolloidchemie ist folglich ein Bindeglied zwischen der Festkörperchemie/-physik, die sich mit den Eigenschaften der kondensierten Materie befasst und der molekularen Chemie/Physik, die Atome und Moleküle untersucht. Abbildung 2.1 stellt diese Verbindung bildlich dar.

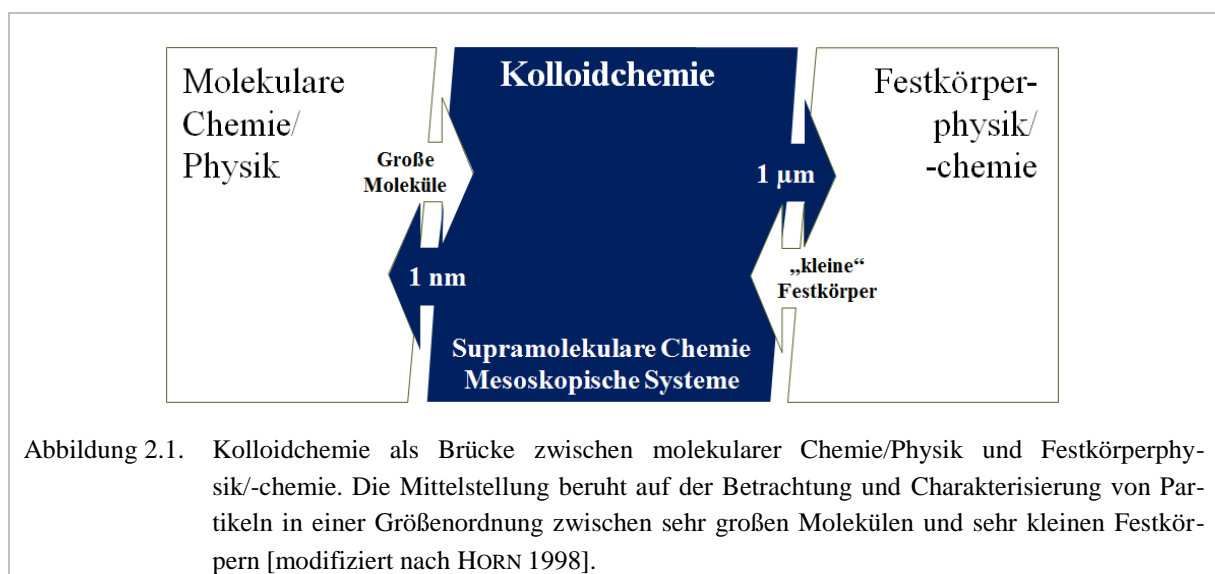


Abbildung 2.1. Kolloidchemie als Brücke zwischen molekularer Chemie/Physik und Festkörperphysik/-chemie. Die Mittelstellung beruht auf der Betrachtung und Charakterisierung von Partikeln in einer Größenordnung zwischen sehr großen Molekülen und sehr kleinen Festkörpern [modifiziert nach HORN 1998].

Kolloidale Systeme bestehen immer aus einem homogenen Dispersionsmedium oder -mittel und einem darin feinteilig dispergierten Stoff [SONNTAG 1977, HORN 1998]. Grundsätzlich lassen sich unterschiedliche Dispersionen je nach Aggregatzustand der dispersen Phase und des Dispersionsmittels differenzieren. Tabelle 2.1 führt die unterschiedlichen Bezeichnungen für Dispersionen in Abhängigkeit des Aggregatzustands der kontinuierlichen und dispersen Phase auf.

Tabelle 2.1. Bezeichnungen für Dispersionen je nach Aggregatzustand von Dispersionsmittel (kontinuierlicher Phase) und disperser Phase [modifiziert nach SONNTAG 1977].

kontinuierliche Phase	disperse Phase	Bezeichnung
gasförmig	flüssig	Aerosol (flüssige Teilchen), Dunst, Nebel
gasförmig	fest	Aerosol (feste Teilchen), Rauch, Staub
flüssig	gasförmig	Schaum
flüssig	flüssig	Emulsion
flüssig	fest	(Feststoff-)Dispersion (Sol, Suspension, Schlicker, Paste)
fest	gasförmig	fester Schaum
fest	flüssig	feste Emulsion, Gel
fest	fest	festes Sol, Fest-Fest-Dispersion, Legierung

Eine weitere Einteilung disperser Systeme kann anhand des Teilchendurchmessers der dispersen Phase vorgenommen werden. Der Durchmesser stellt die Dispersionsgröße dar, die sich je nach Feinheit in drei unterschiedliche Dispersionsgrade unterteilt [HOLLEMANN und WIBERG 1995]:

1. grobdisperses System (Teilchendurchmesser  $>1 \mu\text{m}$ ),
2. kolloiddisperses System (Teilchendurchmesser 1-100 nm) und
3. molekulardisperses System (Teilchendurchmesser  $<1 \text{ nm}$ ).

Heute ist die Kolloidchemie sehr weit verbreitet und wird besonders in Chemie, Technik und Medizin angewendet [PLATIKANOV und EXEROWA 2009]. In der Brauwissenschaft ist die Betrachtungsweise der Kolloidchemie bislang eher selten zu finden. Eine besondere Schwierigkeit, welche die Erforschung der Kolloide lange behinderte, ist ihre messtechnische Erfassung. Außerdem hat sich die klassische Brauanalytik bisher entweder mit molekularer Chemie, z. B. der Maillardreaktion beim Würzekochen, oder der Beschreibung von Festkörpereigenschaften, beispielsweise der Rheologie der Maische, befasst. Mit Hilfe der Kolloidchemie kann diese Lücke in der Brauwissenschaft geschlossen werden, siehe dazu Abbildung 2.1.

## 2.2 Bier als kolloidales System

Filtriertes Bier stellt mikroskopisch ein Zweiphasensystem dar. Hier kann das Lösungsmittel als Kontinuum betrachtet werden, das durch seine makroskopischen Größen charakterisiert ist. Bei einem klassischen Vollbier ist das Kontinuum ein Wasser-Ethanol-Gemisch. Bier ent-

hält neben echt gelösten Substanzen auch eine Vielzahl kolloidal gelöster Moleküle und Molekülverbände. Diese Kolloidpartikel können aus einer Reihe von Komponenten bestehen, wobei proteinischen Substanzen die größte Bedeutung zukommt [NARZISS 2004].

Die Grundüberlegung zu Gemeinsamkeiten aller Getränke hinsichtlich ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften führt zu folgender Allgemeindefinition [TITZE et al. 2010b]:

*Ein Getränk ist eine Flüssigkeit, in der neben echt gelösten Substanzen Kolloide dispergiert oder emulgiert vorliegen.*

Für Bier lässt sich diese Definition erweitern [TITZE et al. 2008a]:

*Bier ist ein kolloiddisperses, elektrolythaltiges Wasser-Ethanol-Gemisch, dessen kontinuierliche Phase flüssig und die dispergierte Phase fest ist.*

Gemäß der Zuordnung in Tabelle 2.1 können die Bezeichnungen Suspension oder allgemein Dispersion verwendet werden.

Die Eigenschaften einer Dispersion werden durch die Wechselwirkungen der Kolloide bestimmt. Kolloidale Systeme zeichnen sich grundsätzlich durch ihre gleichmäßige Verteilung aus. Diese bleibt in einem definierten Beobachtungszeitraum nahezu unverändert, da sie durch zwischenpartikuläre Wechselwirkungen zunächst stabilisiert wird [DROST 1999, HOFMANN 2004]. Dispersionen gelten dann als physikalisch stabil, wenn sich ihre Partikelgrößenverteilung mit der Zeit nicht oder nur geringfügig ändert. Bei physikalisch instabilen Dispersionen wächst während einer Beobachtungszeit die Teilchengröße. Blank filtriertes Bier wird nach einer bestimmten Zeit trüb, so dass von einer physikalisch instabilen Dispersion gesprochen wird. Ursache hierfür ist die relativ große Oberfläche der im Bier gelösten Kolloide. Aus thermodynamischen Gründen verkleinern sie ihre nach außen hin wirksame Gesamtoberfläche durch gegenseitiges Aneinanderlagern [ATKINS und PAULA 2008].

### 2.3 Kolloide und Partikel

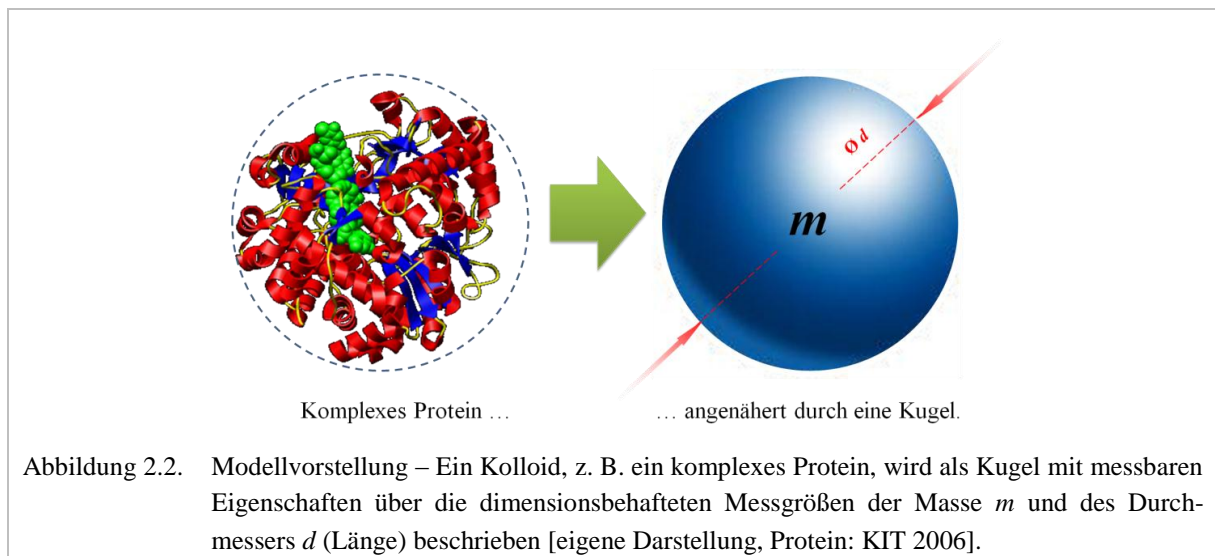
Die besonderen Eigenschaften und Nutzungsmöglichkeiten der Kolloide begründen sich auf ihrer Mittelstellung zwischen sehr großen Molekülen und sehr kleinen Festkörpern, siehe dazu Abbildung 2.1 [HORN 1998]. WILHELM OSTWALD definierte kolloidale Systeme als Dispersionen, in denen die Größe kugelförmig gedachter Teilchen zwischen 1 nm und 100 nm liegt. Die klassische physikalische Chemie beschreibt ein Kolloid oder eine disperse Phase als Dispersion sehr kleiner Teilchen einer Substanz in einer anderen. Der entsprechende Teilchendurchmesser beträgt maximal 500 nm [ATKINS und PAULA 2006]. Diese Größenordnung befindet sich im Bereich der Wellenlänge des sichtbaren Lichts. Die IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) bezeichnet Kolloide als Objekte mit mindestens 1 nm und höchstens 1 µm Größe [IUPAC 2002].

Oft zählen Teilchen, die in einem Dispersionsmedium fein verteilt und typischerweise zwischen 1 nm und 10 µm groß sind, auch zu Kolloiden. Die Bandbreite dieser Größenordnung verdeutlicht die fließende Grenze von Kolloidsystemen zu molekulardispersen, „echten“ Lösungen und zu grobdispersen Suspensionen.

### 2.3.1 Partikelgröße

Die Teilchengröße allein ist jedoch nicht entscheidend für die Eingliederung eines Stoffs in die Kolloidchemie. Auch Teilchen mit größerer und kleinerer Abmessung können eine bedeutende Rolle im filtrierten Bier spielen. Deshalb erscheint der Definitionsbegriff des Kolloids im Hinblick auf die notwendige Teilchengröße nicht ganz zutreffend. Im Bier beispielsweise befinden sich nach der Filtration hauptsächlich Teilchen mit einer Größe kleiner 450 nm. Die Definition wäre hier also nur eingeschränkt gültig. In der vorliegenden Arbeit wird daher der Begriff Partikel verwendet, um Missverständnisse zu vermeiden. Grundsätzlich können mit diesem Begriff Teilchen im stofflichen Sinne bezeichnet werden, also Teilchen von Stoffen in Naturwissenschaft und Technik.

Kolloidteilchen besitzen einerseits Eigenschaften echt gelöster Moleküle und andererseits Eigenschaften diskreter Partikel mit großer Oberfläche [DIETRICH et al. 1991]. Abbildung 2.2 zeigt ein Modell, das Partikel durch eine Kugel mit ihren dimensionsbehafteten Messgrößen wie Masse und Durchmesser (Länge) darstellt. Hiermit können Kolloide besser als diskrete Partikel beschrieben werden [TITZE et al. 2010b].



Mit Hilfe dieser Modellvorstellung können Partikel anhand ihrer Größe leicht verglichen werden. Die Partikelgröße, gültig für kugelförmig gedachte Geometrien, wird mittels Äquivalentdurchmesser<sup>2</sup> beschrieben.

In der vorliegenden Arbeit wird vereinfacht nur noch vom Partikeldurchmesser oder der Partikelgröße  $d$  gesprochen. Zur Orientierung sind in Tabelle 2.2 typische Größenordnungen einzelner Partikel aufgeführt.

<sup>2</sup> Der Äquivalentdurchmesser ist ein Maß für die Größe eines unregelmäßig geformten Partikels wie die eines Proteins [JENNINGS und PARSLOW 1988].


Tabelle 2.2. Partikel (Beispiele) im Größenvergleich anhand ihrer Äquivalentdurchmesser [TITZE et al. 2010b].

Partikel (Beispiel)	Größe $d$ [nm]
kleinstes Bakterium	ca. 200
Virus	>25
Protein	ca. 3-20
Peptid	ca. 1-5
Breite eines DNS-Strangs	ca. 2
einzelnes Atom	ca. 0,2-0,4

Die Modellvorstellung spiegelt die tatsächliche Form dieser Teilchen in der Praxis außerdem nahezu wahrheitsgetreu wider.

### 2.3.2 Partikeloberfläche

Unter Betrachtung der geringen Partikelgröße ist ihre spezifische Oberfläche enorm. Sie erreicht pro Gramm leicht die Größe eines Fußballfelds [HORN 1998]. Anhand der beschriebenen Modellvorstellung des kugelförmigen Partikels in Kapitel 2.3.1 kann mittels Gleichung 2.1 das Oberflächen-Volumen-Verhältnis aus der Kugeloberfläche  $O$  und dem Kugelvolumen  $V$  gebildet werden [TITZE et al. 2010b]:

$$\frac{O}{V} = \frac{\pi \cdot d^2}{\frac{1}{6} \cdot \pi \cdot d^3} = \frac{6}{d} \xrightarrow{\lim d \rightarrow 0} \infty$$

(2.1)

Gleichung 2.1 wird nach Einsetzen der Kreiszahl  $\pi$  und dem Kugeldurchmesser  $d$  vereinfacht durch Kürzen zum Quotienten aus 6 durch  $d$ . Für den theoretischen Grenzfall, dass der Kugeldurchmesser gegen Null geht, ist das Oberflächen-Volumen-Verhältnis unendlich groß.

In der Praxis steigt der prozentuale Anteil der Oberflächenatome bezogen auf alle Atome des Partikels folglich mit abnehmender Partikelgröße. In Abbildung 2.3 wird dies graphisch veranschaulicht. Die schwarze Kurve stellt die Gesamtanzahl  $n$  der Atome eines Partikels in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers  $d$  dar. Die blaue Kurve hingegen zeigt den Verlauf des Verhältnisses an Oberflächenatomen zur gesamten Atomzahl eines Partikels in Prozent. Ab einer Partikelgröße von etwa <20 nm steigt das Verhältnis exponentiell an. Besitzt ein Partikel also eine Größe von 20 nm, befinden sich rund 10 % seiner Atome an der Oberfläche. Bei einem Durchmesser von 10 nm sind das bereits 20 % und bei 1 nm sogar 99 % aller Atome des Partikels [FRICK 2008, TITZE et al. 2010b].

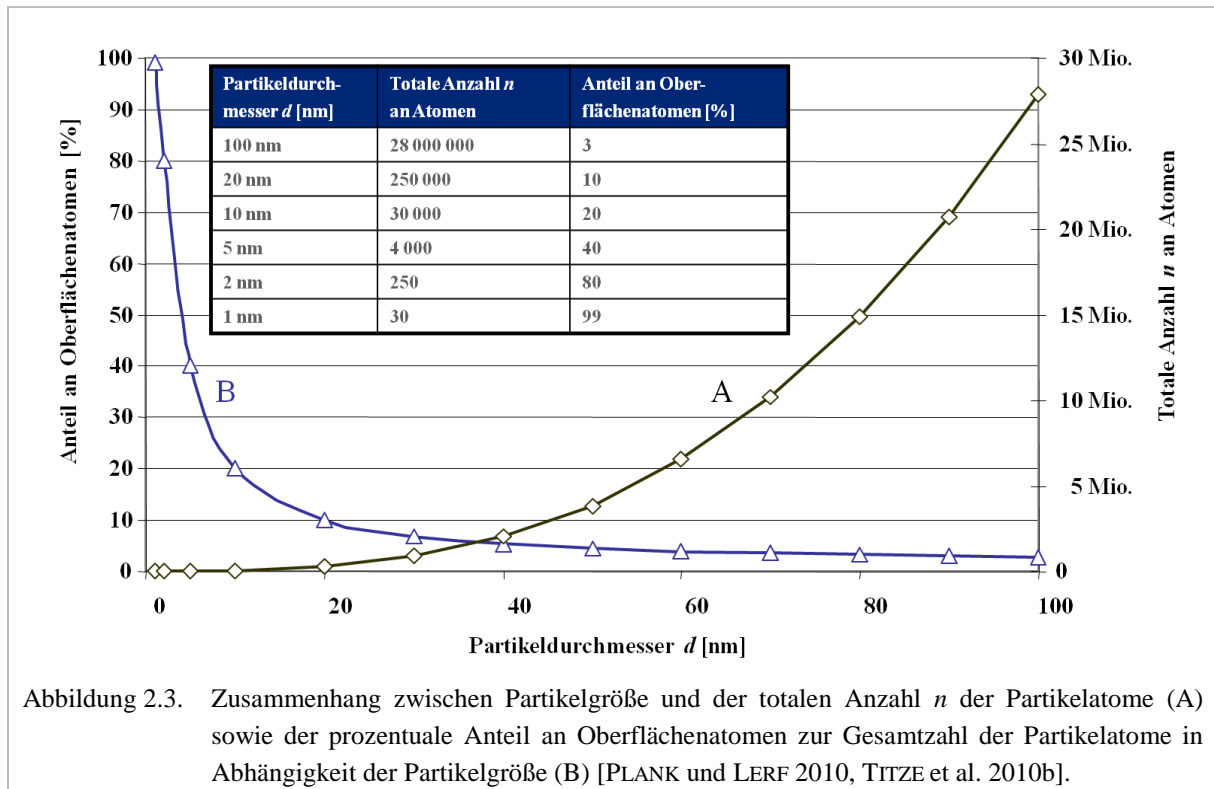


Abbildung 2.3. Zusammenhang zwischen Partikelgröße und der totalen Anzahl  $n$  der Partikelatome (A) sowie der prozentuale Anteil an Oberflächenatomen zur Gesamtzahl der Partikelatome in Abhängigkeit der Partikelgröße (B) [PLANK und LERF 2010, TITZE et al. 2010b].

### 2.3.3 Partikeloberflächenladung

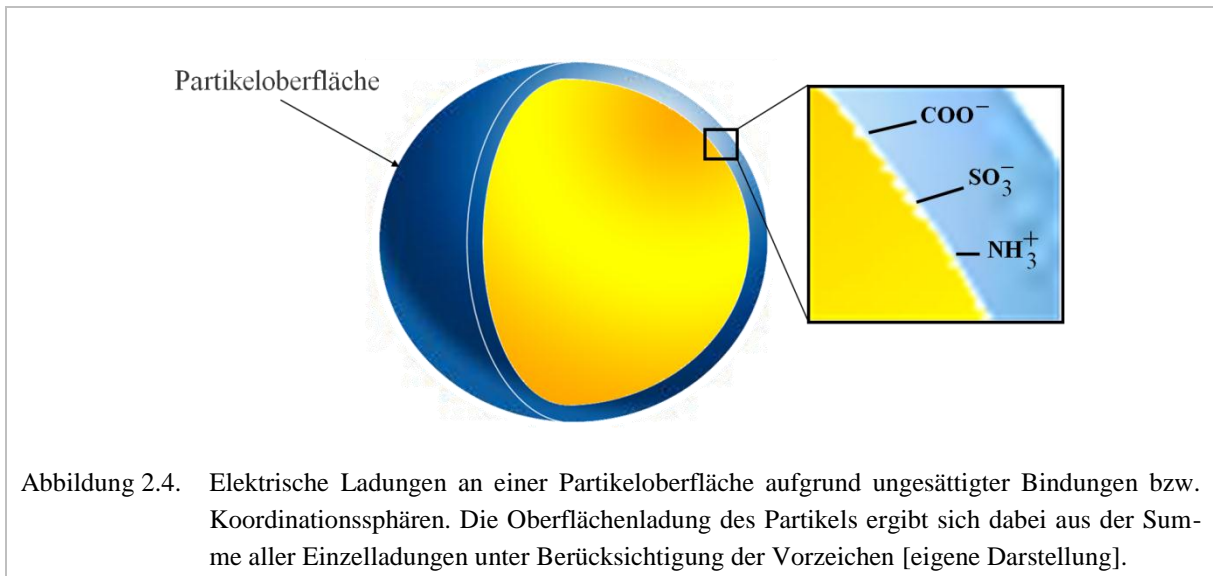
Die Bedeutung der Partikeloberfläche zeigt sich in ihrem kolloidalen Verhalten wie BROWNSCHE Molekularbewegung oder Lichtstreuung [KAPPLER 1939]. Das Auftreten von Oberflächenladungen zählt zu den wichtigsten dieser Grenzflächenphänomene. Sie liegen an den Grenzflächen zweier Phasen als elektrische Ladungen vor.

Oberflächenatome weisen ungesättigte Bindungen bzw. Koordinationssphären auf. Deshalb verhalten sie sich anders, als Atome im Inneren des Partikels. Oberflächenatome sind nicht nur von Ihresgleichen umgeben und nicht alle Valenz- oder Nebenvalenzkräfte sind gesättigt [HORN 1998]. Der Energiezustand von Oberflächenatomen unterscheidet sich folglich deutlich vom Energiezustand der Atome im Inneren des Partikels. Partikel repräsentieren also einen Zustand der Materie, der durch eine hohe spezifische Oberfläche und einen erhöhten Energieinhalt gekennzeichnet ist. Die hohe Zahl energiereicher Oberflächenatome gegenüber der Teilchenanzahl im Phaseninneren verdeutlicht, dass die freie Enthalpie von Größe und Zustand dieser Grenzfläche (Partikeloberflächenladung) bestimmt wird. Letztlich dominieren bei Partikeln die Oberflächeneigenschaften gegenüber den Festkörpereigenschaften.

Dispergiert ein Partikel in einem wässrigen Lösungsmittel, treten an dessen Partikeloberfläche meist Adsorptions- oder Dissoziationsprozesse auf. Oberflächen von beispielsweise in Lösung befindlichen Proteinen tragen dadurch in der Regel negative oder positive Ladungen. Wie Abbildung 2.4 zeigt, stammen diese von Carboxyl- oder Sulfatgruppen und protonierten Aminogruppen [MÜLLER 1996, ADAM et al. 2009]. Grundsätzlich sind positiv und negativ geladene Gruppen auf der Partikeloberfläche in ungleicher Zahl vorhanden. Letztere trägt folglich eine elektrische Nettoladung.

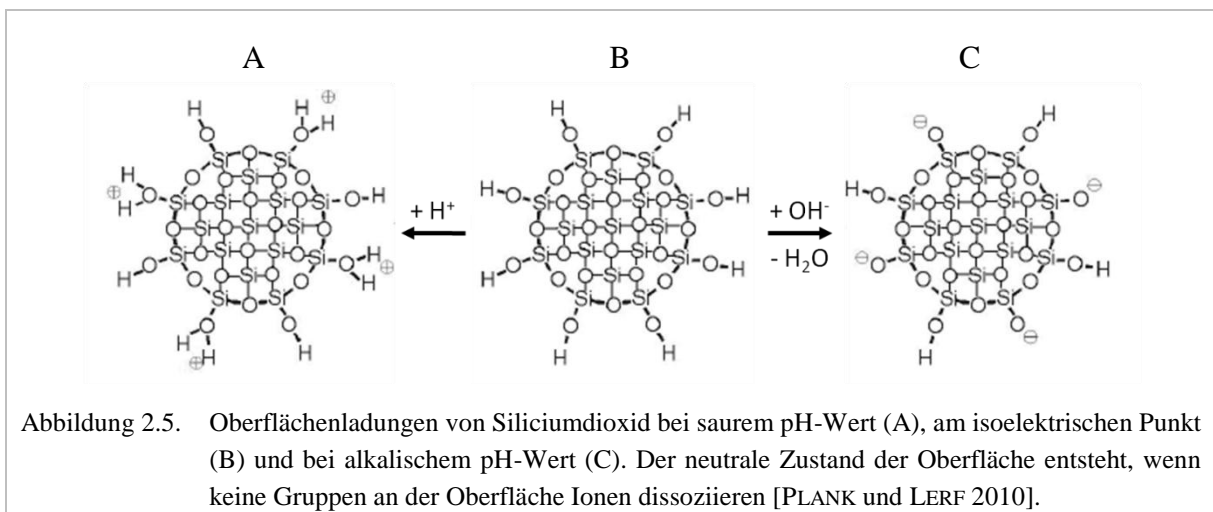


In der vorliegenden Arbeit ist unter der Oberflächenladung eines Partikels also immer die Nettosumme aller Ladungen an seiner Oberfläche unter Berücksichtigung der Vorzeichen zu verstehen.



Gesamtnettoladung und Vorzeichen der Summe aller Oberflächenladungen wechseln abhängig von pH-Wert und Dissoziationsgrad. Damit weisen Partikel je nach Umfeld sowohl positive als auch negative Oberflächenladungen auf [Li 2004].

Ist bei einem bestimmten pH-Wert die Anzahl negativer Säuregruppen gleich den positiv geladenen Aminogruppen auf der Oberfläche, gilt das Partikel nach außen hin als neutral und befindet sich am isoelektrischen Punkt (IEP). Dieser beschreibt den Zustand einer neutralen Nettooberflächenladung für einen bestimmten pH-Wert. Der Point of Zero Charge (PZC) dagegen zeigt den pH-Wert, bei dem die Oberflächenladung Null ist. Hier gibt es keine Ladungen auf der Partikeloberfläche, da beispielsweise keine Dissoziation stattfindet. Abbildung 2.5 stellt dies am Beispiel von OH-Gruppen des Siliciumdioxids ( $\text{SiO}_2$ ) dar. Für das Beispiel sind IEP und PZC identisch.



## 2.4 Elektrische Doppelschicht

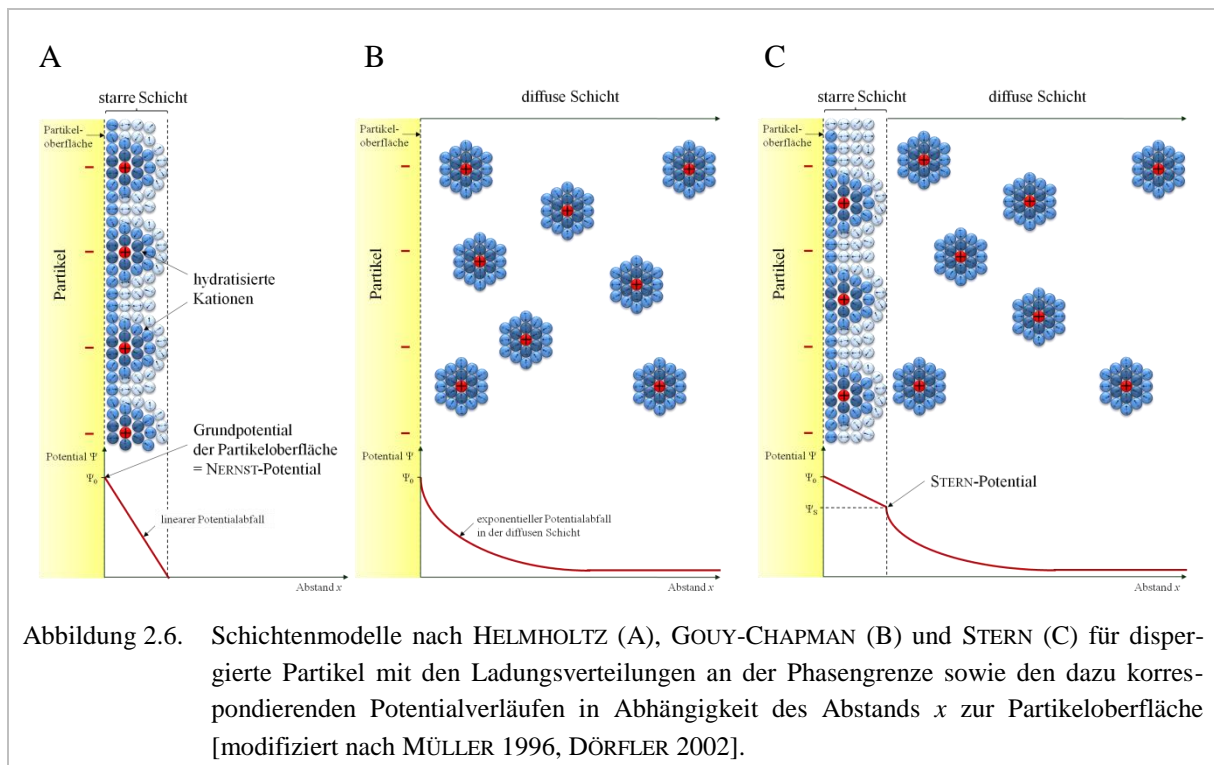
### 2.4.1 Schichtenmodelle dispergierter Partikel

Steht ein Elektrolyt mit einer geladenen Festkörperoberfläche eines Partikels in Kontakt, führen die Oberflächenladungen zum Aufbau eines elektrischen Felds. Infolge des lokalen Ladungsüberschusses zwischen Partikeloberfläche und umgebendem Medium bzw. Dispersionsmedium entsteht eine Spannung (Potential). Die Oberflächenladung zieht entgegengesetzt geladene Ionen an, die sich um das Partikel als Gegenionen anlagern. So wird die Ladungsneutralität im Lösungsinnen wiederhergestellt. Dabei bildet sich in der Regel eine elektrische Doppelschicht aus.

Der komplexe Aufbau eines in elektrolythaltigem Wasser dispergierten Partikels zeigt sich vor allem in der Auflagerung mehrerer Schichten. Seit den Arbeiten von HELMHOLTZ im Jahr 1879 wird die Modellbeschreibung zur elektrischen Doppelschicht ständig verbessert. Die folgenden Ausführungen beschreiben dies anhand eines dispergierten Partikels mit negativer Oberflächenladung. Dieser Erklärungsansatz ist in der Literatur am häufigsten zu finden, da die Oberflächen der meisten natürlichen Materialien eine negative Nettoladung tragen [PARTICLE METRIX 2004]. Der Grund hierfür liegt im überwiegenden Vorkommen protonenabgebender Gruppen (Säuregruppen) in der Natur. Auch Biere enthalten Partikel mit negativ geladener Oberfläche.

Die Ausbildung einer elektrischen Doppelschicht kann im einfachen Fall anhand eines Partikels erklärt werden, das zunächst in einem elektrolytfreien Lösungsmittel dispergiert. Das Partikel besitzt weiterhin eine negative Oberflächenladung durch protonenabgebende Gruppen an seiner Oberfläche. Wassermoleküle lagern sich an die in Lösung gegangenen Protonen (Kationen) und bilden eine Hydrathülle um das Partikel. Aufgrund der elektrostatischen Anziehung der negativen Oberfläche lagern sich die in Lösung gegangenen, dissoziierten Kationen wieder an das Partikel.

HELMHOLTZ postulierte erstmals die Vorstellung, dass sich Gegenionen auf der Partikeloberfläche in einer starren, symmetrischen Schicht anlagern – ähnlich einem Plattenkondensator [HELMHOLTZ 1879]. Abbildung 2.6 A zeigt das Schichtenmodell nach HELMHOLTZ, bestehend aus zwei ebenen Monoschichten entgegengesetzter Ladungen. Das Modell folgt dem Prinzip der Elektronenneutralität: Jede negative Ladung auf der Partikeloberfläche wird von einer gleichen Zahl positiver Ladungen aus der Lösung kompensiert [DÖRFLER 2002]. Daher ist die Zahl negativer Teilladungen auf der Partikeloberfläche in Abbildung 2.6 A gleich den angelagerten Kationen.



Allgemeine Anmerkung zur Darstellung der Schichtenmodelle: In den Abbildungen 2.6 und 2.7 sind stark vergrößerte Ausschnitte der Partikeloberfläche dargestellt. Sie erscheinen durch die Vergrößerung nicht mehr gekrümmt, sondern planar. Die Oberflächenladung der Partikel ist negativ. Ladungs- und Ionenverteilung sowie der Potentialverlauf werden graphisch zusammengefasst. Das Potential wird dabei ohne Berücksichtigung des Vorzeichens als Betrag in Abhängigkeit des Abstands  $x$  zur Partikeloberfläche aufgetragen. Grundsätzlich müssten die Potentialverläufe in den dargestellten Schichten jeweils in der Ionenschichtmitte beginnen und enden, da der Ladungsausgleich mit dem Ladungsschwerpunkt der Ionen einhergeht. Auf diese Darstellungsweise wird zugunsten einer besseren Übersichtlichkeit in dieser Arbeit aber verzichtet. Der Potentialwert der jeweiligen Schicht wird an die Schichtgrenze (gestrichelte Linie) eingetragen. Hydratisierte Ionen werden in der Darstellung von Wassermolekülen umgeben.

Das Potential an der Partikeloberfläche wird als Oberflächenpotential oder NERNST-Potential  $\Psi_0$  (Grundpotential) bezeichnet. Der Potentialverlauf im HELMHOLTZ-Modell sinkt infolge der regelmäßig angeordneten Gegenionenschicht linear ab. Gemäß HELMHOLTZ lagern sich Gegenionen in einer fest fixierten Schicht an der Partikeloberfläche an. Dieser Ansatz berücksichtigt aber nicht die tatsächliche Verteilung der Gegenladungen durch Diffusion (BROWNSCHE Molekularbewegung) sowie den unterschiedlichen Platzbedarf der Ionen [MÜLLER 1996, BOETTCHE und BARZ 2006]. Die Theorie von GOUY ersetzt die irrtümliche Annahme der Punktladung durch die Darstellung einer Kugel und berücksichtigt so die räumliche Ausdehnung der Ionen [GOUY 1910, GOUY 1917].

Das spätere Modell von GOUY und CHAPMAN beschreibt die Verteilung der Gegenionen in Form einer Raumladungswolke. Es geht von der Vermutung aus, dass sich Ionen unter dem Einfluss der thermischen Bewegung diffus um das Partikel verteilen [GOUY 1910, CHAPMAN 1913, GOUY 1917]. Dieser Vorgang wird in Abbildung 2.6 B ersichtlich. Die Gegenionenschicht wird daher auch als diffuse Schicht bezeichnet. Aufgrund der Kompensation der Oberflächenladung durch die Gegenionen kommt es innerhalb der diffusen Schicht zum Potentialabfall, bis das Partikel nach außen hin neutral erscheint. Die Anordnung im Modell nach GOUY und CHAPMAN ermöglicht ein Gleichgewicht zwischen elektrischer Anziehung und auseinandertreibender Diffusion [BOETTCHER und BARZ 2006]. Der Potentialverlauf in der diffusen Schicht wird mathematisch durch die POISSON-BOLTZMANN-Gleichung beschrieben. Er sinkt exponentiell ab, da die Konzentration an Gegenionen nahe der Partikeloberfläche höher ist, als in größerer Entfernung. Der Vorgang wird eingehend in den Kapiteln 2.4.3 und 2.4.4 beschrieben.

Die Vorstellung einer rein diffusen Schicht nach GOUY und CHAPMAN könnte im theoretischen Fall eines elektrolytfreien Wassers tatsächlich zutreffen [MÜLLER 1996]. Für eine Beschreibung komplexerer Partikelverhältnisse in elektrolythaltigen Systemen ist sie aber unzureichend. STERN kombinierte deshalb die Vorstellung der Doppelschicht von HELMHOLTZ mit der diffusen Schicht nach GOUY und CHAPMAN. Abbildung 2.6 C zeigt das entstandene Schichtenmodell für Partikel in elektrolythaltigem Wasser [STERN 1924]. Hier werden die Kationen nicht nur durch elektrostatische Kräfte in der diffusen Schicht an der Grenzfläche gehalten. Vielmehr besteht auch die Möglichkeit der Adsorption durch kurzreichende Kräfte [DÖRFLER 2002]. Der dargestellte Potentialverlauf setzt sich dementsprechend aus einem linearen Anteil (HELMHOLTZ-Modell) und einem exponentiellen Anteil (GOUY und CHAPMAN) zusammen. Das Potential an der Grenze von starrer und diffuser Schicht wird als STERN-Potential  $\Psi_s$  bezeichnet. Im STERN-Modell kann erstmals von einer elektrischen Doppelschicht gesprochen werden, da hier eine stationäre (starre) und eine diffuse Schicht gemeinsam die Doppelschicht bilden.

Eine weitere Modellverbesserung liefert GRAHAME [GRAHAME 1947], welche das STERN-Modell um eine innere HELMHOLTZ-Schicht ergänzt [ATKINS und PAULA 2006]. Die Verlaufsmessungen von Elektrokapillarkurven verschiedener Elektrolytlösungen nach GRAHAME zeigen, dass insbesondere Anionen spezifisch in der starren (HELMHOLTZ-)Schicht adsorbiert werden. Dies gilt unabhängig davon, ob die Partikeloberfläche negativ geladen ist [GRAHAME 1947]. Obwohl BOCKRIS et al. weitere Verbesserungen vornahmen [BOCKRIS et al. 1963], gilt das Schichtenmodell nach STERN noch heute als anerkannte Modellvorstellung der elektrischen Doppelschicht von dispergierten Partikeln in einer Elektrolytlösung [MÜLLER 1996, KOLASINSKI 2008, SCHWEDT 2008].

### 2.4.2 Aufbau der elektrischen Doppelschicht

Im Folgenden wird die STERNSCHE Theorie des Schichtenaufbaus durch die Vorstellung von GRAHAME ergänzt und am Beispiel eines negativ geladenen Partikels erklärt. Die Modellierung nach BOCKRIS et al. fließt dennoch in modifizierter<sup>3</sup> Form ein, um die Vorstellung der räumlichen Ionenausdehnung und ihre Wechselwirkung mit den Wassermolekülen besser darzustellen. Ausgehend von einem 1:1-Elektrolyten wird der Aufbau schichtweise beschrieben.

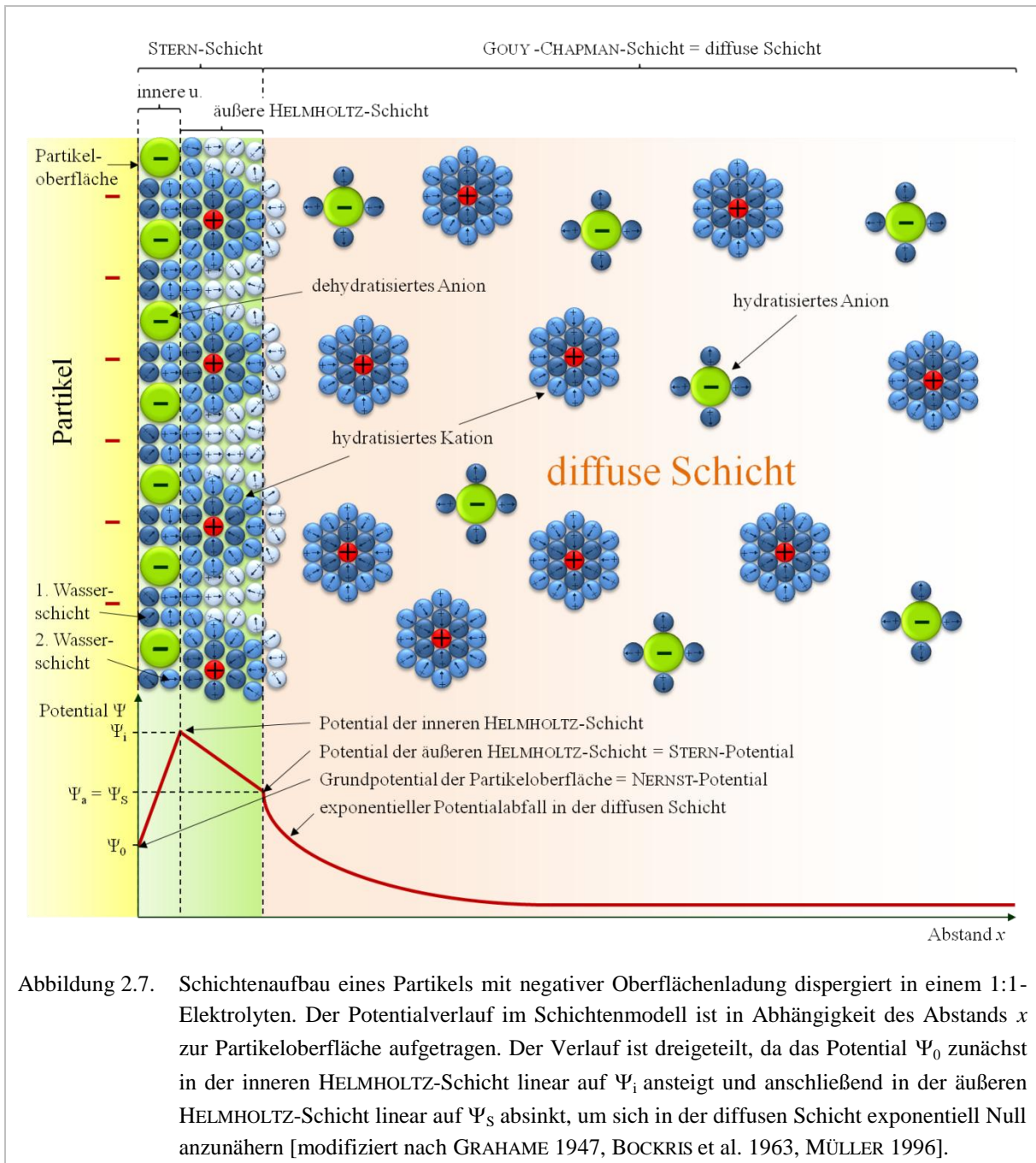
Nach Dispergieren des Partikels in elektrolythaltigem Wasser lagert sich eine Monoschicht aus negativ geladenen Ionen (Anionen) durch Adsorption an. Die spezifisch adsorbierten Anionen werden durch starke VAN DER WAALS-Kräfte gebunden. Im Adsorptionsvorgang streifen die Anionen ihre Hydrathülle ab und können sich direkt an der Partikeloberfläche als starre Schicht binden. Abbildung 2.7 zeigt den unmittelbaren Kontakt zwischen Anionen und Partikeloberfläche. Das wirksame Feld beeinflusst nicht nur die geladenen Teilchen der Lösung (Ionen) im Nahbereich der elektrisch geladenen Partikeloberfläche, sondern auch die Dipole der Wassermoleküle [FLÜHLER und ROTH 2003]. Daher wird die Lücke zwischen den einzelnen Anionen durch zwei Schichten mit adsorbierten Wassermolekülen aufgefüllt.

Aufgrund ihrer Dipoleigenschaft richten sich die Wassermoleküle entsprechend der Oberflächen- und Ionenladung aus. Nach BOCKRIS et al. spielt nicht nur die Ionenanordnung eine Rolle, sondern auch der Einfluss der Wassermoleküle<sup>4</sup> [BOCKRIS et al. 1963]. Die Ausrichtungen der Wassermoleküle werden in Abbildung 2.7 als permanente Dipole durch ein Plus-Zeichen (+) und einen Pfeil (→) symbolisiert. Die Seite des +-Zeichens orientiert sich dabei in Richtung der negativen Ladungen. Tatsächlich hängt die aktuelle Ausrichtung der Wasserdipole in großem Maß von Stärke und Richtung des elektrischen Felds ab. Mit ansteigender Feldstärke und zunehmender Ladungsdichte (für  $x \rightarrow 0$ ) richten sich die Wasserdipole folglich nahezu vollständig auf die Partikeloberfläche aus. Diese Orientierung ist gemäß Abbildung 2.7 besonders in der ersten Wasserschicht ausgeprägt und nimmt in der zweiten Wasserschicht naturgemäß ab [DÖRFLER 2002]. Der Zustand ist die Folge der Feldstärkenwirkung auf die Dipole. Das elektrische Feld zwingt dem Wasser einen Ordnungszustand auf, somit leistet das System Arbeit. Indem sich nun die freie Energie der orientierten Wassermoleküle gegenüber jenen in freier Lösung verringert, ändert sich auch die Struktur des Wassers [FLÜHLER und ROTH 2003]. Fest fixierte und dehydratisierte Anionen sowie die ersten beiden Wasserschichten bilden gemeinsam die sogenannte innere HELMHOLTZ-Schicht.

---

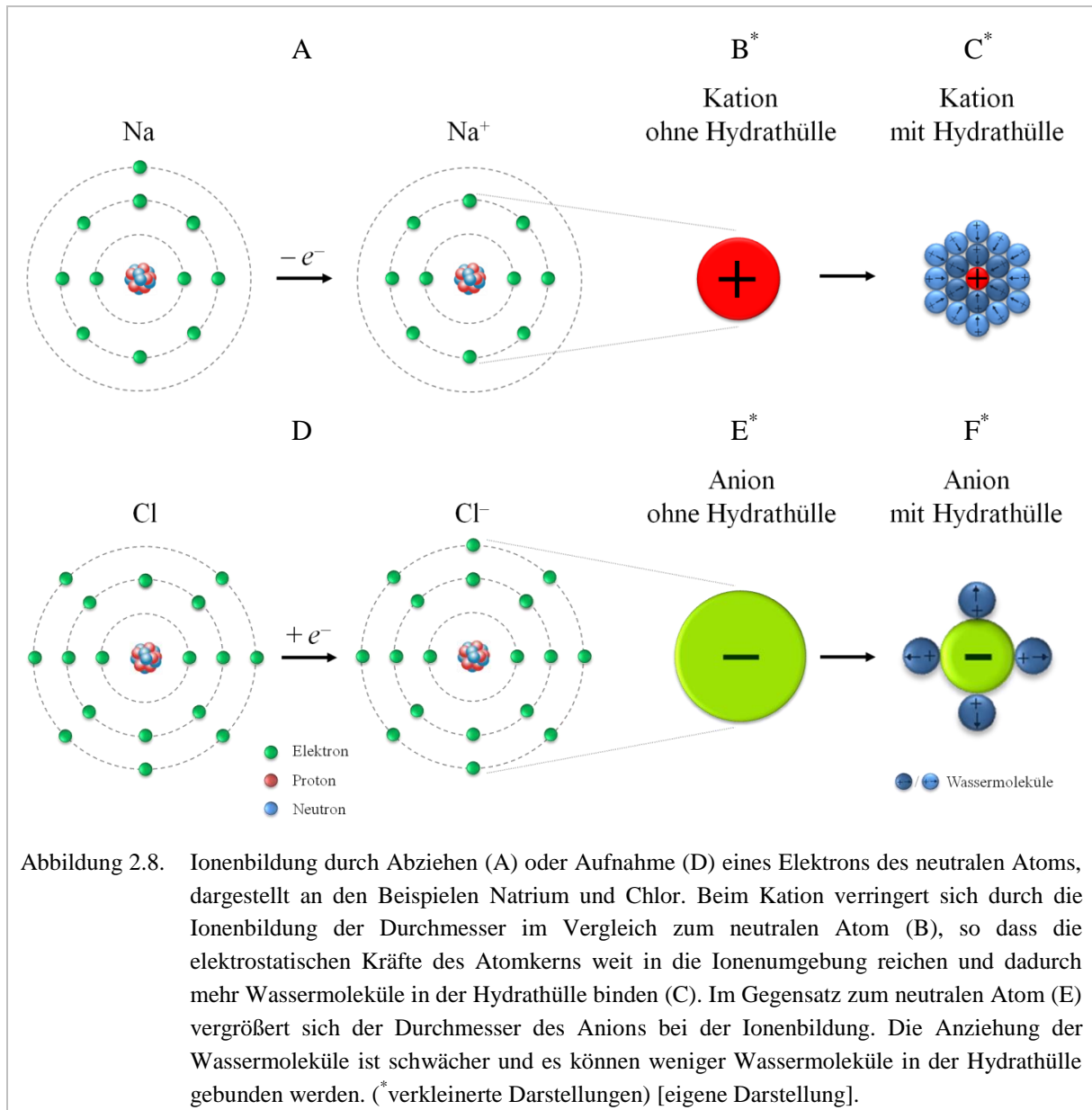
<sup>3</sup> Im ursprünglichen Schichtenmodell nach BOCKRIS et al. wird die räumliche Ausdehnung von Kationen und Anionen anschaulich dargestellt. Das Verhältnis der raumintensiven, hydratisierten Kationen der äußeren HELMHOLTZ-Schicht ist im Vergleich zu den in Überzahl vorhandenen, dehydratisierten kleineren Anionen der inneren HELMHOLTZ-Schicht aber falsch dargestellt.

<sup>4</sup> Experimente bestätigen die Unabhängigkeit der Kapazitätsmaxima wässriger Elektrolytlösungen von den Radien der Kationen in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht. BOCKRIS et al. postulierten, dass zwischen der Partikeloberfläche und den hydratisierten Überschussionen noch weitere Schichten mit adsorbiertem Wasser eingelagert sein müssen [BOCKRIS et al. 1963].



Gründe für das Anlagern negativ geladener Ionen an einer negativen Oberfläche liegen nicht in elektrostatischen Überlegungen. Der Zustand muss vielmehr über die VAN DER WAALS-Wechselwirkungen zwischen Partikeloberfläche und negativen Ionen erklärt werden. Negative Ionen besitzen im Vergleich zu positiv geladenen Ionen (Kationen) eine schwächer ausgeprägte Hydrathülle. Ausschlaggebend für eine stark oder schwach ausgeprägte Ionenhydrathülle ist der Radius des nicht hydratisierten Ions, was in Abbildung 2.8 anschaulich dargestellt ist. Nach Abziehen eines Elektrons aus dem neutralen Atom (Kationenbildung) sinkt der Durchmesser des Atoms bzw. Ions ( $A$ ) [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Sowohl die Nichtbesetzung der äußeren Orbitale als auch die Verteilung der Anziehungskraft des Kerns auf weniger Elektronen sind Gründe hierfür. Die elektrostatischen Anziehungskräfte reichen dadurch weiter in die Umgebung des Kations, als beim neutralen Atom und können so mehr

Wassermoleküle in ihrer Hydrathülle halten (C). Bei der Bildung eines Anions (Elektronenaufnahme) weitet sich die Elektronenhülle entsprechend (D) und die Anziehung von Wassermolekülen ist schwächer (F). Abbildung 2.8 zeigt diesen Vorgang, indem der Durchmesser des Anions im Vergleich zum Kation größer ist (B und E). Die Hydrathülle der Anionen wird außerdem durch lediglich vier Wassermoleküle dargestellt (F), wogegen die Kationen eine Doppelschicht aus insgesamt 18 Wassermolekülen umgibt (C).



Die schwache Hydrathülle der Anionen ermöglicht eine sehr starke Annäherung an die Partikeloberfläche und das Unterschreiten sehr geringer Abstände (wenige Å). Nach der Theorie in Kapitel 2.6.1 dominieren VAN DER WAALS-Kräfte aufgrund ihrer Natur gegenüber elektrostatischen Wechselwirkungen. So kommt es in den meisten Fällen zur Anlagerung der negativ geladenen Ionen an eine negative Partikeloberfläche. Letztlich wurde die Adsorption negativer Ionen an einer negativen Oberfläche messtechnisch durch Potentialbestimmungen nachgewiesen: Negativ geladene Partikel, erst dispergiert in Wasser und anschließend in

Citratlösung, hatten einen Anstieg des negativen Potentials zur Folge [MÜLLER 1996]. Aufgrund der Anlagerung von negativen Ionen an die negative Oberfläche steigt das Oberflächen- bzw. NERNST-Potential  $\Psi_0$  in der inneren HELMHOLTZ-Schicht linear auf  $\Psi_1$  an. Für das Vorhandensein von Wassermolekülen zwischen den Anionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht (erste und zweite Wasserschicht) sind zwei Erklärungen denkbar:

1. Die Wassermoleküle waren Bestandteil der ursprünglichen Hydrathülle des Partikels vor Adsorption der Anionen. Letztere schieben sich aufgrund der starken VAN DER WAALS-Anziehung zwischen die Wassermoleküle direkt an der Oberfläche.
2. Anstelle eines vollständigen Verlusts der Hydrathülle der Anionen durch den Adsorptionsprozess verschieben sich nur die Wassermoleküle der Hydrathülle. Diese füllen den Raum zwischen den Anionen aus.

Im nächsten Schritt lagert sich an die innere HELMHOLTZ-Schicht durch elektrostatische Wechselwirkungen und Adsorption eine Schicht aus Kationen an. Obwohl die Kationen dabei ebenfalls fest fixiert sind, behalten sie ihre Hydrathülle, da die Bindungskräfte zur Partikeloberfläche aufgrund ihrer ausgeprägten Hydrathülle nicht so stark sind [MÜLLER 1996]. Zwischen den hydratisierten Kationen sammeln sich weitere Wassermoleküle und bilden zusammen die äußere HELMHOLTZ-Schicht. In dieser sinkt das Potential  $\Psi_1$  aufgrund positiver Gegenladung der Kationen linear auf  $\Psi_a$  ab. Das Potential der äußeren HELMHOLTZ-Schicht  $\Psi_a$  ist mit dem STERN-Potential  $\Psi_S$  identisch. Innere und äußere HELMHOLTZ-Schicht werden STERN-Schicht oder STERNSCHE Doppelschicht genannt. Letztere wird in manchen Literaturstellen auch als elektrische Doppelschicht bezeichnet [MÜLLER 1996]. Der Vollständigkeit halber sei hier erwähnt, dass die STERN-Schicht nicht immer aus zwei Ionenschichten aufgebaut ist. Die innere HELMHOLTZ-Schicht bildet sich beispielsweise bei bestimmten Dispersionsmitteln nicht aus, so dass direkt eine Kationenschicht adsorbiert wird [MÜLLER 1996]. Deshalb erscheint die Definition der elektrischen Doppelschicht als eine Doppelschicht aus STERN- und diffuser Schicht häufig logischer.

Der Vergleich zwischen NERNST-Potential  $\Psi_0$  und STERN-Potential  $\Psi_S$  zeigt Folgendes: Das Potential erhöht sich zunächst durch das Anlagern der Anionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht. Diese zusätzliche Potentialdifferenz ( $\Delta\Psi = \Psi_1 - \Psi_0$ ) wird aufgrund der Adsorption der Kationen in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht nur teilweise kompensiert ( $\Psi_S > \Psi_0$ ). Abbildung 2.7 zeigte bereits, dass Kationen den Anionen zahlenmäßig aufgrund ihres höheren Platzbedarfs unterliegen. Deshalb können sie die zusätzliche negative Ladung nicht vollständig kompensieren. Weitere Kationen des Dispersionsmittels müssen daher die negative Ladung der Partikeloberfläche ( $\Psi_0$ ) und den zusätzlichen negativen Ladungsüberschuss in der STERN-Schicht ( $\Psi_a - \Psi_0$ ) kompensieren. So ist das Partikel nach außen hin neutral. Die erforderlichen Gegenionen umgeben das Partikel als diffuse Wolke, die bereits im Modell von GOUY und CHAPMAN als diffuse Schicht, auch GOUY- oder GOUY-CHAPMAN-Schicht beschrieben wurde. In der diffusen Schicht sind die Ionen hydratisiert, frei beweglich und unterliegen den Gesetzen der Diffusion. Während Kationen nahe der Partikeloberfläche in hoher Konzentration zu finden sind, treten negative Ionen eher mit zunehmendem Abstand  $x$  zur Partikeloberfläche auf.



Insgesamt entsteht ein Dreischichtmodell, in dem der Potentialverlauf in drei Teilabschnitte gegliedert ist, wie in Abbildung 2.7 graphisch dargestellt.

### 2.4.3 Ionenverteilung in der diffusen Schicht

Abbildung 2.7 zeigte das exponentiell sinkende STERN-Potential innerhalb der diffusen Schicht mit zunehmendem Abstand  $x$ . Es fällt solange ab, bis die Anzahldichte der Kationen  $n_+$  gleich der Anzahldichte der Anionen  $n_-$  entspricht, d. h. ihre Konzentrationen gleich sind. Mit Hilfe des BOLTZMANN-Faktors kann im Gleichgewichtszustand die Ionenverteilung in der diffusen Schicht berechnet werden [SONNTAG 1977]. Der Faktor beschreibt das Verhältnis zwischen elektrostatischer Energie ( $= z_i \cdot e_0 \cdot \Psi$ ) und thermischer Energie ( $= k_B \cdot T$ ) eines Ions [LAGALY 1984]. Die Wahrscheinlichkeitsberechnung des Aufenthalts eines Kations (Index  $i = +$ ) in einem bestimmten Abstand  $x$  zur negativen Partikeloberfläche erfolgt über Gleichung 2.2:

$$\frac{n_+(x)}{n_+(\infty)} = e^{\left(\frac{-z_+ \cdot e_0 \cdot \Psi(x)}{k_B \cdot T}\right)}. \quad (2.2)$$

$n_+(x)$  stellt die Anzahldichte oder Konzentration der Kationen im Abstand  $x$  und  $n_+(\infty)$  die Konzentration der Kationen in unendlicher Entfernung zur Partikeloberfläche dar. Die elektrische Energie eines Ions im Abstand  $x$  von der Partikeloberfläche resultiert aus der Kationenzwertigkeit  $z_+$ , der Elementarladung  $e_0$  und dem Potential  $\Psi(x)$  im Abstand  $x$  von der Partikeloberfläche. Die thermische Energie errechnet sich über die BOLTZMANN-Konstante  $k_B$  und die absolute Temperatur  $T$ . Die Wahrscheinlichkeit Kationen anzutreffen, ist nahe einer negativ geladenen Partikeloberfläche somit um ein Vielfaches höher, als in unendlicher Entfernung.

Zum Berechnen der Aufenthaltsdichte für Anionen (Index  $i = -$ ), die sich in einem bestimmten Abstand  $x$  zur negativen Partikeloberfläche befinden, ändert sich Gleichung 2.2 wie folgt:

$$\frac{n_-(x)}{n_-(\infty)} = e^{\left(\frac{z_- \cdot e_0 \cdot \Psi(x)}{k_B \cdot T}\right)}. \quad (2.3)$$

An Gleichungen 2.2 und 2.3 lässt sich erkennen, dass in einem unendlichen Abstand ( $x = \infty$ ) zur Partikeloberfläche das Potential  $\Psi(\infty) = 0$  V wird und damit die Quotienten  $n_+(x)/n_+(\infty)$  und  $n_-(x)/n_-(\infty)$  beider Gleichungen den Wert 1 annehmen. Die Kurvenverläufe für beide Aufenthaltsdichten (Gleichungen 2.2 und 2.3) sind schematisch in Abbildung 2.9 dargestellt.

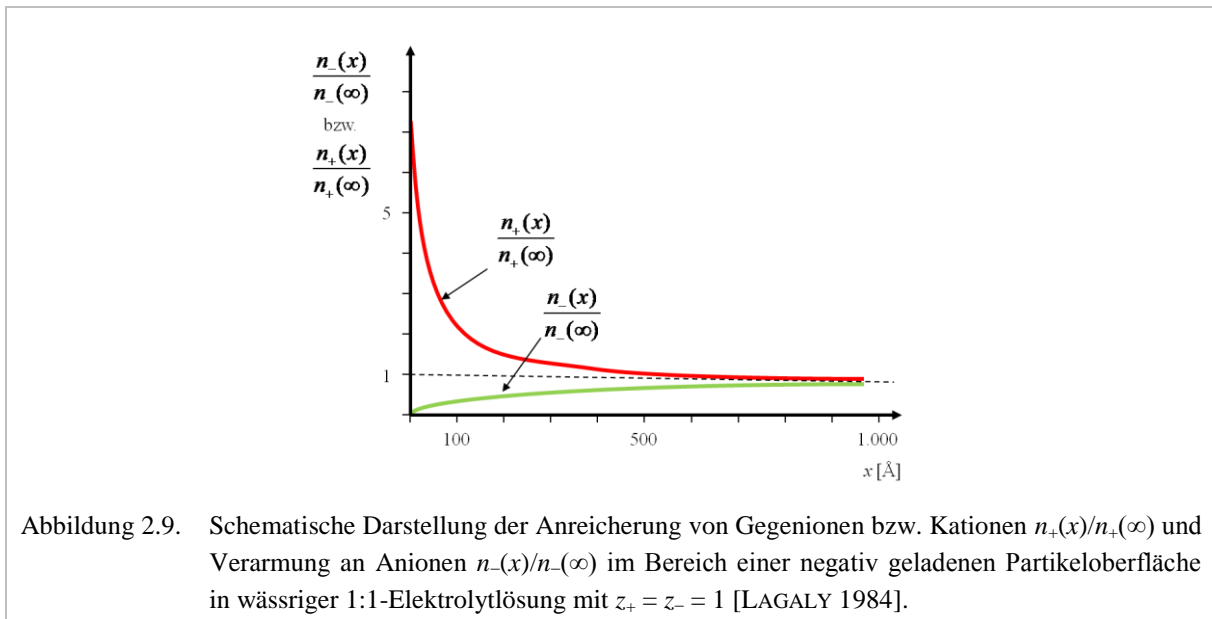


Abbildung 2.9. Schematische Darstellung der Anreicherung von Gegenionen bzw. Kationen  $n_+(x)/n_+(\infty)$  und Verarmung an Anionen  $n_-(x)/n_-(\infty)$  im Bereich einer negativ geladenen Partikeloberfläche in wässriger 1:1-Elektrolytlösung mit  $z_+ = z_- = 1$  [LAGALY 1984].

Ionen folgen immer dann der BOLTZMANN-Verteilung, wenn folgende Annahmen erfüllt sind [LI 2004]:

1. Das System bezieht sich auf das elektrische Feld einer homogenen Partikeloberfläche, ohne punktuell zu variieren. Es kann durch das Potential  $\Psi$  beschrieben werden.
2. Die Oberfläche steht in Kontakt mit einer unendlich großen Flüssigkeit, so dass in einem unendlichen Abstand  $x$  zur Oberfläche  $\Psi = 0$  und  $n = n_i(\infty)$  gilt.
3. Die REYNOLDS-Zahl sollte kleiner 10 sein, damit eine Störung der Ionenverteilung durch die Strömung ausgeschlossen wird.

Diese Einschränkungen werden in vielen Fällen nicht exakt erfüllt. Trotzdem bildet die BOLTZMANN-Verteilung eine wichtige Grundlage für die Analyse elektrokinetischer Prozesse [LI 2004].

#### 2.4.4 Potentialverteilung in der diffusen Schicht

Wie in Kapitel 2.4.3 ausgeführt, fällt in der diffusen Schicht der Potentialverlauf exponentiell ab. Das Modell der diffusen Schicht wird mathematisch durch die POISSON-BOLTZMANN-Gleichung beschrieben. Diesen physikalisch-mathematischen Formalismus verwendeten auch DEBYE und HÜCKEL in ihrer Theorie zur Berechnung der Ladungsverteilung in der Ionenwolke [DEBYE und HÜCKEL 1923]. Die POISSON-BOLTZMANN-Gleichung stellt eine Kombination aus zwei Bestimmungsgleichungen dar:

1. Die POISSON-Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen dem elektrischen Potential  $\Psi$  und der Raumladungsdichte  $q$  in einem dielektrischen Medium. Unter der Annahme, dass die relative Permittivität  $\epsilon_r$  konstant ist, lautet die Gleichung

$$\frac{d^2\Psi(x)}{dx^2} = -\frac{q(x)}{\epsilon_r \cdot \epsilon_0} \quad (2.4)$$

Die Differentialgleichung 2.4 wird in eindimensionaler Schreibweise dargestellt.

Diese Gleichungen sind so für monovalente symmetrische Elektrolyte und einfache Geometrien analytisch lösbar.  $\varepsilon_0$  stellt dabei die Permittivitätskonstante des Vakuums (elektrische Feldkonstante) dar. Die relative Permittivität  $\varepsilon_r$  charakterisiert als Stoffeigenschaft die Durchlässigkeit der Materie für das elektrische Feld. Sie hängt von der Zusammensetzung des dielektrischen Materials, der Frequenz des elektrischen Felds (Dispersion) und von dessen Stärke sowie der Temperatur ab [GERTHSEN und VOGEL 1999]. Für Wasser und wässrige Lösungen kann bei Raumtemperatur ( $T = 293 \text{ K}$ ) mit  $\varepsilon_{r, \text{H}_2\text{O}} \approx 80$  gerechnet werden.

2. Die Raumladungsdichte  $q$  in Gleichung 2.4 ist die Summe der Produkte von lokaler Ionenkonzentration  $n_i$  und der jeweiligen spezifischen Ionenwertigkeit  $z_i$  multipliziert mit der Elementarladung  $e_0$ :

$$q(x) = e_0 \cdot \sum_i z_i \cdot n_i(x). \quad (2.5)$$

Kann die Ionenverteilung mit Hilfe der BOLTZMANN-Verteilung angenähert werden, ist die lokale Ionenkonzentration  $n_i$  durch Gleichung 2.2 bzw. 2.3 bestimmbar. Die in Kapitel 2.4.3 beschriebenen Annahmen sollten für diesen Fall erfüllt sein. So ergibt sich für die Raumladungsdichte  $q$

$$q(x) = e_0 \cdot \sum_i z_i \cdot n_i(\infty) \cdot e^{\left(\frac{-z_i \cdot e_0 \cdot \Psi(x)}{k_B \cdot T}\right)}. \quad (2.6)$$

Das Einsetzen von Gleichung 2.6 in die POISSON-Gleichung 2.4 führt letztlich zur POISSON-BOLTZMANNSCHEM Beziehung, der Fundamentalgleichung der ebenen Doppelschicht [SONNTAG 1977]:

$$\frac{d^2 \Psi(x)}{dx^2} = -\frac{e_0}{\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0} \cdot \sum_i z_i \cdot n_i(\infty) \cdot e^{\left(\frac{-z_i \cdot e_0 \cdot \Psi(x)}{k_B \cdot T}\right)}. \quad (2.7)$$

Die erste Integration für die Randbedingungen  $x \rightarrow \infty$ ,  $\Psi = 0$  und  $d\Psi/dx = 0$  sowie die zweite Integration mit Randbedingung  $\Psi(x=0) = \Psi_S$  führen zur Lösung der Differentialgleichung [SONNTAG 1977]:

$$\Psi(x) = \frac{2 \cdot k_B \cdot T}{z_i \cdot e_0} \cdot \ln \left( \frac{\left[ e^{\left(\frac{z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_S}{2 \cdot k_B \cdot T}\right) + 1} \right] + \left[ e^{\left(\frac{z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_S}{2 \cdot k_B \cdot T}\right) - 1} \right] \cdot e^{(-\kappa \cdot x)}}{\left[ e^{\left(\frac{z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_S}{2 \cdot k_B \cdot T}\right) + 1} \right] - \left[ e^{\left(\frac{z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_S}{2 \cdot k_B \cdot T}\right) - 1} \right] \cdot e^{(-\kappa \cdot x)}} \right). \quad (2.8)$$

Hier sei angemerkt, dass Variable  $x$  in den Gleichungen 2.2 bis 2.9 die Ausdehnung der diffusen Schicht beschreibt.  $x = 0$  definiert also die Phasengrenze zwischen STERN- und diffuser Schicht. Sie darf nicht mit einem Punkt direkt an der Partikeloberfläche verwechselt werden. Deshalb ist  $\Psi$  für  $x = 0$  identisch mit dem STERN-Potential.

Für niedrige STERN-Potentiale  $z_i \cdot \Psi_S < 25 \text{ mV}$  wird die Reihenentwicklung des Potentialausdrucks in Gleichung 2.8 nach dem zweiten Glied abgebrochen. Auf diesem Weg entsteht die Näherungslösung [SONNTAG 1977]

$$\Psi(x) = \Psi_S \cdot e^{(-\kappa \cdot x)}. \quad (2.9)$$

In den Gleichungen 2.8 und 2.9 werden mehrere Konstanten mit Hilfe des sogenannten DEBYE-HÜCKEL-Parameters  $\kappa$  zusammengefasst. Folglich kann die Dicke der diffusen Schicht definiert werden.

#### 2.4.5 Dicke der diffusen Schicht

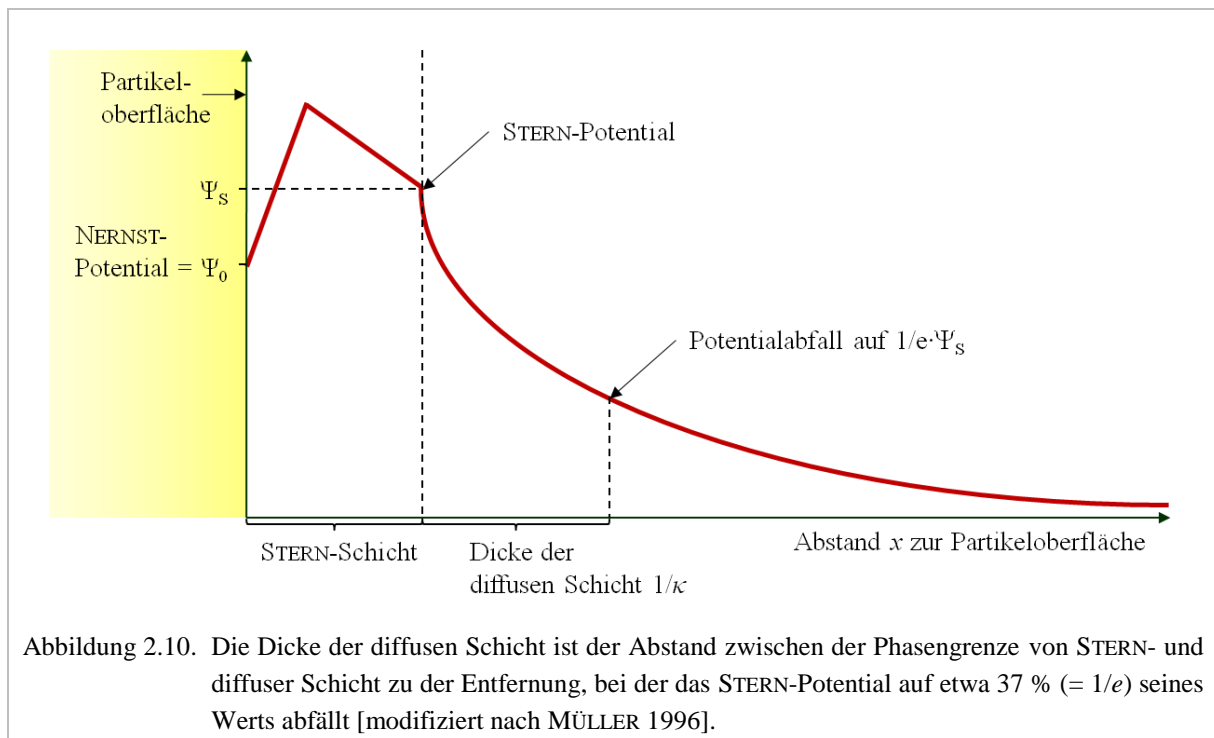
Gleichung 2.8 zeigt deutlich den bereits beschriebenen exponentiellen Abfall des Potentials in der diffusen Schicht. Da sich die Spannung bei einem exponentiellen Verlauf dem Nullwert nur asymptotisch nähert, kann ein Abfallen auf Null mathematisch nicht stattfinden. Die Dicke der diffusen Schicht muss für Stabilitätsberechnungen trotzdem eindeutig definiert sein. Deshalb wurde ein Bereich festgelegt, in dem das Potential auf einen bestimmten Wert gegenüber seinem Ausgangswert (STERN-Potential) fällt.

Abbildung 2.10 zeigt den Abfall des Potentials auf den  $e$ -ten Teil bei einem Abstand von  $x = 1/\kappa$ . Die Größe  $1/\kappa$  gilt als Maß für die Ausdehnung der diffusen Schicht und ist gleich dem reziproken Wert des DEBYE-HÜCKEL-Parameters  $\kappa$  [DEBYE und HÜCKEL 1923]. Dieser definiert sich wie folgt:

$$\kappa = \left[ \frac{4 \cdot \pi \cdot e_0^2 \cdot \sum n_i(\infty) \cdot z_i^2}{\varepsilon_0 \cdot \varepsilon \cdot k_B \cdot T} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.10)$$

mit den Variablen

$e_0$	Elementarladung,
$n_i(\infty)$	Ionenkonzentration außerhalb der diffusen Schicht,
$z_i$	Ionenwertigkeit,
$\varepsilon_0$	elektrische Feldkonstante,
$\varepsilon$	Permittivitätskonstante der Dispersionslösung,
$k_B$	BOLTZMANN-Konstante und
$T$	absolute Temperatur.



Dimension  $1/\kappa$  wird auch als DEBYE-Länge bezeichnet. Die rechnerisch ermittelte Schichtdicke ist geringer als die Ausdehnung der diffusen Schicht. Tatsächlich erstreckt sich die diffuse Schicht etwa über das Drei- bis Fünffache der DEBYE-Länge [LI 2004]. Bei reinem Wasser beträgt die Grenzschicht aufgrund der Autoprotolyse des Wassers etwa  $1 \mu\text{m}$  [BARZ und EHRHARD 2005].

Der DEBYE-HÜCKEL-Parameter ist nach Gleichung 2.11 abhängig von der Ionenkonzentration im Dispersionsmedium  $n_i$ , der Wertigkeit dieser Ionen  $z_i$  sowie der Permittivität des Dispersionsmediums  $\varepsilon$ :

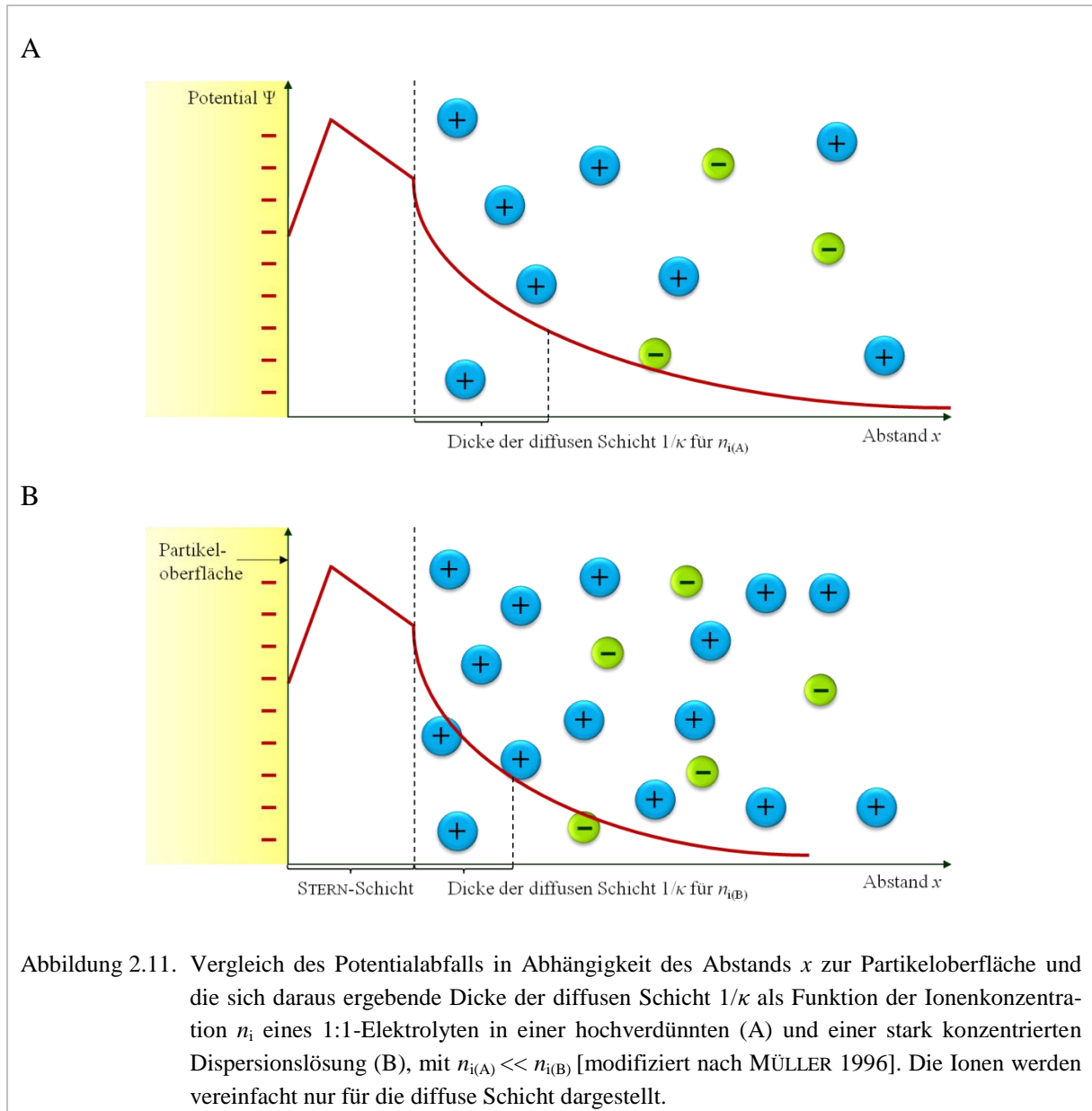
$$\kappa = f(n_i, z_i, \varepsilon). \quad (2.11)$$

Die Bestimmung des DEBYE-HÜCKEL-Parameters ist bei Gemischen unterschiedlicher Elektrolyttypen nicht mehr trivial. Bei einem Elektrolytgemisch haben deshalb besonders zwei Parameter Einfluss auf die Dicke der diffusen Schicht:

1. Konzentration der Gegenionen mit der höchsten Wertigkeit und
2. Elektrolyttyp mit der höchsten Konzentration.

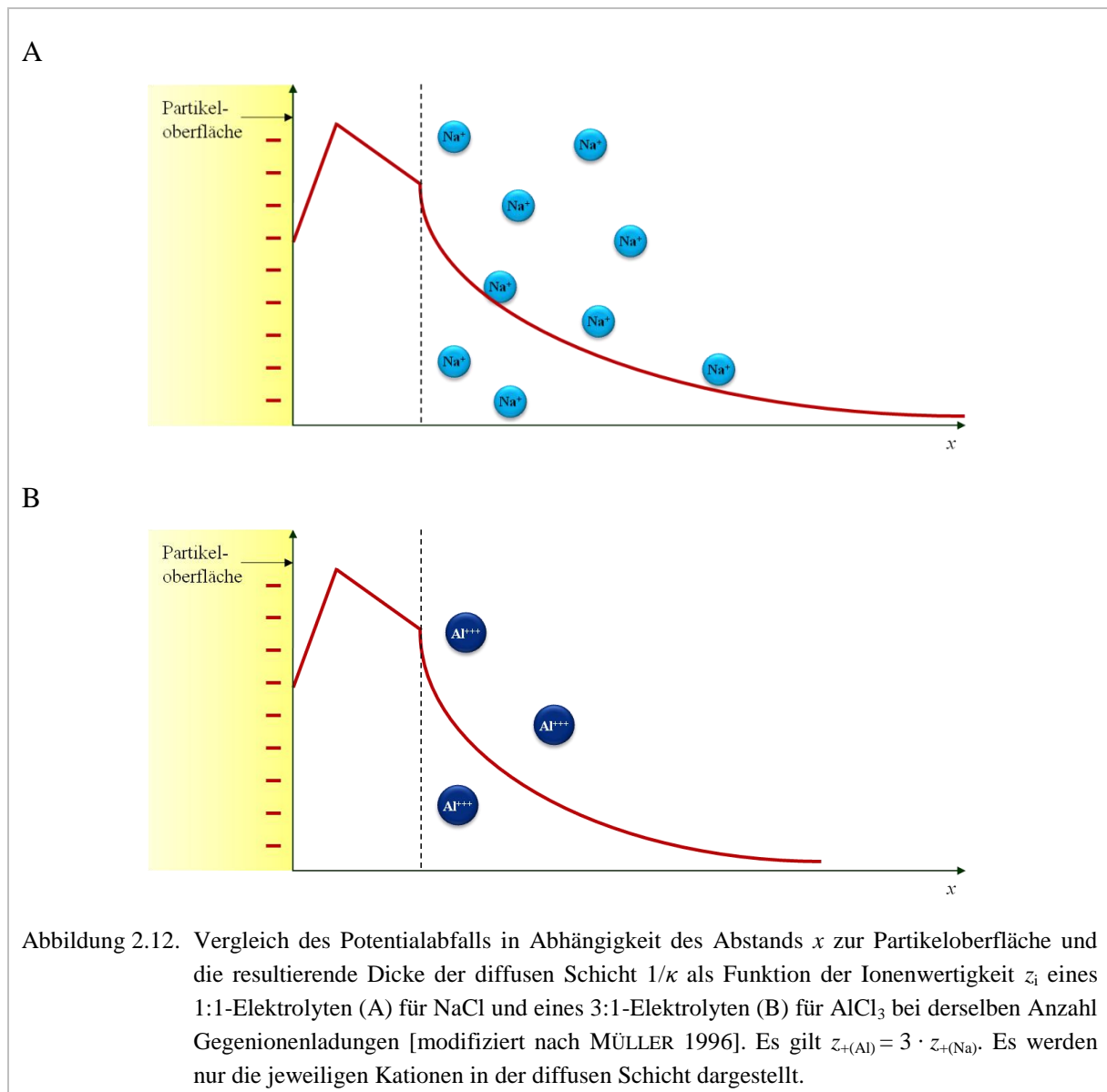
Abbildung 2.11 zeigt schematisch Potentialverläufe von Partikeln mit negativer Oberfläche, die dispergiert in unterschiedlich starken 1:1-Elektrolytlösungen vorliegen. Abbildung 2.11 A stellt die Konzentration der Kationen in der diffusen Schicht in einer hochverdünnten Elektrolytlösung dar. Hier ist die Konzentration um das Partikel sehr gering, der Abfall des STERN-Potentials gegen Null erfolgt über eine große Distanz  $x$  von der Partikeloberfläche. Erhöht sich die Elektrolytkonzentration im Dispersionsmedium, reichern sich die Kationen nahe der Partikeloberfläche an und bewirken einen steileren Abfall des Potentials über eine kürzere Distanz. Dieser Vorgang ist in Abbildung 2.11 B ersichtliche.

Anmerkung: In den Abbildungen 2.11, 2.13, 2.15 und 2.16 ist die Beschreibung der elektrischen Doppelschicht weiter vereinfacht, d. h. auf die Darstellung der Wasserdipole wird im Folgenden verzichtet. Lediglich beim Zusammenspiel von Kationen und Anionen wird der räumlichen Ausdehnung aufgrund des Vorhandenseins einer Hydrathülle um die Ionen Rechnung getragen. Analog zu den Ausführungen in Abschnitt 2.4.2 sind positive, hydratisierte Ionen in der Regel größer als schwach hydratisierte oder dehydratisierte Anionen. Dies wird durch die Größe des Kreises des jeweiligen Ions symbolisiert.



Dispergieren Partikel in Lösungen mit mehrwertigen Kationen, wird die Oberflächenladung durch die Gegenionen schneller ausgeglichen. Der Potentialabfall in der diffusen Schicht verläuft steiler und die Dicke der diffusen Schicht nimmt schneller ab. In Abbildung 2.12 A und B verteilt sich jeweils dieselbe Anzahl Gegenionenladungen (9 positive Ladungen) in der diffusen Schicht. Bei gleicher Elektrolytkonzentration nimmt dabei die diffuse Schicht mit steigender Ionenwertigkeit ab.

Die Abnahme der Schichtdicke bei steigender Elektrolytkonzentration wird in der Literatur auch als Kompression der diffusen Schicht bezeichnet. Dieser Begriff ist aus statistischen Gründen jedoch umstritten [MÜLLER 1996].



## 2.5 Zeta-Potential

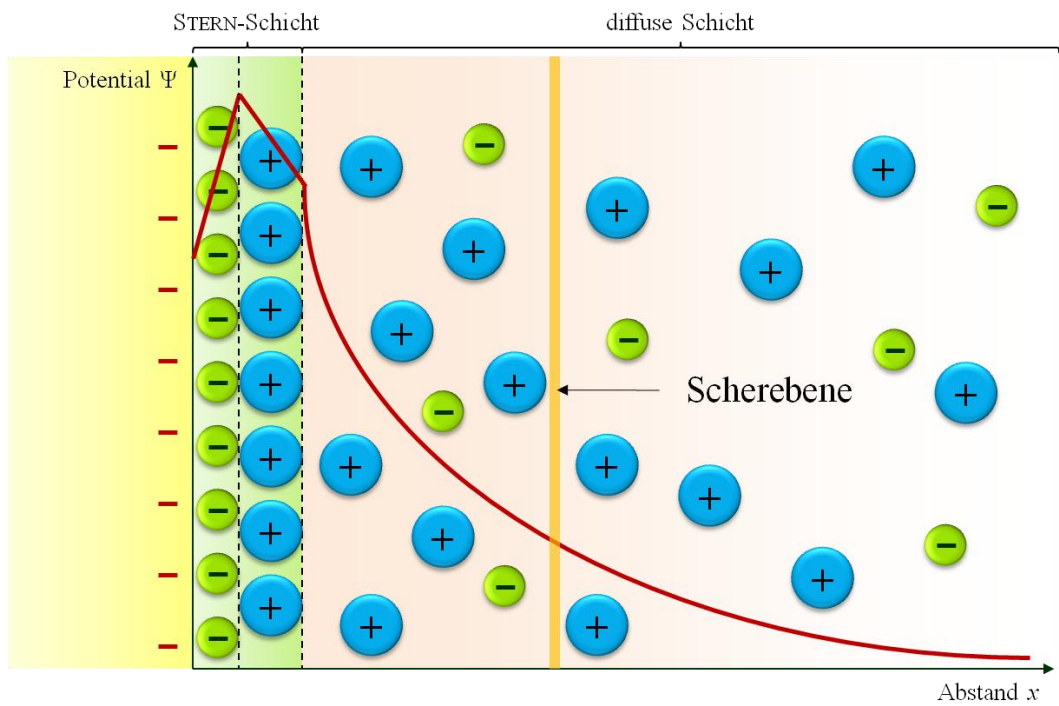
Das entscheidende Charakteristikum der elektrischen Doppelschicht ist ihr Aufbau einer stationären und einer diffusen Schicht aufgrund elektrischer Ladungen. Viele physikalische Effekte werden mit dem Begriff Elektrokinetik bezeichnet. Ihre Ursache liegt in der Existenz einer elektrischen Doppelschicht. HUNTER bezeichnet die elektrische Doppelschicht als die Schicht der Flüssigkeit, die eine Nettoladung aufweist [HUNTER 1981]. Die elektrische Doppelschicht ist tatsächlich kein festes, starres Gebilde, da ihre diffuse Schicht gemäß Kapitel 2.4.2 aus frei beweglichen Ionen besteht. Aufgrund von Reibungskräften kommt es bei Diffusionsbewegungen des Partikels zu einem teilweisen Abstreifen der diffusen Schicht.

Der vorübergehende Verlust des äußeren Teils der diffusen Schicht führt zum Mangel an Gegenionen für die restliche Ladungskompensation. Das Partikel ist nach außen hin nicht mehr neutral.

Abbildung 2.13 stellt einen solchen Teilabriss der diffusen Schicht für ein Partikel mit negativer Oberflächenladung dar. An der Scherebene wirkt zusätzlich eine Potentialdifferenz auf die Umgebung des Partikels, da Kationen durch das Abstreifen fehlen [LYKLEMA 1999a]. Die negative Ladung an der Scherebene wird in diesem Moment nicht durch Kationen kompensiert. So kann das nach außen hin wirkende Potential messtechnisch erfasst werden. Diese resultierende Nettoladung wird als Zeta-Potential  $\Psi_\zeta$  bezeichnet. Das Zeta-Potential ist also die Potentialdifferenz zwischen der hypothetischen Scherebene und der umgebenden Flüssigkeit im diffusen Teil der elektrischen Doppelschicht [HENNICKE und HENNICKE 1981]. In der diffusen Schicht baut sich der durch Strömungsbewegung abgestreifte Teil mittels Rückdiffusion der Ionen wieder auf und kann dann ebenso wieder abgestreift werden. Diffusionsbewegungen scheren jedoch nur wenige Ionen der diffusen Schicht ab, so dass die Potentialdifferenz zum STERN-Potential vergleichbar gering ist. Unterstützen mechanische oder elektrische Einflüsse das Abscheren, so steigt das Potential, da sich die Abriss- bzw. Scherebene der STERN-Schicht zunehmend nähert.



A



B

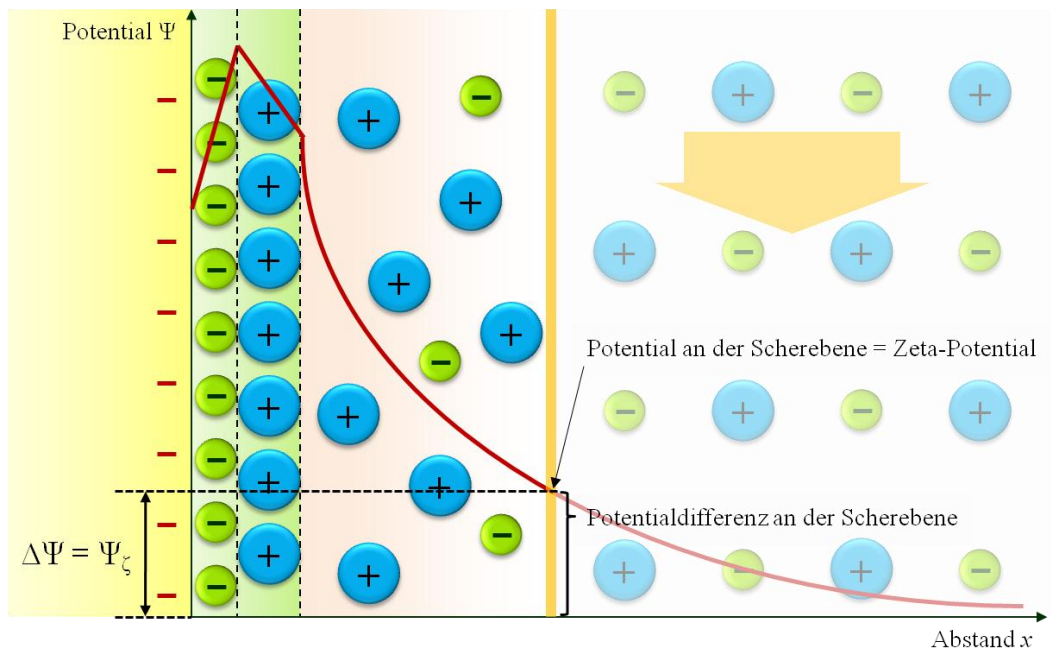


Abbildung 2.13. Schichtenmodell eines negativ geladenen Partikels in Elektrolytlösung (A) und nach Abriss der diffusen Schicht z. B. durch Partikelbewegung (B). Die Scherebene entspricht der Abrissebene, an der nach außen hin eine Potentialdifferenz  $\Delta\Psi$  auftritt: das sogenannte Zeta-Potential  $\Psi_\zeta$  [eigene Darstellung].

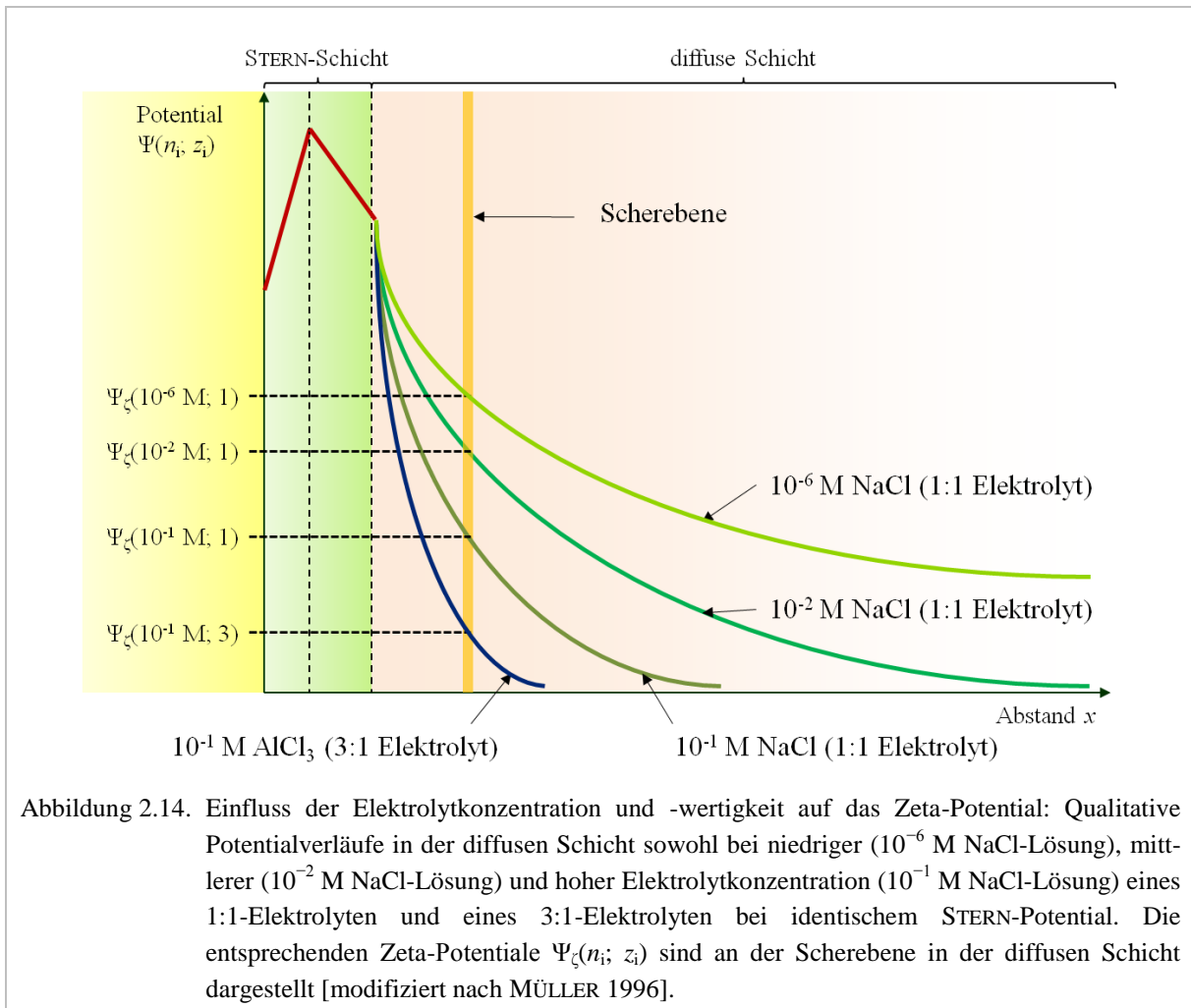
Kapitel 2.7 beschreibt die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung des Zeta-Potentials in der diffusen Schicht. Das gemessene Zeta-Potential stellt das Potential an der Scherebene in der diffusen Schicht dar und ist somit kleiner als das STERN-Potential. Beide Potentiale sind nicht identisch, da ein geringer Rest der diffusen Schicht an der STERN-Schicht verbleibt.

Wie Abbildung 2.12 A zeigte, erfolgt der Potentialabfall in der diffusen Schicht bei niedrig konzentrierten Elektrolytlösungen, z. B. einer  $10^{-6}$  molaren Salzlösung, sehr langsam über die große Ausdehnung der diffusen Schicht hinweg. Der Unterschied zwischen Zeta- und STERN-Potential ist daher nur sehr gering. In der Praxis wird das messbare Zeta-Potential im Fall extrem niedriger Elektrolytkonzentrationen folglich mit dem STERN-Potential gleichgesetzt. Dieser Wert dient dann zur Berechnung der Partikeloberflächenladung.

Abbildung 2.14 zeigt qualitativ das Verhältnis zwischen Elektrolytkonzentration und Potentialabfall. Mit steigender Konzentration oder auch zunehmender Wertigkeit der Gegenionen wird der Potentialabfall in der diffusen Schicht steiler und die diffuse Schicht somit dünner. Das gemessene Zeta-Potential ist also eine Funktion der Elektrolytkonzentration und damit indirekt auch der Schichtdicke. Letztere ist wiederum selbst eine Funktion der anwesenden Elektrolyte [MÜLLER 1996].

Ist das STERN-Potential gleich dem Zeta-Potential  $\Psi_\zeta$ , kann es als Maß für die Ausdehnung der diffusen Schicht von Partikeln in einem elektrolythaltigen Lösungsmittel betrachtet werden. Es gilt  $\Psi_\zeta \sim 1/\kappa$ . Zusätzlich stellt das Zeta-Potential auch ein indirektes Maß für die Größe des NERNST-Potentials dar, wenn  $\Psi_\zeta \sim \Psi_0$ . Somit ist das Zeta-Potential sowohl eine Funktion der Ausdehnung der diffusen Schicht als auch der Partikeloberflächenladung:

$$\Psi_\zeta = f(\Psi_0; 1/\kappa). \quad (2.12)$$

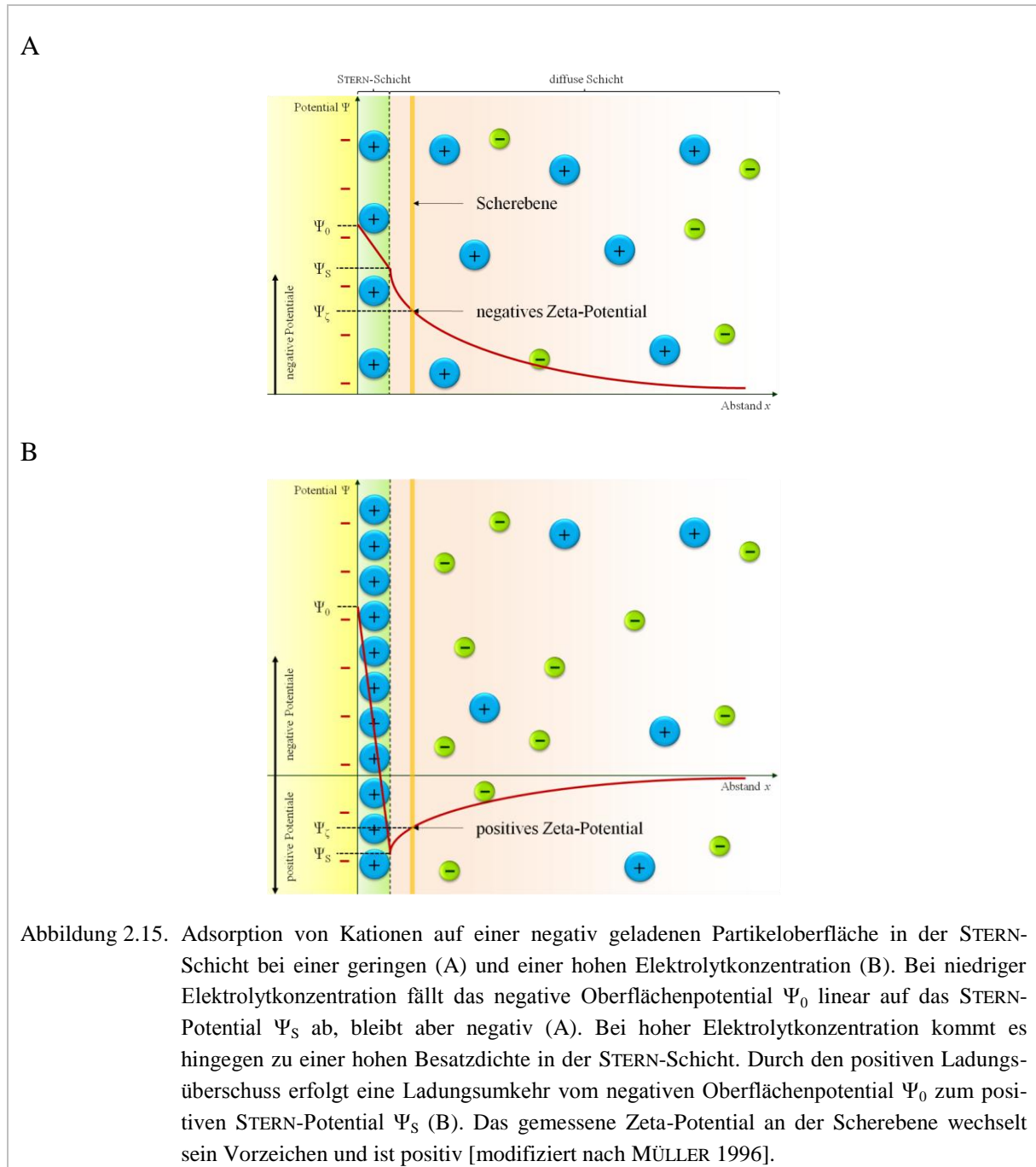


### 2.5.1 Vorzeichenwechsel des Zeta-Potentials durch Ladungsumkehr

Im vorigen Kapitel erfolgten Schichtenaufbau und Ableitung des Zeta-Potentials anhand eines negativ geladenen Partikels, da dies in der Natur am häufigsten auftritt. Grundsätzlich kann der Aufbau der Schichten auch anders sein. Eine schwache Wechselwirkung zwischen negativer Partikeloberfläche und Anionen kann ein Anlagern der Anionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht verhindern. Diese erhöhen das Oberflächenpotential somit nicht. Stattdessen erfolgt direkt eine Adsorption von Kationen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht. Dadurch sinkt das Oberflächenpotential  $\Psi_0$  innerhalb dieser Schicht linear auf  $\Psi_i$ . In diesem Fall entwickelt sich nicht zwangsläufig eine zweite, fest fixierte Monoschicht aus adsorbierten Ionen [MÜLLER 1996].  $\Psi_i$  ist dem STERN-Potential  $\Psi_S$  folglich gleichzusetzen. Die innere HELMHOLTZ-Schicht bildet damit die STERN-Schicht. Bei mittlerer Elektrolytkonzentration und einer resultierenden Besatzdichte der Kationen in der STERN-Schicht kann es zu einer Ladungsumkehr, also zu einem positiven STERN-Potential kommen [MÜLLER 1996].

Abbildung 2.15 zeigt die Ladungsumkehr des messbaren Zeta-Potentials mittels Erhöhung der Elektrolytkonzentration anhand eines negativ geladenen Partikels. Das Oberflächenpotential  $\Psi_0$  fällt innerhalb der STERN-Schicht linear auf das STERN-Potential  $\Psi_S$  ab (A).

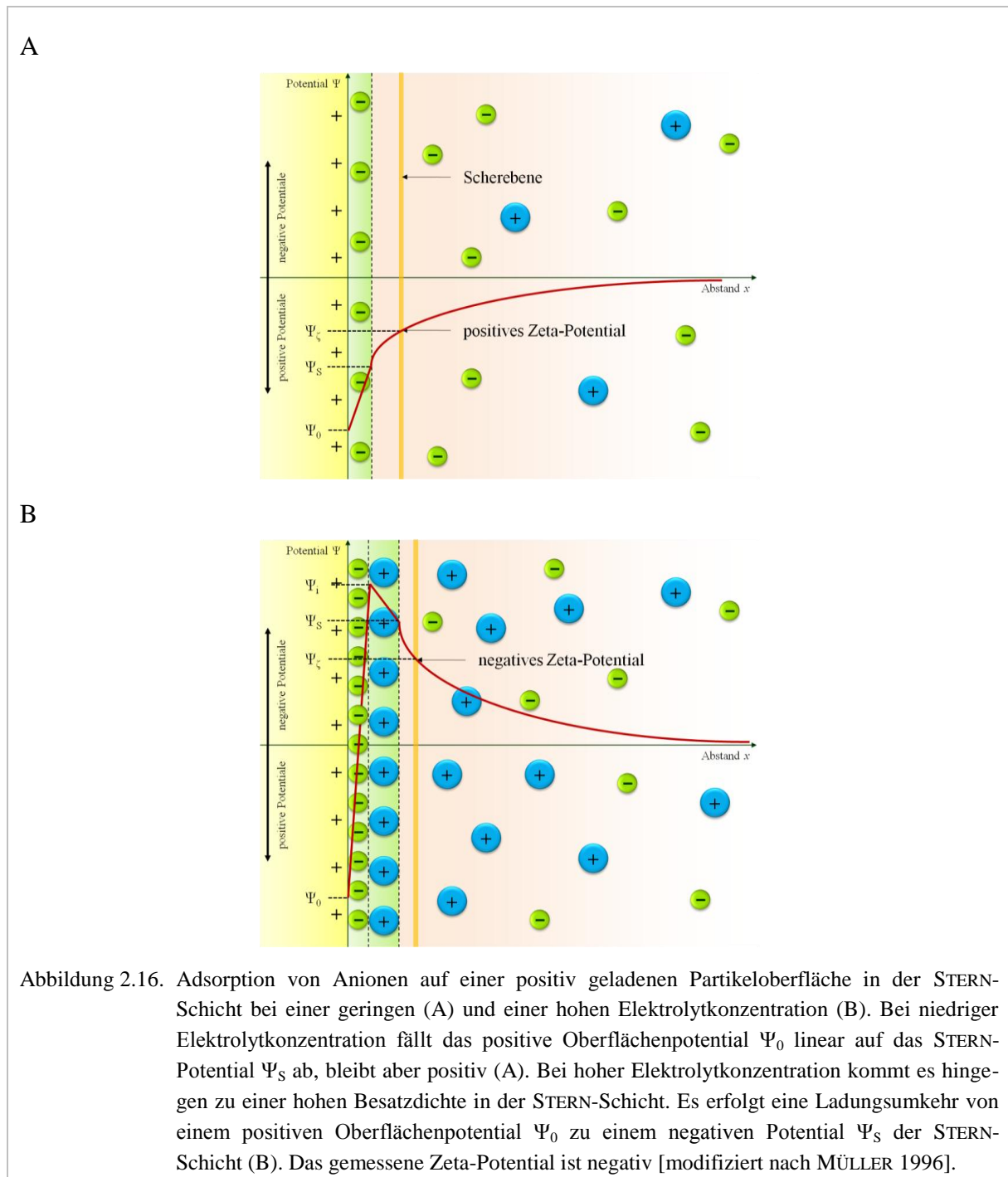
Bei hoher Elektrolytkonzentration hingegen sinkt das STERN-Potential  $\Psi_S$  soweit, bis es das Vorzeichen wechselt (B). Grund dafür sind positive Überschussladungen, welche durch die hohe Besatzdichte in der STERN-Schicht auftreten. Das Resultat ist ein positives STERN-Potential, welches durch ein positives Zeta-Potential messbar wird.



Für ein Partikel mit positiver Oberflächenladung vollzieht sich zunächst die Adsorption negativer Ionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht. Zum einen sind die VAN DER WAALS-Wechselwirkungen zwischen der Partikeloberfläche und den schlecht abgeschirmten Ionen (dünne Hydrathülle) sehr stark. Zum anderen werden die Anionen durch ihre entgegengesetzte Ladung von der positiven Oberfläche elektrostatisch angezogen. In Abbildung 2.16 wechselt das Vorzeichen des Zeta-Potentials abhängig von der Elektrolytkonzentration beim

Übergang von geringer (A) zu hoher Besatzdichte (B). Hier kommt es, wie Abbildung 2.16 B darstellt, zu einer Ladungsumkehr von positiv zu negativ. Gemäß den Ausführungen in Kapitel 2.4.2 lagert sich in Abbildung 2.16 B zusätzlich eine zweite Kationenschicht in der STERN-Schicht an.

Beide Beispiele zeigen eine mögliche Vorzeichenumkehr des messbaren Zeta-Potentials aufgrund des Schichtenaufbaus, auch wenn die Oberflächenladung des Partikels selbst sich nicht ändert. Hierbei entscheiden die Art der adsorbierten Ionen der inneren HELMHOLTZ-Schicht und ihre Besatzdichte.



### 2.5.2 Erhöhen des Zeta-Potentials durch Peptisatoren

Gemäß der Darstellung in den vorangegangenen Kapiteln hängt die Stabilität einer Dispersion von der Höhe des Zeta-Potentials ab. Folgende Gründe können dazu führen, dass es zu niedrig ist:

1. zu niedriges Oberflächenpotential  $\Psi_0$  aufgrund einer zu geringen Anzahl dissozierbarer Gruppen an der Partikeloberfläche bei vorliegendem pH-Wert,
2. zu niedriges STERN-Potential, beispielsweise durch geringe Besatzdichte von Anionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht bei negativem Zeta-Potential,
3. zu niedriges STERN-Potential aufgrund der Adsorption von Kationen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht im Fall eines Partikels mit negativem Oberflächenpotential,
4. zu hohe Elektrolytkonzentration des Dispersionsmediums, so dass es zur Kompression der diffusen Schicht kommt.

Mit Hilfe eines Peptisators<sup>5</sup> ist es möglich, die Größe des Zeta-Potentials zu verbessern. Hierzu wird die Besatzdichte der inneren HELMHOLTZ-Schicht gezielt erhöht. Peptisatoren sind geladene Substanzen mit einer hohen Affinität zu Oberflächen. Um ein möglichst hohes Potential in der inneren HELMHOLTZ-Schicht  $\Psi_i$  und folglich ein möglichst hohes STERN- sowie Zeta-Potential zu erzielen, muss eine maximale Besatzdichte vorliegen. Den grundlegenden Prozess beschreibt Kapitel 2.5.1. Hierbei adsorbiert der Peptisator direkt an der Partikeloberfläche. Mit zunehmender Peptisatorkonzentration im Dispersionsmedium erhöht sich die Besatzdichte bis das maximale Zeta-Potential erreicht wird. Bei weiterer Zugabe der Substanz nimmt das Zeta-Potential wieder ab. Da der Peptisator im Überschuss vorhanden ist, kann er nicht mehr an einer Partikeloberfläche binden. Der überschüssige Peptisator wirkt nun als Elektrolyt und trägt damit zur Erhöhung der Elektrolytkonzentration bei. Dies zieht wiederum die Kompression der diffusen Schicht und damit ein Absinken des Zeta-Potentials nach sich. So ist eine gezielte Einsatzkonzentration des Peptisators wichtig, um eine Dispersion zu stabilisieren.

### 2.6 Physikalische Stabilität von Dispersionen

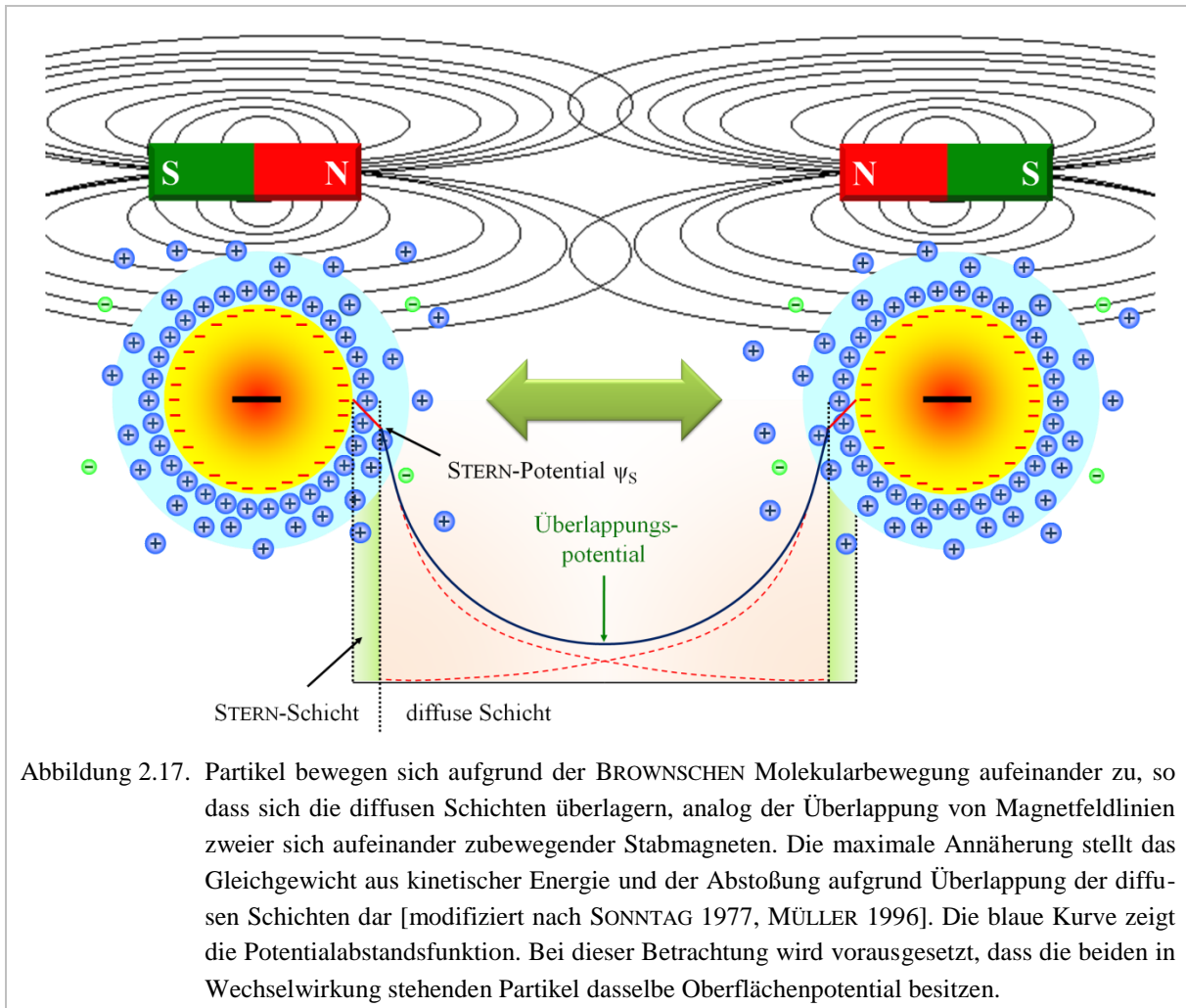
Gemäß den Ausführungen in Kapitel 2.2 sind Dispersionen nur dann physikalisch stabil, wenn sich ihre Partikelgrößenverteilung innerhalb eines bestimmten Zeitraums nicht oder nur geringfügig ändert. Das Charakterisieren der Wechselwirkungen zwischen den Partikeln ist notwendig, um die Struktur und die Dynamik kolloidaler Suspensionen zu verstehen. Die Wechselwirkungen zwischen Partikeln wirken prinzipiell mit denselben Kräften wie zwischen Molekülen und Ionen. Aufgrund der Komplexität der Partikel kommt es dabei zu einer Überlagerung unterschiedlicher Kräfte.

Nähern sich zwei gleich geladene Partikel in einem wässrigen Dispersionsmedium, tritt eine elektrische Abstoßung auf, wenn sich ihre diffusen elektrischen Schichten überschneiden.

---

<sup>5</sup> Ein Peptisator ist eine geladene Substanz mit hoher Affinität zu Oberflächen. Typische Peptisatoren sind Natriumcitrat, Natriumpyrophosphat, Natriumdihydrogenphosphat und Dinatriumhydrogenphosphat [MÜLLER 1996]

Abbildung 2.17 stellt dies bildlich an einem Beispiel zweier Partikel dar, die dasselbe Oberflächenpotential besitzen. Vergleichen lässt sich der Vorgang mit dem Annähern gleicher Pole zweier Stabmagnete und dem resultierenden Überschneiden der Magnetfeldlinien. Das entstehende Potential zwischen den beiden Partikeln (Überlappungspotential) setzt sich additiv aus den Potentialen der einzelnen Partikel zusammen, die hier sonst vorherrschen würden. Voraussetzung in genanntem Beispiel ist ein identisches Oberflächenpotential beider Partikel. Es muss also eine Dispersion gleichartiger Partikel vorliegen.



Aus Kapitel 2.5 ist abzuleiten, dass folgende allgemeine Regel gilt: Die physikalische Stabilität einer Dispersion nimmt mit Höhe des Zeta-Potentials seiner Partikel zu. Ein hohes Zeta-Potential bedeutet hohe Stabilität. Anhand dieser Regel kann die elektrostatische Abstoßung gleich geladener Partikel gemäß Abbildung 2.17 erklärt werden. Ist die Partikeloberflächenladung durch eine geringe Anzahl an dissoziierten Oberflächengruppen sehr niedrig, sind elektrische Abstoßung und physikalische Stabilität ebenfalls gering [MÜLLER 1996].

Die Annäherung zweier Kolloidpartikel beeinflussen aber nicht nur repulsive Kräfte aufgrund der elektrostatischen Abstoßung gleichnamiger Oberflächenladungen (repulsive Größen werden im Folgenden mit dem Index R versehen.) Auch attraktive Kräfte (Index A) spielen eine Rolle. Außerdem liegen in den meisten Fällen Partikelmischungen mit unterschiedlichem

Oberflächenpotential vor. Sie führt zu einer veränderten Adsorptionswahrscheinlichkeit in der STERN-Schicht. Die Überlagerung der Doppelschichten sowie die Ionenverdrängung in den Schichten müssen bei starker Annäherung der Partikel ebenfalls berücksichtigt werden. Dies beeinflusst wiederum das Überlappungspotential [KRUYT 1952, DERJAGUIN et al. 1987].

### 2.6.1 DLVO-Theorie

DERJAGUIN und LANDAU sowie VERWEY und OVERBEEK (DLVO) entwickelten unabhängig voneinander die sogenannte DLVO-Theorie. Diese ermöglicht die Beurteilung und Berechnung der Stabilität einer Dispersion über die Wechselwirkungsenergie zweier geladener Partikel in Abhängigkeit von deren Abstand [DERJAGUIN und LANDAU 1941, VERWEY und OVERBEEK 1948]. Die Theorie betrachtet die Gesamtwechselwirkung zwischen zwei Partikeln als Summe der elektrostatischen Abstoßung und der anziehenden Dispersionswechselwirkung. Zugrunde liegt die Annahme eines gemittelten, kugelsymmetrischen Potentials um die Partikel.

Die DLVO-Theorie wird im Rahmen dieser Arbeit lediglich in komprimierter Form wiedergegeben. Der Fokus liegt auf der Annäherung und Wechselwirkung von zwei gleich geladenen Partikeln mit jeweils identischem Oberflächenpotential und gleichartigen diffusen Schichten, wie Abbildung 2.17 zeigte.

Laut LAGALY wird die elektrostatische Abstoßungsenergie  $E_R$  der diffusen Schichten mit abnehmendem Partikelabstand nach folgender Näherungsgleichung errechnet [LAGALY 1984]:

$$E_R = \frac{d}{z_i^2} \cdot \frac{\varepsilon}{4} \cdot \frac{16 \cdot k_B^2 \cdot T^2}{e_0^2} \cdot \gamma^2 \cdot e^{-\kappa \cdot a} \quad (2.13)$$

mit den Variablen:

$d$	Partikeldurchmesser,
$z_i$	Ladungszahl,
$\varepsilon$	Permittivitätskonstante der Dispersionslösung,
$k_B$	BOLTZMANN-Konstante,
$T$	absolute Temperatur,
$\gamma$	$= (e^{y/2} - 1) \cdot (e^{y/2} + 1)$ mit $y = z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_0 / (k_B \cdot T)$ ,
$e_0$	Elementarladung,
$\kappa$	DEBYE-HÜCKEL-Parameter und
$a$	Abstand zwischen zwei Partikeln.

Der Ausdruck  $z_i \cdot e_0 \cdot \Psi_0$  bildet die elektrostatische Energie eines Ions auf der Partikeloberfläche. Nach Gleichung 2.13 steigt die Abstoßung der Partikel an, wenn der Abstand  $a$  zwischen den Partikeln mit dem Durchmesser  $d$  kleiner wird. Der Einfluss des Oberflächenpotentials  $\Psi_0$  steckt in der Variable  $\gamma$ , die mit steigendem Oberflächenpotential gegen 1 geht. Die Abstoßung ist in diesem Fall vom Oberflächenpotential unabhängig. Dies gilt aber nur für



Werte  $\Psi_0 \gg 100$  mV und wird in der Praxis bei den wenigsten Dispersionen erreicht [MÜLLER 1996]. Daher ist eine Stabilisierung der Dispersion über die Erhöhung des Oberflächenpotentials möglich [MÜLLER 1996]. Zwei Parameter sind somit entscheidend für die elektrostatische Abstoßung:

1. die Elektrolytkonzentration mit ihrem Einfluss auf die Dicke der diffusen Schicht und
2. das Oberflächenpotential  $\Psi_0$ .

Während der Annäherung zweier gleichsinnig geladener Partikel erhöht sich mit Zunahme der elektrostatischen Abstoßung  $E_R$  aber auch die VAN DER WAALS-Anziehung  $E_A$ . Für kugelförmige Partikel, deren Durchmesser  $d$  größer als ihr Abstand  $a$  zueinander ist, ergibt sich als Näherung für  $E_A$ :

$$E_A = -A \cdot \frac{d}{24 \cdot a} \quad (2.14)$$

mit:

- $A$      HAMAKER-Konstante,
- $d$      Partikeldurchmesser und
- $a$      Abstand zwischen zwei Partikeln.

Die HAMAKER-Konstante in Gleichung 2.14 errechnet sich aus der Partikelladung  $q$  und der LONDONSCHEN Konstante  $\beta$  [HAMAKER 1940]:

$$A = \pi \cdot q^2 \cdot \beta. \quad (2.15)$$

Neben der Näherung 2.14 gibt es weitere Gleichungen, die für eine exaktere Berechnung empfehlenswert sind [LAGALY 1984]. Auf diese soll in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht weiter eingegangen werden.

Die Interaktion (Index I) für eine Dispersion kugelförmiger Partikel in wässriger Elektrolytlösung setzt sich additiv zur Wechselwirkungsenergie  $E_I$  zusammen aus der elektrostatischen Abstoßungsenergie  $E_R$  und der Dispersionsenergie  $E_A$ :

$$E_I = E_R + E_A. \quad (2.16)$$

Werden die Näherungsgleichungen 2.13 und 2.14 in Gleichung 2.16 eingesetzt, führt dies zu Gleichung 2.17:

$$E_I = \frac{d}{z_1^2} \cdot \frac{\varepsilon}{2} \cdot \frac{16 \cdot k_B^2 \cdot T^2}{e_0^2} \cdot \gamma^2 \cdot e^{-\kappa \cdot a} - A \cdot \frac{d}{24 \cdot a}. \quad (2.17)$$

Hinsichtlich der Reichweite zwischenpartikularer Kräfte überwiegen die Anziehungskräfte bei sehr großen und sehr kleinen Partikelabständen aufgrund des exponentiellen Abfalls der elektrostatischen Kräfte. Abstand  $a$  steht im Exponent des ersten Summanden von Gleichung 2.17 [SONNTAG 1977]. Gleichung 2.17 gibt außerdem die Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktion  $E_I(a)$  kugelförmiger, gleichsinnig geladener Partikel an. Abbildung 2.18 stellt sie nochmals in Form eines Energie-Abstands-Diagramms dar.

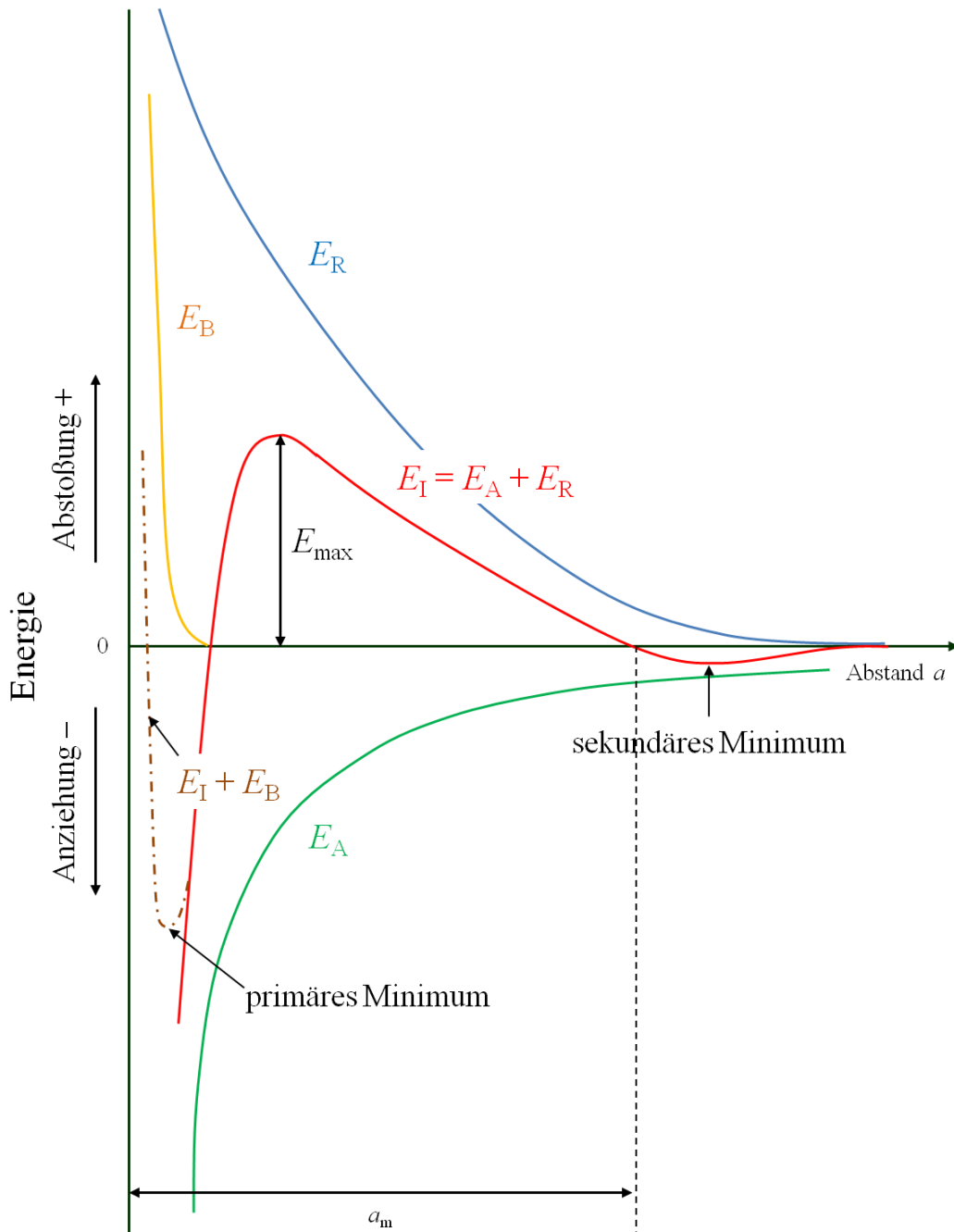


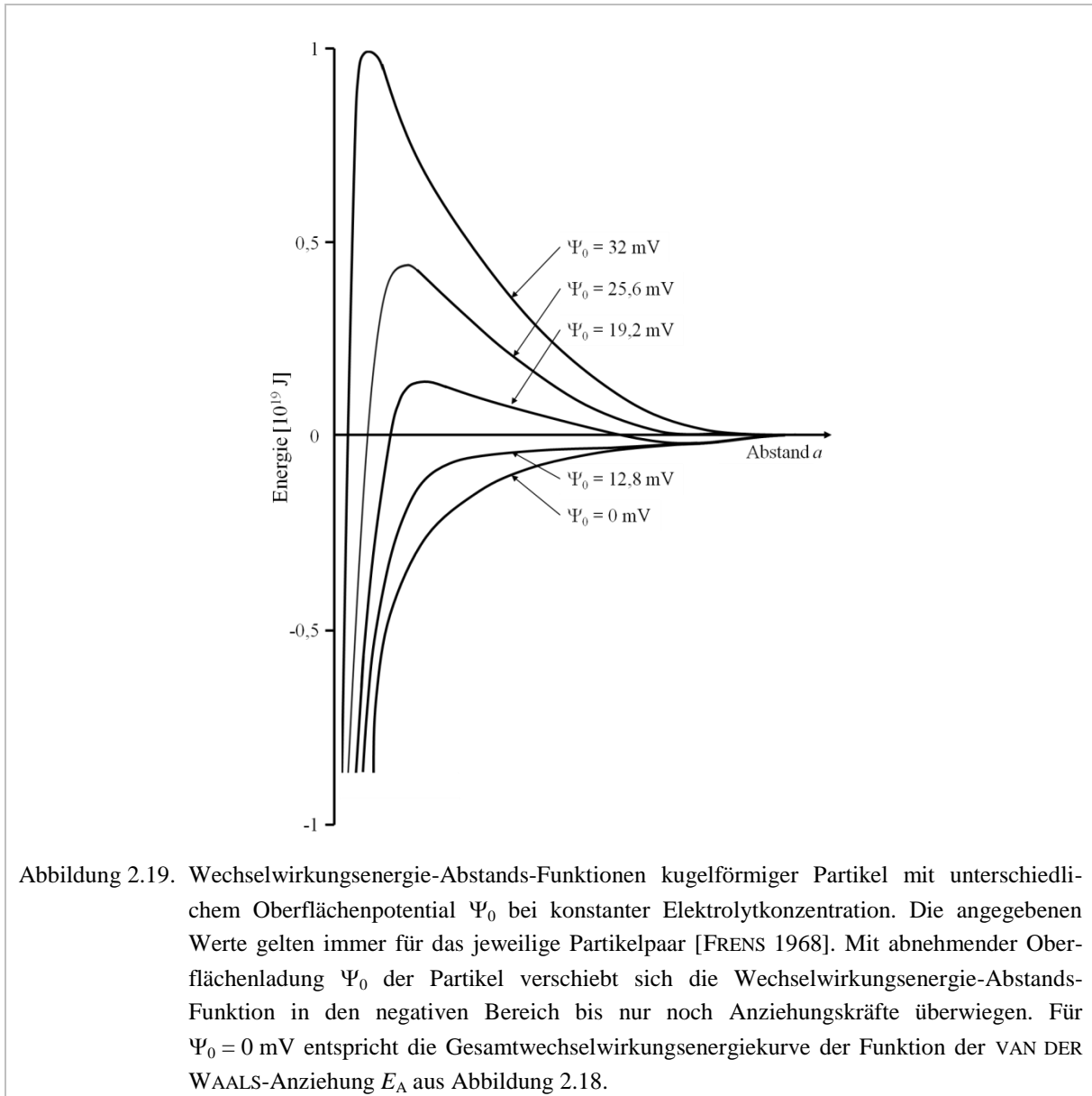
Abbildung 2.18. Darstellung der Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktionen zweier kugelförmiger Partikel: Gesamtwirkungsfunktion  $E_I$  gilt als Summe der elektrostatischen Abstoßung  $E_R$  und der VAN DER WAALS-Anziehung  $E_A$  sowie der BORNschen Abstoßung  $E_B$  und der Summenfunktion aus  $E_I + E_B$  als Funktionen des Abstands  $a$  zwischen den Partikeln (nach DLVO-Theorie) [modifiziert nach MÜLLER 1996]. Ab dem mittleren Abstand  $a_m$  und kleiner dominiert die elektrostatische Abstoßung bis sich eine lokale Energiebarriere  $E_{\max}$  aufbaut, die eine Partikelannäherung  $<a_m$  erschwert. Bei starker BROWNSCHER Molekularbewegung kann es aber zu einem Überwinden von  $E_{\max}$  kommen. Aufgrund der BORNschen Abstoßung  $E_B$  bildet sich ein primäres Minimum aus und die Partikel verbleiben in diesem Abstand zueinander. Es ist möglich, dass sich auch ein zweites oder sekundäres Minimum ausbildet [LAGALY 1984].

Die VAN DER WAALS-Anziehung sinkt mit zunehmendem Abstand  $a$  zunächst schneller als die elektrostatische Abstoßung. Ab einem mittleren Partikelabstand  $a_m$  und kleiner überwiegen repulsive Kräfte, bis die Gesamtwechselwirkungsfunktion  $E_I$  ein lokales Maximum  $E_{\max}$  erreicht. Die Energiebarriere  $E_{\max}$  verhindert bei ausreichender Höhe ein Aneinanderlagern der Partikel. Die Dispersion ist also dann stabil, wenn  $E_{\max}$  besonders hoch ist. Wird diese maximale Abstoßungsenergie durch hohe kinetische Energie überwunden, dominieren die anziehenden Kräfte. Es kommt zur Ausbildung eines primären Minimums. Die Partikel befinden sich dann im Bereich der Anziehung und können aggregieren. Um einen Partikelabstand von Null zu realisieren, muss die Hydrathülle der Partikel entfernt werden. Da dies ein endothermer Prozess ist, wird zusätzliche Energie benötigt, um die BORNISCHE Abstoßung  $E_B$  innerhalb sehr geringer Partikelabstände zu überwinden. In der Praxis ist es zwar nicht entscheidend, ob aggregierte Partikel durch eine Hydrathülle getrennt sind oder nicht. Wissenschaftler diskutieren jedoch die Fähigkeit entsprechender Scherkräfte, Aggregate mit Partikeln im primären Minimum wieder zu redispersieren [MÜLLER 1996]. In diesem Fall ist es von entscheidender Bedeutung, ob Partikel nach einer Dehydratation zusammenhaften oder nicht.

Auch bei größeren Partikelabständen  $a > a_m$  kann die VAN DER WAALS-Anziehung gegenüber der elektrostatischen Abstoßung überwiegen. Hier würde es gemäß Abbildung 2.18 zu einem zweiten oder sekundären Minimum in der Gesamtwechselwirkungskurve kommen. Dadurch werden die Partikel zueinander fixiert. Weder eine weitere Annäherung noch eine weitere Entfernung der Partikel tritt ein. Die Partikel bilden ein locker geflocktes Aggregat. Dieses kann durch einen mechanischen Eintrag von kinetischer Energie jedoch sehr schnell wieder desaggregiert werden. Grund dafür sind die relativ geringen Anziehungskräfte des sekundären Minimums.

Aus der DLVO-Theorie geht hervor, dass die Gesamtwechselwirkungsfunktion stark von der Größe der elektrostatischen Abstoßung abhängt. Diese ist wiederum eine Funktion des Oberflächenpotentials  $\Psi_0$ , der Ausdehnung der diffusen Schicht sowie deren Abhängigkeit von der Elektrolytkonzentration im Dispersionsmedium. In Abbildung 2.19 werden daher Wechselwirkungsenergie-Abstands-Funktionen von Partikelpaaren mit unterschiedlichem Oberflächenpotential  $\Psi_0$  bei konstanter Elektrolytkonzentration aufgetragen. Das jeweils angegebene Oberflächenpotential  $\Psi_0$  gilt für ein Partikelpaar. Abbildung 2.19 verdeutlicht nochmals die Existenz einer Energiebarriere im mittleren Abstand der beiden Partikel. Voraussetzung hierfür wäre  $E_R > E_A$  – die elektrostatische Abstoßung ist größer als die Anziehung. Mit steigendem Oberflächenpotential  $\Psi_0$  wächst außerdem die Energiebarriere, die eine Partikelaggregation verhindert. Sinkt  $\Psi_0$  gegen 0 mV ab, ergeben sich im anziehenden Bereich Wechselwirkungskurven. Hier überwiegt die Anziehung  $E_A > E_R$ . Die Partikel aggregieren und die Dispersion wird instabil. Für den Fall  $\Psi_0 = 0$  mV existieren ausschließlich VAN DER WAALS-Kräfte. Die Wechselwirkungsergebnisse entsprechen der Funktion  $E_A$  aus Abbildung 2.18.

Analog zum Sinken des Oberflächenpotentials in Abbildung 2.19 führt auch ein Erhöhen der Elektrolytkonzentrationen zu schwächeren elektrostatischen Kräften. Grund dafür ist die in Kapitel 2.4.4 beschriebene Kompression der diffusen Schicht. Dieser Fall ist nicht bildlich dargestellt.



Bislang wurde bei den Wechselwirkungsenergien mit dem Partikeloberflächenpotential  $\Psi_0$  gerechnet. Gemäß den Ausführungen in Kapitel 2.4.2 muss aber die Adsorption der Ionen in der STERN-Schicht berücksichtigt werden. Das STERN-Potential  $\Psi_S$  ist für die Berechnung der elektrostatischen Abstoßung (Gleichung 2.13) und der Gesamtwechselwirkungsenergie (Gleichung 2.17) folglich maßgebend. Aufgrund der Distanz von Scherebene zur STERN-Schicht ist das messbare Zeta-Potential  $\Psi_\zeta$  stets geringer als das STERN-Potential  $\Psi_S$ . Nur in Lösungen mit sehr niedrigen Elektrolytkonzentrationen ist der Unterschied zu vernachlässigen.

## 2.6.2 Weiterführende Überlegungen zur DLVO-Theorie

In der dargestellten DLVO-Theorie bleiben zwei Parameter unberücksichtigt [TITZE et al. 2008a]:

1. die kinetische Energie der Partikel durch die Brownsche Molekularbewegung und
2. die Anzahl der Partikel (Partikelkonzentration).

Beide Parameter beeinflussen die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Partikel überhaupt aufeinandertreffen. Zur Veranschaulichung dient ein Beispiel zweier Autos auf der Autobahn, die mit bestimmter Geschwindigkeit analog zur BROWNSCHEN Molekularbewegung fahren. Während sie anfangs noch den Sicherheitsabstand zueinander einhalten, kann sich bei hohem Verkehrsaufkommen (hohe Partikelkonzentration) ein weiteres Auto in den Sicherheitsabstand drängen. Die Autoabstände verringern sich nun derart, dass es zum Verkehrsunfall (Aggregieren) kommt.

Die zusätzlich eingebrachte kinetische Energie durch Temperatur, Rühr- oder Schüttelvorgänge ist bei der Stabilitätsbeurteilung von Dispersionen demnach immer zu berücksichtigen. Außerdem muss festgestellt werden, mit welcher statistischen Wahrscheinlichkeit zwei Partikel aufeinandertreffen. Grundsätzlich ist die Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens bei stark verdünnten Lösungen geringer als bei hoch konzentrierten Systemen. Letztere führen deshalb auch zu verstärkter Aggregation, beispielsweise einer Agglomeration [SCHUHMAN 1995].

Zusammenfassung:

1. Die physikalische Stabilität einer Dispersion nimmt mit der Höhe des Zeta-Potentials zu (hohes Zeta-Potential = hohe Stabilität).
2. Die Höhe der Partikelkonzentration in einer Probe darf nicht zu groß sein, sonst könnten Partikel den Abständen zueinander aufgrund ihrer kinetischen Energie und dem abnehmenden Raum stark verringern und aggregieren (geringe Partikelanzahl = bessere Stabilität). Mit zunehmender Partikelkonzentration steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die mittlere freie Weglänge der Partikel stark abnimmt.
3. Die Menge an echt gelösten Stoffen (Ionen) sollte nicht zu hoch sein, da eine steigende Elektrolytkonzentration zu schwächeren elektrostatischen Kräften führt. Grund dafür ist die Kompression der diffusen Schicht (niedrige Elektrolytkonzentration = bessere Stabilität).

## 2.7 Elektrokinetische Effekte

Das mögliche Abstreifen eines Teils der diffusen Schicht führt zu unterschiedlichen physikalischen Effekten, die mit dem Begriff Elektrokinetik oder als elektrokinetische Effekte bezeichnet werden [ABRAMSON 1934, ADAM 1941]. SHAW unterscheidet vier verschiedene elektrokinetische Phänomene, die für klassische Methoden zur Potential- bzw. Ladungsmessung in der Analytik genutzt werden [SHAW 1980]:

1. Elektrophorese,
2. Strömungspotential,
3. Sedimentationspotential und
4. Elektroosmose.

Für die vorliegende Arbeit ist letztlich nur das Strömungspotential relevant. Die anderen Effekte werden der Vollständigkeit halber erwähnt. Auch sie ermöglichen die Messung des Zeta-Potentials als wichtigen elektrochemischen Parameter der Grenzphase. Im Folgenden wird allein das Wesen des Strömungspotentials kurz erklärt.

Die Strömungspotential- bzw. Strömungsstrommessung ist eine Methode zur Bestimmung des Zeta-Potentials. Der funktionelle Zusammenhang zwischen Strömungspotential bzw. -strom und dem elektrokinetischen Potential wurde von SMOLUCHOWSKI abgeleitet [SMOLUCHOWSKI 1921]. Ionen eines Vorzeichens werden dann vorwiegend mitgeführt, wenn in einer Kapillare oder einem Diaphragma, an deren Wandung sich eine elektrische Doppelschicht ausgebildet hat, die Flüssigkeit infolge einer angelegten Druckdifferenz  $\Delta p$  strömt. Die zwischen den Kapillarenden gebildete Potentialdifferenz wird als Strömungspotential bezeichnet [SONNTAG 1977, DÖRFLER 2002, WEDLER 2004]. Dieser Vorgang findet analog statt, wenn die Flüssigkeit an Partikeln vorbeiströmt, die an der Wandung adsorbiert sind. Voraussetzung wäre das Ausbilden einer elektrischen Doppelschicht der Partikel durch Oberflächenladungen. Im beweglichen Teil der elektrischen Doppelschicht (diffuse Schicht) wird die Ladung in der Zeiteinheit transportiert. Im stationären Zustand hingegen wird sie von einem elektrischen Strom kompensiert, der durch die Flüssigkeit fließt [DÖRFLER 2002]. Dieser sogenannte Strömungsstrom  $I_s$  ist direkt proportional zum Strömungspotential  $U_s$  ( $I_s \sim U_s$ ).

Über die Bestimmung von Strömungsstrom  $I_s$  und Strömungspotential  $U_s$  lässt sich das Zeta-Potential gemäß den Ableitungen von HELMHOLTZ und SMOLUCHOWSKI wie folgt errechnen [SMOLUCHOWSKI 1921]:

$$\Psi_\zeta = \frac{I_s}{\Delta p} \cdot \frac{\eta}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0} \cdot \frac{L_D}{Q_D} \quad (2.18)$$

$$\Psi_\zeta = \frac{U_s}{\Delta p} \cdot \frac{\eta}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0} \cdot \frac{L_D}{Q_D} \cdot \frac{1}{R} \quad (2.19)$$

mit:

$\Delta p$	Druckdifferenz,
$\eta$	Viskosität,
$\varepsilon$	Permittivitätskonstante der Dispersionslösung,
$\varepsilon_0$	Permittivitätskonstante des Vakuums (elektrische Feldkonstante),
$L_D$	Länge der Kapillare bzw. des Diaphragmas,
$Q_D$	Querschnitt der Kapillare bzw. des Diaphragmas und
$R$	elektrischer Widerstand.

Nach Gleichungen 2.18 und 2.19 hängen Höhe und Vorzeichen des Zeta-Potentials linear von den messbaren elektrokinetischen Effekten, dem Strömungsstrom  $I_s$  und dem Strömungspotential  $U_s$  ab. Die Proportionalitätsfaktoren sind stoffspezifische Größen der jeweiligen flüssigen Phase (Dispersionsmedium).

In der Literatur wurde eine Vielzahl von Messanordnungen zur Bestimmung des Strömungspotentials bzw. -stroms beschrieben. Auf deren konstruktive Details wird an dieser Stelle verzichtet [ABRAMSON 1934, JACOBASCH 1984, BÖRNER et al. 1994, LYKLEMA 1999a, LYKLEMA 1999b]. Das hier verwendete Messverfahren zur Oberflächenpotentialbestimmung beschreibt Kapitel 4 Material und Methoden detailliert.

Alle vier genannten elektrokinetischen Erscheinungen machen das Zeta-Potential der Grenzphase als wichtigen elektrokinetischen Parameter zugänglich. So werden Informationen über die elektrochemischen Erscheinungen an der Phasengrenze einerseits und die Ladungsstruktur um die Partikel von Dispersionskolloiden andererseits erhalten. Das Zeta-Potential wird als Potential an der Scherebene der diffusen Doppelschicht gemessen. Für letztere ist die Strömungsgeschwindigkeit definitionsgemäß Null [DÖRFLER 2002]. Die Lage der Scherebene hängt maßgeblich von den Versuchsbedingungen ab. Daher ist keine direkte Beziehung zwischen dem Zeta-, dem NERNST- und dem STERN-Potential der elektrischen Doppelschicht gegeben.

## 2.8 Proteine als kolloidale Partikel im Bier

Hauptbestandteile des Biers sind Wasser, Alkohol und Extrakt. Letzterer besteht dabei vorwiegend aus Kohlehydraten und Eiweißstoffen. Bier enthält über 450 Bestandteile, die Makromoleküle ausbilden, aus denen grundsätzlich Trübungen entstehen können und somit Trübungspotential besitzen [STEINER et al. 2011]. Für eine kolloidchemische Betrachtung der

chemisch-physikalischen Stabilität des Biers spielen vor allem proteinische Substanzen eine Rolle [LEIPER und MIEDL 2009]. Diese bilden als Proteine und Polypeptide zu 40 % bis 75 % auch die Hauptkomponenten der Trübstoffe oder Trübungsbildner des Biers [BELITZ et al. 2001, NARZISS 2004]. Deshalb werden im Folgenden nur die Gruppe der Proteine und ihr Zusammenspiel mit Polyphenolen in der Trübungsbildung betrachtet.

Proteine bilden generell eine große Klasse von biologischen Makromolekülen, denen verschiedenste Aufgaben in der Natur zukommen. Daher weisen sie sehr unterschiedliche und komplizierte Molekülstrukturen auf [MATISSEK et al. 2009]. In Form von Enzymen dienen Proteine beispielsweise als effiziente Biokatalysatoren [LÖFFLER et al. 2007]. Trotz unterschiedlichster Funktionen sind alle Proteine aus denselben Grundbausteinen aufgebaut – den Aminosäuren. Um Proteine in ihrer kolloidalen Eigenschaft als Partikel im Bier besser zu verstehen, folgt eine kurze Erläuterung zu deren Aufbau, Raumstruktur, Faltung und Stabilität.

### 2.8.1 Aufbau und Primärstruktur

Basisbausteine der Proteine sind die Aminosäuren. Chemisch gesehen handelt es sich um Carbonsäuren und deren Derivate, die eine Aminogruppe besitzen. Insgesamt gibt es 20 Aminosäuren, die sich in ihrer Seitenkette voneinander unterscheiden. Ihre Eigenschaft in wässriger Lösung hängt entscheidend von dem Ladungszustand der Seitenkette ab. Dabei werden unpolare, ungeladene Reste von polaren und geladenen Resten differenziert. Aminosäuren können mittels Peptidbindung kovalent zu einer Kette mit bestimmter Aminosäuresequenz untereinander verbunden werden. Proteine gehören daher zur chemischen Gruppe der hochmolekularen Polypeptide [KARLSON et al. 2005]. In Abhängigkeit von Aminosäureanzahl und resultierender Kettenlänge wird zwischen Oligopeptiden (Aminosäureanzahl kleiner 10) und Polypeptiden (>10 Aminosäuren) unterschieden. Ab einer Kettenlänge von größer 100 wird von einem Protein gesprochen. Die Aminosäuresequenz bildet die Primärstruktur des Proteins.

In einem fertigen Bier mit 12 %iger Stammwürze können folgende proteinische Inhaltsstoffe nachgewiesen werden [MIEDANER 2002]:

1. eine Gesamtstickstoffkonzentration von ungefähr 700 mg/l bis 800 mg/l (gemäß der Bestimmungsmethode nach Kjeldahl) oder etwa 300-800 mg/l proteinöses Material nach LEIPER und MIEDL [LEIPER und MIEDL 2009],
2. etwa 130-180 mg/l  $\text{MgSO}_4$ -fällbarer Stickstoff (hochmolekularer Anteil),
3. etwa 15-25 mg/l noch koagulierbarer Stickstoff sowie
4. 120-150 mg/l mittelmolekularer und 420-520 mg/l niedermolekularer Stickstoff.

Die Auflistung zeigt, dass der Großteil des Gesamtstickstoffs aus Polypeptiden besteht. Diese liegen in der Größenordnung von 5 kD bis 100 kD [LEIPER und MIEDL 2009]. Obwohl Proteine erst ab einer Größe von 17 kD als solche zu bezeichnen sind, werden Bierproteine in Form von Proteinen und Polypeptide allgemein als Protein bezeichnet [BISHOP 1975].



### 2.8.2 Raumstrukturen

Aufgrund der immer wiederkehrenden Abfolge von Peptidbindungen sowie bestimmter Aminosäuren bilden sich innerhalb des Moleküls Wasserstoffbrückenbindungen aus. Lokale Strukturen wie die  $\alpha$ -Helix oder das  $\beta$ -Faltblatt können dadurch entstehen. Sie stellen die Sekundärstruktur dar. Unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen den Seitengruppen der Aminosäuren führen hingegen zu einer dreidimensionalen Form des lokalstrukturierten Proteins. Hierbei spielen vor allem elektrostatische und VAN DER WAALS-Kräfte sowie Wasserstoffbrücken- und kovalente Disulfidbindungen eine Rolle. Eine solche Polypeptid- oder Untereinheit wird Tertiärstruktur genannt. Als Quartärstruktur gilt die Form eines Proteins, das aus mehreren Polypeptid-Einheiten besteht. Sie beschreibt die räumliche Anordnung der Untereinheiten und die Art ihrer Kontakte [NELSON und COX 2009].

### 2.8.3 Faltung und Stabilität

Obwohl die Aminosäuresequenz die Vorgabe für die dreidimensionale Proteinstruktur ist, kann die Tertiärstruktur aufgrund der Anordnungsmöglichkeiten nicht exakt vorausgesagt werden [LÖFFLER et al. 2007]. Ein Protein besitzt im ungefalteten Zustand die höchste Energie [DOBSON et al. 1998, DINNER et al. 2000]. Gefaltete Zwischenzustände hingegen zeichnen sich als energetisch günstiger ab und entsprechen eher der Natur des nativen Proteins. Die native Struktur des Proteins stellt den energetisch tiefsten Zustand der Proteinkonfiguration dar.

Die Proteinfaltung zeichnet sich durch eine hohe Komplexität aus, die eine einfache thermodynamische Betrachtung ausschließt. Eine thermodynamische Betrachtung des Faltungsvorgangs für ein Zweizustandssystem nach HAWLEY ist nur unter vereinfachten Bedingungen wie Nichtberücksichtigen der Vielteilchen-Wechselwirkungen möglich [HAWLEY 1971]. Die Proteinestabilität wird demnach als Unterschied zwischen dem nativen Zustand und dem denaturierten Zweizustandssystem über die Differenz der freien GIBBSCHEN Enthalpie und den natürlichen unabhängigen Variablen Druck  $p$  und Temperatur  $T$  formuliert:

$$\Delta G(p, T) = G_D - G_N. \quad (2.20)$$

$G_D$  stellt die GIBBS-Energie im denaturierten und  $G_N$  die GIBBS-Energie im nativen Zustand dar. Wird die Energiedifferenz  $\Delta G(p, T)$  nach  $p$  und  $T$  bis zur zweiten Ordnung entwickelt, ergibt sich [SMELLER 2002]

$$\begin{aligned} \Delta G(p, T) = \Delta G_0 - \Delta S_0 \cdot (T - T_0) - \frac{\Delta C_p}{2 \cdot T_0} \cdot (T - T_0)^2 \\ + \Delta V_0 \cdot (p - p_0) + \frac{\Delta z}{2} \cdot (p - p_0)^2 + \Delta f \cdot (T - T_0). \end{aligned} \quad (2.21)$$

Die nullindizierten Variablen beziehen sich auf einen beliebig festgelegten Referenzpunkt.  $S$  ist die Entropie,  $V$  das Proteinvolumen und  $C_p$  die Wärmekapazität bei konstantem Druck  $p$ .

Der Kompressibilitätsfaktor  $z$  stellt die druckbedingte Volumenänderung bei konstanter Temperatur  $T$  dar:

$$z = \left( \frac{\partial V}{\partial p} \right)_T. \quad (2.22).$$

Der thermische Ausdehnungsfaktor  $f$  ist als temperaturabhängige Volumenänderung bei konstantem Druck definiert als

$$f = \left( \frac{\partial V}{\partial T} \right)_p. \quad (2.23).$$

Die Stabilitätsgrenze zwischen gefaltetem und denaturiertem Proteinzustand kommt nach Gleichung 2.21 als  $\Delta G(p,T) = 0$  zum Ausdruck. Graphisch stellt sie sich in einem  $p$ - $T$ -Diagramm als Funktion einer Ellipse dar. Abbildung 2.20 zeigt schematisch den Kurvenverlauf der Stabilitätsgrenze. Anhand dieser Abbildung ist der Bereich des Proteins im nativen Zustand vom Bereich des denaturierten Zustands durch die Stabilitätsgrenze (rote Ellipse) getrennt. Nicht nur Hitze, sondern auch Kälte und Druck können gemäß der Darstellung zur Denaturierung eines Proteins führen. Abhängig von der jeweiligen Denaturierungsart (Druck oder Temperatur) treten aber deutliche strukturelle Unterschiede auf. So liefert das Denaturieren mittels Kälte oder hohem Druck Polypeptide, die eine gewisse Sekundärstruktur besitzen. Sie sind außerdem deutlich kompakter als durch Hitze denaturierte Proteine [SMELLER 2002]. Tatsächlich verbinden sich verschiedene Proteinformen im denaturierten Zustand gemäß dem HAWLEY-Modell durch kontinuierliche Übergänge im  $p$ - $T$ -Diagramm.

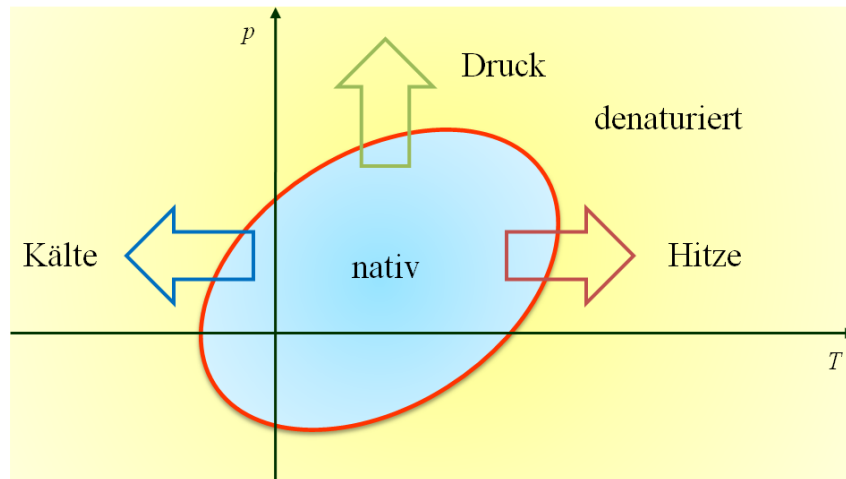


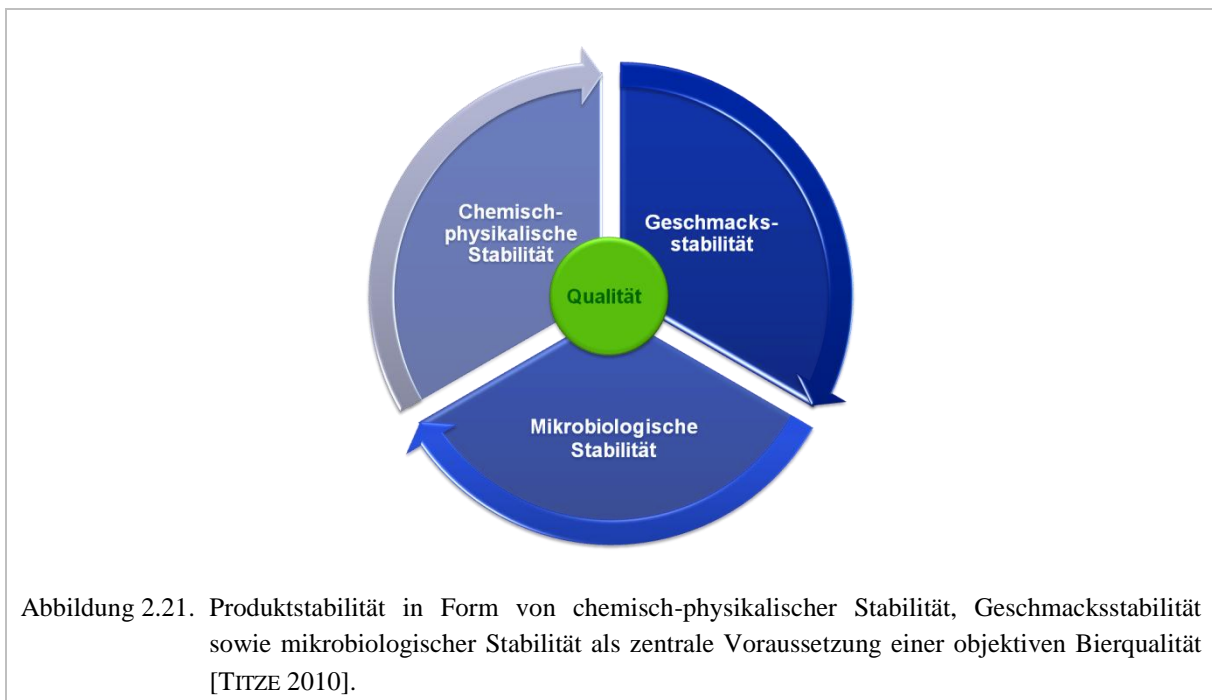
Abbildung 2.20. Schematische Darstellung der Stabilitätsgrenze zwischen gefaltetem und denaturiertem Zustand eines Proteins nach Gleichung 2.21 für  $\Delta G(p,T) = 0$ . Der Kurvenverlauf (rot) der Funktion ist ellipsenförmig und limitiert den Druck- und Temperaturbereich des Proteins im nativen Zustand (hellblaue Fläche). Mittels Kälte- (blauer Pfeil), Druck- (grüner Pfeil) oder Hitzeeinwirkung (roter Pfeil) geht das Protein in den denaturierten Zustandsbereich über (gelbe Fläche) [SCHROER 2008].

## 2.9 Chemisch-physikalische Bierstabilität

In der Literatur werden sechs Arten von Bierstabilität unterschieden [LEIPER und MIEDL 2009]:

1. Biologische Stabilität,
2. nicht-biologische Stabilität,
3. Schaumstabilität,
4. Geruchs- und Geschmacksstabilität,
5. Lichtstabilität und
6. Gushing.

Punkt 4 wird allgemein als Geschmacksstabilität bezeichnet, zu der auch noch Vollmundigkeit, Rezenz und Qualität der Bittere zählen. Nicht-biologische und Schaumstabilität sowie Gushing lassen sich mit dem Begriff chemisch-physikalische Stabilität zusammenfassen. Die Lichtstabilität kann sowohl zu Geschmacks- als auch zu chemisch-physikalischer Stabilität gezählt werden. Gemäß Abbildung 2.21 bilden chemisch-physikalische und mikrobiologische Stabilität sowie Geschmacksstabilität die Basis einer objektiven Qualität des Biers.



Die chemisch-physikalische Bierstabilität wird auch kolloidale Stabilität genannt und in der Literatur definiert als Resistenz filtrierter Biere gegenüber Trübungsbildung [KUNZE 2011]. Diese Definition kann aber auch auf naturtrübe Biere erweitert werden. Hier sedimentieren die verantwortlichen Partikel für die erwünschte Dauertrübung im Zuge der Lagerung ebenfalls durch Agglomerieren langsam aus. Das Bier klart so vorzeitig aus [ENGLMANN et al. 2010, Titze et al. 2010a]. In beiden Fällen spielt die physikalische Stabilität der Dispersion eine entscheidende Rolle. Die Höhe der chemisch-physikalischen Stabilität eines Biers hängt dabei mit der Geschwindigkeit der Trübungsbildung (Agglomerieren der Partikel) und der Bildung des Bodensatzes zusammen.

In der Brauwissenschaft wird von zweierlei Erscheinungsformen der kolloidalen Trübung gesprochen. Die reversible Kältetrübung entsteht in einem Temperaturbereich von  $-8\text{ °C}$  bis  $+5\text{ °C}$  und löst sich nach Erwärmen auf  $\geq +20\text{ °C}$  wieder auf. Sie gilt als Vorstufe der Dauertrübung, welche irreversibel und temperaturstabil ist. Sowohl Zusammensetzung als auch Ausbildung der Kältetrübung wird mit Ausnahme, dass sie reversibel ist, als identisch mit der Dauertrübung beschrieben [POWER und RYDER 1989-1991]. Eine Bildung der Kältetrübung muss der Brauer beachten, da sie sich in eine permanente Trübung entwickelt, falls er dem nicht entgegen wirkt [BAMFORTH 1999].

### 2.9.1 Trübung durch Komplexbildung

Biertrübungen können aus einer Vielzahl von Komponenten bestehen. Es ist aber seit Jahren bekannt, dass Bierproteine hauptsächlich sowohl für die kolloidale als auch die Schaumstabilität verantwortlich sind [LEIPER und MIEDL 2009]. In vielen Forschungsberichten gelten Proteine und Polyphenole als primär relevante kolloidale Trübungspartikel [GOMEZ und LEWIS 1969, GRAMSHAW 1969, GRAMSHAW 1970a, GRAMSHAW 1970b, DADIC und BELLEAU 1980, WACKERBAUER und ANGER 1984, LUCK et al. 1994, CHARLTON et al. 2002, SIEBERT 2006]. Polysaccharide und anorganische Substanzen werden in Trübungen zwar nachgewiesen, sind aber von vergleichsweise geringer Bedeutung und gelten daher als sekundäre Trübungsbildner [GRAMSHAW 1970a, BELLAU und DADIC 1981, ANGER 1983, PFENNINGER 1987, SIEBERT 2004]. Bereits unterschiedlichste Stickstofffraktionen wurden im Zusammenhang mit der Trübungsbildung gezielt auf ihr Molekulargewicht hin untersucht, um beispielsweise Polypeptiden bestimmter Größenordnungen Relevanz für die kolloidale Stabilität zuzuschreiben [ASANO et al. 1982, MARSHALL und WILLIAMS 1987, O'REILLY 1994, MUSSCHE 1997, MUSSCHE und DE PAUW 1999, PAPP 2000, EVANS et al. 2003, LEIPER et al. 2003a, LEIPER et al. 2003b, LEIPER et al. 2005, ROBINSON et al. 2007]. Dies wurde aber sowohl durch das eingeschränkte Vorhandensein der Polypeptide im Bier als auch deren zuverlässige messtechnische Erfassung limitiert [LEIPER und MIEDL 2009]. Daher sind unterschiedlichste Ergebnisse dazu veröffentlicht worden, die oft sehr widersprüchlich sind.

In diesem Kontext wurde wiederholt von trübungsaktiven Proteinen gesprochen [NARZISS und RÖTTGER 1974, NARZISS 1992]. Letztlich besteht bis heute aber Uneinigkeit, ob eine Differenzierung trübungsaktiver Proteine nach Molekulargewichtsbereichen möglich ist [PÖSCHEL 2008]. Unstrittig scheint dagegen die Beteiligung der Proteine mit hohem Anteil der hydrophoben Aminosäure Prolin an der Trübungsbildung [ASANO et al. 1982, OUTTRUP et al. 1987, OUTTRUP 1989, MURRAY et al. 1994, SIEBERT und LYNN 1997, BAMFORTH 1999, CHARLTON et al. 2002, SIEBERT 2006]. Modellversuche legten dar, dass bereits  $2\text{ mg/l}$  trübungsaktive Proteine gemeinsam mit einer Mischung aus Gerbstoffen für eine Trübung von  $1\text{ EBC}$  ausreichen [CHAPON 1994, BAMFORTH 1999]. CHAPON schließt daraus, dass nur ein geringfügiger Teil an Proteinen im Bier trübungsaktiv ist [CHAPON 1994] – darunter wird hier nur das Zusammenspiel von Protein und Polyphenolen verstanden. Andere Mechanismen, die auch zur Trübung führen können, bleiben unbeachtet.

In den letzten Jahren wurden viele theoretische Modellreaktionen zum Trübungsmechanismus publiziert. Nahezu alle basierten auf der Komplexbildung zwischen trübungsaktiven Proteinen und trübungsrelevanten Polyphenolen. Stellvertretend für die Vielzahl an Darstellungen der Reaktionsmechanismen zeigt Abbildung 2.22 die Komplexbildung nach GUZMAN et al. [GUZMAN et al. 1999]. Der Komplex zwischen Protein und Polyphenol ist zunächst reversibel (Kälte-trübung), wird später aber unlöslich und geht in eine Dauertrübung über [CHAPON 1994, LUCK et al. 1994, O'ROURKE 1994, HASLAM 1998, SIEBERT 1999a, SIEBERT 1999b]. Außerdem kommt der Ausgangskonzentration an Proteinen und Polyphenolen sowie dem Verhältnis dieser beiden Substanzgruppen in der Trübungsbildung eine gewisse Bedeutung zu. Konzentrationsverhältnisse von 1:2 und 1:5 zwischen Polyphenol und Protein wirken sich dabei aufgrund ihrer identischen Anzahl freier Bindungsstellen besonders günstig aus [SIEBERT 2004, SIEBERT 2006].

Neben Lagerzeit und -temperatur des Biers nehmen auch Sauerstoff und Metallionen einen Einfluss auf die Trübungsbildung [KUNZE 2011, NARZISS 2004]. Dieser Einfluss wird hier jedoch nicht näher beschrieben, da die Fällungseigenschaften von Sauerstoff und Metallionen bereits in vielen Arbeiten hinreichend untersucht [SIEBERT und LYNN 1997, SIEBERT 1999a, SIEBERT 1999b, SIEBERT 2004, SIEBERT 2006] und in der Literatur erläutert wurden [KUNZE 2011, NARZISS 2004].

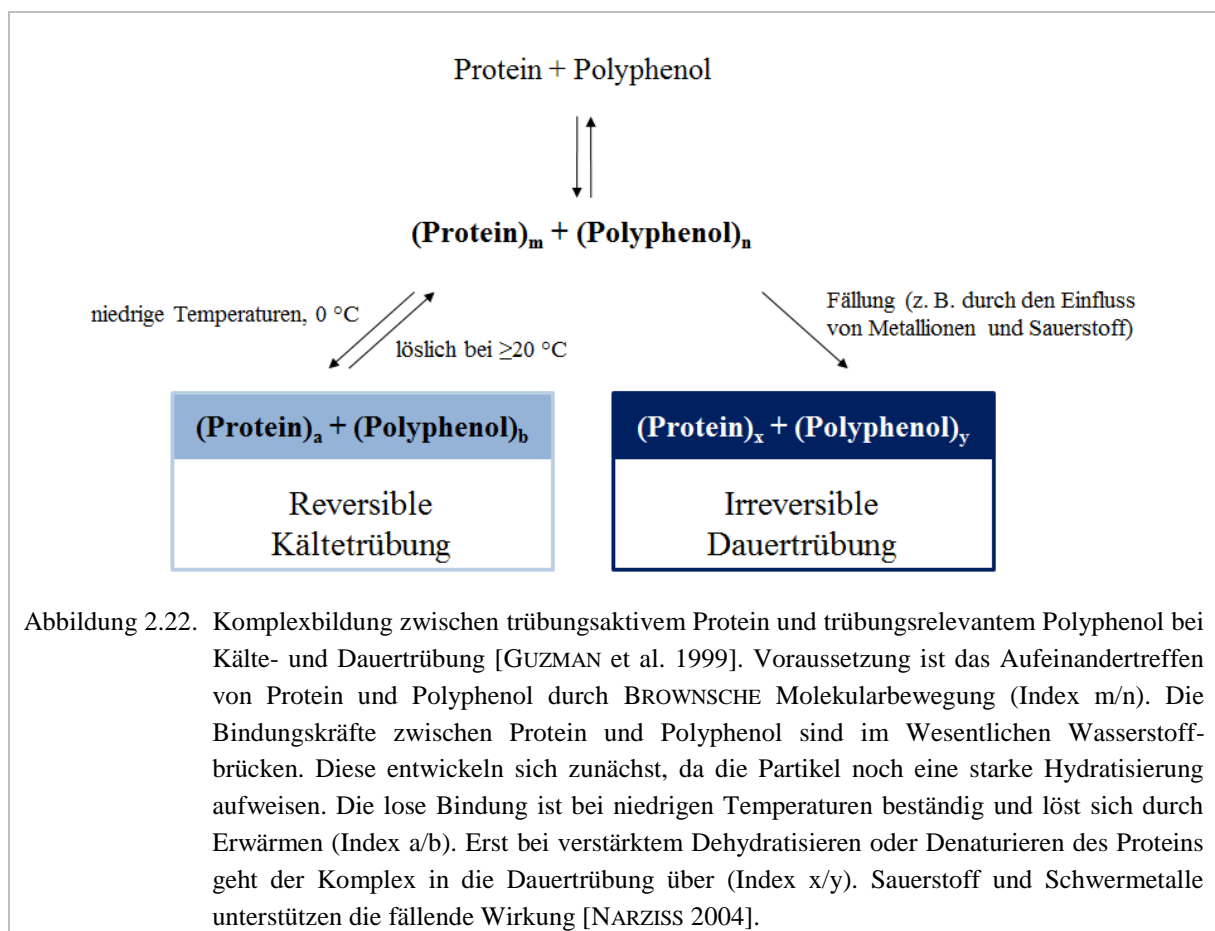


Abbildung 2.22. Komplexbildung zwischen trübungsaktivem Protein und trübungsrelevantem Polyphenol bei Kälte- und Dauertrübung [GUZMAN et al. 1999]. Voraussetzung ist das Aufeinandertreffen von Protein und Polyphenol durch BROWNSCHE Molekularbewegung (Index m/n). Die Bindungskräfte zwischen Protein und Polyphenol sind im Wesentlichen Wasserstoffbrücken. Diese entwickeln sich zunächst, da die Partikel noch eine starke Hydratisierung aufweisen. Die lose Bindung ist bei niedrigen Temperaturen beständig und löst sich durch Erwärmen (Index a/b). Erst bei verstärktem Dehydratisieren oder Denaturieren des Proteins geht der Komplex in die Dauertrübung über (Index x/y). Sauerstoff und Schwermetalle unterstützen die fällende Wirkung [NARZISS 2004].

### 2.9.2 Trübung durch Aggregation

Kapitel 2.9.1 zeigte, dass die Adsorptionsverbindungen aus Partikeln ein allmähliches Vergrößern des Dispersionsgrads bewirken. Zusätzlich spielen hauptsächlich die Zusammenstöße der Partikel im Bier aufgrund BROWNSCHER Molekularbewegung eine Rolle. Sie werden durch das Aneinanderlagern der Partikel sichtbar.

Nach wie vor werden die Interaktionen zwischen Proteinen und Polyphenolen als Hauptursache für die Trübungsbildung angesehen [LEIPER und MIEDL 2009], obwohl im Bier weitaus mehr Polypeptide als Polyphenole enthalten sind [SIEBERT et al. 1996]. So bleiben Polyphenole an den Zellwänden der Hefe haften und werden während der Hefeernte entfernt [LEIPER und MIEDL 2009]. Letztlich verbleiben gemäß MCMURROUGH und BAERT auch nur sehr geringe Konzentrationen im Bier, wobei die trübungsrelevanten Polyphenole 32 % der Bierflavanoide ausmachen und damit 3,3 % der insgesamt vorhandenen Polyphenole darstellen [MCMURROUGH und BAERT 1994]. Dies belegt, dass nur ein sehr kleiner Anteil an Polyphenolen überhaupt in die Trübungsbildung involviert ist.

Da Bier eine wesentlich größere Menge trübungsaktiver Proteine enthält als trübungsrelevante Polyphenole, erscheint die bisherige Fokussierung auf die Komplexbildung als Trübungsursache ungerechtfertigt. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt deshalb in der Betrachtung von Partikeln aus kolloidchemischer Sicht, deren physikalische Stabilität durch zwischenpartikuläre Wechselwirkungen nach der DLVO-Theorie erklärbar ist.

Die Bestimmung der Oberflächeneigenschaften, insbesondere des Oberflächenpotentials, gilt als Maß für die Stabilität einer Dispersion. Sie ermöglicht folglich eine allgemeingültige Beschreibung der Dispersion Bier und ihrer chemisch-physikalischen Stabilität.

### 3 Elektrochemie (Grundlagen elektrochemischer Analysenmethoden)

In dieser Arbeit werden neben dem Messen von Partikeloberflächenpotential und -ladung zwei elektrochemische Methoden angewandt – Konduktometrie und Potentiometrie. Grundlage beider Methoden bilden elektroanalytische Messzellen. Diese bestehen prinzipiell aus zwei Elektroden, welche in eine Lösung eintauchen. Die Messmethoden lassen sich systematisch mittels der Reaktionen an diesen Elektroden klassifizieren [SCHWEDT 2008]. Während die Konduktometriemethode keinerlei Elektrodenreaktion aufweist, wird bei der Potentiometriemethode eine solche Reaktion festgestellt [SCHWEDT 2008].

Für die vorliegende Arbeit ist innerhalb der Konduktometrie hauptsächlich die Leitfähigkeit<sup>6</sup> von Flüssigkeiten bedeutsam. Die pH-Messung spielt als potentiometrisches Verfahren eine Rolle. Beide Messprinzipien werden im folgenden Kapitel kurz erläutert.

#### 3.1 Elektrische Leitfähigkeit

Moleküle spalten sich in Flüssigkeiten oder wässrigen Lösungen der drei chemischen Hauptgruppen Salze, Säuren und Laugen in elektrisch geladene Molekülbruchstücke (Ionen) auf. Die drei Stoffgruppen werden als Elektrolyte bezeichnet; der Spaltungsvorgang wird Dissoziation genannt [OESTERLE 1990].

Die sogenannte elektrolytische Dissoziation [KESSLER 1996] bildet die Grundlage für die Eigenschaft der elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  oder Konduktivität einer Flüssigkeit. Häufig wird auch von der elektrolytischen Leitfähigkeit gesprochen, da die elektrische Leitfähigkeit von wässrigen Lösungen dieser Elektrolyte und deren Konzentration verursacht wird [OESTERLE 1990, HAMANN und VIELSTICH 2005]. Dieser Zusatz drückt den Unterschied zur Leitung des elektrischen Stroms in Metallen aus.

Anmerkung: Die elektrische Leitfähigkeit und der in Kapitel 2.4.5 beschriebene DEBYE-HÜCKEL-Parameter werden im Folgenden mit dem griechischen Kleinbuchstaben Kappa als Formelzeichen abgekürzt [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Zum besseren Unterscheiden der beiden Größen wird die Glyphe  $\kappa$  für die elektrische Leitfähigkeit und  $\kappa$  für den DEBYE-HÜCKEL-Parameter verwendet.

Die allgemeine, vektorielle Form des OHMSCHEN Gesetzes definiert die elektrische Leitfähigkeit als Proportionalitätskonstante zwischen der Stromdichte  $j$  und der elektrischen Feldstärke  $E$  über Formel 3.1 [OHM 1827, HAMANN und VIELSTICH 2005]

$$\vec{j} = \kappa \cdot \vec{E} \quad (3.1)$$

---

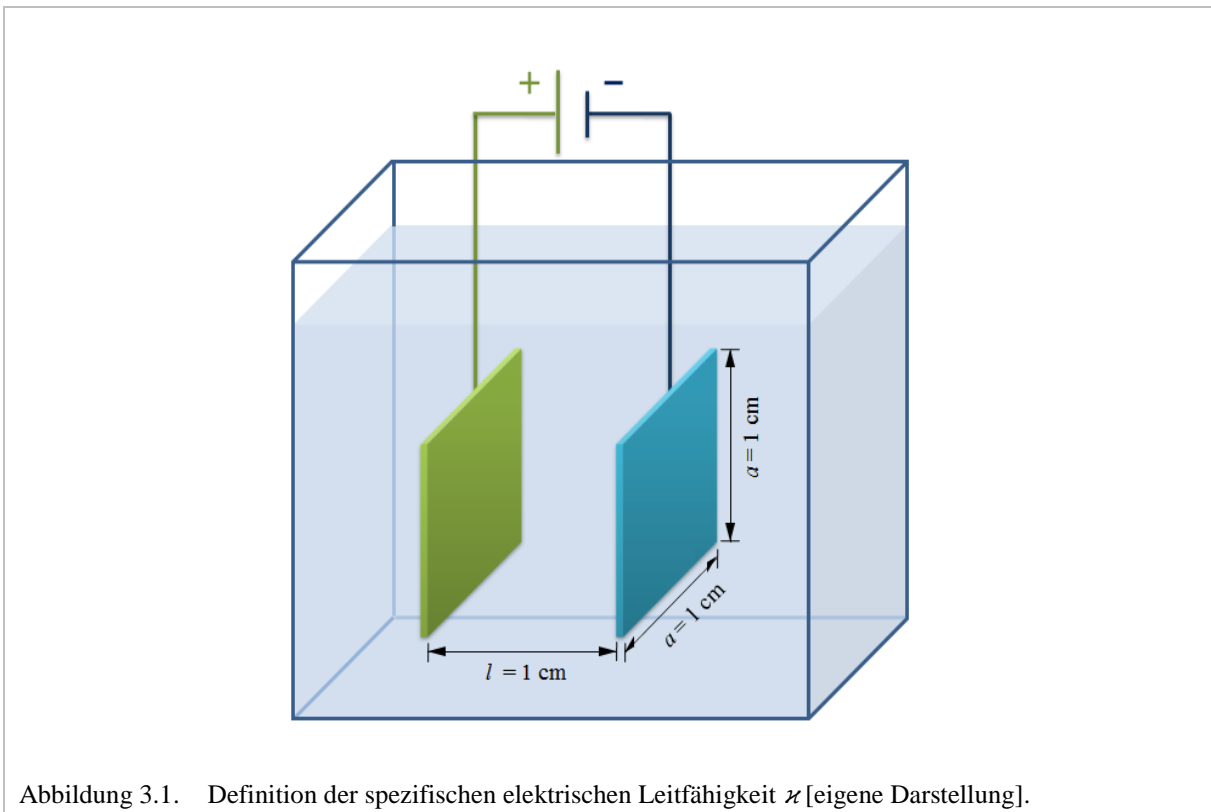
<sup>6</sup> Generell wird Leitfähigkeit als die Fähigkeit eines chemischen Stoffs oder Stoffgemischs bezeichnet, Energie bzw. andere Stoffe oder Teilchen im Raum zu transportieren. Hierbei werden elektrische Leitfähigkeit (für elektrischen Strom), Wärmeleitfähigkeit bzw. thermische Leitfähigkeit (für Wärme) sowie akustische (für Schall) und kapillare Leitfähigkeit unterschieden [GREHN 1991, ATKINS und PAULA 2006].

Gemäß dieser Gleichung ist die elektrische Leitfähigkeit ein Tensor<sup>7</sup> zweiter Stufe, also eine quadratische Matrix. In der vorliegenden Arbeit ist die Stromleitung des Messgeräts parallel zum elektrischen Feld angelegt. Daher reicht die Angabe als skalare Größe aus.

Die elektrische Leitfähigkeit einer Lösung definiert sich anschaulich über den Kehrwert ihres elektrischen Widerstands  $R$  [ATKINS und PAULA 2006]. Grund hierfür ist die einfache und genaue Messung des elektrischen Widerstands. Da Flüssigkeiten zwar ein festes Volumen, aber keine feste Gestalt besitzen, wird die spezifische elektrische Leitfähigkeit über eine definierte Anordnung beschrieben. Abbildung 3.1 zeigt das Volumen  $V$  einer Lösung zwischen zwei quadratischen Elektroden mit einer Seitenlänge  $a = 1$  cm, die sich im Abstand  $l$  von 1 cm gegenüberstehen. Widerstand  $R$ , den die Lösung dem Stromdurchgang entgegensezt, hängt folglich vom Querschnitt  $a^2$  des Leiters, dem Abstand  $l$  der Elektroden sowie dem Kehrwert der elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  der Lösung ab [ATKINS und PAULA 2006]. Dieser Zusammenhang wird über Gleichung 3.2

$$R = \frac{l}{a^2} \cdot \frac{1}{\kappa} \quad (3.2)$$

ausgedrückt.



Nach Auflösen ergibt sich daraus für die elektrische Leitfähigkeit

$$\kappa = \frac{l}{a^2} \cdot \frac{1}{R} \quad (3.3)$$

<sup>7</sup> Der Begriff Tensor bezeichnet in diesem Fall eine Verallgemeinerung des Vektorbegriffs der Physik.



Da der elektrische Widerstand  $R$  des Leiters einen über seine Länge konstanten Querschnitt besitzt, kann dieser auch in Form der Gleichung 3.4 [KOHLRAUSCH 1968a]

$$R = \rho \frac{l}{a^2} \quad (3.4)$$

geschrieben werden. Faktor  $\rho$  stellt den spezifischen elektrischen Widerstand dar. Der Kehrwert des Widerstands  $R$  wird auch als Leitwert  $G$  bezeichnet. Er ist nicht mit der elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  oder dem spezifischen elektrischen Widerstand  $\rho$  zu verwechseln, da beide *spezifische* Stoffkonstanten darstellen. Der Faktor  $l \cdot a^{-2}$  in Gleichung 3.4 wird Zell- oder Gefäßkonstante genannt [DIN 10753 2000].

Für ein normiert dimensioniertes Stück einer Lösung kann die elektrische Leitfähigkeit  $\kappa$  als Kehrwert des spezifischen elektrischen Widerstands  $\rho$  formuliert werden. Dazu wird Gleichung 3.4 in 3.3 eingesetzt:

$$\kappa = \frac{l}{\rho}. \quad (3.5)$$

Da die elektrische Leitfähigkeit der Kehrwert des spezifischen Widerstands  $\rho$  ist, wird sie auch als spezifische elektrische Leitfähigkeit bezeichnet [ATKINS und PAULA 2006].

Die elektrische Leitfähigkeit von Flüssigkeiten ist um ein Vielfaches kleiner als die von Metallen. In Tabelle 3.1 sind typische Leitfähigkeiten und Richtwerte ausgewählter Flüssigkeiten für einen Temperaturbereich von  $20\text{ °C} \leq T \leq 25\text{ °C}$  aufgeführt. Selbst reines Wasser besitzt noch eine Leitfähigkeit. Eine geringfügige Dissoziation von  $\text{H}_2\text{O}$  zu  $\text{H}_3\text{O}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen bzw. Oxonium- und Hydroniumionen (Autoprotolyse) rufen diese hervor. Die Leitfähigkeit kann sich bei destilliertem Wasser zusätzlich durch die Dissoziation von Kohlensäure erhöhen. Verglichen mit der Leitfähigkeit von Kupfer<sup>8</sup> mit  $\kappa = 65\text{ S}\cdot\text{cm}^{-1}$  [HAMANN und VIELSTICH 2005] liegen die Werte bei Flüssigkeiten im Bereich des tausendsten oder millionsten Teils. Sie werden daher in dieser Arbeit mit der Einheit  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  oder  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  angegeben.

---

<sup>8</sup> Die Werte in der Literatur variieren, da oft eine Unterscheidung zwischen dem chemisch reinen Element und seiner technisch benutzten Qualität stattfindet.

Tabelle 3.1. Richtwerte der elektrischen Leitfähigkeit ausgewählter Flüssigkeiten für einen Temperaturbereich von  $20\text{ °C} \leq T \leq 25\text{ °C}$  [HÜTTER 1988, SCHWISTER 2003, HAMANN und VIELSTICH 2005, HYFOMA 2008, SCHWEDT 2008, THUM 2008].

Flüssigkeit	$\kappa$ [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]
theoretischer Wert für $\text{H}_2\text{O}$	0,05483 (bei 25 °C)
reines Wasser	0,05-0,06
destilliertes Wasser	1-10
Meerwasser	45.000-55.000
Grundwasser (Süßwasser)	30-2.000
Regenwasser, Schneewasser	5-100
sehr schwach mineralisiertes Grund- bzw. Oberflächenwasser	10-100
schwach mineralisiertes Wasser, Tafelwasser	200-500
gut mineralisiertes Grund- bzw. Quellwasser	500-2.000
Mineralwasser	>1.000
Vollbier	1.200-2.300

Das Multiplizieren der gemessenen Leitfähigkeit des Wassers in  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  mit 0,65 genügt zur Grobschätzung der gesamten in Süßwasser gelösten Bestandteile in  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  [THUM 2008].

### 3.1.1 Einflussgrößen auf die elektrische Leitfähigkeit

Grundsätzlich hängt der Wert der elektrischen Leitfähigkeit einer wässrigen Lösung in erster Linie von der Konzentration des in ihr gelösten Elektrolyten ab [OESTERLE 1990]. Damit stellt sie eine gute analytische Größe für die gelöste Ionenkonzentration dar. Neben der Abhängigkeit von der Konzentration spielen die Art des gelösten Elektrolyten und die Temperatur für die Leitfähigkeit eine Rolle. Diese drei Einflussgrößen werden nachfolgend kurz diskutiert.

#### 3.1.1.1 Stoffmengenkonzentration

KOHLRAUSCH führte bereits vor mehr als 100 Jahren Messungen über die elektrischen Leitfähigkeiten zahlreicher wässriger, reiner Elektrolytlösungen durch [KOHLRAUSCH 1968b]. Abbildung 3.2 stellt die Leitfähigkeitsänderung in  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  abhängig von der Konzentration in Gew.-% für unterschiedliche Elektrolyte dar. Hier lässt sich erkennen, dass die Leitfähigkeit mit der Anzahl der Ladung transportierender Ionen (Ionenkonzentration) zunimmt. Diese Leitfähigkeitsänderungen sind aber nicht konstant.

Je stärker die Konzentration zunimmt, desto geringer ist zunächst der Leitfähigkeitszuwachs bis schließlich die Leitfähigkeit selbst sinkt. Die Funktionen durchlaufen also ein Maximum, an dem die Anzahl frei beweglicher Ionen größtmöglich ist.

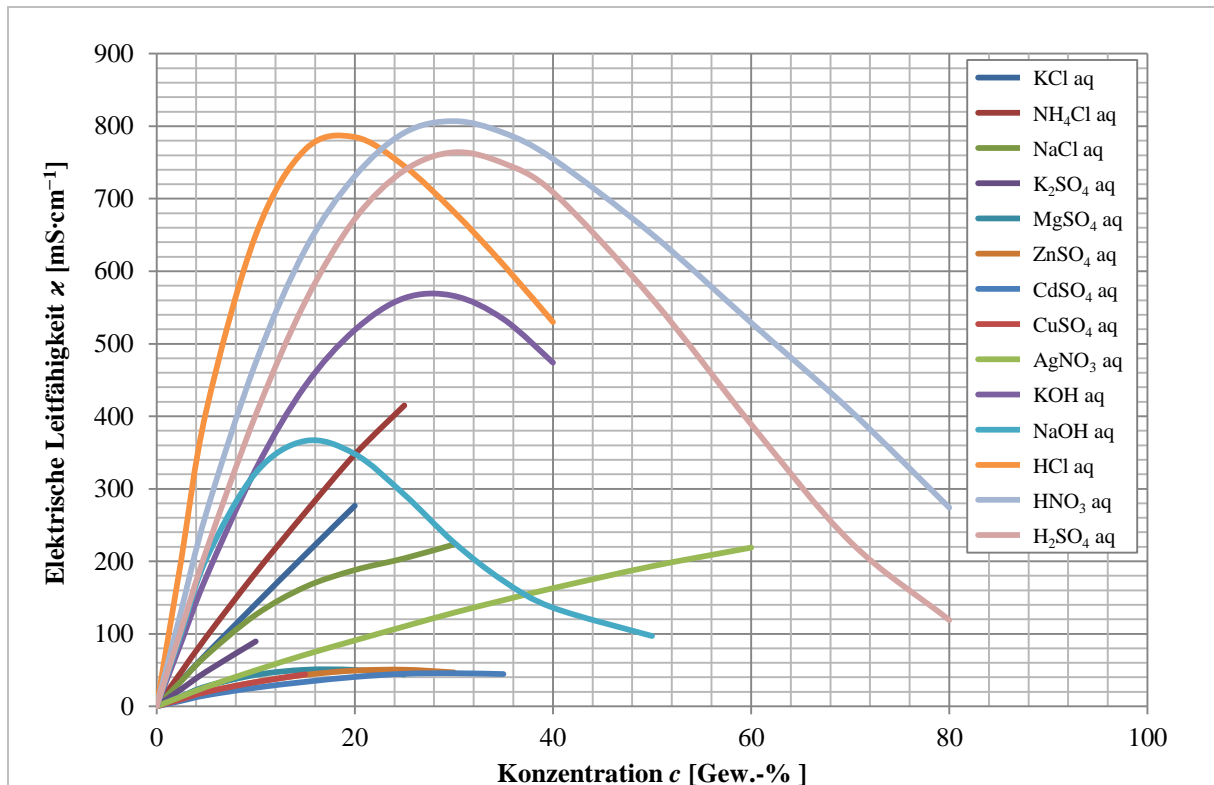


Abbildung 3.2. Änderung der elektrischen Leitfähigkeit wässriger Elektrolytlösungen in Abhängigkeit der Konzentration  $c$  [modifiziert nach KOHLRAUSCH 1968b]<sup>9</sup>. Mit zunehmender Konzentration  $c$  steigt die Leitfähigkeit  $\kappa$  zunächst an, bis sie schließlich ein Maximum erreicht und mit weiterer Zunahme wieder absinkt. Der vollständige Verlauf ist nicht für alle Elektrolytlösungen dargestellt. Das Maximum beschreibt den Punkt an welchem die Anzahl frei beweglicher Ionen größtmöglich ist.

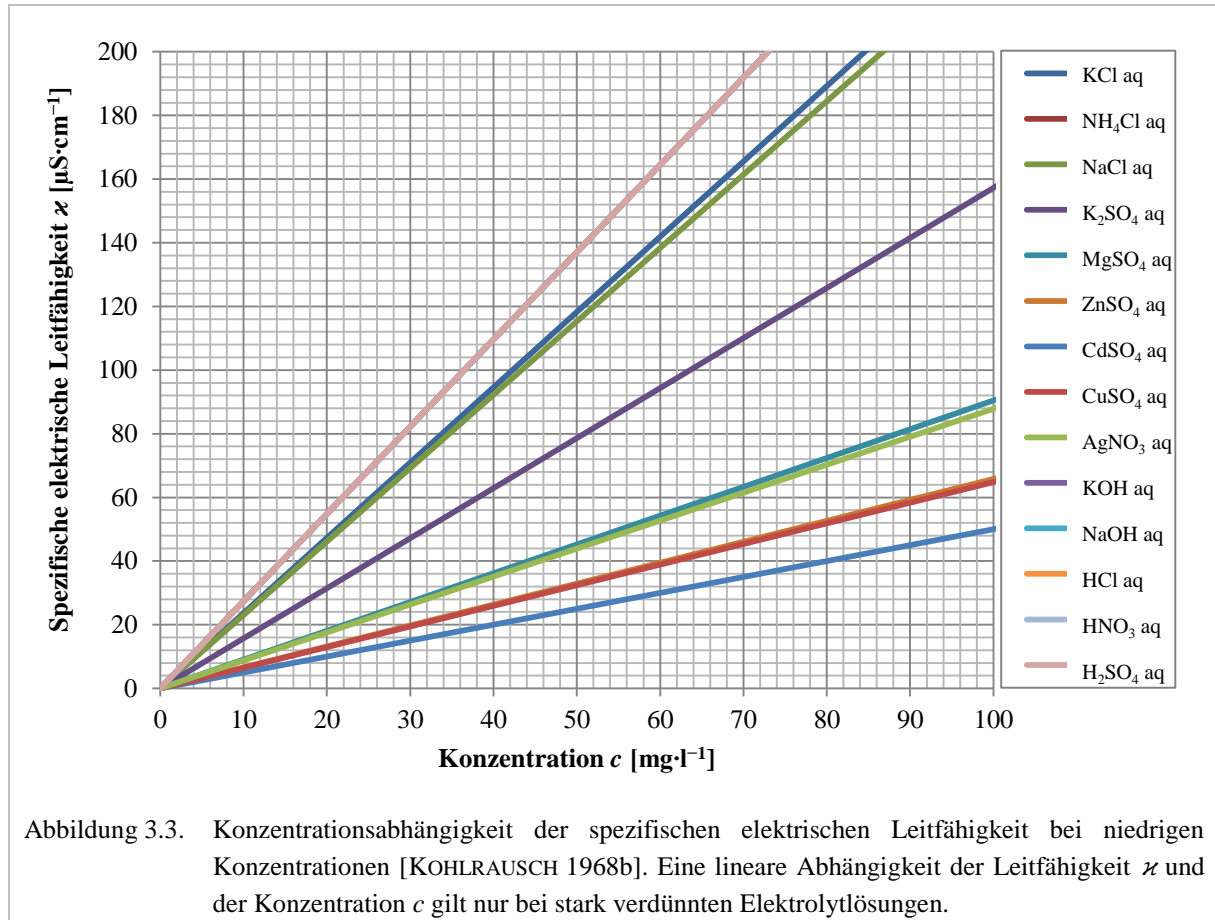
Eine lineare Abhängigkeit der Leitfähigkeit  $\kappa$  von der Elektrolytkonzentration  $c$  scheint nur gültig für stark verdünnte Lösungen. Höhere Konzentrationen begünstigen zunehmend eine wechselseitige Behinderung der Ionen. Dies ist bedingt durch elektrostatische Kräfte zwischen den einzelnen Ionen, die mit wachsender Ionenannäherung stark zunehmen. Der Vorgang wird in Kapitel 2.6.1 mittels DLVO-Theorie genauer erläutert. Außerdem dissoziieren mit ansteigender Elektrolytkonzentration nicht mehr alle Elektrolytmoleküle, sondern nur ein Teil, der mit zunehmender Konzentration kleiner wird. 100 % der Moleküle dissoziieren nur bei niedrigen Elektrolytkonzentrationen, so genannten stark verdünnten Lösungen [OESTERLE 1990].

### 3.1.1.2 Art des Elektrolyten

Der Ausschnitt nahe dem Nullpunkt in Abbildung 3.3 beweist unterschiedlich hohe Leitfähigkeiten der verschiedenen Elektrolyte trotz gleicher Konzentration. So beträgt beispielsweise die Leitfähigkeit einer Kaliumchloridlösung (KCl aq) mit einer Konzentration von  $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  ( $= 0,01 \text{ Gew.-%}$ )  $144 \text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Die Leitfähigkeit einer Kupfer(II)-sulfatlösung (CuSO<sub>4</sub> aq)

<sup>9</sup> Die einzelnen Daten befinden sich im Anhang (Kapitel 8, Tabelle 8.1).

mit gleicher Konzentration dagegen beläuft sich auf nur  $40 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Darüber hinaus unterscheiden sich die Elektrolytkurven auch in der Anpassung ihrer Leitfähigkeit pro Konzentrationsänderung. Grund dafür ist die unterschiedliche Ionenbeweglichkeit, also die Wandergeschwindigkeit verschiedener Ionen im elektrischen Feld [SCHWEDT 2008]. Hier spielen vor allem Ionendurchmesser und -ladung, Größe der Hydrathülle sowie Art des Lösungsmittels, beispielsweise dessen Viskosität, eine Rolle [SCHWEDT 2008].



Der folgende Abschnitt beschreibt kurz die Äquivalent- und molare Leitfähigkeit zum besseren Veranschaulichen der Begriffe des schwachen und starken Elektrolyten.

### 3.1.1.2.1 Molare und Äquivalentleitfähigkeit

Da die Leitfähigkeit  $\kappa$  einer Lösung stark von der ihr enthaltenen Ionenzahl abhängt, wird die molare Leitfähigkeit  $\Lambda_m$  als

$$\Lambda_m = \frac{\kappa}{c_m} \quad (3.6)$$

definiert.  $c_m$  beschreibt dabei die molare Masse des Elektrolyten in  $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$  [ATKINS und PAULA 2006]. Die molare Leitfähigkeit  $\Lambda_m$  trägt häufig die Einheit  $\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ .

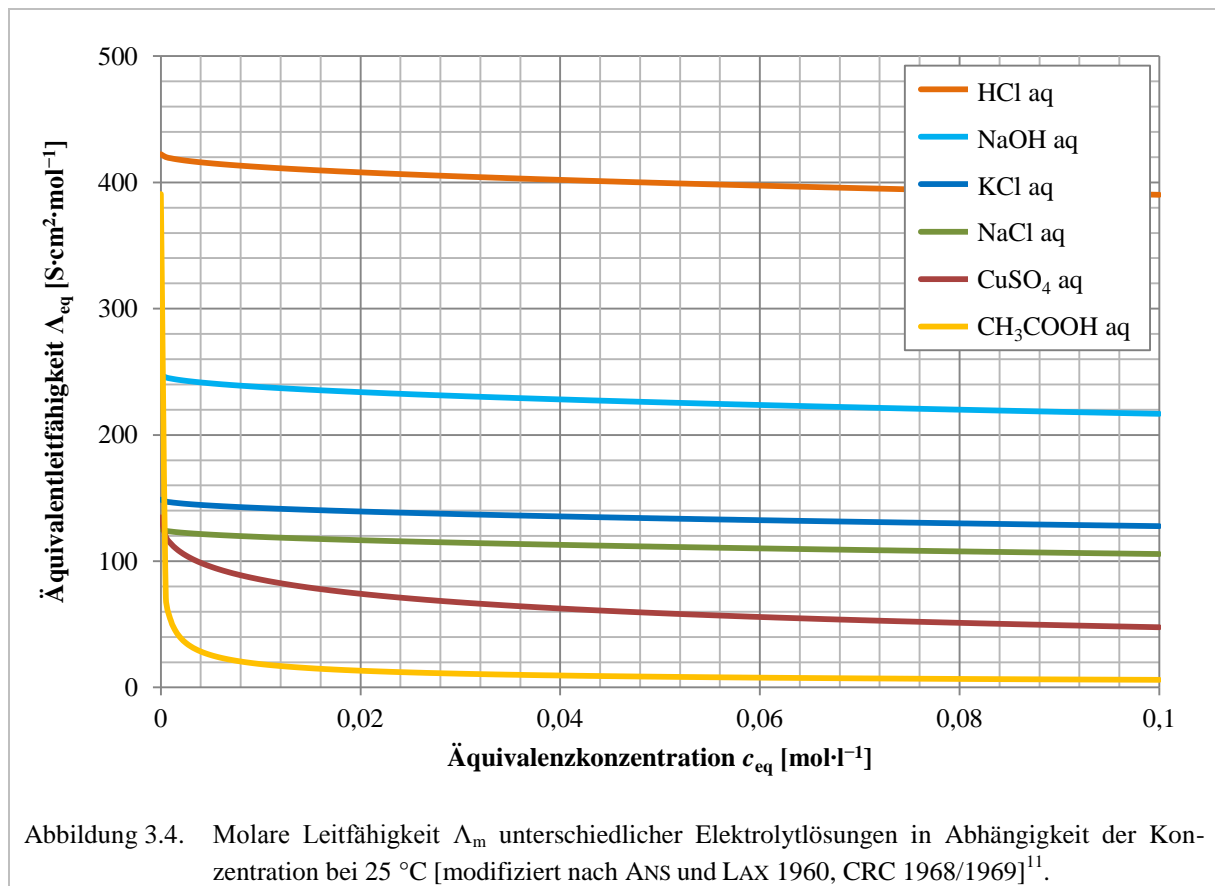
Einfach geladene Ionen können im Vergleich zu mehrfach geladenen Ionen weniger Ladung transportieren. Die Äquivalentleitfähigkeit  $\Lambda_{\text{eq}}$  berücksichtigt die Ionenwertigkeit. So wird die

molare Leitfähigkeit  $\Lambda_m$  zusätzlich durch die Äquivalentzahl  $n_{eq}$ <sup>10</sup> dividiert. Entsprechend wird die Leitfähigkeit  $\kappa$  nun durch die Äquivalentkonzentration  $c_{eq}$  geteilt:

$$\Lambda_{eq} = \frac{\Lambda_m}{n_{eq}} = \frac{\kappa}{c_{eq}}. \quad (3.7)$$

Somit ist  $c_{eq}$  das Produkt aus  $n_{eq}$  und  $c_m$ .

Gemäß der Erkenntnis  $\kappa \sim c$  aus Kapitel 3.1.1.1 wird ohne Berücksichtigung interionischer Wechselwirkungen angenommen, dass molare und Äquivalentleitfähigkeit konzentrationsunabhängig sind. Letztlich beziehen sich beide Größen auf die Elektrolytmenge, die konstante Elektrizitätsmengen transportieren kann. Das entsprechende Experiment zeigt Abbildung 3.4. Für alle dargestellten Kurven lässt sich ein nichtlineares Verhalten der Äquivalentleitfähigkeit  $\Lambda_{eq}$  für kleine Äquivalentkonzentrationen  $c_{eq}$  nachvollziehen. Folglich hängt  $\Lambda_{eq}$  und damit auch  $\Lambda_m$  sowie  $\kappa$  doch von der Konzentration ab. Bei einwertigen Elektrolyten ist die Konzentrationsabhängigkeit am deutlichsten. Die unterschiedlichen Elektrolyte lassen sich nach Betrachten der Kurvenläufe in zwei Klassen einteilen: starke und schwache Elektrolyte.



<sup>10</sup>Absolutzahl (Betrag) der freigesetzten positiven oder negativen Ladung pro Elektrolytmolekül bei dessen Dissoziation [HAMANN und VIELSTICH 2005].

<sup>11</sup>Die einzelnen Daten befinden sich im Anhang (Kapitel 8, Tabelle 8.2).

### 3.1.1.2.2 Starke Elektrolyte

Die Äquivalentleitfähigkeit starker Elektrolyte nimmt bei Konzentrationserhöhung nur leicht ab, wie beispielsweise an HCl aq in Abbildung 3.4 ersichtlich. Da starke Elektrolyte in Lösungen vollständig dissoziiert vorliegen, verhält sich die Ionenzahl in Lösung proportional zur zugesetzten Konzentration [HAMANN und VIELSTICH 2005]. KOHLRAUSCHS Quadratwurzelgesetz besagt, dass die molare Leitfähigkeit bei niedrigen Konzentrationen von der Konzentration der Quadratwurzel der Elektrolytenkonzentration abhängt [ATKINS und PAULA 2008]:

$$\Lambda_{\text{eq}} = \Lambda_{\text{eq}}^{\infty} - K \cdot \sqrt{c_{\text{eq}}}, \quad (3.8)$$

mit den Konstanten  $K$  und  $\Lambda_{\text{eq}}^{\infty}$ . Die Konstante  $\Lambda_{\text{eq}}^{\infty}$  stellt den theoretischen Wert bei unendlicher Verdünnung der molaren Leitfähigkeit (= Grenzleitfähigkeit) dar, wenn keine interionischen Wechselwirkungen mehr vorliegen. Die Ionen besitzen also die größtmögliche Beweglichkeit, da sie sich beim Ladungstransport nicht mehr untereinander behindern. Gleichung 3.8 gilt jedoch nur für hinreichend verdünnte Lösungen ( $c_{\text{eq}} < 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Falls diese Bedingung nicht erfüllt ist, hängt die Ionenbeweglichkeit von der Konzentration ab. Somit basiert die Abnahme der Äquivalentleitfähigkeit starker Elektrolyte auf der gegenseitigen Behinderung der Ionen und der Ausbildung sogenannter Ionenwolken.

### 3.1.1.2.3 Schwache Elektrolyte

Da schwache Elektrolyte nicht vollständig dissoziiert in der Lösung vorliegen, weisen sie bereits bei sehr kleinen Konzentrationen eine starke Abhängigkeit auf. Ihre Kurven fallen folglich bis auf sehr kleine Werte von  $\Lambda_{\text{eq}}$ . Das Beispiel  $\text{CH}_3\text{COOH aq}$  in Abbildung 3.4 verdeutlicht diesen Zustand. Schwache Elektrolyte besitzen einen von ihrer Konzentration abhängigen Dissoziationsgrad  $\alpha$  (dissoziierter Anteil zur Gesamtmenge des in Lösung gebrachten Elektrolyten [HAMANN und VIELSTICH 2005]). Der Dissoziationsgrad ist somit auch bei großer Verdünnung noch klein und nähert sich erst für  $\Lambda_{\text{eq}} \rightarrow \Lambda_{\text{eq}}^{\infty}$ , also nach unendlichem Verdünnen, dem Wert 1 an [HAMANN und VIELSTICH 2005].

### 3.1.1.3 Temperatur

Die elektrische Leitfähigkeit aller Elektrolyte hängt zudem stark von der Lösungsmitteltemperatur ab, da sie die Ionenbeweglichkeit entscheidend beeinflusst. Letztere steigt ähnlich wie bei Gasen mit Erhöhung der Temperatur  $T$  an. Abbildung 3.5 zeigt die Leitfähigkeitskurve für eine wässrige KCl-Lösung (Konzentration: 71,4 g pro 1.000 g Lösung) in Abhängigkeit der Temperatur. Anhand der Steigung lässt sich die Größe des Temperaturkoeffizienten abschätzen. Dieser errechnet sich aus der Leitfähigkeitsänderung pro Grad Temperaturänderung in Bezug auf die Leitfähigkeit bei einer bestimmten Temperatur.

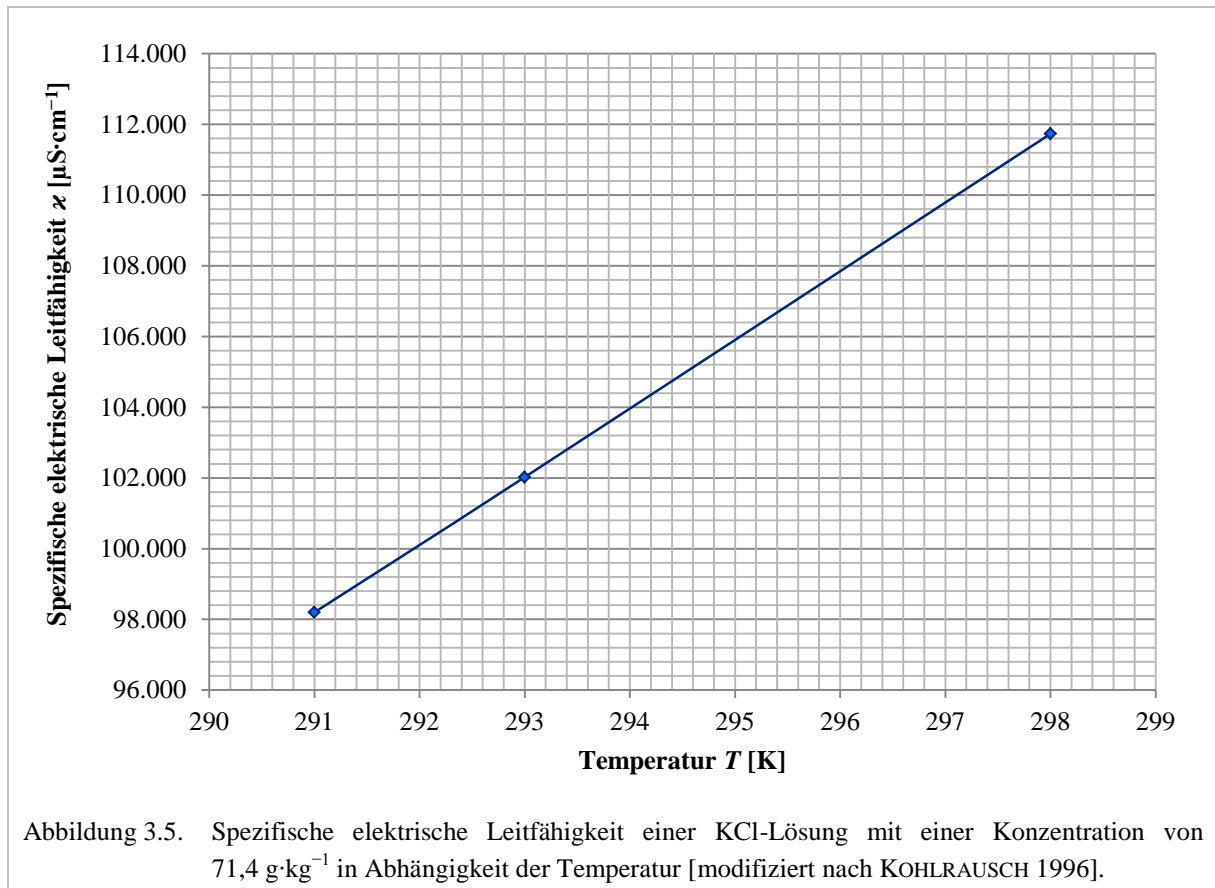


Tabelle 3.2 führt ergänzend die Daten zweier weiterer KCl-Lösungen auf. Die letzte Spalte zeigt die Temperaturkoeffizienten aller drei Lösungen anhand ihrer Steigung bezogen auf ihre Leitfähigkeit bei einer Temperatur von  $T = 291 \text{ K}$  ( $\approx 18 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Aufgrund der Messgenauigkeit können die Temperaturkoeffizienten als ähnlich bezeichnet werden. Weiterhin ist dieser Temperaturkoeffizient im Gegensatz zum Temperaturkoeffizienten metallischer Leiter positiv. Die elektrische Leitfähigkeit von Elektrolytlösungen wächst folglich mit steigender Temperatur. Dieser Gegensatz erklärt sich mit der zunehmenden Ionenbeweglichkeit in Flüssigkeiten bei steigender Temperatur. So wird der Ladungstransport beschleunigt.

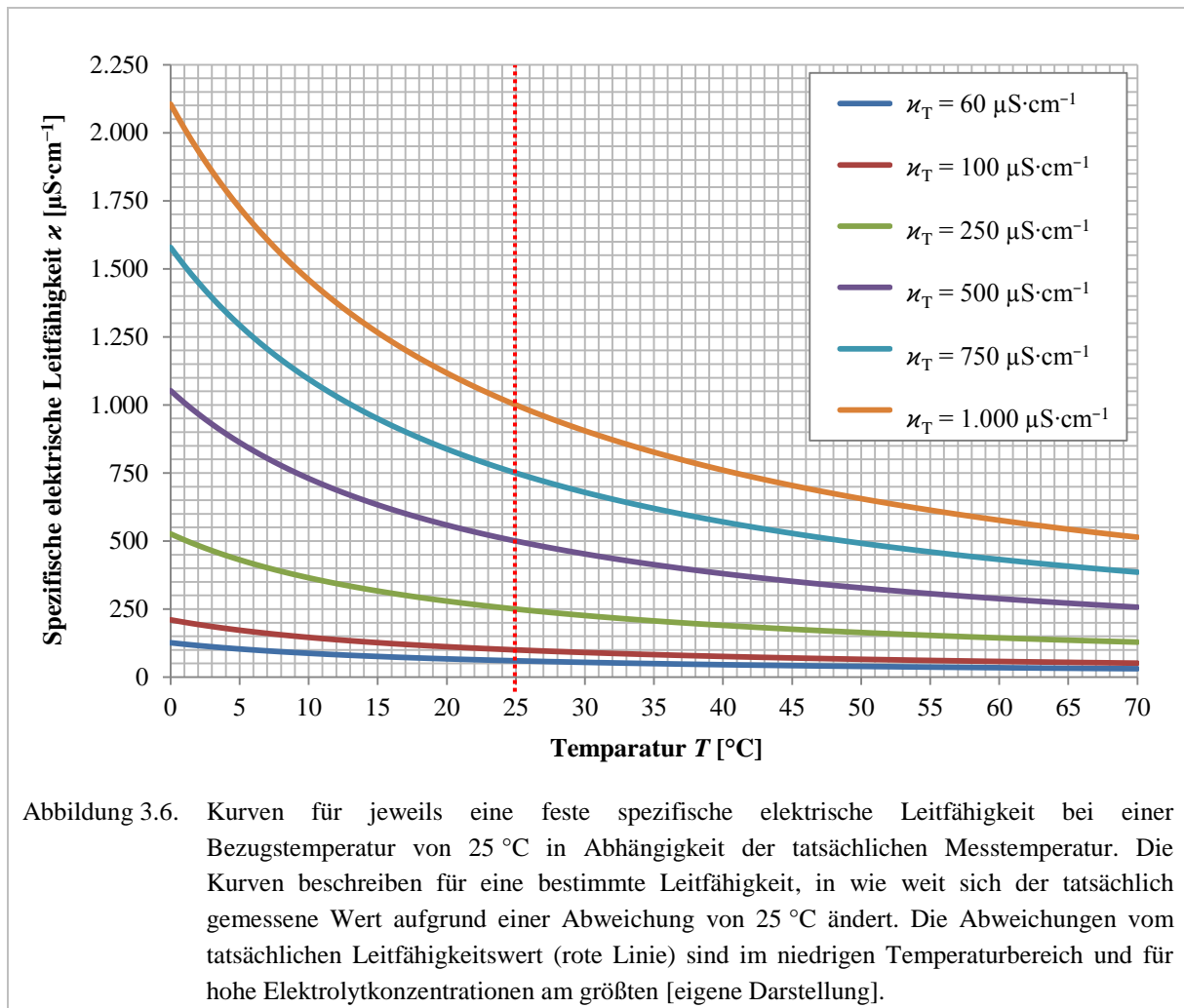
Tabelle 3.2. Leitfähigkeiten einer wässrigen KCl-Lösung in Abhängigkeit der Temperatur [KOHLRAUSCH 1996].

Konzentration [g KCl/kg Lösung]	$\kappa$ [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ] bei $T = 291 \text{ K}$	$\kappa$ [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ] bei $T = 293 \text{ K}$	$\kappa$ [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ] bei $T = 298 \text{ K}$	Temperatur- koeffizient [ $\text{K}^{-1}$ ]
71,3828	98.200,00 $\pm 0,9$	102.024,00 $\pm 0,7$	111.733,00 $\pm 11$	0,0173
7,43344	11.191,90 $\pm 1,1$	11.667,60 $\pm 0,7$	12.886,00 $\pm 1$	0,0188
0,746558	1.222,69 $\pm 0,016$	1.275,70 $\pm 0,2$	1.411,45 $\pm 0,016$	0,0191

Gemäß DIN 38404 kann mit Hilfe nachstehender Gleichung 3.9 die Temperaturabhängigkeit der Leitfähigkeit für natürliche Wässer rechnerisch berücksichtigt werden [DIN EN 27888 1993]:

$$\kappa_{25^\circ\text{C}} = \kappa_T \cdot \frac{1}{1 + 0,021 \cdot (T - 25)}. \quad (3.9)$$

Der Leitfähigkeitsbereich liegt zwischen  $60 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1} < \kappa < 1.000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , die Bezugstemperatur beträgt  $25^\circ\text{C}$  mit  $\kappa_T$  als Leitfähigkeit bei einer beliebigen Temperatur  $T$  in  $^\circ\text{C}$ . Abbildung 3.6 zeigt entsprechend die Kurven unterschiedlicher Leitfähigkeiten  $\kappa_T$  für den oben genannten Messbereich in Abhängigkeit der Messtemperatur  $T$ .



Bedingung hierfür ist die Anwendung eines nicht temperaturkompensierten Messgeräts zum Anzeigen der Leitfähigkeit  $\kappa_T$ . Die senkrechte rote Linie markiert die Leitfähigkeit bei  $25^\circ\text{C}$ . Im Kurvenverlauf lässt sich deutlich erkennen, dass die Messwertabweichung für den Temperaturbereich  $T \rightarrow 0^\circ\text{C}$  mit zunehmendem Messwert ebenfalls größer werden. Anwendungsbeispiel soll hier ein Bier sein, das 1:1 mit destilliertem Wasser verdünnt wurde und eine Leitfähigkeit von etwa  $1.000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  aufweist. Ein Temperaturunterschied von  $\pm 1^\circ\text{C}$  bei Raumtemperatur  $T_{\text{Raum}} = 20^\circ\text{C}$  würde einen Messfehler bei der Leitfähigkeit von  $\pm 2,3\%$



( $\pm 23 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ausmachen. Dieser Fehler spiegelt sich auch im Temperaturkoeffizienten aus Tabelle 3.2 wieder, der bei rund 2 % liegt.

Demnach sollte bei allen Messungen der elektrischen Leitfähigkeit eine genaue Messtemperatur eingehalten werden. Grundsätzlich steigt die Leitfähigkeit einer Elektrolytlösung gegenüber ihrer Leitfähigkeit bei einer Bezugstemperatur um 2 bis 3 % pro Grad Temperaturerhöhung an [OESTERLE 1990, HAMANN und VIELSTICH 2005].

### 3.1.2 Bestimmen der elektrischen Leitfähigkeit

Das Ermitteln der elektrischen Leitfähigkeit entspricht der Messung des elektrischen Widerstands zwischen zwei Elektroden. Am Beispiel einer Kochsalzlösung und der Darstellung in Abbildung 3.7 wird der Messvorgang schematisch erläutert. Die rechte Elektrode (blau) ist mit dem Minuspol der Gleichspannungsquelle verbunden. Nach Anlegen der Spannung weist diese Elektrode eine negative Ladung auf. Hier besteht also ein Überschuss an Elektronen. Aufgrund von Dissoziation liegen in der Salzlösung positiv geladene Natriumionen vor. Diese Kationen werden nun von der Elektrode, auch Kathode genannt, angezogen. An der Kathode nimmt das Natriumion ein Elektron auf und wird so wieder zum neutralen chemischen Element Natrium.

Die linke Elektrode (grün) ist mit dem Pluspol verbunden und heißt Anode. Sie weist einen Mangel an Elektronen auf. Durch diese positive Ladung zieht sie die negativen Chloridionen (Anionen) an, die dort ihre überschüssigen Elektronen abgeben und zu Chlor reduziert werden. Da eine Flüssigkeit nach außen hin elektrisch neutral ist, werden an der Anode immer so viele Elektronen abgegeben, wie an der Kathode aufgenommen.

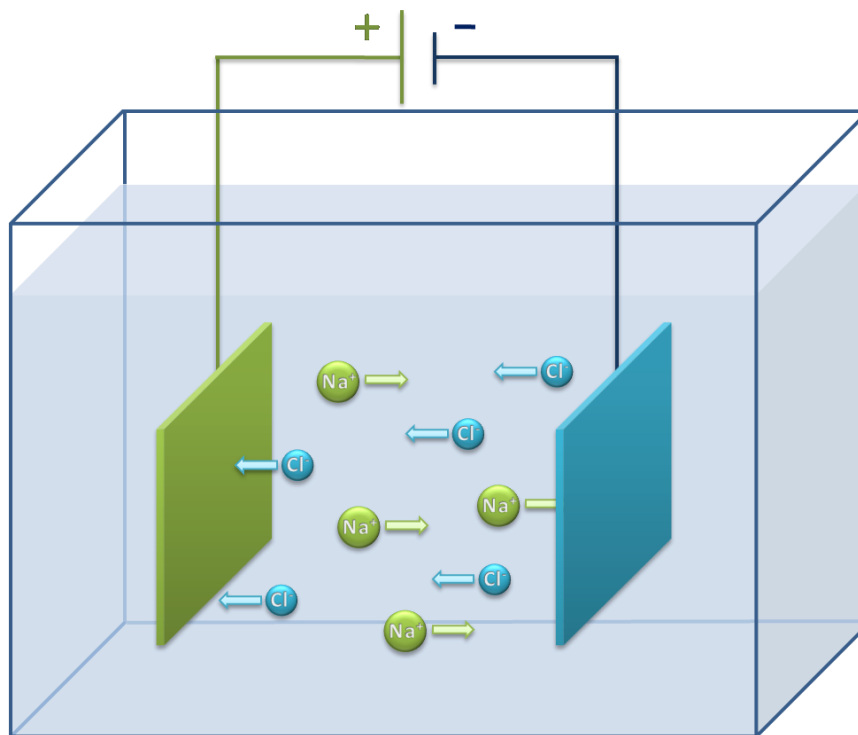


Abbildung 3.7. Bestimmen der elektrischen Leitfähigkeit  $\kappa$  durch Anlegen einer elektrischen Gleichspannung und dem Entstehen eines elektrischen Stroms in einem Elektrolyten am Beispiel einer Kochsalzlösung (schematisch) [eigene Darstellung].

Somit stellt die Lösung einen elektrischen Leiter dar, auch Ionenleiter genannt [KESSLER 1996]. In diesem Leiter wird der fließende Strom gemessen. Im Gegensatz zu Metallströmen ist das Fließen des elektrischen Stroms in Flüssigkeiten stets mit einem Stofftransport (z. B.  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen) verbunden [OESTERLE 1990].

### 3.1.2.1 Leitfähigkeitsmesszellen

Leitfähigkeitsmesszellen bestehen ähnlich Abbildung 3.7 grundsätzlich aus Elektrodenpaaren, an denen eine Spannung angelegt wird. Über die Messung des fließenden Stroms wird die Leitfähigkeit berechnet. Dies gilt aber nur sehr vereinfacht.

Das Abscheiden von Stoffen an den Elektroden (Elektrolyse) sowie das Ansammeln der Ionen vor bzw. nahe den Elektroden beeinflusst die Leitfähigkeitsmessung. Die Bildung einer elektrischen Doppelschicht wird in Kapitel 2.4 ausführlich beschrieben. An der Grenzfläche zwischen Elektrodenmetall und Flüssigkeit entstehen beim Stromfluss sogenannte Polarisierungseffekte, welche die Leitfähigkeit der Lösung verändert erscheinen lassen [WTW 2008b]. Analog zu den Ausführungen in Kapitel 2.4.2 zum Aufbau einer elektrischen Doppelschicht an einer geladenen Partikeloberfläche, dargestellt in Abbildung 2.6, baut sich durch Anlegen einer Spannung auch an der Elektrode eine entsprechende Phasengrenzschicht auf [SCHWEDT 2008]. Die effektive Spannung fällt mit zunehmender Entfernung von der Elektro-

de immer weiter ab. Optimierte Elektroden und das Anlegen einer Wechselspannung können Polarisierungseffekte verringern oder gar verhindern. Ungleiche Ladungsverteilungen, wie die innerhalb einer Phasengrenzschicht, bilden sich so schwerer aus. Durch Wechselspannung werden die Ionen abwechselnd von den beiden Elektroden angezogen und schwingen im Rhythmus der angelegten Frequenz um ihren Platz. Die Frequenzen betragen zwischen 50 Hz bei niedrigeren und etwa 5.000 Hz bei höheren Ionenkonzentrationen. Je höher die angelegte Frequenz, desto geringer sind die erwarteten Polarisierungseffekte [WTW 2008b]. Die geräte-technische Beschränkung der Messfrequenz bei sehr hohen Leitfähigkeiten bedingt das Verwenden von Werkstoffen wie Platin, Edelstahl oder Graphit. Diese werden von den zu messenden Flüssigkeiten nicht angegriffen [OESTERLE 1990, REITLER 1990].

Das Messen der Leitfähigkeit von Flüssigkeiten beruht grundsätzlich entweder auf der Widerstandsmessung mit Elektroden oder der elektrodenlosen Messung auf induktivem Weg [OESTERLE 1990]. Letztere Methode wirkt sich nachteilig auf die Messung kleinster Leitfähigkeiten aus und wird daher in dieser Arbeit nicht weiter behandelt.

Während klassische Leitfähigkeitsmesszellen aus einem Elektrodenpaar bestehen, sind heute Vier-Elektroden-Messzellen oder Vier-Pol-Messzellen [OESTERLE 1990] im Einsatz. Mittels Spannungselektrodenpaar wird der OHMSCHER Spannungsabfall in der stromdurchflossenen Lösung bestimmt [WTW 2008b]. Alle Effekte, die durch den Elektrolyten mit dem Stromfluss zusammenhängen, finden wie oben beschriebenen an den Spannungselektroden statt. So bleiben die innenliegenden Stromelektroden, die eigentlichen Messelektroden, frei von störenden Einflüssen [OESTERLE 1990]. Die Leitfähigkeit der Lösung wird mittels Widerstandsmessung (WHEATSTONESCHE Brückenschaltung) über die bekannte Stromstärke und den gemessenen Spannungsabfall bestimmt. Diese Messmethode schließt sowohl Polarisationswiderstände als auch Messfehler durch Verschmutzungen aus. Zwei solcher Messzellen finden in dieser Arbeit Verwendung.

### 3.1.2.2 Temperaturkompensation

Wie in Kapitel 3.1.1.3 beschrieben, ist die Leitfähigkeit eine sehr stark temperaturabhängige Größe. Zum praktischen Vergleich der Messwerte von Lösungen unterschiedlicher Temperaturen ist eine Referenztemperatur von 20 °C oder 25 °C zu beachten. Leitfähigkeitsmessungen werden mittels Thermostatisierung oder automatischer Temperaturkompensation der Messflüssigkeit ergänzt.

Bei der Temperaturkompensation bestimmt das Messgerät zunächst die tatsächliche Leitfähigkeit  $\kappa_T$  und die Temperatur  $T$  der Lösung. Das Umrechnen der Leitfähigkeit auf eine Referenztemperatur von beispielsweise 25 °C erfolgt über eine Temperaturkompensationsfunktion. Schließlich wird sie als Messwert, zum Beispiel  $\kappa_{25^\circ\text{C}}$ , angezeigt. Leitfähigkeits- und Temperaturmessung gehören zwangsläufig zusammen und sollten bei einer Messfehlerbetrachtung berücksichtigt werden.

### 3.1.3 Leitfähigkeitsmessungen in der Lebensmittelindustrie

Lebensmittel zählen zur Gruppe der Ionenleiter, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben. Aufgrund der Vielfältigkeit ihrer Inhaltsstoffe verfügen Lebensmittel über eine sehr heterogene Zusammensetzung von Ladungsträgern. Gelöste organische Salze wie Natrium- und Kaliumchlorid sowie organische Säuren tragen dabei vorwiegend zur Höhe der Leitfähigkeit bei [KESSLER 1996]. Außerdem ist der Wert der Leitfähigkeit deutlichen Änderungen unterworfen. Dies wird bedingt durch die natürliche Schwankungsbreite in der chemischen Zusammensetzung desselben Lebensmittels, beispielsweise durch klimatische Wachstumsbedingungen, Reifegrad oder Lagerhaltung. Leitfähigkeiten von Lebensmitteln lassen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Matrix nicht immer eindeutig bestimmen.

#### 3.1.3.1 Temperaturverhalten und Leitfähigkeit flüssiger Lebensmittel

Im Jahr 1990 hat REITLER in verschiedenen Arbeiten das Temperaturverhalten flüssiger und fester Lebensmittel untersucht [REITLER 1990]. Folgt dem Temperaturanstieg mit abnehmender Viskosität eine Erhöhung der Ionenbeweglichkeit und damit der Leitfähigkeit, ergeben sich folgende Resultate [KESSLER 1996]:

1. Bei schwachen Elektrolyten wird der Dissoziationsgrad größer.
2. Eine steigende Ionenzahl ist am Stromtransport beteiligt.

Diese Vorgänge erlauben das Berechnen der Leitfähigkeit  $\kappa_T$  bei einer bestimmten Temperatur  $T$  über die lineare Gleichung [KESSLER 1996]

$$\kappa_T = \kappa_{0^\circ\text{C}} \cdot (1 + b_{0^\circ\text{C}} \cdot j). \quad (3.10)$$

Weitere Bestandteile der Formel sind die Stromdichte  $j$  sowie die Leitfähigkeit  $\kappa_{0^\circ\text{C}}$  und der lineare Temperaturkoeffizient  $b_{0^\circ\text{C}}$  bei einer Bezugstemperatur von  $T = 0^\circ\text{C}$ . Diese Gleichung gilt nur für flüssige Lebensmittel. Feste Lebensmittel fallen heraus, da beispielsweise die Ionenbeweglichkeit neben der Temperatur auch von unterschiedlichen Gewebestrukturen einschließlich Elektrolytlösung abhängt [KESSLER 1996].

Das Temperaturverhalten der Leitfähigkeit bei flüssigen Lebensmitteln wird mit Gleichung 3.9 gut beschrieben. Messungen von REITLER ergaben für Weizenbier eine mittlere Leitfähigkeit bei einer Temperatur von  $20^\circ\text{C}$  von  $\kappa_{20^\circ\text{C}} = 2.000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  und einen Temperaturkoeffizienten von  $b_{20^\circ\text{C}} = 0,023 \text{ K}^{-1}$  [REITLER 1990]. Die ermittelte Leitfähigkeit liegt innerhalb der Richtwerte aus Tabelle 3.1 für Vollbier. Der Koeffizient liegt mit einem Anstieg der Leitfähigkeit von 2,3 % pro Grad ebenfalls innerhalb der diskutierten Größenordnung für Elektrolytlösungen. Weiter zeigte REITLER, dass im Bereich von 50 bis 3.000 Hz keine Abhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit flüssiger Lebensmittel von der Messfrequenz auftreten [REITLER 1990].

### 3.1.3.2 Bedeutung der Leitfähigkeit für Bier

In der Brauerei findet die Leitfähigkeitsmessung vor allem zur Prozesskontrolle in Rohrleitungen statt. Hier werden nacheinander Flüssigkeiten unterschiedlicher Leitfähigkeit gefördert. So wird der Wechsel zwischen Bier, Wasser sowie Reinigungs- und Desinfektionsmitteln schnell erkannt.

Gemäß den Ausführungen in Kapitel 3.1.1.2 ist die Leitfähigkeit dann eindeutiges Maß für die Lösungskonzentration, wenn in ihr nur eine Elektrolytart gelöst ist und deren Leitfähigkeitsmaximum nicht im Messbereich liegt. Vergleichend kann Abbildung 3.3 betrachtet werden. Bier ist jedoch ein Mehrstoffgemisch, dessen Komponenten den Messwert unterschiedlich stark beeinflussen. Tabelle 3.3 führt Richtwerte (als Mittelwerte pro 100 g Bier) der meisten Mineralien und Spurenelemente auf, die in Bieren unterschiedlicher Gattungen bestimmt wurden. Die Schwankungsbreiten verdeutlichen, dass eine Leitfähigkeitsmessung keine Rückschlüsse auf die Art der gelösten Salze und Säuren zulässt. Sie erlaubt lediglich Aussagen bezüglich der Gesamtmineralisation und des Säuregehalts. Gerade bei schwachen Elektrolyten muss außerdem der Dissoziationsgrad berücksichtigt werden. Eine Klassifikation in schwache oder starke Elektrolyte hängt ebenso vom verwendeten Lösungsmittel ab, also dem Verhältnis von Alkohol zu Wasser im Bier. Trotz dieser erheblichen Einschränkung ist die Leitfähigkeit gerade im Hinblick auf die Bestimmung des Oberflächenpotentials der wichtigste Einflussparameter.

Tabelle 3.3. Richtwerte<sup>12</sup> der Mineralien und Spurenelemente, angegeben als Mittelwerte pro 100 g essbarem Anteil [SOUCI et al. 2008].

	alkoholfreies Bier	Nährbier	Pilsener Lagerbier	Vollbier Dunkel	Vollbier Hell	Weißbier
Mineralstoffe [g]	0,16				0,20	0,14
Natrium [mg]	2,6	6,8 (1,0-8,7)	4,4	3,0 (0,3-7,0)	5,0 (2,0-6,0)	4,0 (3,0-4,0)
Kalium [mg]	40	53	55	50 (40-57)	38 (32-44)	21 (19-25)
Magnesium [mg]	7,7	8,6 (5,5-9,6)	9,6		9,0 (7,0-12)	
Calcium [mg]	5,0	2,4 (1,0-2,9)	3,5	3,0 (2,0-4,0)	4,0 (2,0-5,0)	1,0 (0,0-2,0)
Mangan [µg]	16	15	16		29 (20-30)	
Eisen [µg]	15	75 (30-210)	12		42 (10-200)	
Kupfer [µg]	5,0	28 (6,8-90)	10		40 (20-50)	
Zink [µg]	8,0	4,2	6,0		20 (10-20)	
Nickel [µg]					(1,0-200)	
Chrom [ng]					700 (200-2.000)	
Molybdän [ng]					200 (100-300)	
Aluminium [µg]					12 (9,4-14)	
Phosphor [mg]	20	20 (5,3-25)	32	25	28 (25-30)	13
Chlorid [mg]	12		17		35	
Fluorid [µg]					50	32
Iodid [ng]					700 (500-900)	
Bor [µg]					5,0 (0,0-17)	
Selen [ng]					(100-19.000)	
Silicium [mg]					6,0	
Nitrat [mg]	1,6		2,3		50	

<sup>12</sup>Die Schwankungsbreite ist neben dem arithmetischen Mittelwert teilweise in Form der jeweils höchsten und niedrigsten (Grenz-)Werte in Klammern angegeben. In einigen Fällen ist nur die Schwankungsbreite angegeben, da vorliegende Daten so stark voneinander abwichen, dass eine Mittelwertbildung unzulässig erschien [SOUCI et al. 2008].

## 3.2 pH-Wert

Auch der pH-Wert einer Lösung steht im Zusammenhang mit der Leitfähigkeit. Seine Bestimmung fällt in das Gebiet der Potentiometrie. Hierzu wird der Übergang chemischer, elektrischer Energie gemessen, den eine Elektrodenreaktion beispielsweise in einer galvanischen Zelle hervorruft.

### 3.2.1 pH-Definition und Aktivitätsbegriff

Die aktuelle allgemeingültige Definition des pH-Werts wird über drei Schritte erreicht [HAMANN und VIELSTICH 2005]:

#### 1. Schritt

Der pH-Wert wurde ursprünglich von SÖRENSEN als der mit  $-1$  multiplizierte dekadische Logarithmus der Protonenkonzentration über die Gleichung

$$pH_c = -\log c_{\text{H}_3\text{O}^+} \quad (3.11)$$

festgelegt.  $pH_c$  stellt hierbei den auf die Konzentration  $c_{\text{H}_3\text{O}^+}$  in  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  bezogenen pH-Wert dar [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Der Konzentrationsbereich  $c_{\text{H}_3\text{O}^+}$  reicht von  $10^{-15} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  bis  $10 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

#### 2. Schritt

Die Protonen in der Lösung sind nicht isoliert, sondern stehen in Wechselwirkung mit anderen Ionen. Beispiel hierfür wäre die Ausbildung einer Ionenwolke, beschrieben in Kapitel 2.4.2. Die obige Verwendung der Konzentration  $c_{\text{H}_3\text{O}^+}$  in Gleichung 3.11 ist für eine strenge Beschreibung elektrochemischer Eigenschaften in endlich verdünnten Lösungen daher zu ungenau. Im Hinblick auf eine korrekte Beschreibung des pH-Werts wird deshalb zunächst die wirksame Konzentration der Protonenkonzentration (Aktivität  $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$ ) definiert. Gleichung 3.12 drückt mittels Aktivitätskoeffizient  $f_{\text{H}_3\text{O}^+}$  die Abweichung der Protonenkonzentration  $c_{\text{H}_3\text{O}^+}$  zur wirksamen Konzentration (Aktivität  $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$ ) aus:

$$a_{\text{H}_3\text{O}^+} = f_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot c_{\text{H}_3\text{O}^+}. \quad (3.12)$$

Unter Berücksichtigung von Gleichung 3.12 wird der auf Aktivität  $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$  bezogene pH-Wert  $pH_a$  mittels Gleichung 3.13

$$pH_a = -\log a_{\text{H}_3\text{O}^+} = -\log f_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot c_{\text{H}_3\text{O}^+} \quad (3.13)$$

formuliert. Für einzelne Ionen ist der Aktivitätskoeffizient  $f$  jedoch nicht bestimmbar, da Elektrolytkonzentrationen mit nur einer Ionenart physikalisch nicht existieren.

#### 3. Schritt

Zum Vergleich der Messdaten wird deshalb die konventionelle pH-Skala verwendet. Sie wird mit Hilfe von Standardpuffern (Eichpuffern) ermittelt [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Die

Definition des pH-Werts ist zwar unabhängig vom Lösungsmittel, in der Praxis werden Messungen aber häufig in wässriger Lösung durchgeführt. Deshalb gibt es Standardpuffer hauptsächlich für wässrige Lösungen [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Das Gleichgewicht einer wässrigen Lösung wird durch das Gleichgewicht



beschrieben. Dabei gilt die Beziehung

$$a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OH}^-} = K_a^{\text{H}_2\text{O}}, \quad (3.15)$$

wobei die Gleichgewichtskonstante  $K_a^{\text{H}_2\text{O}}$  das Ionenprodukt des Wassers darstellt. Bei 25 °C ist  $K_a^{\text{H}_2\text{O}} = 1,008 \cdot 10^{-14}$  [CONWAY 1957]. Mit Gleichung 3.16 kann der pH-Wert wässriger Lösungen letztlich über

$$pH = -\log K_a^{\text{H}_2\text{O}} - pOH = 13,9965 - pOH \quad (3.16)$$

berechnet werden.  $pOH$  ist hier der mit  $-1$  multiplizierte dekadische Logarithmus der Hydroxidionenaktivität [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Neutrales, reines Wasser enthält bei  $pH = 7$  etwa  $10^{-7}$  mol Oxonium- und  $10^{-7}$  Hydroxidionen. In der Praxis wird für wässrige Lösungen eine pH-Skala von  $pH = -1$  bei  $a_{\text{H}_3\text{O}^+} = 10$  und bis zu  $pH = 15$  bei  $a_{\text{OH}^-} = 10$  verwendet.

### 3.2.2 pH-Messung

Neben der klassisch chemischen Definition des pH-Werts in Kapitel 3.2.1 geht der praktische Ansatz von der Messung mit pH-Elektroden aus [WTW 2008c]. Zwei Bedingungen müssen hierzu erfüllt sein:

1. An der Bezugselektrode entwickelt sich stets ein konstantes Potential  $E_{\text{Bez}}$ .
2. Potential  $E_{\text{Mess}}$  stellt an der zweiten Elektrode (Messelektrode) eine Funktion des pH-Werts dar.

Stimmen diese Voraussetzungen, entwickelt sich nach Eintauchen zweier Elektroden in eine wässrige Lösung eine messbare Potentialdifferenz. Diese lässt sich als Spannung  $U$  durch das NERNSTSCHE Gesetz als

$$U = E_{\text{Mess}} - E_{\text{Bez}} = U_0 + 2,303 \cdot \frac{R \cdot T}{F} \cdot \log a_{\text{H}_3\text{O}^+} \quad (3.17)$$

mittels Gaskonstante  $R$ , FARADAY-Konstante  $F$ , Normalspannung  $U_0$  und Temperatur  $T$  berechnen [WTW 2008c].



Die ermittelte Spannung steht in linearem Zusammenhang mit dem pH-Wert. Dies wird deutlich, ersetzt man in Gleichung 3.17 den Faktor  $\log a_{\text{H}_3\text{O}^+}$  gemäß der Definition in Gleichung 3.13 durch den auf die Aktivität  $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$  bezogenen pH-Wert  $pH_a$ . Der Sachverhalt kann als Geradengleichung mit der Steigung

$$m = 2,303 \cdot \frac{R \cdot T}{F} \quad (3.18)$$

über Gleichung

$$U = U_0 + m \cdot pH_a \quad (3.19)$$

ausgedrückt werden. Die jeweils entstehenden Potentiale  $E_{\text{Bez}}$  und  $E_{\text{Mess}}$  können messtechnisch nicht direkt erfasst werden.

Die Steigung  $m$  in Gleichung 3.18 stellt demnach eine Funktion in Abhängigkeit der Temperatur  $T$  dar, also  $m(T)$ . Der pH-Wert hängt ebenso wie die Leitfähigkeit, beschrieben in Kapitel 3.1.1.3, von der Messlösungstemperatur ab. Daher ist auch für die pH-Messung eine Bestimmung der Temperatur zwingend erforderlich. Eine Messguttemperaturabweichung von etwa 10 °C macht gegenüber der Pufferlösung beim Kalibrieren einen Messfehler von etwa 0,15 pH aus [HABER 2008]. Je näher man jedoch bei  $pH = 7$  misst, desto kleiner wird der Messfehler [HABER 2008].

### 3.2.2.1 pH-Messkette (Einstabmesskette)

Die eigentliche pH-Messung stellt eine Spannungsmessung zwischen zwei Elektroden dar. Moderne pH-Messgeräte kombinieren beide Elektroden als Einstabmesskette konstruktiv in einer Glaselektrode. Das Angebot umfasst unterschiedliche pH-Messketten, die verschiedene ionenselektive Elektroden besitzen [SCHWEDT 2008]. Die Funktion einer solchen ionensensitiven Messkette soll nun kurz erläutert werden.

Abbildung 3.8 zeigt den schematischen Aufbau einer Einstabmesskette, bestehend aus zwei kombinierten Glasröhren. Das innere Glasrohr ist mit einer Pufferlösung von bekanntem, konstanten pH-Wert gefüllt und endet in einer dünnwandigen Membran. Diese besteht aus besonderem Glas (erstarrte  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ -Schmelze). An deren Innen- und Außenseite entstehen aufgrund der Mess- und Pufferlösung Quellschichten. Innerhalb der Quellschichten können die im  $\text{SiO}_2$ -Netzwerk gebundenen Kationen gegen Wasserstoffionen ausgetauscht werden. Sowohl die Wasserstoffionen der Messlösung, als auch die Ionen des Innenpuffers diffundieren folglich in die Quellschicht hinein. In Kontakt mit einer protonenhaltigen Lösung ist das chemische Potential der Protonen an der Phasengrenze von Glas zu Lösung verschieden. Die Ladungsdifferenz an der Glasmembran zwischen Innenpuffer und Messlösung ist gleich 0 mV, wenn die Elektrode in eine Lösung taucht, die ebenso viele positive Ladungen hat wie der Innenpuffer. Es entsteht keine Potentialdifferenz. Besitzt der Innenpuffer einen pH-Wert von 7, muss der pH-Wert der Messlösung ebenfalls 7 betragen.

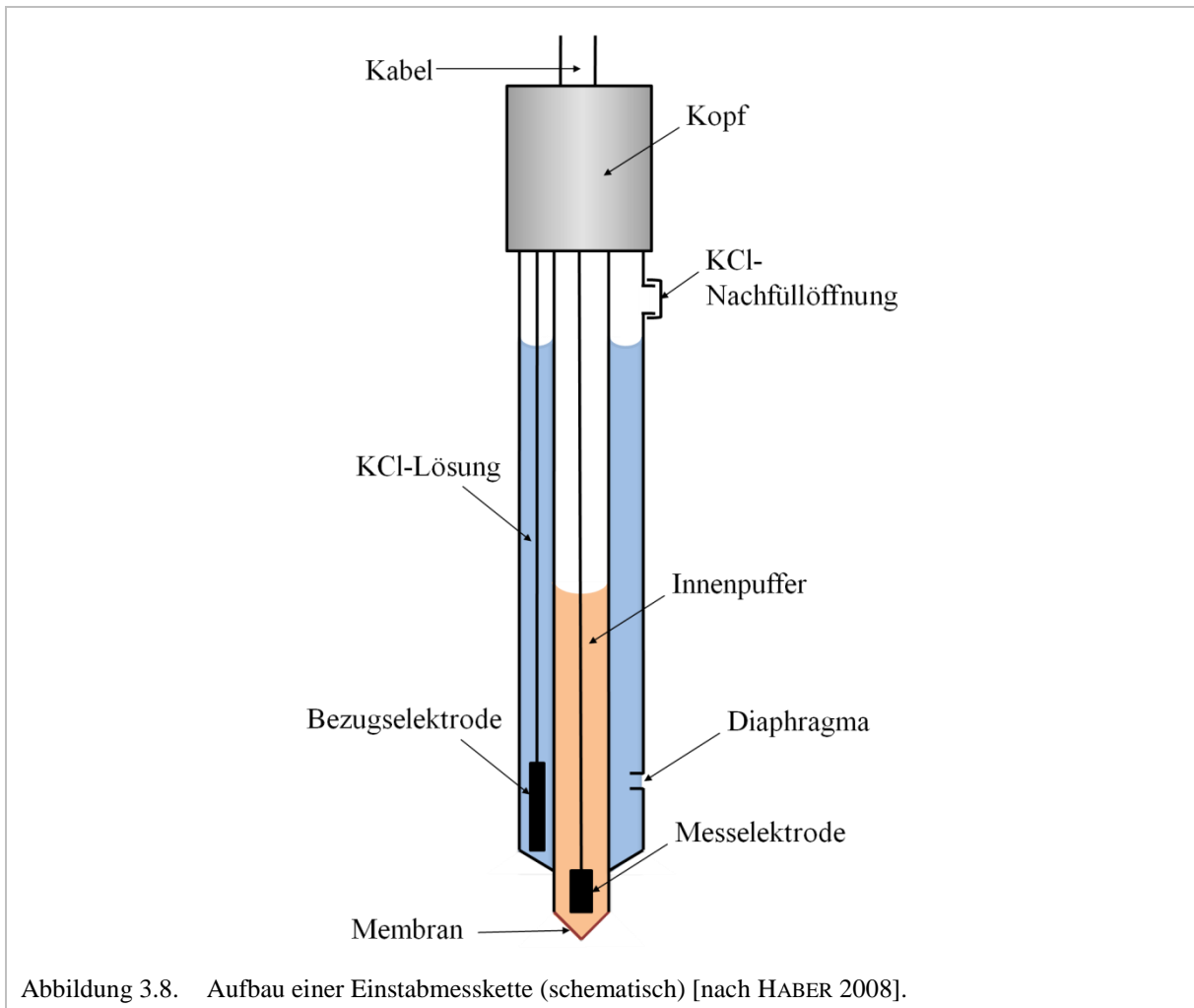


Abbildung 3.8. Aufbau einer Einstabmesskette (schematisch) [nach HABER 2008].

Weist die Messlösung eine höhere Konzentration an Protonen auf als der Innenpuffer, ergibt sich eine Potentialdifferenz. Im Umkehrfall tritt eine Differenz auf, die das Vorzeichen der gemessenen Spannung umdreht. Gemäß Gleichung 3.16 bestimmt die Aktivität der  $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ionen das Potential an der Messelektrode und damit die Spannung.

Die Bezugslektrode, auch Kalomel-Elektrode genannt [LATSCHA und KLEIN 1995], taucht ebenfalls in einen Elektrolyten (KCl-Lösung) ein. Die Kaliumchloridlösung ist ionenleitfähig über ein Diaphragma mit der Messlösung verbunden. Sie kann durch das Diaphragma langsam in die Messlösung diffundieren und so eine elektrische Verbindung herstellen.

An der Bezugslektrode stellt sich durch Diffusionspotentiale eine Spannung ein, die unabhängig von der Ionenkonzentration in der Messlösung konstant ist. Diese Spannung wird mit der an der Messelektrode selbst entstehenden Spannung verglichen. Demnach taucht die pH-unabhängige Bezugslektrode über eine KCl-Brücke in die Messlösung ein.

Das eigentliche Messsignal entsteht durch die Differenz zwischen den beiden Spannungen. Es gibt schließlich Auskunft über die Ionenkonzentration in der Messlösung. Zusammen mit der Messelektrode bilden Puffer und Messlösung eine Konzentrationszelle oder Konzentrationskette für  $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ionen [LATSCHA und KLEIN 1995].

Die Bezugselektrode kann aber auch in ein festes Gel eintauchen. Dadurch ist die in Abbildung 3.8 ersichtliche KCl-Nachfüllöffnung nicht notwendig. Solche Messketten besitzen jedoch längere Ansprechzeiten und eine weniger hohe Messgenauigkeit.

### 3.2.2.2 Bedeutung der pH-Messung für Bier und Würze

Alle Vorgänge des Bierbereitungsprozesses werden grundsätzlich durch die Wasserstoffionenaktivität oder den pH-Wert direkt und indirekt beeinflusst [NARZISS 1992]. Der pH-Wert wirkt sich sowohl auf enzymatische Abbauvorgänge beim Maischen, als auch auf die Löslichkeit der Eiweiß- und Hopfenbitterstoffe sowie die Zufärbung der Würze während des Kochprozesses aus. Zusammenhänge bestehen außerdem zwischen dem pH-Wert der Ausschlagwürze und dem daraus bereiteten Bier [MIEDANER 2002].

In Würze und Bier enthaltene dissoziierte Salze und organische Verbindungen bestimmen den pH-Wert. Diese stammen aus Brauwasser, Malz und dem Hopfen [KUNZE 2011]. Normale, untergärige Biere weisen im Allgemeinen einen pH-Wert zwischen  $4,25 \leq pH_a \leq 4,6$  auf. Niedrige pH-Werte sind für Geschmack und Haltbarkeit grundsätzlich von Vorteil [NARZISS 2004]. Biere mit hohem pH-Wert besitzen infolge mangelhafter Eiweißkoagulation im Sudhaus hingegen eine schlechtere chemisch-physikalische Stabilität [MIEDANER 2002]. Im Zuge routinemäßiger Qualitätskontrollen wird zwar versucht, durch eine pH-Wertmessung auch Kontaminationen mit Reinigungs- und Desinfektionsmitteln im Bier zu detektieren. Angesichts der hohen Pufferkapazität des Biers stellt sich dies jedoch als schwierig dar. Für Würzen liegen die Normwerte bei  $5,3 \leq pH_a \leq 5,6$  oder  $5,0 \leq pH_a \leq 5,4$  bei Einsatz biologischer Säuerung [MIEDANER 2002, NARZISS 2004].

## 3.3 Begriff des Puffersystems

Puffersystem, Pufferlösung oder Puffer sind Elektrolytlösungen, die infolge der Proteolysegleichgewichte einen weitestgehend unempfindlichen pH-Wert gegen Verdünnen und Säure- oder Basezusatz besitzen [HAMANN und VIELSTICH 2005]. Einige Lösungen enthalten neben einer schwachen Säure oder Base noch ein vollständig dissoziiertes Salz dieser schwachen Säure oder Base im Überschuss. Sie besitzen Puffereigenschaften.

Mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes und der allgemeinen Proteolysereaktion kann beispielsweise die Reaktion einer schwachen Säure mit Wasser als Gleichgewicht [SCHWISTER 2003]



über die Gleichung

$$\frac{c_{\text{A}^-} \cdot c_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{\text{HA}}} = K_{\text{S}} \quad (3.21)$$

ausgedrückt werden. Wichtige Abkürzungen und Variablen sind dabei

HA	schwache Säure,
A <sup>-</sup>	Säureanion (konjugierte Base),
c	Konzentration und
K <sub>S</sub>	Säurekonstante.

Nach Umstellen der Gleichung 3.21, Bilden des negativen dekadischen Logarithmus und Berücksichtigen von Gleichung 3.11 [ATKINS und PAULA 2006] entsteht die Formel

$$\text{pH}_c = \text{p}K_{\text{S}} + \frac{\log c_{\text{A}^-}}{\log c_{\text{HA}}} \quad (3.22)$$

$\text{p}K_{\text{S}}$  dient als negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstanten  $K_{\text{S}}$ . Puffergemische enthalten in der Regel eine Säure HA und deren konjugierte Base A<sup>-</sup> im Molverhältnis 1:1 [BOTSCH et al. 1984]. Wenn folglich  $c_{\text{A}^-} \approx c_{\text{HA}}$  ist, nimmt der zweite Summand in Gleichung 3.22 den Wert 1 an. Der pH-Wert, bei dem eine gleichmolare Mischung puffert, gleicht nun dem negativen dekadischen Logarithmus der Säurekonstanten  $K_{\text{S}}$  der betreffenden Säure.

Da chemische Reaktionen häufig bei einem bestimmten konstanten pH-Wert ablaufen, kommt Puffergemischen eine große praktische Bedeutung zu. Bier und Würze besitzen Pufferkapazitäten [BACK 2008]. Diese Puffer enthalten schwache Säuren und deren Salze sowie primäre und sekundäre Phosphate, Eiweißstoffe und deren Abbauprodukte [MIEDANER 2002].

## 4 Material und Methoden

Die gestellten Messaufgaben in dieser Arbeit beeinflussten die Wahl sowohl des Messverfahrens als auch der Ausführungsform der Sensorelemente<sup>13</sup> und des Messumformers als Messzusatz. Sensorelement und Messumformer bilden zusammen das Messgerät.

### 4.1 Oberflächenpotential- und Oberflächenladungsmessung<sup>14</sup>

Für das Bestimmen von Oberflächenpotential und -ladung der Partikel mussten die Proben zunächst aufbereitet werden. Nach DLVO-Theorie aus Kapitel 2.6.1 nimmt die physikalisch-chemische Stabilität einer Dispersion mit dem Anstieg ihrer Energiebarriere zu. Diese ist umso höher, je größer das Oberflächenpotential und je weiter die diffuse Schicht in die Umgebung des Partikels reicht. Maßgeblich ist dabei die Ausdehnung der diffusen Schicht in der Originaldispersion. Bei der Probenaufbereitung ist daher besonders darauf zu achten, dass die ursprüngliche Elektrolytzusammensetzung und -konzentration möglichst unverändert bleiben. Das Probenmaterial sollte im Idealfall eine identische Elektrolytzusammensetzung zur Originaldispersion aufweisen. So kann aus den gemessenen Potentialwerten eine Stabilitätsabschätzung vorgenommen werden.

Dieser Aspekt stellt die Analytiker jedoch vor ein großes Problem: Die messtechnische Erfassung von Oberflächenpotential und -ladung, pH-Wert und Leitfähigkeit CO<sub>2</sub>-haltiger Proben wie Bier ist mit herkömmlichen Methoden nur im entgasten Zustand durchführbar. Durch die Entgasung wird das ursprüngliche Produkt in Volumen und Zusammensetzung verändert. Der Entzug von CO<sub>2</sub> beeinflusst dabei nicht nur die Dichte, sondern auch die Konzentration der Kohlensäure. Die Erfassung des tatsächlich vorhandenen pH-Werts von Bier ist mit den üblichen Methoden also nicht mehr möglich. Die Abweichungen zwischen realem (vor Entgasen) und analysiertem Wert (ohne CO<sub>2</sub>) führen beispielsweise in der Fülltechnik zu Problemen bei einer exakten Füllmengenbestimmung [TITZE und VOGELPOHL 2009]. Aufgrund dieser Einschränkung wurde darauf geachtet, weitere maßgebliche Veränderungen der Probenmatrix während der Probenbehandlung zu vermeiden.

#### 4.1.1 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung beinhaltet in diesem Zusammenhang auch die Probenaufbereitung, da beispielsweise beim Entgasen oder Filtrieren Stoffe bzw. Matrixbestandteile systematisch abgetrennt werden.

---

<sup>13</sup>Im Folgenden wird der Begriff des Sensorelements gemäß den Empfehlungen des NAMUR-Ausschusses Sensor-Systeme [OESTERLE 1990] als das Bauteil definiert, das eine physikalische oder chemische Messgröße in ein zur Weiterverarbeitung geeignetes elektrisches Signal umsetzt.

<sup>14</sup>Unter dem Begriff der Oberflächenladung wurde im Gegensatz zum Oberflächenpotential nur die Information des Vorzeichens der (Netto-)oberflächenladung der Partikel, d. h. Plus oder Minus, verstanden.

#### 4.1.1.1 Entgasen

Zunächst mussten alle CO<sub>2</sub>-haltigen Proben für die Messungen entgast werden. Das Probengefäß, beispielsweise eine Bierflasche wurde dazu bei Raumtemperatur geöffnet, etwa 50 ml in einen mit Probe vorgespülten Erlenmeyerkolben überführt und mit einer Glasschale abgedeckt. Dies vermeidet mögliche Alkoholverluste. Anschließend wurde die Probe 5 bis 10 Minuten in einem Ultraschallbad, Modell Branson 1 200 Sonic Bath von Heinemann, Schwäbisch Gmünd bei etwa 20 °C behandelt. Der Vorgang dauerte an, bis keine sichtbare CO<sub>2</sub>-Entbindung in der Probe mehr zu beobachten war. Die ausreichende Entgasung der Probe wurde dann zur Sicherheit durch manuelles Schütteln geprüft. Zu beachten bleibt, dass ein vollständiges Entgasen des Biers mit jedem Verfahren ausgeschlossen ist. In der Bierprobe verbleiben durchschnittliche CO<sub>2</sub>-Restkonzentrationen von 0,3 g·l<sup>-1</sup> bis 1,0 g·l<sup>-1</sup>.

Das Entgasen während der Probenvorbereitung entfiel bei Proben wie Würzen oder Grundstoffausmischungen, die kein gelöstes CO<sub>2</sub> enthielten.

#### 4.1.1.2 Filtrieren

Grobdisperse Dispersionen wie Würzen und naturtrübe Biere wurden einer Filtration unterzogen. Die Würzproben wurden nach Abkühlen mittels Faltenfilter von Schleicher & Schuell MicroScience, Dassel mit einem Filterdurchmesser von 320 mm filtriert. Naturtrübe Bierproben wie Weizen-, Keller- oder Zwickelbiere wurden hingegen mit der Membranfiltrationsvorrichtung Model A1 17 der Neuberger KG, Freiburg über einen Cellulose Nitrat Filter Typ NC 45 (0,45 µm Porengröße, 50 mm Durchmesser) der Whatmann GmbH, Dassel membranfiltriert.

#### 4.1.1.3 Temperieren

Abschließend wurde die Probe in einem Wasserbad, CT 1650 der Schott-Geräte GmbH, Hofheim/Ts. auf 20 °C temperiert. Nachdem der Schaum zusammengefallen war, erfolgte die Probenmessung.

Aufgrund der Erkenntnisse früherer Untersuchungen wurden außer Entgasen und Temperieren keine weiteren Vorbereitungsschritte für filtrierte Biere vorgenommen, um die Probenmatrix möglichst unverändert zu lassen [TITZE et al. 2007b]. Weiterhin war der Verlust kolloidaler Substanzen möglichst gering zu halten. Entstandener Schaum, der an der Gefäßwand haftete, wurde deshalb durch leichtes Schwenken der Probe rückgelöst. Das Verwenden von Antischaumreagenzien konnte so vermieden werden.

#### 4.1.1.4 Verdünnen

Einige Proben wurden im Zuge von Konzentrationsreihen mit Wasser verdünnt. Um den Einfluss des Wassers möglichst gering zu halten, diente Reinstwasser als Verdünnungslösung. Dessen Qualität ist in Abschnitt 4.7.2 beschrieben.

#### 4.1.2 Partikeloberflächenpotential- und Partikelladungsmesseinrichtung

Nach der Probenvor- bzw. -aufbereitung folgte das Bestimmen von Oberflächenpotential und -ladung der Partikel. Dazu wurden in dieser Arbeit jeweils ein Partikelladungsdetektor des Typs Charge Analyzing System (CAS) der AFG Analytic GmbH, Leipzig sowie des Typs StabiSizer<sup>®</sup> (nur mit Partikelladungstitration ausgestattet) der Particle Matrix GmbH, Meerbusch verwendet.

Das angewandte Messsystem, kinetischer Ladungsanalysator oder Partikelladungsdetektor genannt, wurde erstmals 1966 von GERDES zum Bestimmen des Strömungspotentials vorgestellt [GERDES 1966]. Der Partikelladungsdetektor gehört zur Gruppe der Analytikgeräte, deren Messmethode auf der sogenannten Polyelektrolyttitration in Kombination mit einem Streaming-Current-Detector basiert [OSTERHOLD und SCHIMMELPFENNIG 1992]. Im Folgenden wird der verwendete Partikelladungsdetektor mit PLD abgekürzt. Die technischen Daten des eingesetzten PLD sind im Anhang in Tabelle 8.4 aufgeführt.

##### 4.1.2.1 Aufbau von Messzelle und -kolben

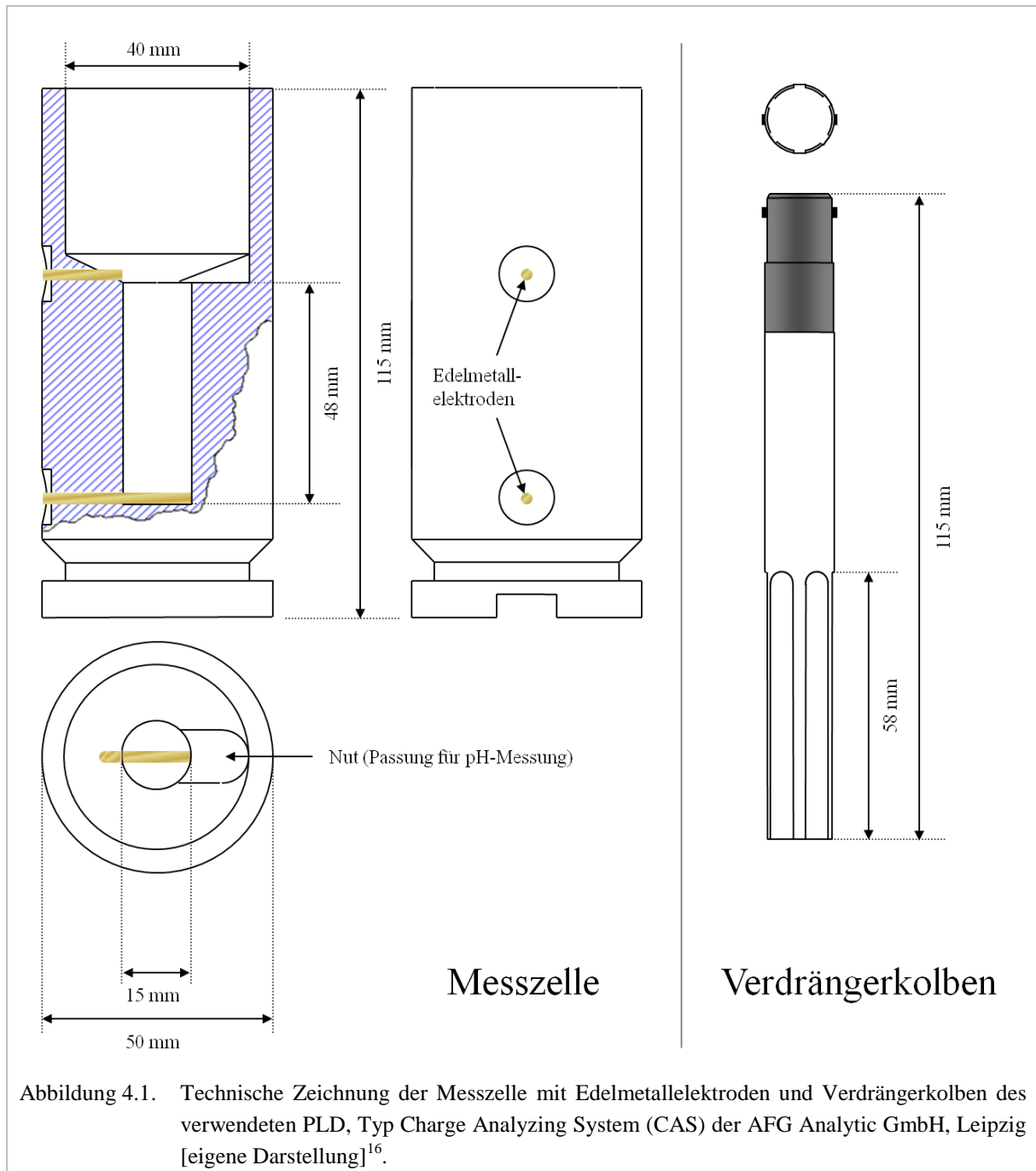
Die zentralen Elemente des PLD sind die Messzelle als Probengefäß und der Mess- bzw. Verdrängerkolben. Beide sind aus PTFE gefertigt, die Messzelle enthält zwei Edelmetallelektroden. Abbildung 4.1 zeigt sowohl die Messzelle mit den Elektroden als auch den Verdrängerkolben. Beide Messelemente sind jeweils als technische Zeichnung klapprichtig angeordnet.

In die zylindrische Messzelle ist eine abgesetzte Bohrung, ein sogenanntes Sackloch<sup>15</sup> eingebracht. Im oberen Teil der Messzelle besitzt die Bohrung einen Nenndurchmesser von 40 mm. Im Anschluss daran verjüngt sich der Bohrdurchmesser auf 15 mm. Zwei Elektroden ragen im Abstand von 48 mm zueinander in die Bohrung. Die erste Elektrode befindet sich direkt am Bohrabsatz, also am Übergang zwischen großem und kleinem Bohrdurchmesser. Die zweite Elektrode ist am unteren Ende der Bohrung positioniert. Gegenüber der ersten Elektrode (am Bohrabsatz) ist eine Nut als Aussparung für das pH-Sensorelement eingelassen.

Der Verdrängerkolben ist ein zylindrischer Stab. An dessen unterem Teil sind symmetrisch über den Umfang sechs 58 mm lange und etwa 6 mm breite sowie 0,2 mm oder 0,5 mm tiefe Nuten eingefräst.

---

<sup>15</sup>In der Fertigungstechnik wird mit dem Begriff Sackloch eine Bohrung bezeichnet, die das Werkstück nicht vollständig durchdringt und dadurch eine bestimmte Tiefe besitzt.

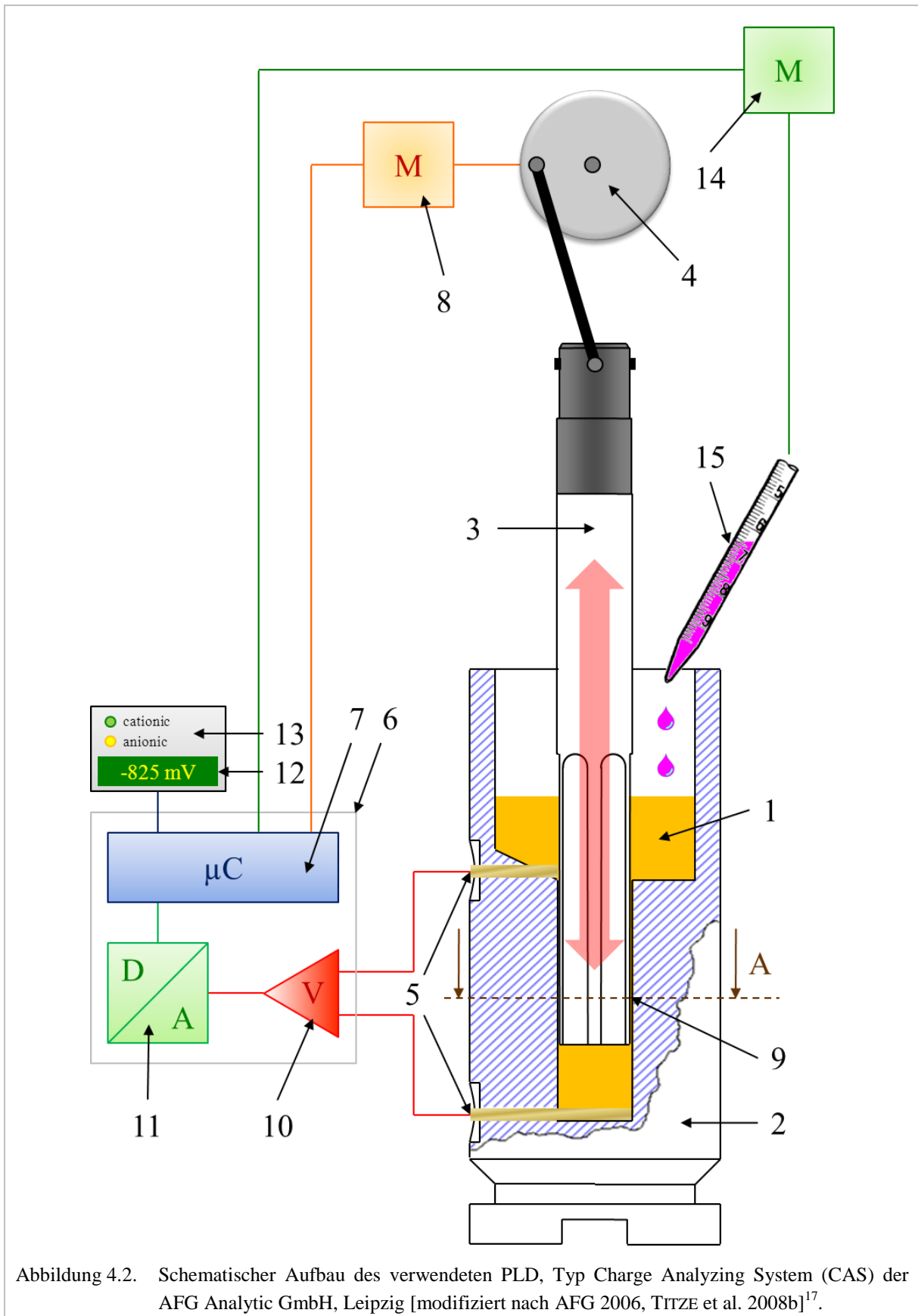


#### 4.1.2.2 Messprinzip

Die in Kapitel 2.7 beschriebene elektrokinetische Erscheinung des Strömungspotentials ist experimentell unterschiedlich umsetzbar. Dem elektrokinetischen Grundversuch entsprechend sind das Durchströmen einer Kapillare, eines Diaphragmas oder einer modifizierten Form im PLD möglich [MÜLLER 1996]. Letztere Methode schließt auch das Anwendungsgebiet fein- und kolloiddisperser Systeme ein. Abbildung 4.2 verdeutlicht schematisch den instrumentellen Aufbau des hier eingesetzten PLD.

<sup>16</sup>Die technische Zeichnung entspricht auch dem grundsätzlichen Aufbau der Messzelle des später verwendeten Partikelladungsdetektors, Typ StabiSizer<sup>®</sup> der Particle Metrix GmbH, Meerbusch.





<sup>17</sup>Der Schematische Aufbau entspricht auch dem des später verwendeten Partikelladungsdetektors, Typ StabiSizer<sup>®</sup> der Particle Metrix GmbH, Meerbusch.

10 ml der Probenflüssigkeit (1) wurden in die Messzelle (2) pipettiert. Anschließend wurde der Verdrängerkolben (3) in die Messzelle eingeführt und mit einem Exenter (4) verbunden. Dabei stieg der Flüssigkeitsspiegel soweit an, dass der obere Teil der Bohrung etwa zu einem Drittel gefüllt war und beide Edelmetallelektroden (5) vollständig mit Probelösung in Kontakt standen. Über die Elektrik (6) steuerte ein Mikrocontroller (7) mit einer stabilen Frequenz von  $f = 3$  Hz einen Antriebsmotor (8) an. Dieser bewegte mit Hilfe des Exenters (4) den Verdrängerkolben in der Messzelle oszillierend auf und ab.

Die schwingende Bewegung rief im Ring- oder Messspalt (9) eine starke Strömung zwischen Wandung der Bohrung der Messzelle und Kolbenoberfläche hervor. Gemäß den theoretischen Ausführungen in den Kapiteln 2.6.1 und 2.7 adsorbierten die kolloidal gelösten Partikel aufgrund der VAN DER WAALS-Kräfte an der Oberfläche von Messzelle und Kolben. Durch ihre Oberflächenladungen waren die Partikel von einer elektrischen Doppelschicht umgeben. Die Gegenionen der diffusen Schicht blieben als Ladungswolke um das Partikel beweglich. Die beweglichen Gegenionenwolken verzerrten sich aufgrund der Strömung gegenüber den an der Oberfläche adsorbierten Partikeln – es floss Strom. Die Edelmetallelektroden (5) griffen das Messsignal in Form eines Wechselstroms im  $\mu\text{A}$ -Bereich ab. Da das Signal der Kolbenbewegung folgte und niederfrequent war ( $f = 3$  Hz), konnte es gut separiert werden [MÜLLER 1996]. Das Messsignal wurde mittels Messverstärker (10) erhöht und an einen Analog/Digitalwandler (11) weitergeleitet. Anschließend wurde es vom Mikrocontroller (7) aufbereitet und nach Gleichrichtung und Glättung auf dem Display (12) als Spannung in mV angezeigt. Das Vorzeichen des Messwerts sowie ein LED-Zusatz (13) zeigten, ob es sich um eine kationische oder anionische Partikeloberflächenladung handelte. Zusätzlich wurde das elektrische Signal genutzt, um die Dosierpumpe (14) unter Berücksichtigung der Messparameter für die Titrationslösung (15) anzusteuern.

Alle mit dem Mikrocontroller weiterverarbeiteten Messdaten konnten über eine RS232-Schnittstelle an den PC geleitet werden. Sie wurden mit der Software pm measurement system 1.70 der Particle Matrix GmbH, Diessen ausgewertet und weiter in Microsoft<sup>®</sup> Office Excel.2007 der Microsoft Corporation, Redmond (USA) exportiert. Zum Berechnen der charakteristischen Funktionen wurde die Software TableCurve 2D Version 5.01 für Windows der Systat Software GmbH, Erkrath (SYSTAT Software Inc.) verwendet.

Der angezeigte Potentialwert wird PLD-Potential genannt und in der Praxis mit dem Strömungspotential gleichgesetzt [MÜLLER 1996, LYKLEMA 1999a, LYKLEMA 1999b]. Bereits diverse Arbeiten zeigten, dass Korrelationen zwischen den elektrischen Messgrößen PLD- und Zeta-Potential bestehen [GERDES 1966, DENTEL und KINGERY 1988, ELICKER et al. 1992, ILBERG 1996]. Somit ist der gemessene Strom theoretisch proportional zum Zeta-Potential und umgekehrt proportional zur Viskosität der Lösung [HEIMENZ und RAJAGOPALAN 1997].

#### 4.1.2.3 Ausbilden des Messsignals

Die Methode zur Bestimmung der Partikeloberflächenladung lässt sich am besten mit der in Kapitel 2.4 beschriebenen Modellvorstellung der elektrischen Doppelschicht verstehen. Werden Partikel über eine wässrige Probenlösung in die Messzelle eingebracht, bilden diese

aufgrund ihrer Oberflächenladungen zunächst eine elektrische Doppelschicht aus. Einige Partikel werden über die VAN DER WAALS-Adsorption an PTFE-Zellwand und –Verdrängerkolben fixiert. Sie stellen bei hinreichender Molekülgröße somit eine quasi-stationäre Phase dar. Abbildung 4.3 A zeigt einen stark vergrößerten Ausschnitt des Messspalts aus Abbildung 4.2 (9). Der linke Teil zeigt die Wand der PTFE-Messzelle, an der ein Partikel adsorbiert ist. In diesem Beispiel weist das Partikel eine negative Oberflächenladung auf. Laut Ausführungen in Kapitel 2.4 ist das geladene Partikel mit einer festen Gegenionenschicht umgeben. Dieser schließt sich eine diffuse Schicht an. In den folgenden Darstellungen wird auf eine Differenzierung der inneren und äußeren HELMHOLTZ-Schicht verzichtet. Graphisch werden nur die fest adsorbierte und diffus verteilte Gegenionenschicht unterschieden.

Wird das Partikel durch die Kolbenbewegung im PLD einer Flüssigkeitsströmung ausgesetzt, verhindert die Adsorption des Partikels aufgrund VAN DER WAALS-Kräfte ein Mitfließen im wässrigen Dispersionsmedium. So werden durch die Strömung die beweglichen Gegenionen in der diffusen Schicht an der Scherebene verschoben. Das geschieht, wenn die STOKESCHEN Reibungskräfte bei ausreichender Strömungsgeschwindigkeit in der elektrischen Doppelschicht stark genug sind, um die Gegenionenwolke an der Scherebene nahe der STERN-Schicht abzustreifen und mit der Flüssigkeit zu verschieben. Die hydraulische Abscherung der beweglichen Ladungswolke zeigt Abbildung 4.3 B.

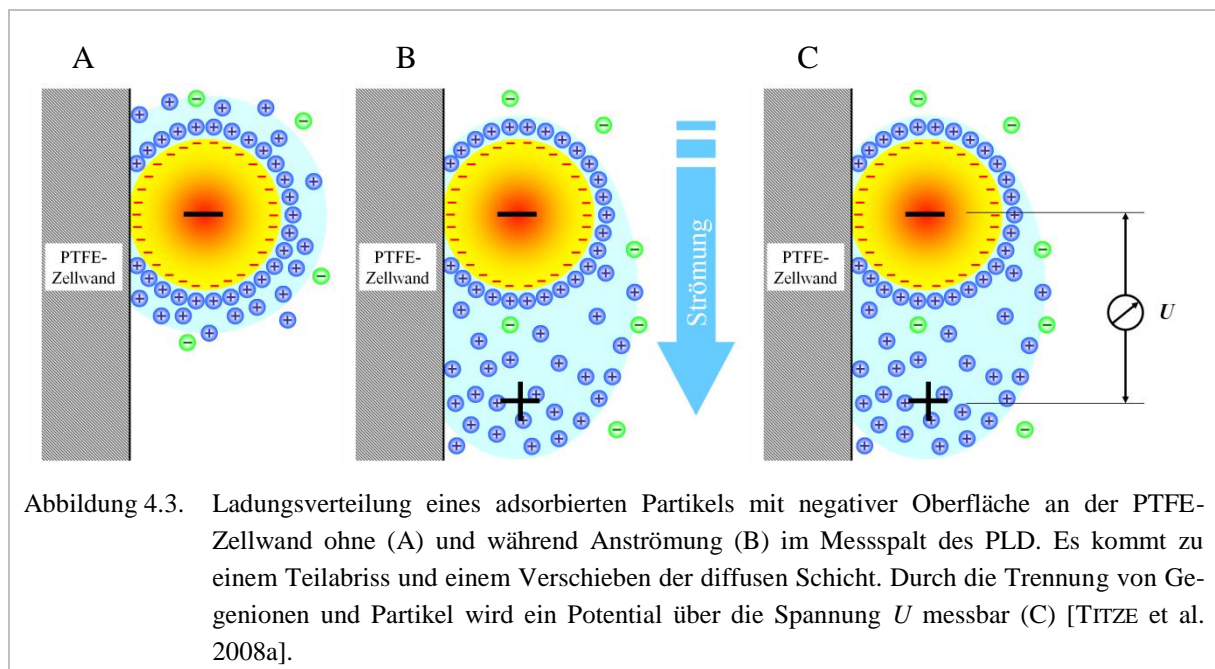


Abbildung 4.3. Ladungsverteilung eines adsorbierten Partikels mit negativer Oberfläche an der PTFE-Zellwand ohne (A) und während Anströmung (B) im Messspalt des PLD. Es kommt zu einem Teilabriss und einem Verschieben der diffusen Schicht. Durch die Trennung von Gegenionen und Partikel wird ein Potential über die Spannung  $U$  messbar (C) [TITZE et al. 2008a].

Durch die Ladungverschiebung oder Polarisierung entsteht ein Dipol. Das über die Elektroden gemessene Stromsignal wird als Potential in mV ausgegeben, dargestellt in Abbildung 4.3 C.

Während der Trennung von Gegenionen und Partikel tritt elektrischer Strom oder (gewandelt) Potential auf. Dies verhält sich theoretisch proportional zur Menge der vorhandenen Partikel und deren Oberflächenladung.

Die Höhe des Messsignals dient als Maß für die Oberflächenladung der Partikel und hängt von folgenden Proben- und Umgebungsparametern ab:

- Leitfähigkeit der Flüssigkeit,
- molare Masse und Größe der adsorbierten Partikel,
- Geometrie der Messzelle (z. B. Breite des Messspalts),
- Strömungsgeschwindigkeit und Strömungsprofil<sup>18</sup>,
- Frequenz der Bewegung des Messstempels,
- Viskosität der Probe und
- Messtemperatur.

Die Voraussetzung für das Auftreten von Strömungspotential ist die Immobilisierung des Partikels an einer Oberfläche. Damit verringert sich die Aussagefähigkeit der Methode insbesondere, wenn gemischte Systeme vorliegen. Das elektrische Signal setzt sich dann integral aus Anteilen der verschiedenen Mischungsbestandteile zusammen [MÜLLER 1996]. Separieren und Zuordnen dieser Anteile am Gesamtsignal sind besonders schwierig, wenn einzelne Signalanteile verschiedenen Mechanismen der Signalausbildung unterliegen. Dies ist beispielsweise dann der Fall, wenn einer Partikelsuspension ein polyionisches Dispergiemittel zutitriert wird, das nicht auf der Partikeloberfläche adsorbiert, sondern isoliert neben dem Partikel vorliegt [MÜLLER 1996].

Dieser Aspekt ist Hauptkritikpunkt an der Interpretationswürdigkeit der Ergebnisse des PLD-Potentials. Trotzdem wird die bewegliche Gegenionenschicht an der Scherfläche verschoben. Sie muss also mit dem Zeta-Potential des Partikels in Zusammenhang stehen. Ungeachtet der genannten Einschränkung ist das Potential folglich dennoch ein Maß für die Dispersionsstabilität. Obwohl in der Literatur bisher alle entwickelten Modelle zum PLD-Prinzip von diesem Adsorptionsmodell [GERDES 1966, DENTEL und KINGERY 1988] oder einer adsorptiven Ladungsimmobilisierung von Partikeln oder Polyelektrolyten [ELICKER et al. 1992] ausgehen, beschränkt die Darstellung MÜLLERS diese Ansätze zu Recht [MÜLLER 1996]. Demnach ist eine Haftung über die VAN DER WAALS-Adsorption an der PTFE-Oberfläche besonders bei Partikelsystemen ab einer bestimmten mittleren Partikelgröße (z. B. >150 µm) nicht mehr vorstellbar. In diesem Fall darf die Signalausbildung in der PLD-Messzelle nicht mehr auf den oben beschriebenen Adsorptionsmechanismus zurückgeführt werden. Vielmehr muss sie mit Hilfe des Sedimentationspotentials erklärt werden. Oft wirken beide elektrokinetischen Effekte, also Strömungs- und Sedimentationspotential, in der Praxis nebeneinander. Hierbei müssen durch Dichteunterschiede begründete Trägheitseffekte klar von der Bewegung adsorptiv immobilisierter Probenpartikel unterschieden werden. Die vorhandenen Größenordnungen der Partikel in den hier verwendeten Arbeitsproben dürften solche Mischsysteme allerdings ausschließen.

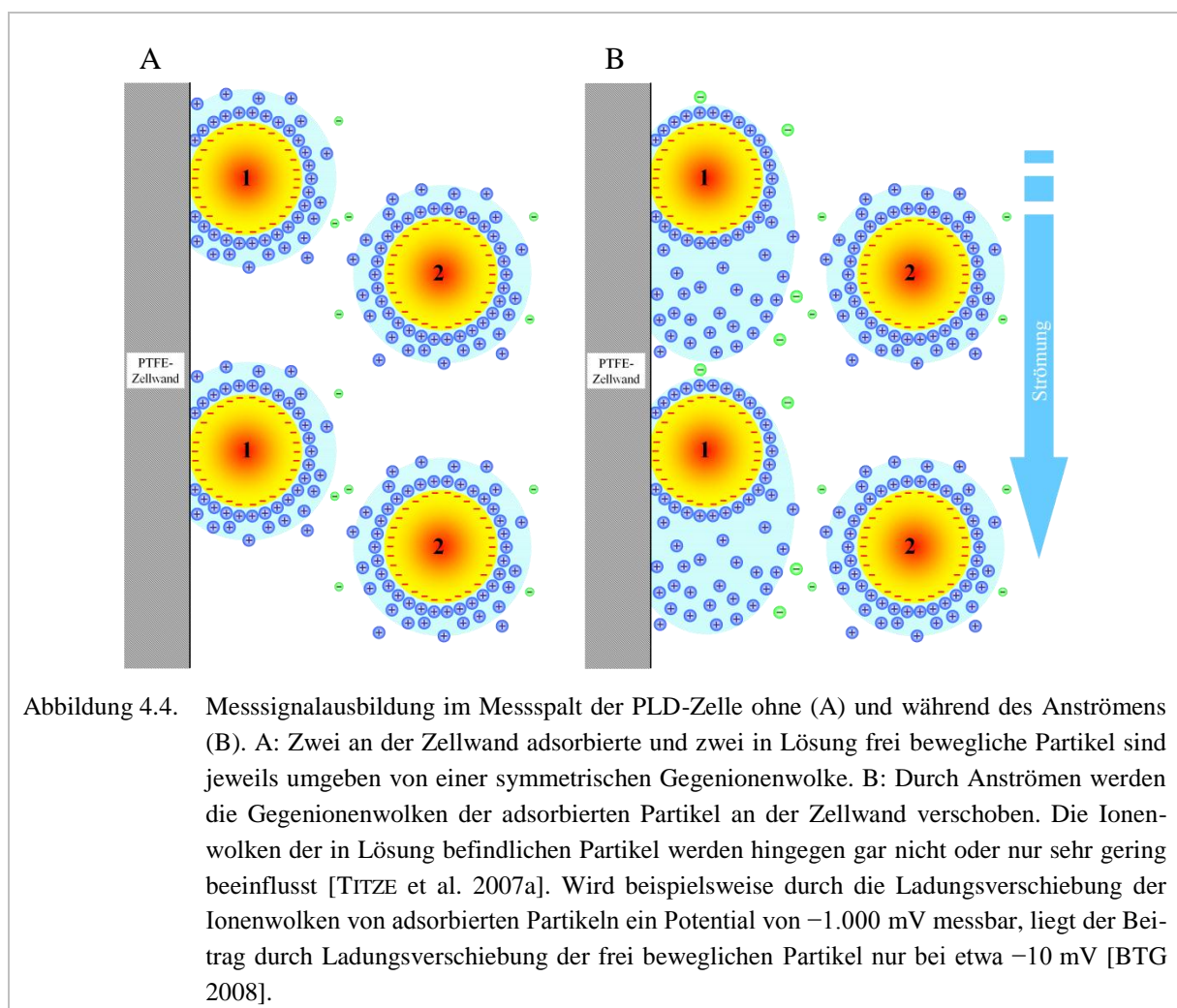
---

<sup>18</sup> Die Strömungsverhältnisse im Messspalt werden in Kapitel 4.1.2.9 berechnet.

Zur Potentialmessung mittels PLD müssen mobile und stationäre Phasen vorhanden sein, um eine Relativbewegung an der Scherebene innerhalb der diffusen Doppelschicht auszubilden. Diese verursacht die erforderliche Verschiebung von Ladungsschwerpunkten.

Finden Partikel keinen Platz an der PTFE-Oberfläche von Messzelle oder -kolben, sind sie nicht durch Adsorption fixiert und frei beweglich. Sie bringen deshalb keinen Beitrag zur Ausbildung des abgreifbaren Strömungsstroms bzw. -potentials.

Abbildung 4.4 (A) zeigt an der Zellwand adsorbierte (1) und in der Lösung frei bewegliche (2) Partikel. Nach Anströmen bilden die adsorbierten Partikel Dipole aus. Die beweglichen Partikel beeinflussen das Messsignal aufgrund ihrer Größe gar nicht oder nur minimal. Der Unterschied der Beiträge von nicht adsorbierten zu adsorbierten Partikeln liegt nach Herstellerangaben bei etwa zwei Zehnerpotenzen und ist deshalb zu vernachlässigen [BTG 2008].



#### 4.1.2.4 Polyelektrolyttitration

Mit Hilfe einer geeigneten Titrationslösung aus Polyelektrolyten kann die Oberflächenladung von Partikeln bestimmt werden.

Polyelektrolyte sind Makromoleküle, die auf ihrer Oberfläche kovalent gebundene, dissoziationsfähige Gruppen besitzen [SONNTAG 1977, MÜLLER 1996]. Bei der Reaktion mit polaren Lösungsmitteln wie Wasser zerfallen diese in Makroionen und Gegenionen [SONNTAG 1977].

Makroionen können kationische Gruppen, beispielsweise  $-\text{NH}_2$ ,  $\text{>NH}$  und  $\text{>N}$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$  oder anionische Gruppen wie  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  und  $-\text{PO}_4\text{H}$  ebenso auf ihrer Oberfläche tragen, wie kationische und anionische Gruppen zugleich. Mögliche Gegenionen sind niedermolekular:  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  oder  $\text{Ca}^{2+}$  [SONNTAG 1977]. Je nach Ladungszustand werden Polyanionen, Polykationen und Polyampholyte unterschieden. Letztere sind für eine Ladungstiteration ungeeignet.

Als Titrationsreagenzien kommen starke Polyanionen oder -kationen zum Einsatz. Sie liegen über einen weiten pH-Bereich vollständig dissoziiert vor und sind damit nahezu pH-unabhängig [MÜLLER 1996]. Polyelektrolyte zeichnen sich durch ein bevorzugtes Adsorptionsvermögen gegenüber hydrophilen und hydrophoben Oberflächen aus [MÜLLER 1996].

In dieser Arbeit kamen zwei Titrationslösungen bzw. -mittel zum Einsatz:

1. Eine 0,001 n kationische Polyelektrolytlösung aus Polydiallyldimethylammoniumchlorid (Poly-DADMAC) und
2. eine 0,001 n anionische Polyelektrolytlösung aus polyethylensulfonsaurem Natrium (PES-Na).

Da die meisten untersuchten Biere und Würzen Partikel mit negativer Oberflächenladung besitzen, wurde vorwiegend Poly-DADMAC verwendet. Darüber hinaus hat es sich als kationisches Titrationsmittel bewährt. Es liegt in wässriger Lösung im pH-Bereich von 1 bis 13 dissoziiert vor und trägt kationische Ladung [MÜLLER 1996].

Abbildung 4.2 (14) zeigt die Dosierpumpe. Mit ihrer Hilfe gelangte die Titrationslösung durch einen Ansaugschlauch aus der Titrationslösungsflasche über eine Dosierpipette in die Probenlösung. Die Titrationslösungsflasche stand in einem Wasserbad, CT 1650 der Schott-Geräte GmbH, Hofheim/Ts. mit einer Temperatur von 20 °C.

In Abbildung 4.5 werden der Probe kationische Makroionen zutitriert (A), die aufgrund oberflächenspezifischer Adsorption einen Teil der Partikeloberfläche neutralisieren (B). Das nach außen hin wirksame Potential verringert sich, da die Partikeloberfläche durch die partielle Neutralisation an Ladung verliert. So werden weniger Gegenionen aus der Umgebung angezogen. Die Ladungswolke der diffusen Schicht verkleinert sich folglich.

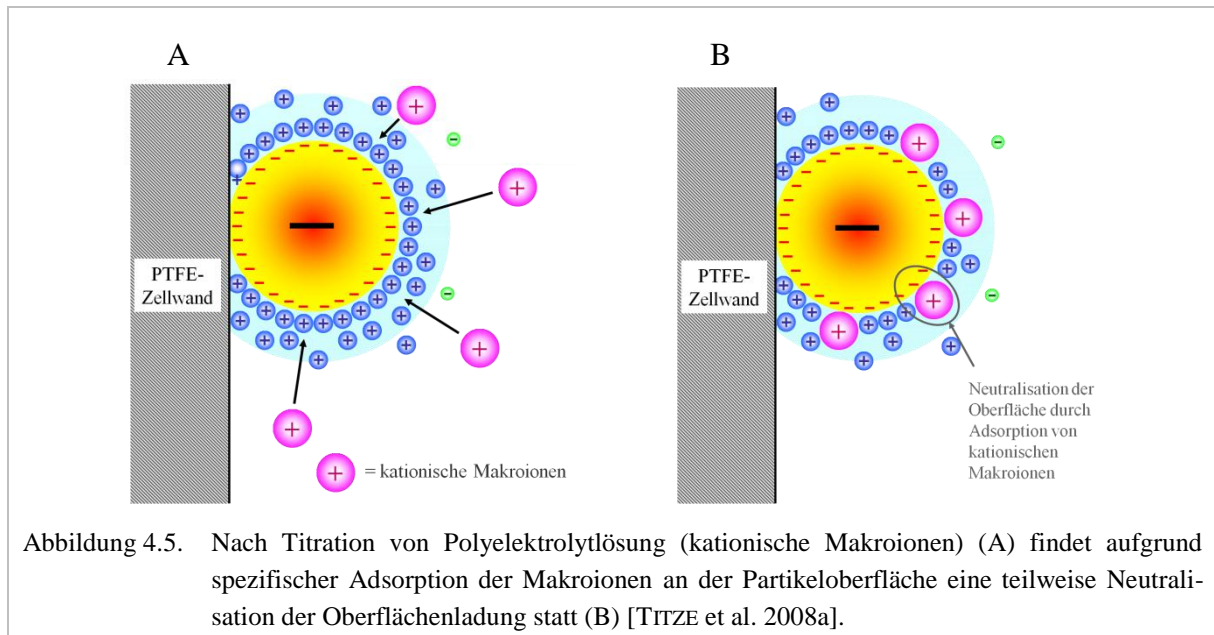
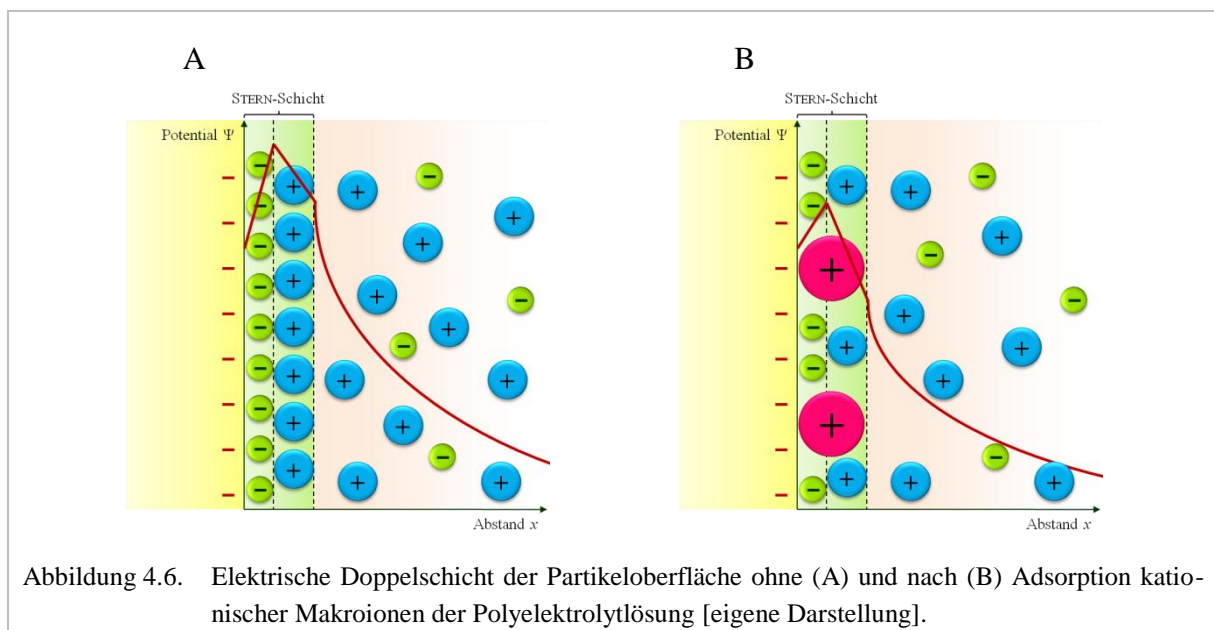
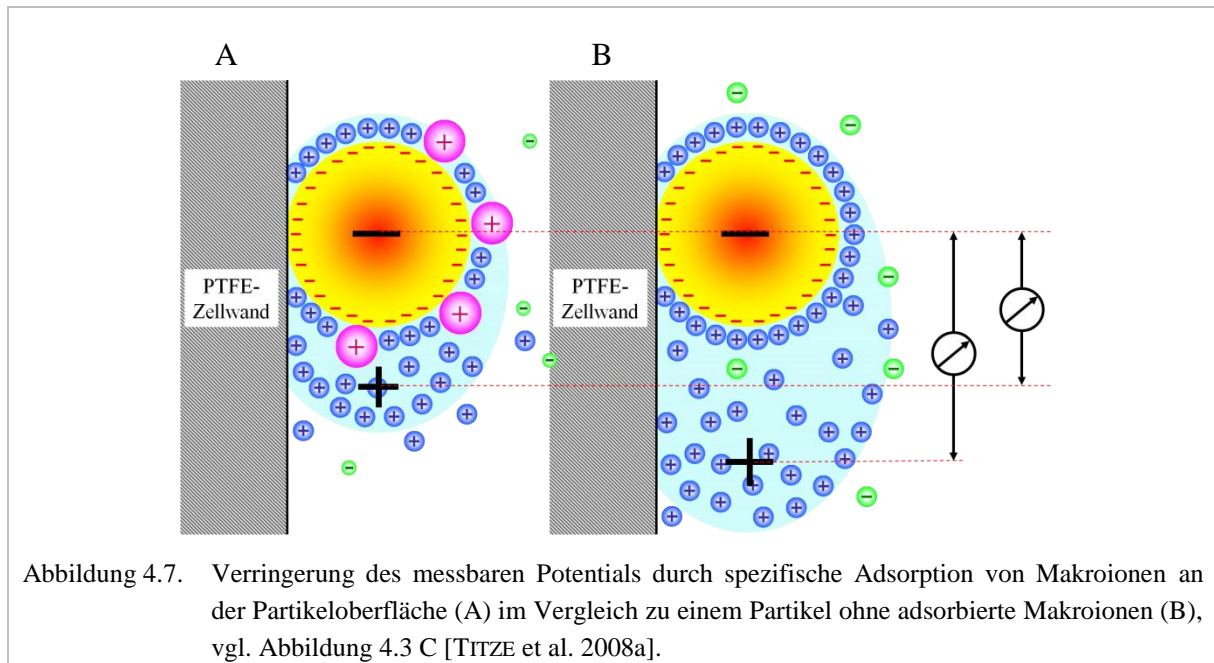


Abbildung 4.6 zeigt die stark vergrößerte Partikeloberfläche ohne (A) und mit (B) adsorbierbaren Makroionen. Bei Betrachtung des Potentialverlaufs in der elektrischen Doppelschicht direkt an der Partikeloberfläche, gemäß der in Kapitel 2.4.1 beschriebenen Modellvorstellung fällt Folgendes auf: Zum einen war der Potentialanstieg infolge der Anionenverdrängung in der inneren HELMHOLTZ-Schicht durch die Makroionenadsorption weniger stark ausgeprägt. Zum anderen änderten sich die Symmetriebedingungen in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht aufgrund unterschiedlicher Größenverhältnisse. Durch beide Effekte wirkte ein geringeres Potential an der STERN-Schicht nach außen. Weniger Gegenionen wurden angezogen und sammelten sich in der diffusen Schicht an.



Dieser Vorgang zeigt, dass eine Dipolbildung direkt nach Zutitrieren einiger Makroionen möglich, aber nicht mehr so stark ausgeprägt ist. Mit zunehmender Adsorption von Polykationen auf der Partikeloberfläche sinkt auch die messbare Spannung  $U$ . Abbildung 4.7 zeigt einen Vergleich von dem sich ausbildenden Dipol des Partikels aus Abbildung 4.5 B während des Anströmens mit dem Dipol aus Abbildung 4.3 C.



Bei zunehmender Titrationsmenge von Makroionen nimmt das messbare Potential stetig ab, bis die gesamte Partikeloberfläche durch Makroionen besetzt und die Oberflächenladung neutralisiert ist. Gegenionen aus der Umgebung werden nicht mehr angezogen. Durch die Strömung werden keine Dipole induziert. Die Spannung  $U$  ist null.

Der Verlauf des messbaren Potentials in Abhängigkeit des titrierten Elektrolytlösungsvolumens wurde mit der oben genannten Software dokumentiert. Neben der Einstellung von Dosiervolumen und zeitlichem Dosierintervall konnte auch das Kriterium für das Titrationsende festgelegt werden.

#### 4.1.2.5 Berechnen der Oberflächenladungsdichte

Grundsätzlich lässt sich die in der Probe vorhandene Oberflächenladungsmenge mit Hilfe des entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten durch Titration bestimmen. Dies wird möglich, wenn die Ladungsdichte des Polyelektrolyten bekannt ist. Die spezifische Ladung  $q_{\text{spez}}$  eines Partikels setzt sich zusammen aus dem Quotienten der Partikeloberflächenladung  $Q$  und seiner Masse  $m$  [GREHN 1991].



Die Berechnung der spezifischen Ladungsmenge  $q_{\text{spez}}$  in der Probenvorlage erfolgt demnach über Gleichung 4.1 [INSTITUT FÜR CHEMIE 2011]

$$q_{\text{spez}} = \frac{V \cdot c_{\text{eq}} \cdot 1.000}{w} \quad (4.1)$$

mit  $V$  Volumen des verbrauchten Titrationsmittels bzw. Titrationsvolumen,  
 $c_{\text{eq}}$  Normalität- bzw. Äquivalenzkonzentration des Titrationsmittels,  
 1.000 Umrechnungsfaktor und  
 $w$  Feststoffgehalt der eingesetzten Probe bzw. deren Wirksubstanz.

Die Multiplikation der Stoffmengenkonzentration  $c$  (Konzentration des Elektrolyten) mit der stöchiometrischen Wertigkeit  $z$  des Titrationsmittels ergibt die Äquivalenzkonzentration  $c_{\text{eq}}$  des Titrationsmittels. Feststoffgehalt bzw. Wirksubstanz  $w$  ist die Summe aller ladungstragenden Partikel in der Probe, deren geladene Oberfläche durch das entgegengesetzte Titrationsmittel neutralisiert wurde.

Durch Multiplikation der spezifischen Ladungsmenge  $q_{\text{spez}}$  mit der FARADAY-Konstante  $F$  ergibt sich die Gesamtladungsmenge mit der Einheit Coulomb pro Gramm. So lässt sich weiterhin die Oberflächenladungsdichte  $Q_A$  (in  $\text{C} \cdot \text{m}^{-2}$ ) mittels spezifischer Partikeloberfläche  $A_{\text{spez}}$  in  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  zu

$$Q_A = \frac{q_{\text{spez}} \cdot F}{A_{\text{spez}}} \quad (4.2)$$

berechnen [WOLSKE 1991].

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere gleichartige Proben miteinander verglichen und stets das gleiche Titrationsmittel verwendet. Das Berechnen von Ladungsmenge  $q$  sowie Oberflächenladungsdichte  $Q_A$  war somit nicht erforderlich. Zudem wäre eine Bestimmung des Feststoffgehalts der ladungstragenden Partikel in Bier und Würze sowie deren spezifischer Oberfläche  $A_{\text{spez}}$  aufgrund der heterogenen Zusammensetzung nahezu unmöglich.

Werden alle Proben unter denselben Bedingungen analysiert, dient das Titrationsvolumen  $V$  direkt zur Interpretation. Im Folgenden wird daher auch vom anionischen oder kationischen Bedarf einer Probe gesprochen. Das titrierte Volumen hängt ab von der Partikeloberflächenladung und der Konzentration der Partikel in der Probe.

#### 4.1.2.6 Justieren des Messsignals

Das PLD-Potential hängt, wie in Kapitel 4.1.2.3 beschrieben, im Gegensatz zur Oberflächenladung von sehr vielen Faktoren ab. Deshalb musste ein Verfahren entwickelt werden, das ein Justieren des Messsignals vor jeder Messung ermöglicht. Dazu wurden 10 ml einer Standardlösung in die gereinigte Messzelle des PLD gebracht und das Potential anschließend mit dem Justierkolben, einem Verdrängerkolben mit 0,5 mm Nuttiefe, über die Zeit bestimmt. Nach knapp einer Minute stellte sich ein konstanter Signalwert ein. Dieser wurde über die Software des Geräts auf  $-1.200$  mV gesetzt.

So war die Vergleichbarkeit der ermittelten Potentiale sichergestellt. Als Justierlösung wurde anionisches polyethylensulfonsaures Natrium (PES-Na) verwendet. Alternativ wäre der Einsatz einer kationischen Lösung für das Justieren möglich gewesen. In der vorliegenden Arbeit enthielten jedoch fast alle Proben Partikel mit negativer Oberflächenladung. Die Verwendung eines negativen Justierwerts als festen Vergleichspunkt war daher sinnvoller.

#### 4.1.2.7 Reinigen von Messzelle und -kolben

Neben der Probenvorbereitung spielte die Reinigung der PLD-Messzelle aufgrund ihrer Beeinflussung der Messergebnisqualität eine zentrale Rolle. So können beispielsweise bei mangelhafter Reinigung Schmutzpartikel auf der PTFE-Oberfläche mögliche Wechselwirkungen mit Partikeln der nächsten Probe hervorrufen oder auch selbst einen Beitrag zum Messsignal leisten [MÜLLER 1996].

Eine standardisierte Reinigungs- und Probenvorbereitung, siehe Kapitel 4.1.1, war daher die Grundvoraussetzung, um reproduzierbare Ergebnisse für ein vernünftiges Arbeiten mit einem PLD zu erhalten.

Vor jeder Einzelmessung musste sowohl die Messzelle als auch der Verdrängerkolben nach folgendem Schema gründlich gereinigt werden [AFG 2006]:

1. Messzelle entleeren und mit Wasser ausspülen.
2. Etwas Reinigungslösung in die Messzelle einfüllen und zusammen mit dem Kolben unter Zuhilfenahme einer rostfreien Bürste reinigen.
3. Vollständiges Abspülen der Reinigungslösung mit entsalztem Wasser.
4. Trockenschütteln der Zelle und des Kolbens.
5. Messzelle nur von außen (nicht innen) mit einem Tuch abtrocknen, da sonst (Staub-) Partikel durch das Tuch nachträglich in die Zelle eingetragen werden können.

Das entsalzte Wasser besaß eine durchschnittliche Leitfähigkeit von  $0,35 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  bei  $20^\circ\text{C}$  und wurde mit einer Umkehrosmose-/Wasserenthärtungsanlage des Typs UO 100 combi - RO 500 der FALK GmbH Prozesswasser-Technik, Westerborg hergestellt. Das digitale Leitfähigkeitsmessgerät Control 300 der TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH, Niederelbert half, den Leitwert zu überprüfen.

Die Reinigungslösung sollte auf die Probenmatrix abgestimmt sein. In dieser Arbeit wurde die vom Hersteller entwickelte Reinigungslösung mit einer Mischung aus

- 125 Teilen entsalztem Wasser,
- 50 Teilen Natriumbromid und
- 50 Teilen Aceton

verwendet [AFG 2006].

#### 4.1.2.8 pH-Messung während der Polyelektrolyttitration

Während der Polyelektrolyttitration konnte auch eine pH-Messung durchgeführt werden, um beispielsweise Änderungen des pH-Werts zu bestimmen. Das in Kapitel 4.3.1 beschriebene Sensorelement wurde entsprechend in die Messzelle eingebracht. Abbildung 4.1 zeigte, dass der untere Teil des Elements in der Messzellennut Platz fand und vollständig mit der Probenlösung in Kontakt stand. Während der Titration wurden die Verläufe von Potential und pH-Wert aufgezeichnet. Die Diagrammdarstellung dieser erfolgte über die oben genannte Software.

#### 4.1.2.9 Strömung und Strömungsprofil im Messspalt

Durch die oszillierende Bewegung des Verdrängerkolbens während der Messung wurde eine permanente, sich umkehrende Strömung im Messspalt induziert. Die strömungsmechanische Art des Durchströmens der Probenflüssigkeit im Messspalt hängt von der Strömungsgeschwindigkeit  $v$  und dem Strömungsprofil ab [KESSLER 1996]. Sind Rohr- bzw. Spaltweiten sowie Geschwindigkeiten klein, fließt die Flüssigkeit als laminare Strömung auf parallelen Bahnen. Ihr Geschwindigkeitsprofil gleicht graphisch einer Parabel. An der Wand haftet die Flüssigkeit aufgrund von Adhäsion, die Geschwindigkeit ist Null. Zur Querschnittsmitte hin nimmt die Geschwindigkeit zu und erreicht dort ihr Maximum.

Aufgrund von Querbewegungen treten bei höheren Geschwindigkeiten Wirbel auf. Eine sogenannte turbulente Strömung besitzt eine Geschwindigkeitsverteilung, die einem Kolbenprofil gleicht [KESSLER 1996]. Das Strömungsprofil ist im Gegensatz zur laminaren Strömung flacher. Seine Geschwindigkeitsverteilung hängt von der REYNOLDS-Zahl  $Re$  und der Wandrauigkeit ab [BOHL 1998]. Auch bei turbulenter Strömung haftet die Flüssigkeit an der Wand. So bildet die Geschwindigkeitsverteilung unmittelbar in Wandnähe eine laminare Grenzschicht aus. Zur Wand hin fällt die Geschwindigkeit auf Null ab. Direkt an der Wand herrscht Haftkraftbedingung, die Strömungsgeschwindigkeit ist somit gleich Null.

Ob die Strömung im Messspalt laminar oder turbulent ist, kann über die dimensionslose REYNOLDS-Zahl [KESSLER 1996]

$$Re = \frac{v \cdot d \cdot \rho}{\eta} \quad (4.3)$$

mit Hilfe der mittleren Strömungsgeschwindigkeit  $v$ , dem hydraulischen Durchmesser  $d$ , der Dichte des strömenden Mediums  $\rho$  und seiner dynamischen Viskosität  $\eta$  berechnet werden.

Zunächst muss die mittlere Geschwindigkeit  $v$  durch Volumenstrom  $\dot{V}$  und Strömungsquerschnitt  $A_{\text{Strömung}}$  im Mess- bzw. Ringspalt ermittelt werden. Abbildung 4.8 zeigt Schnitt A durch Messzelle und Verdrängerkolben auf Höhe des Ringspalts. Der Schnittverlauf ist in Abbildung 4.2 gekennzeichnet.

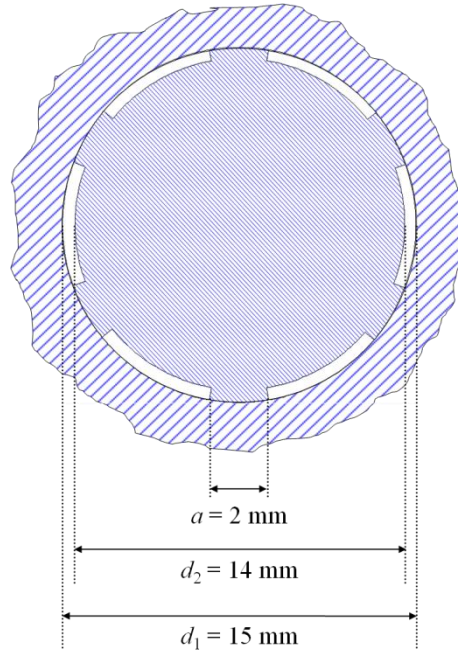


Abbildung 4.8. Technische Zeichnung des Schnitts A aus Abbildung 4.2 durch Messzelle und Verdrängerkolben (Justierkolben mit einer Nuttiefe von 0,5 mm) [eigene Darstellung].

Der Ringspalt entsteht durch sechs Nuten mit einer Breite von jeweils etwa 6 mm, die in den Verdrängerkolben gefräst sind. Der Spalt ist über seinen Umfang an sechs Stellen symmetrisch unterbrochen, die eine Breite von je 2 mm besitzen. Durch die Querschnittsfläche des Ringspalts strömt die Flüssigkeit. Sie ist der Strömungsquerschnitt  $A_{\text{Strömung}}$ . Dieser entspricht dem Flächeninhalt eines Kreisrings abzüglich der sechs Aussparungen.

Der Flächeninhalt des kompletten Kreisrings errechnet sich aus [BRONSTEIN et al. 1999]

$$A_{\text{Kreisring}} = \frac{\pi}{4} (d_1^2 - d_2^2). \quad (4.4)$$

Der Anteil des Kreisrings, durch den keine Flüssigkeit fließen kann, entspricht ungefähr dem Quotienten aus der Summe der Aussparungen und dem mittleren Umfang  $U_m$  des Ringspalts:

$$\frac{\text{Anteil der Aussparungen}}{\text{mittlerer Umfang}} = \frac{6 \cdot 2 \text{ mm}}{U_m} = \frac{12 \text{ mm}}{U_2 + (U_1 - U_2)/2} = \frac{12 \text{ mm}}{\pi \cdot d_2 + (d_1 - d_2)/2} = \frac{12 \text{ mm}}{\pi \cdot 14,5 \text{ mm}} = 26,34 \%. \quad (4.5)$$

Unter Berücksichtigung der Gleichungen 4.4 und 4.5 ergibt sich für den Strömungsquerschnitt  $A_{\text{Strömung}}$ :

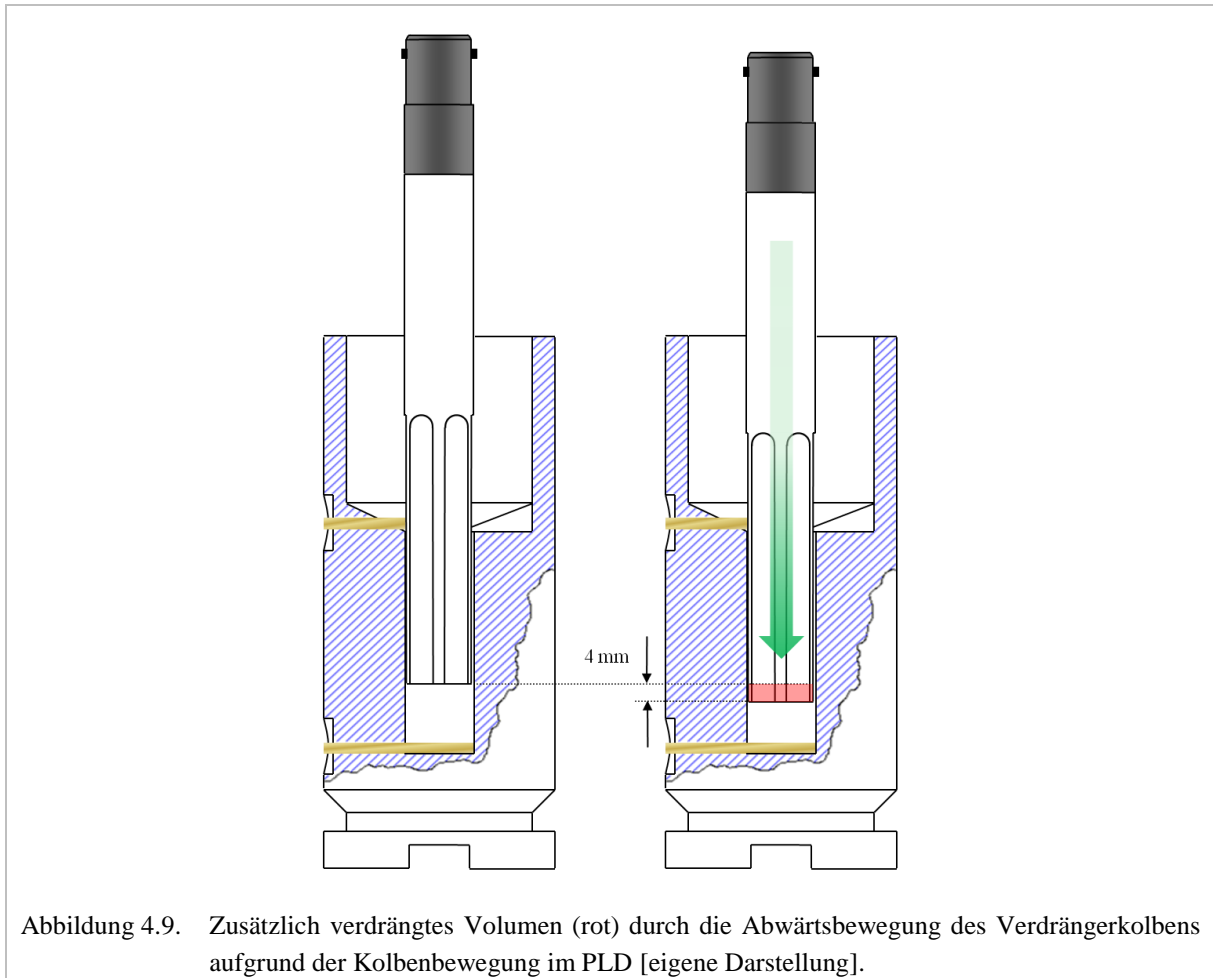
$$A_{\text{Strömung}} = A_{\text{Kreisring}} \cdot (1 - 0,2634) = \frac{\pi}{4} \cdot [(15 \text{ mm})^2 - (14 \text{ mm})^2] \cdot 0,7366 = 16,78 \text{ mm}^2. \quad (4.6)$$

Der Gesamthub des Verdrängerkolbens beträgt 4 mm. Aufgrund seiner Abwärtsbewegung in die Flüssigkeit verdrängt der Kolben das entsprechende Flüssigkeitsvolumen.

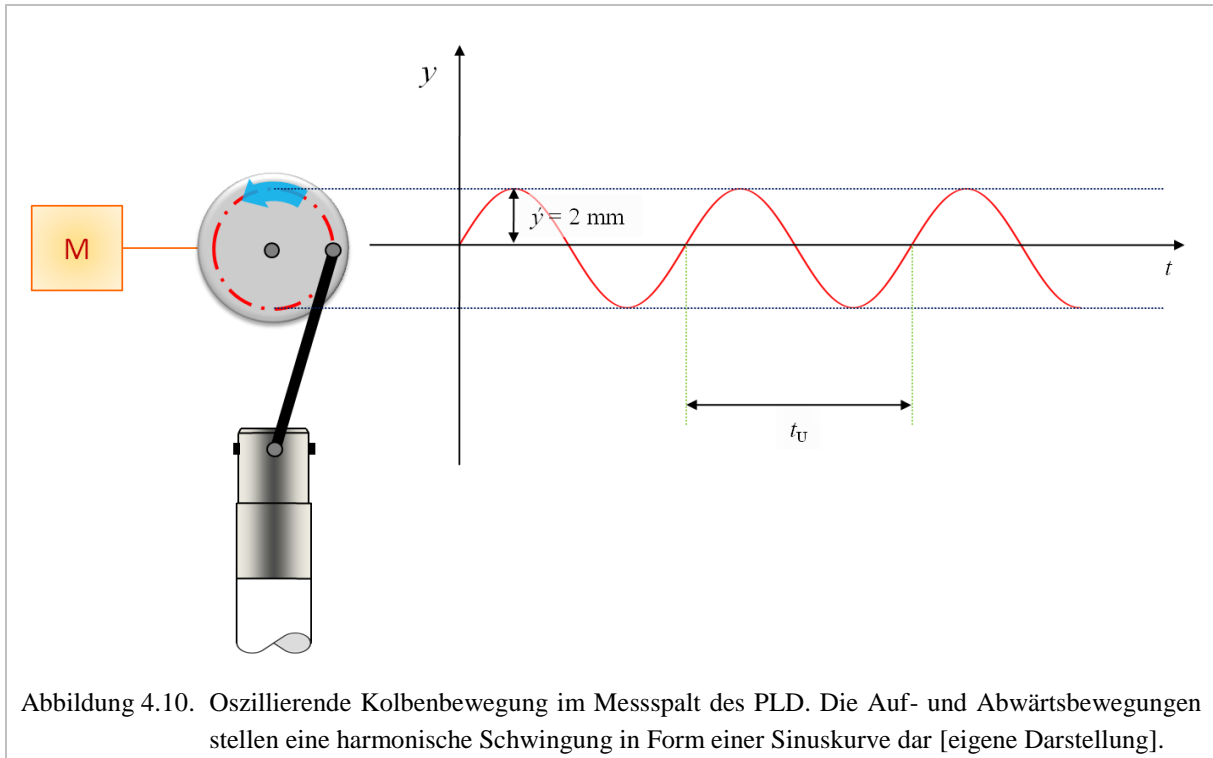
Dieses zusätzliche Kolbenvolumen in der Flüssigkeit ist in Abbildung 4.9 rot dargestellt. Es entspricht dem Flüssigkeitsvolumen  $V_F$ , das vom Kolben verdrängt wird und durch den Strömungsquerschnitt in den oberen Teil der Messzelle fließt.

Dieses Volumen lässt sich mittels Kolbenquerschnitt  $A_{\text{Kolben}}$  und Kolbenhub errechnen aus der Differenz der Gesamtquerschnittsfläche von Bohrung  $A_{\text{B}}$  und dem Strömungsquerschnitt  $A_{\text{Strömung}}$  sowie einem Kolbenhub von 4 mm:

$$V_{\text{F}} = (A_{\text{B}} - A_{\text{Strömung}}) \cdot 4 \text{ mm} = \left(\frac{\pi}{4} \cdot d_1^2 - 16,78 \text{ mm}^2\right) \cdot 4 \text{ mm} = 639,75 \text{ mm}^3. \quad (4.7)$$



Der Kolben bewegt sich mit einer Frequenz von  $f = 3 \text{ Hz}$ . In Abbildung 4.10 sind die Auf- und Abwärtsbewegungen als harmonische Schwingung in Form einer Sinuskurve dargestellt. Der Radius der Kreisbewegung ist gleich der Schwingungsamplitude  $y$ . Die Umlaufzeit  $t_{\text{U}}$  stellt die Periodendauer dar. Eine vollständige Abwärtsbewegung des Kolbens entspricht der doppelten Amplitude und wird in der halben Umlaufzeit  $t_{\text{U}}/2 = 1/6 \text{ s}$  vollzogen.



Innerhalb der Zeit  $t = \frac{1}{6} \text{ s}$  wird das Volumen  $V_F$  verdrängt, so dass sich daraus ein Volumenstrom von

$$\dot{V} = \frac{V_F}{t} = \frac{639,75 \text{ mm}^3}{\frac{1}{6} \text{ s}} = 3.838,51 \text{ mm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \quad (4.8)$$

bzw.  $\dot{V} \approx 13,8$  Liter pro Stunde ergibt.

Mit dem Ergebnis aus Gleichung 4.6 kann die mittlere Geschwindigkeit  $v$  zu

$$v = \frac{\dot{V}}{A_{\text{Strömung}}} = \frac{3.838,51 \text{ mm}^3 \cdot \text{s}^{-1}}{16,78 \text{ mm}^2} = 228,80 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1} \quad (4.9)$$

berechnet werden.

Für nicht kreisförmige Querschnitte wie dem Ringspalt muss gemäß Gleichung 4.3 mit einem gleichwertigen oder hydraulischen Durchmesser gearbeitet werden. Dieser hydraulische oder äquivalente Durchmesser  $d_e$  ist über

$$d_e = \frac{4 \cdot \text{Strömungsquerschnitt}}{\text{umspülter Umfang}} = \frac{4 \cdot A_{\text{Strömung}}}{U_u} \quad (4.10)$$

definiert [KESSLER 1996].

Der umspülte Umfang  $U_U$  setzt sich zusammen aus ungefähr 74 % des Umfangs  $U_1$  mit dem Durchmesser  $d_1$  und etwa 74 % von  $U_2$  mit  $d_2$  sowie 12-mal der Nuttiefe von 0,5 mm zu

$$U_U = 0,7366 \cdot (U_1 + U_2) + 12 \cdot 0,5 \text{ mm} = 0,7366 \cdot \pi \cdot (d_1 + d_2) + 12 \cdot 0,5 \text{ mm} = 73,11 \text{ mm}. \quad (4.11)$$

Aus den Ergebnissen der Gleichungen 4.6 und 4.11 ergibt sich für den hydraulischen Durchmesser nach Gleichung 4.10  $d_e = 0,92 \text{ mm}$ .

Die Normwerte der dynamischen Viskosität für Vollbier, berechnet auf 12 Gew.-% Stammwürze, liegen zwischen 1,62 mPa·s und 2,0 mPa·s. Entsprechende Werte für Würze betragen zwischen 1,72 mPa·s und 2,2 mPa·s [ANGER 2006]. Aufgrund dieser Normwertangaben werden die Berechnungen mit einer gerundeten mittleren Viskosität von 1,9 mPa·s fortgeführt.

Werden nun alle Ergebnisse in Gleichung 4.3 eingesetzt, ergibt sich für die REYNOLDS-Zahl:

$$Re = \frac{v \cdot d_e \cdot \rho}{\eta} = \frac{228,80 \frac{\text{mm}}{\text{s}} \cdot 0,92 \text{ mm} \cdot 1,01 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}}{1,9 \text{ mPa} \cdot \text{s}} = 111,64. \quad (4.12)$$

Gemäß strömungstechnischen Grundlagen wird bei einer REYNOLDS-Zahl  $Re < 2.000$  von einer laminaren Strömung ausgegangen, wobei die kritische Reynoldszahl für glatte Rohre  $Re_{\text{krit}} = 2.320$  beträgt [KESSLER 1996].

Dem Rechenbeispiel zugrunde liegt ein Justierkolben mit einer Nuttiefe von 0,5 mm. Bei der Bierprobenmessung kam allerdings noch ein zweiter Verdrängerkolben mit einer Nuttiefe von 0,2 mm zum Einsatz. Durch die kleinere Nuttiefe war auch der Strömungsquerschnitt niedriger ( $A_{\text{Strömung}} = 6,90 \text{ mm}^2$ ). Damit erhöhten sich Flüssigkeitsvolumen  $V_F$  auf 679,26 mm<sup>3</sup> und Volumenstrom im Messspalt auf  $\dot{V} = 4.075,57 \text{ mm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ . Die mittlere Geschwindigkeit stieg außerdem an ( $v = 590,74 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ) und die REYNOLDS-Zahl besaß nun den Wert 121,39. Trotz des geringeren Messspalts herrschten auch im Falle des Messstempels noch laminare Strömungsbedingungen. Darüber hinaus waren sowohl Messzelle als auch Verdrängerkolben aus PTFE gefertigt, so dass sie sehr glatte Oberflächen, also günstige Gleiteigenschaften aufwiesen.

Anmerkung: Bei der Berechnung der REYNOLDS-Zahl blieb die Tatsache unberücksichtigt, dass sich der Verdrängerkolben entgegengesetzt zur Flüssigkeitsströmung bewegt. Beim Abwärtsbewegen des Messkolbens floss die Flüssigkeit durch den Messspalt nach oben. Während die Oberfläche der Messzelle statisch blieb, bewegte sich die Oberfläche des Kolbens mit einer Geschwindigkeit von  $24 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$  nach unten. Ein Flüssigkeitstropfen nahe der Oberfläche des Justierkolbens bewegte sich beispielsweise mit der mittleren relativen Geschwindigkeit nach Gleichung 4.9 von  $v = 228,80 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$  zur Kolbenoberfläche. Bezogen auf einen festen Punkt der Kolbenoberfläche, besaß der Tropfen dann eine mittlere Relativgeschwindigkeit von  $v' = 228,80 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1} + 24 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1} = 252,80 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ . Dadurch war das Parabelprofil der laminaren Strömung nicht mehr ganz symmetrisch und verzerrte sich etwas zur Kolbenoberfläche hin.

## 4.2 Leitfähigkeitsmessung

Die elektrische Leitfähigkeit wurde nach dem in Kapitel 3.1.2 vorgestellten Messprinzip ermittelt.

### 4.2.1 Leitfähigkeitsmeseinrichtungen

Für die Leitfähigkeitsbestimmung wurden zwei Leitfähigkeitsmeseinrichtungen verwendet, die sich gemäß der obigen Definition in Messumformer und Sensorelement aufteilten. Letzte-

res wiederum bestand aus Elektroden und einer der Messaufgabe angepassten Halteeinrichtung [OESTERLE 1990]. Folgende Modelle dienten zur Messung:

1. Die Standard-Leitfähigkeitsmesszelle TetraCon<sup>®</sup> 325 als Sensorelement in Verbindung mit dem Universal-Taschenmeßgerät Multi 340i als Messumformer der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH, Weilheim und
2. das Sensorelement InLab<sup>®</sup> 731 mit dem Messumformer MPC 227 pH/Conductivity meter von Mettler-Toledo GmbH, Gießen.

Beide Systeme verfügen über Graphitelektroden und einen integrierten Temperaturfühler in Vierleitertechnik. Diese sind nahezu unempfindlich gegen Verschmutzung und weisen einen für Bier und Würze entsprechenden Messbereich auf. Alle technischen Daten sind im Anhang in Tabellen 8.4 bis 8.7 aufgeführt.

#### 4.2.2 Kalibrieren<sup>19</sup> und Reinigen

Zur Überprüfung der Leitfähigkeitsmeseinrichtungen wurde eine wässrige 0,01 n Kaliumchloridlösung als Kontrollstandard für Leitfähigkeitsmesszellen der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH, Weilheim gemäß DIN 38404-5 verwendet [DIN 38404-5 2009].

Aufgrund der chemischen Resistenz von Graphitelektroden war eine Abweichung des Messwerts nur über eine Veränderung der Zellkonstanten durch Verschmutzung möglich. Deshalb wurde eine Reinigung der Zelle mittels entionisiertem Wasser und falls nötig etwas Haushaltsspülmittel durchgeführt.

#### 4.2.3 Temperaturkompensation

Der dargestellte Messwert wurde bei beiden Systemen mit einer Referenztemperatur von 20 °C angezeigt. Obwohl die nichtlineare Funktion (nIF) für natürliche Wässer nach DIN EN 27888 in den verwendeten Messumformern hinterlegt war [DIN EN 27888 1993], blieb sie bei den Messungen unberücksichtigt. Grund dafür war das Thermostatieren aller Proben mittels Wasserbad auf 20 °C.

### 4.3 pH-Messung

Das elektrochemische Messverfahren Potentiometrie, beschrieben in Kapitel 3.2, wurde zur Ermittlung des pH-Werts als  $pH_a$  angewandt.

---

<sup>19</sup>In dieser Arbeit wird unter Kalibrieren der Abgleich eines mit dem Messgerät ermittelten Werts mit dem einer Referenzlösung verstanden.



### 4.3.1 pH-Messeinrichtungen

Als Sensorelement kamen zwei Einstabmessketten unterschiedlicher Hersteller zum Einsatz:

1. pH-Messkette SenTix<sup>®</sup> 41-3 als Sensorelement und das Universal-Taschenmessgerät Multi 340i der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH, Weilheim als Messumformer sowie
2. pH-Messkette als kombiniertes Sensorelement der AFG Analytic GmbH, Leipzig, das eine pH-Wertbestimmung zusammen mit der Polyelektrolyttitration direkt in der Messzelle des PLD erlaubt.

Die Bezugselektroden beider Messketten tauchten in sogenannte Gelelektroden ein, also in ein festes Gel statt einer flüssigen KCl-Lösung. Die technischen Daten der Sensorelemente sind im Anhang in den Tabellen 8.8 und 8.9 aufgelistet.

### 4.3.2 Kalibrier- und Aufbewahrungsmittel

Für das Kalibrieren der pH-Sensorelemente wurden zwei technische Pufferlösungen mit  $pH = 4,01$  sowie  $pH = 7,0$  der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH & Co. KG, Weilheim verwendet. Alle Pufferlösungen sind nach Angaben des Herstellers auf die Vorgaben des National Institute of Standards and Technology (NIST) der Vereinigten Staaten von Amerika und der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB) in Deutschland zurückführbar.

Beide Sensorelemente wurden gemäß DIN 38404-5 in einer wässrigen 3 n Kaliumchloridlösung der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH, Weilheim aufbewahrt [DIN 38404-5 2009].

### 4.3.3 Kalibrieren

Da der zu erwartende pH-Wert von Würze und Bier zwischen  $pH = 4,25$  und  $pH = 5,6$  lag, wurde an jedem Messtag eine 2-Punkt-Kalibrierung mit den oben genannten Pufferlösungen durchgeführt.

### 4.3.4 Temperaturkompensation

Mittels integrierter Temperaturfühler wurde der Einfluss der Temperatur auf die pH-Messung durch eine automatische Temperaturkompensation korrigiert. Die technischen Daten der Temperaturfühler sind im Anhang in Tabellen 8.5, 8.8 und 8.9 aufgeführt.

## 4.4 Partikelgrößenbestimmung

Mit der dynamischen Lichtstreuung lassen sich Partikelgrößen im Bereich von etwa 0,6 nm bis über 6.000 nm bestimmen. Die Methode ist auf Molekül-, Assoziations- und Dispersionskolloide gleichermaßen anwendbar. Durch die Genauigkeit der Bestimmung werden sogar

Größenänderungen im Nanobereich experimentell erfasst. Diese sind beispielsweise bei der Adsorption von grenzflächenaktiven Polyelektrolyten oder Tensiden zu erwarten.

#### 4.4.1 Partikelgrößenmesseinrichtung

In dieser Arbeit kam ein Partikelgrößenanalysator Nanotrak Ultra von Microtrac der Partikel Metrix GmbH, Meerbusch zum Einsatz. Sein Messprinzip basiert auf der dynamischen Lichtstreuung und erlaubt das Messen von Partikeln im Bereich von  $d = 0,8\text{-}6.500$  nm. Als monochromatische Lichtquelle dient ein Diodenlaser mit einer nominalen Leistung von 3 mW und einer Wellenlänge von 780 nm.

Das Streulicht sehr kleiner Partikel wird bei der Detektion häufig durch das erheblich intensivere Streulicht größerer Partikel gestört. Deswegen verfügt das verwendete Partikelgrößenmessgerät über eine Heterodyntechnik. Hier wird die Streustrahlung zur Analyse mit der Primärstrahlung überlagert. Dadurch ergibt sich ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis, welches die Detektion von Kleinstpartikeln mit wenigen Nanometern in Anwesenheit größerer Partikel wiederum verbessert. Die Auswertung erfolgt über die FOURIER-Transformation. Hierbei werden fluktuierende Streulichtanteile in ein frequenzabhängiges „Power Spectrum“ überführt.

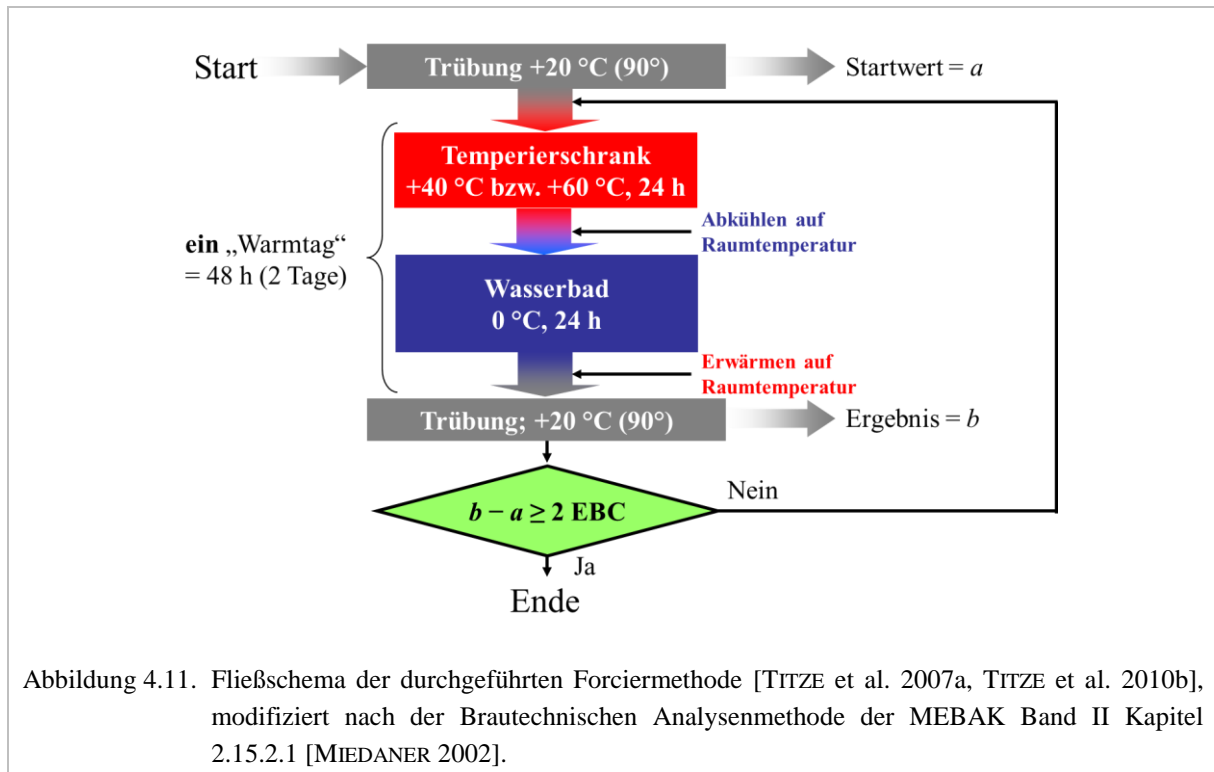
Alle im Medium vorhandenen Teilchen, die einen anderen Brechungsindex haben als Wasser bzw. Würze oder Bier, wurden über das Streulicht miterfasst. Die Intensitäten des Streulichts werden graphisch als Summenverteilung in Abhängigkeit von der Partikelgröße dargestellt.

#### 4.4.2 Ergebnisdarstellung der Partikelgrößenverteilung

Zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilung der Versuchslösungen wurden 20 Einzelmessungen ( $n = 20$ ) mit einer Messzeit von je 30 s direkt hintereinander durchgeführt. Das Ergebnis stellt die arithmetischen Mittelwerte mit den zugehörigen Konfidenzintervallen für  $P = 95$  % dar. Alle Partikelgrößenverteilungen werden als Summenverteilungen der detektierten Streulichtintensitäten wiedergegeben.

#### 4.5 Forciertest

Die Feststellung der voraussichtlichen trübungsfreien Dauer der untersuchten Biere erfolgte durch eine sogenannte Forciermethode. Grundlage bildet der Forciertest der Brautechnischen Analysenmethoden der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK) [MIEDANER 2002]. Hierbei wurden abgefüllte Flaschen filtrierter Biere abwechselnd Temperaturen von 40 °C bei schwach bzw. 60 °C bei stark stabilisierten Bieren und jeweils 0 °C ausgesetzt. Der Vorgang wurde wiederholt, bis die Proben nach der Kältebehandlung eine Trübungszunahme von 2 EBC-Formazineinheiten bzw. eine leichte, sichtbare Opaleszenz aufwiesen [MIEDANER 2002]. Abbildung 4.11 zeigt ein Fließschema der durchgeführten Forciermethode.



Zunächst erfolgte die Bestimmung der Anfangstrübung oder auch des Blindwerts  $a$  des Biers bei einer Temperatur von 20 °C durch eine direkte Messung in der original verschlossenen 0,5 Liter-Bierflasche. Hals-, Bauch- und Rückenetiketten wurden vorher entfernt. Mittels dem Zweiwinkel-Labortrübungsphotometer LabScat der Sigrüst-Photometer AG, Ennetbürgen (Schweiz)<sup>20</sup> erfolgte die Trübungsmessung über eine 90°-Streulichtmessung bei 650 nm Messwellenlänge. Der Trübungsgrad des Biers wurde in EBC-Formazineinheiten gemessen. Die EBC-Skala basiert auf einer Formazin-Standardsuspension.

Anschließend wurde das Bier 24 Stunden in einem Warmschrank, Modell UL 40 der Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach aufbewahrt. Die Temperatur betrug je nach Stabilisierung des Biers 40 °C oder 60 °C. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Probe weitere 24 Stunden in ein 0 °C-Kältebad, KT 5050 der Colora Messtechnik GmbH, Lorch gestellt. Auf die Entnahme aus dem Kältebad und eine Probenerwärmung auf Raumtemperatur folgte das erneute Messen der 90°-Trübung, um den Trübungswert  $b$  zu bestimmen. Dieser wurde nun mit dem Anfangswert  $a$  verglichen. Wenn  $b - a \geq 2$  EBC aufwies, war der Test beendet. Andernfalls wurde die Warm-Kaltbehandlung wiederholt, bis diese Bedingung erfüllt war. Die Multiplikation der ermittelten Haltbarkeit, ausgedrückt in Warmtagen (WT) von 40 °C bzw. 60 °C, mit dem folgenden Umrechnungsfaktor zeigte an, wie lang das Bier beim Konsumenten trübungsfrei bleibt [MIEDANER 2002]:

$$\text{Umrechnungsfaktor} = \frac{\text{Tage der Haltbarkeit bei 20 °C}}{\text{Tage der Haltbarkeit bei 40 °C bzw. 60 °C}} \quad (4.13)$$

<sup>20</sup>Die technischen Daten des Labortrübungsmessgeräts sind im Anhang (Kapitel 8, Tabelle 8.11) zu finden.

Im Zähler der Gleichung 4.13 steht die durchschnittliche Anzahl der Tage, in denen das Bier beim Konsumenten seine Glanzfeinheit behält. Der Nenner bildet die Anzahl der Warmtage.

Die Berechnung der voraussichtlichen Haltbarkeit unter Praxisverhältnissen (Tage) entspricht dem Produkt aus Haltbarkeit in Warmtagen bei 40 °C bzw. 60 °C und Umrechnungsfaktor (Gleichung 4.13).

In der Methodensammlung<sup>21</sup> der MEBAK ist der Abschnitt über die Testausführung etwas missverständlich formuliert. Aus dem Text geht nicht klar hervor, ob die Trübung nach einem Warmtag bei 0 °C oder 20 °C gemessen werden soll. Es heißt lediglich „Trübung wie oben messen“ [MIEDANER 2002]. Zwar ist dort die Messung bei +20 °C beschrieben, deutsche Prüflaboratorien messen aber bei 0 °C.

Im Gegensatz zur gängigen Praxis und der Ausführungsvorschrift der Brautechnischen Analysenmethode der MEBAK wurden die Bierproben in dieser Arbeit nach der Kältebehandlung erst auf 20 °C erwärmt. Anschließend folgte die Trübungsmessung. Dieser Messvorgang lässt sich mit der Kenntnis begründen, dass sich eine Kälte-trübung bei 0 °C durch Erwärmen des Biers wieder auflösen kann. Eine wahrnehmbare Trübung bei 20 °C ist hingegen im Allgemeinen nicht mehr reversibel [NARZISS 2004]. Die Simulation der tatsächlichen Gegebenheiten beim Konsumenten oder im Handel schien daher zweckmäßig, um den Zeitpunkt des Einsetzens der Dauertrübung bei Raumtemperatur zu erfassen. Zwar geht der Vorteil der vergleichbar höheren Kälte-trübungswerte verloren, aber eine Mess-temperatur von 20 °C war im Gegensatz zu 0 °C deutlich einfacher einzuhalten. Die Messergebnisse sind dadurch reproduzierbarer.

Diskussionswürdig bleibt ein weiterer Punkt der Analysenvorschrift der MEBAK: Oben beschriebener Test wird durchgeführt, bis eine Trübungszunahme von 2 EBC erreicht ist. Dies geschieht unabhängig von der Ausgangstrübung  $a$  des Biers. Biere mit einer 90°-Trübung  $\geq 2$  EBC können aber bereits sichtbare Opaleszenz aufweisen. Aus diesem Grund wird neben einer Zunahme von 2 EBC auch die Überschreitung von 2 EBC als Absolutwert während des Forciertests im Ergebnisteil diskutiert.

#### 4.6 Würzekochen

Das Würzekochen im Labormaßstab wurde mit Hilfe einer PILZ<sup>®</sup>-Heizhaube der Serie G/K/U der Winkler GmbH, Heidelberg durchgeführt. Eine geschlossene Kochung mit Rückflusskühler sollte die Verluste durch Verdampfung möglichst gering halten.

#### 4.7 Kurzzeiterhitzen

Mittels Kurzzeiterhitzung (KZE) kann Bier pasteurisiert werden [KUNZE 2011]. Dabei wird das Bier durch einen Wärmeüberträger auf eine bestimmte Temperatur erwärmt, um mögliche

---

<sup>21</sup>Der Originalauszug „Ausführung“ des Kapitels 2.15.2.1 Forciermethode ist im Anhang (Kapitel 8, Abbildung 8.1) abgedruckt.

Mikroorganismen abzutöten. Die Maßeinheit der Pasteurisation ist die Pasteurisationseinheit PE [KUNZE 2011].

Zur Untersuchung des Einflusses der Kurzzeiterhitzung auf die chemisch-physikalische Stabilität von Weizenbieren kamen zwei unterschiedliche Kurzzeiterhitzungsanlagen zum Einsatz. Neben einer Versuchsanlage im Labormaßstab wurden die Erhitzungsversuche auch mit einem konventionellen Kurzzeiterhitzer (Industrieanlage) einer mittelständischen Brauerei nachgefahren. Bei der konventionellen KZE wurden die Bierproben auf 80 °C erhitzt. Durch Ändern des Volumenstroms variierten die Pasteurisationseinheiten zwischen 400 PE, 600 PE und 900 PE.

Im Folgenden wird die Versuchsanlage für die KZE-Versuche im Labormaßstab kurz erläutert.

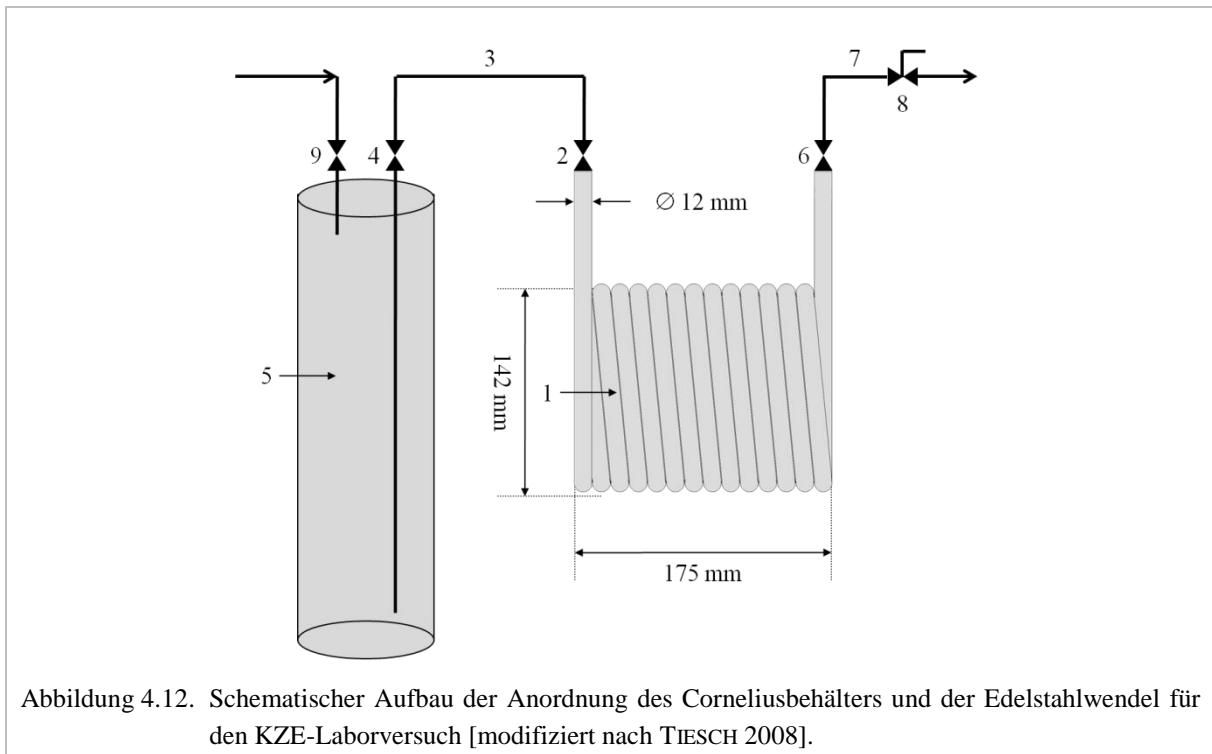
#### 4.7.1 Aufbau der Versuchsanlage

Für den KZE-Versuch im Labormaßstab wurde die Edelstahlwendel einer Schankanlage derart umgebaut, dass sie durch Eintauchen in ein Wasserbad erhitzt und anschließend im Eiswasserbad wieder abgekühlt werden konnte. Dies ermöglichte die Erwärmung von Bieren im Labormaßstab auf unterschiedliche Temperaturen innerhalb definierter Zeiten.

Abbildung 4.12 zeigt die Maße der Edelstahlwendel (1) sowie den schematischen Aufbau für den KZE-Laborversuch. Die Wandstärke der Wendel betrug 1 mm, so dass sich ein Innendurchmesser von 10 mm ergab.

An den Enden der Edelstahlwendel wurden 5/8-Zoll-Gewinde angeschweißt und mit Absperrhähnen (2) und (6), Model SK 184.08 der Micro Matic Dispense Service GmbH, Köln versehen. Der Absperrhahn am Wendeleinlauf (2) war über einen 2 m langen Getränkeschlauch (3) für kohlendioxidhaltige Getränke, Typ Dr. Teichmann, Innendurchmesser  $\varnothing_1 = 7$  mm, der Micro Matic Dispense Service GmbH, Köln und eine Steckkupplung (4), Model NC Pepsi Cola (getränkeseitig) der IMI Cornelius Deutschland GmbH, Langenfeld mit einem 19 l-Corneliusbehälter (5) verbunden. Am Wendelausgang wurde der Hahn (6) über einen 1 m langen Getränkeschlauch (7) mit einem AFG-Kompensationshahn (8), Model CMB-STV der IMI Cornelius Deutschland GmbH, Langenfeld gekoppelt.

Das System konnte nach Befüllen des Corneliusbehälters mit Bier über eine weitere Steckkupplung (9), NC Pepsi Cola der IMI Cornelius Deutschland GmbH, Langenfeld durch Einblasen von CO<sub>2</sub> unter Druck gesetzt werden.

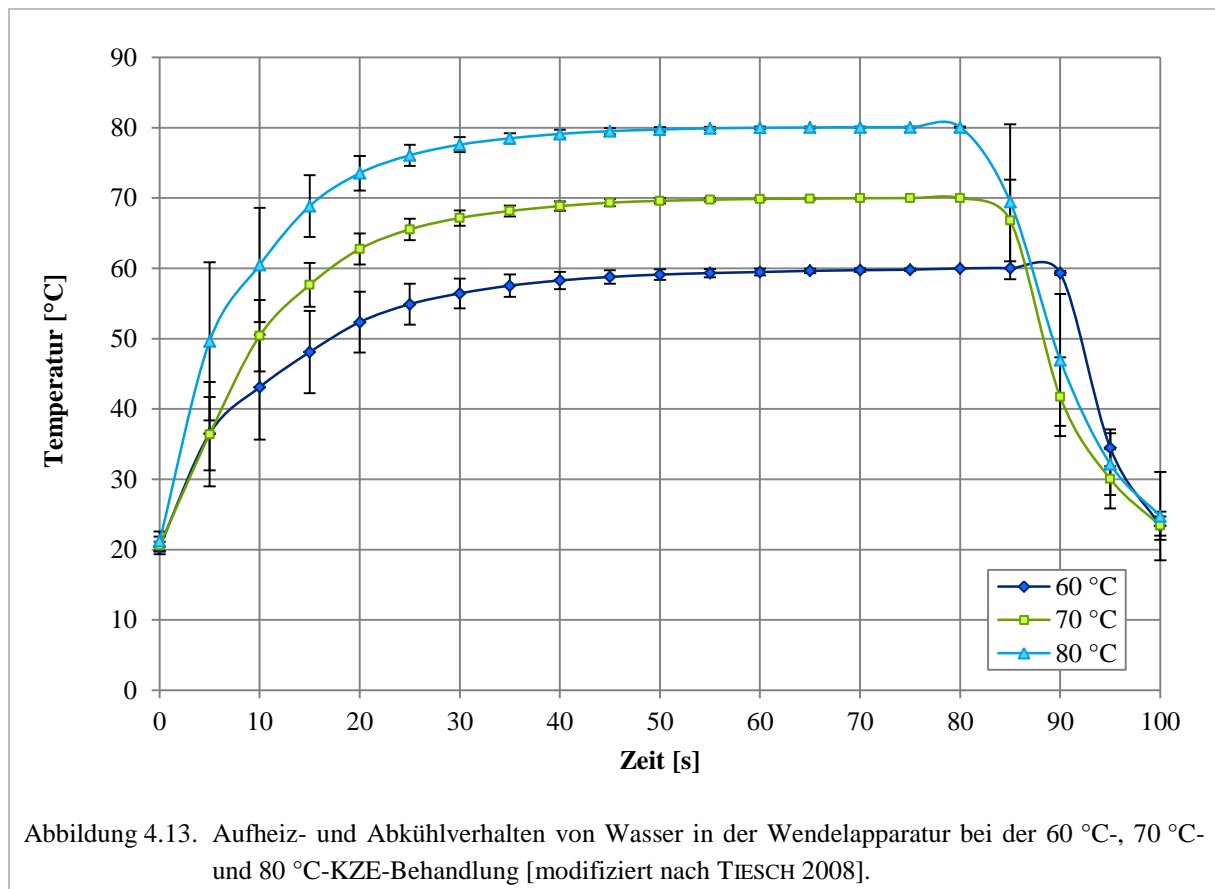


Als Heizbad fand ein 30 l-Wasserbad, Model HAAKE W13 mit Umwälzthermostat HAAKE DC 10 der Thermo Elektron GmbH, Karlsruhe Verwendung. Zum besseren Isolieren und zur Reduktion der Wasserverdunstung wurde die Wasseroberfläche mit Schwimmkugeln aus Polypropylen abgedeckt. Als Kühlbad diente ein 40 l-Kunststoffeimer mit einer Flockeneis-Wasser-Mischung.

#### 4.7.2 Aufheiz- und Abkühlverhalten der Edelstahlwendel

Die Bestimmung des Aufheiz- und Abkühlverhaltens im Inneren der Wendel erfolgte mit dem Multifunktionsmessgerät Model ALMEMO<sup>®</sup> 2390-5 mit Datenlogger-Option und dem Thermoelement NiCr-Ni (K) von der Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH, Holzkirchen. Dafür wurden die Wendel mit Leitungswasser gefüllt und das Thermoelement in die Leitung eingeführt. Um die Messspitze in der Mitte des Leitungsquerschnitts zu fixieren, wurde sie zuvor durch eine 9 mm Schwammkugel, Micro Matic Dispense Service GmbH, Köln gesteckt. Das Aufheiz- und Abkühlverhalten der Wendelflüssigkeit wurde für die Temperaturen 60 °C, 70 °C und 80 °C aufgezeichnet. Vor jeder Messung wurde die Wendel auf Raumtemperatur temperiert. Es folgten acht Aufheiz- und Abkühlmessungen bei je 60 °C, 70 °C und 80 °C. Um ein homogenes Temperaturprofil zu erhalten, wurden jeweils vier Messungen davon am Wendeleingang, die weiteren vier am Wendelausgang durchgeführt. Beim Aufheizen der Wendel sank die Temperatur im Wasserbad leicht ab. Um dies zu kompensieren, wurde das Wasser während der Aufheizphase bis zur gewünschten Temperatur auf 60,5 °C, 71,2 °C und 81,5 °C geheizt. Damit fiel nach dem Aufheizvorgang die Wasserbadtemperatur auf genau 60 °C, 70 °C bzw. 80 °C.

Abbildung 4.13 zeigt das Aufheiz- und Abkühlverhalten von Wasser in der Edelstahlwendel anhand der Temperaturkurven bei einer KZE-Behandlung von 60 °C, 70 °C und 80 °C. Je nach Temperatureinstellung ergeben sich unterschiedliche Aufheiz- und Abkühlzeiten.



Durch den steilen Temperatursturz auf unter 60 °C während den Abkühlphasen konnten die Pasteurisationseinheiten während der Kühlung vernachlässigt werden.

Tabelle 4.1 zeigt die Parameter des KZE-Laborversuchs für die unterschiedlichen KZE-Einstellungen sowie die errechneten Pasteurisationseinheiten.

Tabelle 4.1. Temperaturen und Dauer der Aufheiz- und Heißhaltephase sowie die errechneten Pasteurisationseinheiten des KZE-Laborversuchs für die KZE-Einstellungen 60 °C, 70 °C und 80 °C [TIESCH 2008].

Parameter	60 °C KZE		70 °C KZE		80 °C KZE	
	Aufheizphase	Heißhaltephase	Aufheizphase	Heißhaltephase	Aufheizphase	Heißhaltephase
Temperatur [°C]	60,5	60	71,2	70	81,5	80
Zeit [s]	90	300	70	80	60	20
PE	1	5	20	35	277	318
<b>Gesamtzeit [s]</b>	<b>390</b>		<b>150</b>		<b>80</b>	
<b>Gesamt-PE</b>	<b>6</b>		<b>55</b>		<b>595</b>	

#### 4.8 Bestimmen des noch koagulierbaren Stickstoffs der Würze

In dieser Arbeit war nur der Gesamtproteingehalt der Würze relevant. Dazu fand die 3.1.4.5.2.1 Methode KJELDAHL (EBC-Methode) gemäß der Brautechnischen Analysemethoden der MEBAK Anwendung [MIEDANER 2002].

#### 4.9 Probematerial

Hinsichtlich des Probenmaterials wurde auf die Verwendung konventioneller, gängiger Rohstoffe und Biere (Standardprodukte) geachtet. Somit wurde eine gute Vergleichbarkeit mit der Mehrheit von Alternativprodukten gewährleistet.

##### 4.9.1 Bier

Alle verwendeten Bierproben waren herkömmliche, konventionelle Biere verschiedener Sorten aus unterschiedlichen Brauereien in Deutschland und Mitteleuropa, die nach dem Deutschen Reinheitsgebot gebraut wurden.

##### 4.9.2 Reinstwasser

Das unter Punkt 4.1.2.7 produzierte, entsalzte Wasser diente ausschließlich zu Reinigungszwecken. Zur Herstellung von salzfreiem, organisch reinem, partikelfreiem und steril filtriertem Reinstwasser wurde das Reinstwassersystem GenPure UV-TOC der TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH, Niederelbert verwendet. Das Reinstwasser wurde zum Verdünnen oder als Lösungsmittel eingesetzt und besaß eine Leitfähigkeit von  $0,055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  bei  $20^\circ\text{C}$  sowie einen Partikelgehalt ( $>0,22 \mu\text{m}$ ) von  $<1 \text{ ml}^{-1}$  [TKA 2007].

##### 4.9.3 Standardwürze

Als standardisierte Würze wurde das Würzegranat GM 70 der GranMalt AG, Freising verwendet, das mit Reinstwasser, beschrieben in Kapitel 4.9.2, auf unterschiedliche Extraktgehalte eingestellt werden konnte. Das Granulat bestand zu 70 % aus Malz und zu 30 % aus sonstigem Stärketräger.

Zur Würzeherstellung wurde die entsprechende Granulatmenge eines gewünschten Extraktgehalts in einen 1 Liter-Messkolben gegeben und dieser anschließend mit Reinstwasser bis zur Eichmarke gefüllt. Tabelle 4.2 gibt Auskunft über die Einwaagemengen pro Liter für unterschiedliche Extraktgehalte.



Tabelle 4.2. Würzgranulatkonzentration in  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  zum Einstellen einer gewünschten Extraktkonzentration [eigene Messungen].

Extraktkonzentration [Gew.-%]	Würzgranulatkonzentration [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]
2	21,349
4	42,699
6	64,048
8	85,397
10	106,747
12	128,096
14	149,441
16	170,794
18	192,144
20	213,493

Eine eingewogene Malzgranulatmenge von etwa 128 g, die in 1.000 ml Reinstwasser gelöst wurde, temperiert auf 20 °C, entsprach einem Stammwürzegehalt von 12 Gew.-%. Nach Mischen von Granulat und Wasser wurde die Lösung etwa 10 Minuten mittels Magnetrührer homogenisiert. Anschließend folgte die Analyse der Würze nach Temperieren.

Tabelle 4.3 zeigt die analytischen Daten der verwendeten Standardwürze bei einem Extraktgehalt von 11,75 Gew.-%.

Tabelle 4.3. Analysenwerte einer 11,75 %igen Würze nach den Analysenmethoden MEBAK, EBC sowie LUSTIG und FORSTER [eigene Messungen, Methoden nach: LUSTIG 1994, FORSTER 1996, PFENNINGER 1996, EBC 1998, MIEDANER 2002].

Parameter	Wert	Einheit	Methode(n)
scheinbarer Extrakt	11,75	Gew.-%	MEBAK II 2.10.3/A-EBC 8.3
spezifisches Gewicht ( $S_L$ 20/20)	1,04734	-	MEBAK II 2.10.2.3/A-EBC 8.2.2
pH	5,70	-	MEBAK Rohstoffe 3.1.4.2.7/A-EBC 4.18
Chlorid	85,6	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2
Nitrat	6,5	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2
Hydrogenphosphat	671,0	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2
Sulfat	145	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2
Dimethylsulfid (frei)	322	µg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 1.3
Dimethylsulfid (Precursor)	164	µg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 1.3
Oxalsäure	20,1	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2 (1996)
Oxalat	19,6	mg·l <sup>-1</sup>	MEBAK III 3.10.2 (1996)*
Calcium	10,4	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Magnesium	47,1	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Kalium	352	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Natrium	109	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Eisen	0,17	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Zink	0,13	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Kupfer	0,05	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Mangan	0,07	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
Aluminium	0,02	mg·l <sup>-1</sup>	DIN EN ISO 11885 E22
2-Methylbutanal	667	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
3-Methylbutanal	850	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
Benzaldehyd	<1	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
2-Furfural	167	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
Hexanal	6	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
2-Phenylethanal	126	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
2-Phenylethanol	60	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]
Gamma-Nonalacton	9	µg·l <sup>-1</sup>	[LUSTIG 1994, FORSTER 1996]

\* Wert wurde stöchiometrisch umgerechnet.

#### 4.9.4 Hopfen

Die Würze wurde mit der Hopfensorte Hallertauer Tradition Typ 45 der Simon H. Steiner Hopfen GmbH, Meinburg gehopft. Der Hopfen entstammte der Ernte 2006 und besaß einen  $\alpha$ -Säuregehalt von 8,1 %. Konzentrierte Hopfenpellets Typ 45 sind in ihrer Zusammensetzung mit Hopfendolden vergleichbar und wurden der Würze direkt beim Kochen zugegeben.

Die Bestimmung der Bittereinheiten der Würze nach Isomerisation beim Kochen erfolgte mit der nasschemischen Methode 9.8 der Analytica-EBC der European Brewery Convention [EBC 1998].

#### 4.9.5 Molkenproteine

Als Molkenprotein diente das eiweißangereicherte Molkenproteinpulver Bayolan P50 der Bayerischen Milchindustrie eG, Landshut. Das Molkenproteinpulver wurde aus Süßmolke hergestellt. Das mittels Ultrafiltration gewonnene Retentat wurde durch Mischen mit Süßmolke auf einen Eiweißgehalt eingestellt, aufkonzentriert, erhitzt und nach Kristallisieren sprühgetrocknet.

Das Molkenproteinkonzentrat hatte einen Eiweißgehalt von 50,0 % (48,0-52,0 %) mit 29,0 % bis 34,0 % Lactose-Monohydrat, maximal 7,5 % Asche, max. 7,0 % Fett und einem Wassergehalt von max. 5,0 %. Der pH-Wert einer 1:10 Molkenproteinkonzentrat-Lösung mit entsalztem Wasser liegt bei 6,1 bis 6,5.

#### 4.10 Statistische Ergebnisbewertung

Für die Ergebnisbewertung kamen statistische Verfahren zum Einsatz, wie sie in klassischen analytischen Laboratorien üblich sind.

##### 4.10.1 Korrelationsberechnung zwischen PLD und Referenzanalytik

In dieser Arbeit wurden die Ergebnisse des PLD-Messsystems unter dem Aspekt der Korrelation mittels Linearitätstest statistisch betrachtet. Bestehende, durch Ringversuche abgesicherte und evaluierte Standardmethoden der Brau- und Lebensmittelanalytik bildeten hierzu die Grundlage. Die Prüfung zur Akzeptanz der Linearität erfolgte über das Bestimmtheitsmaß  $R^2$ . Dieses ergibt sich rechnerisch aus dem Quadrat des Korrelationskoeffizienten [GOTTWALD 2000]. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  gibt dabei an, wie das Variablenpaar aus dem Messwert des PLD und der Referenzanalytik miteinander verknüpft ist bzw. korreliert. Nimmt das Bestimmtheitsmaß Werte nahe  $R^2 = 1$  an, so besteht ein wahrscheinlicher Zusammenhang zwischen den Messergebnissen des PLD und der Referenz.

##### 4.10.2 Interpretation der Einzelergebnisse

Alle Ergebnisse dieser Arbeit wurden unter folgenden Annahmen interpretiert:

1. Das Messergebnis als Mittelwert einer Mehrfachmessung ist der beste Schätzwert für den zugehörigen Wert der Messgröße.
2. Der Bereich des Mittelwerts  $\pm$  seiner Unsicherheit sollte einen großen Anteil der Werteverteilung umfassen, die der Messgröße sinnvoll zugeordnet werden konnten.

Die Messunsicherheit wurde als Vertrauensbereich mit Hilfe der  $t$ -Verteilung nach W. S. GOSSET ermittelt [GOSSET 1908], da es sich im Allgemeinen um die Vertrauensgrenzen für den Mittelwert bei unbekannter Streuung handelte.

Die Messunsicherheit ergibt sich aus der empirischen Standardabweichung  $s$  von der Anzahl  $n$  an Probenmessung und deren arithmetischem Stichprobenmittelwert  $\bar{x}$  gemäß DIN ISO 5725 auf einem Signifikanzniveau mit einer Wahrscheinlichkeit von  $P = 95\%$  [DIN ISO 5725 1981]:

$$\bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} . \quad (4.14)$$

Durch analytische Verfahren gewonnene Daten sind im Allgemeinen normalverteilt. Trotzdem wurden die Messwertabweichungen zusätzlich auf ihre Normalverteilung (GAUßSCHE Verteilung) mit dem Schnelltest nach DAVID et al. [DAVID et al. 1954] oder dem Chi-Quadrat-Test geprüft [BRONSTEIN et al. 1999].

#### 4.10.3 Bestimmen der Präzisionsmaße

Die PLD-Methode in der Applikation zum Messen von Bier und Würze fand bislang nur im Rahmen dieser Arbeit Anwendung. So konnten zur Beurteilung der Qualität des Messverfahrens lediglich die Präzisionsmaße Wiederholstandardabweichung  $s_r$  und Wiederholbarkeit  $r$  nach DIN ISO 5725 [DIN ISO 5725 1981] bestimmt werden. Die Bestimmung der Vergleichsstandardabweichung  $s_R$  und der Vergleichbarkeit  $R$  ist erst dann sinnvoll, wenn auch andere Laboratorien mit der beschriebenen PLD-Messtechnik und Applikation arbeiten sowie an einem gemeinsamen Ringversuch teilnehmen.

#### 4.11 Versuchsablauf

Insgesamt teilt sich der Versuchsablauf in vier Abschnitte:

1. Im ersten Teil werden durch experimentelle Untersuchungen die Einflussgrößen auf Partikeloberflächenpotential und -ladung ermittelt und die Präzision des Messverfahrens statistisch beurteilt.
2. Danach werden unterschiedliche Biere im frischen und gealterten Zustand auf ihre Veränderung der physikalisch-chemischen Langzeitstabilität hin untersucht.
3. Der Vorgang der Bieralterung und dessen Theorie wird im dritten Teil mit Hilfe von standardisierter Würze und dem Einsatz von Molkenproteinkonzentrat plausibilisiert.
4. Im letzten Abschnitt werden unterschiedliche Anwendungen der Ladungstitrationsmethode im Rahmen der Partikelanalytik in der Brau- und Getränkeindustrie vorgestellt.

Für ein besseres Verständnis beim Lesen wird in diesem Kapitel auf eine genaue Beschreibung der jeweiligen Versuchsabläufe verzichtet und auf die detaillierten Versuchsdarstellungen im direkten Zusammenhang mit den Ergebnissen in Kapitel 5 verwiesen.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Einflüsse auf die Signalauswirkung und die Präzision der Ergebnisse

Die in Kapitel 2.7 beschriebene elektrokinetische Erscheinung Strömungspotential lässt sich methodisch bzw. messtechnisch gemäß Ausführungen in Kapitel 4.1 durch den Partikel-ladungsdetektor PLD umsetzen.

Wie in Kapitel 4.1.2.4 beschrieben, konnten die Partikeloberflächenladungen in dieser Arbeit mit geeigneten Polyelektrolytlösungen durch Titration bestimmt werden. Sowohl die Temperatur als auch die Wahl des Titrationsmittels haben Einfluss auf die Bestimmung probenspezifischer Ladungsmengen. Titrationsmittel können unter bestimmten Voraussetzungen, wie in Kapitel 4.1.2.5 ausgeführt, zur Ermittlung der spezifischen Oberflächen-ladungsdichte dienen.

Neben der Partikeloberflächenladung wurde auch das Potential gemessen. Die Höhe des Messsignals hängt einerseits von den Proben- und Umgebungsparametern ab. Andererseits beeinflussen insbesondere die Strömungsverhältnisse im Messspalt die Potentialausgabe. Von den in Kapitel 4.1.2.3 genannten Einflüssen kamen für eine gezielte Untersuchung die Messgrößen Temperatur, Leitfähigkeit und pH-Wert der Probe in Frage<sup>22</sup>. Andere Einflüsse wie Geometrie der Messzelle oder Frequenz des Verdrängerkolbens konnten nicht variiert werden und waren damit ohnehin messtechnisch vorgegeben. Daher wurden die wichtigsten Einflussgrößen auf ihre Signalauswirkung hin untersucht.

Sowohl Oberflächenpotential als auch das titrierte Volumen zum Bestimmen der Partikel-oberflächenladung wurden durch Wiederholmessungen auf ihre Präzision hin evaluiert.

#### 5.1.1 Temperatureinfluss auf das titrierte Volumen

Mit dem Partikelladungsdetektor PLD war es möglich, die Partikeloberflächenladung mittels Titration zu bestimmen und diese in Abhängigkeit des eingesetzten Titrationsmittels in volumen- oder massenspezifische Ladungsmengen umzurechnen. Dazu wurde eine exakte Bestimmung der Titrationsmenge vorausgesetzt. Mit Hilfe einer präzisen Schlauchpumpe wurden die jeweiligen Titrationsmengen dosiert und der Wert zur Auswertung an die Elektronik der Messeinheit des PLD weitergeleitet.

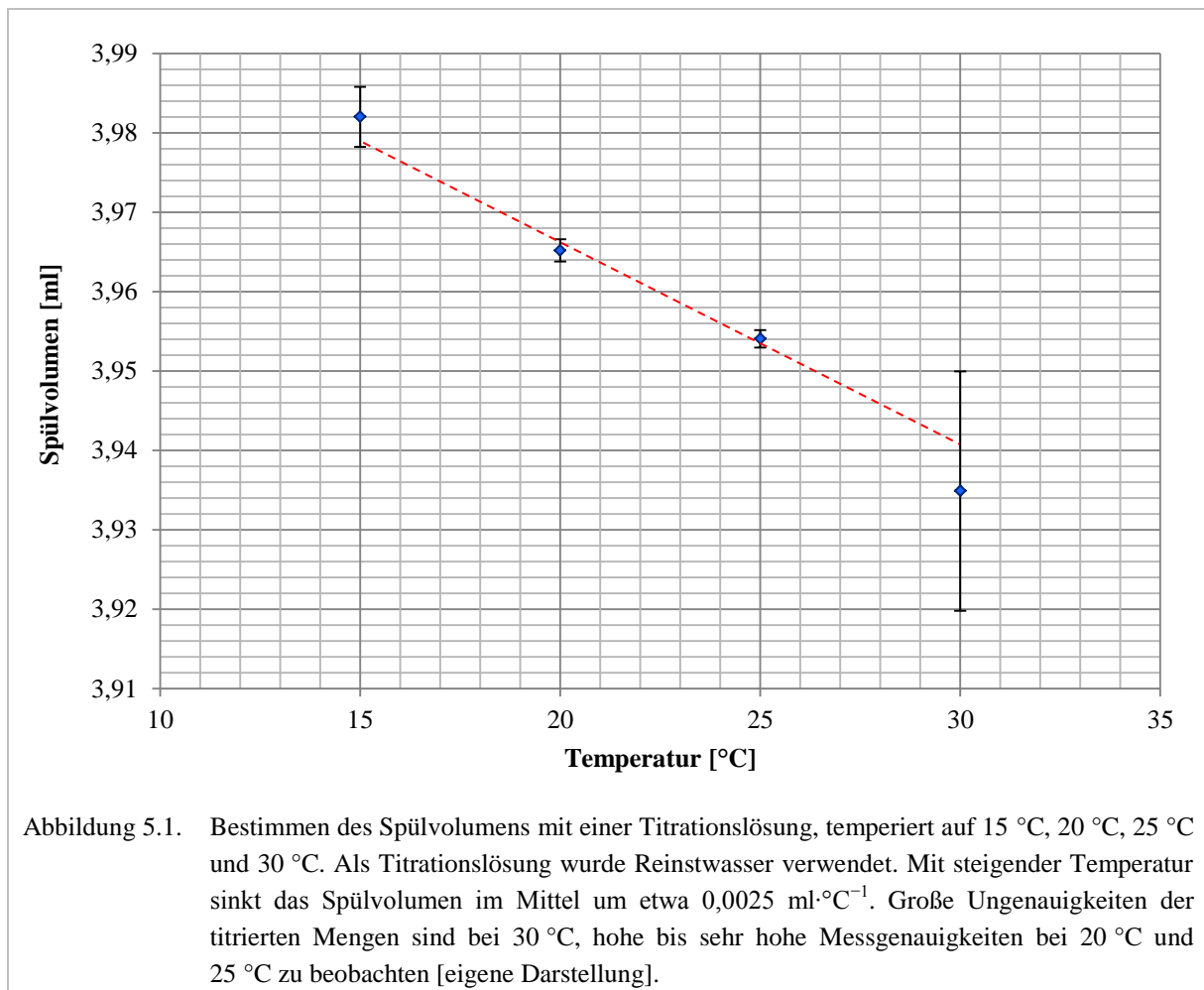
Da geräteseitig keine Temperaturbestimmung der Titrationslösung stattfand, wurde zunächst der Einfluss der Titrationslösungstemperatur auf die tatsächlich titrierten Mengen geprüft. Als Spül- und Titrationslösung diente hierzu Reinstwasser nach Maßgabe von Kapitel 4.9.2. Die Lösung entsprach unter Normaldruck bei einem Volumen von 1 ml und einer Temperatur von 20 °C einer Masse von 0,9982 mg [GERTHSEN und VOGEL 1999].

---

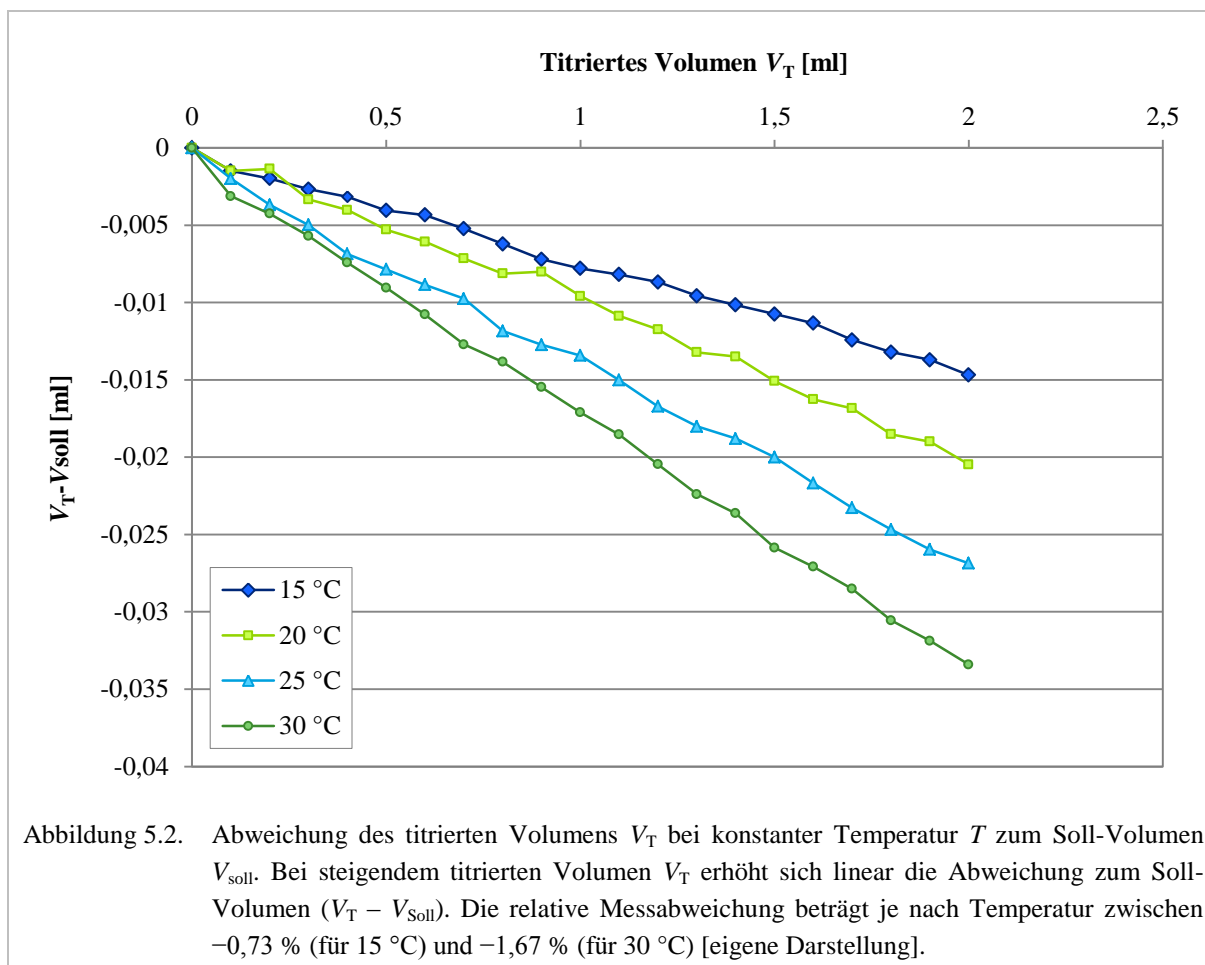
<sup>22</sup>Der Parameter Viskosität bleibt unberücksichtigt, da übliche Werte für Bier im Mittel 1,6 mPa·s betragen [VLB 2008] und damit weit unter dem für Standardmesszelle und -kolben angegebenen Grenzwert von 300 mPa·s lagen [AFG 2006].

Mit Hilfe eines Spülmodus im PLD konnte ein voreingestelltes Soll-Volumen  $V_{\text{Soll}}$  von 4 ml titriert werden. Die mittels Wasserbad temperierte Spüllösung wurde über einen Schlauch mit Hilfe der Dosierpumpe angesaugt und nicht in die Messzelle, sondern direkt auf eine Waagschale dosiert. Mittels Analysenwaage ließ sich die Masse der Spüllösung bestimmen und über die Dichte von Wasser in das tatsächliche Spülvolumen umrechnen.

In Abbildung 5.1 sind die Spülvolumina bei vier unterschiedlichen Temperaturen aufgetragen. Pro Grad Temperaturerhöhung sinkt das tatsächliche Spülvolumen im Mittel zwischen 0,002 ml und 0,003 ml. Bei 20 °C und 25 °C wurde die beste Wiederholbarkeit der Spülvolumina erhalten (kleine Konfidenzintervalle).



Im nächsten Schritt wurde geprüft, ob die festgestellten Messabweichungen in Abhängigkeit der Temperatur zufällig sind oder sich linear zum titrierten Volumen verhalten. In 0,01 ml-Schritten wurde Wasser titriert, dessen Masse bestimmt und abhängig von der Temperatur in sein titriertes Volumen umgerechnet. Abbildung 5.2 zeigt die Abweichung des titrierten Volumens  $V_T$  bei einer konstanten Temperatur  $T$  zum Soll-Volumen  $V_{\text{Soll}}$ . Aus der Abbildung wird deutlich, dass die Messwertabweichungen linear mit dem Anstieg des titrierten Volumens zunehmen. Für ein titriertes Volumen mit einer Temperatur von 20 °C liegt die relative Abweichung bei etwa  $-1 \%$ .



Obwohl die Messfehler bei niedrigeren Temperaturen geringer ausfielen, erschien aufgrund praktischer Überlegungen und der Erkenntnis aus Abbildung 5.1 ein Temperieren der Titrationslösung auf  $20\text{ °C}$  sinnvoll. Zum einen existierte nahezu in jedem Labor ein  $20\text{ °C}$ -Wasserbad und zum anderen war ein Messfehler von  $-1\%$  durchaus vertretbar.

Inerhalb einer Messreihe wurden alle Analysen nur mit einem Gerätetyp (PLD) durchgeführt und das titrierte Volumen nicht auf seine volumen- oder massen-spezifische Ladungsmenge umgerechnet, siehe Kapitel 4.1.2.5. Deshalb wurde auf eine (mess-)systemseitige Korrektur der Abweichung des Titrationsvolumens verzichtet.

### 5.1.2 Einsatz von Polyelektrolytlösungen als Titrationsmittel

Die in Kapitel 4.1.2.4 beschriebene Polyelektrolyttitration hat die Bestimmung der proben-spezifischen Ladungsmengen zum Messziel (PLD-Endpunktdetektion). Der Vorgang basiert auf dem Prinzip der Partikeloberflächentitration auf Ladungsneutralität. Das wesentliche Messergebnis zeigt den Verbrauch an entgegengesetzt geladenem, standardisierten Titrationsreagenz (Polyelektrolytlösung)<sup>23</sup>.

<sup>23</sup>Gemeint sind die Makroionen mit ihren ladungstragenden Gruppen in der Polyelektrolytlösung. Die Gesamtmenge an titriertem Volumen als eine neutrale Lösung ist aber immer die Summe aus Makroionen und Gegenionen.

Hierzu wird vorausgesetzt, dass die Polyelektrolytlösung stöchiometrisch 1:1 mit den Ladungen der Partikel in der Probe reagiert [MÜLLER 1996]. Diese Überlegung basiert auf der Bildung von 1:1-Ladungskomplexen geladener Polymere bei Kontrolltitration. Das Ausbilden eines Ladungskomplexes wird als Symplexbildung bezeichnet [MÜLLER 1996]. Somit ist die Symplexbildung zwischen Polykation oder Polyanion und Kolloidpartikel die Grundlage der Polyelektrolyttitration. Im Zuge einer Konzentrationsreihe wurde mittels entgegengesetzter Polyelektrolytlösungen die Ladungsneutralisation über eine Symplexbildung im PLD von MÜLLER nachgewiesen [MÜLLER 1996].

Zum besseren Verständnis der nachfolgenden Diskussion muss folgender Detailspekt theoretisch betrachtet werden: Die Struktur der gebildeten Symplexe kann durch die zwei in Abbildung 5.3 dargestellten Grenzstrukturmodelle beschrieben werden, der Leiterstruktur (A) und der Röhrestruktur (B).

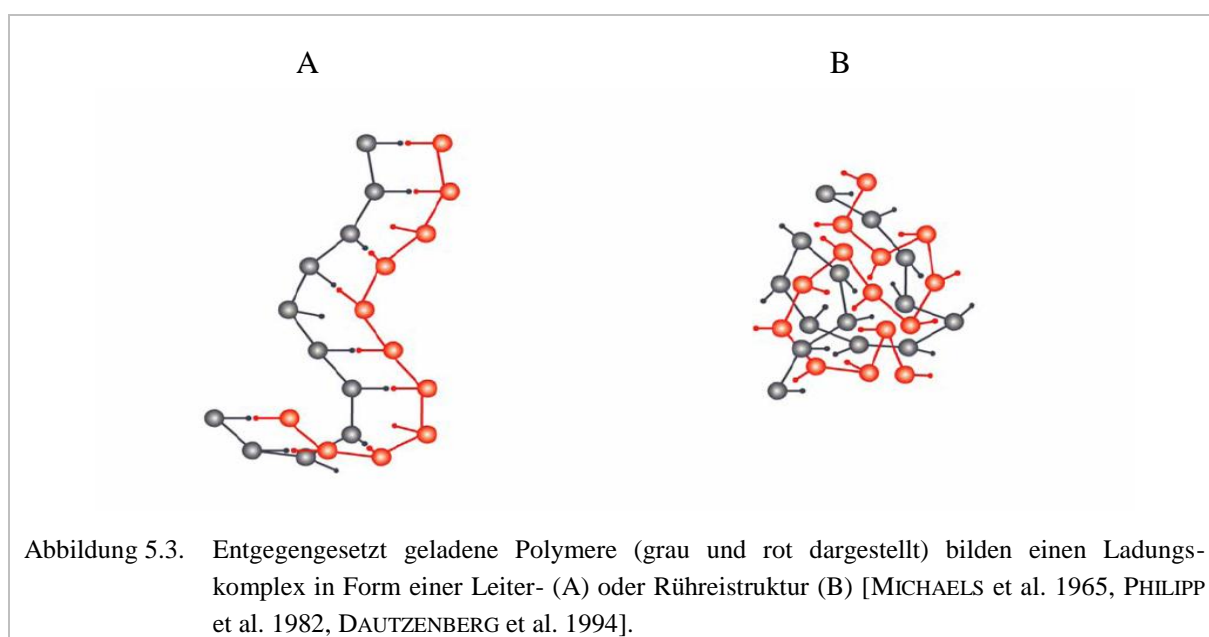


Abbildung 5.4 stellt schematisch den Vorgang der Symplexbildung dar. Die Wechselwirkungen sind im Allgemeinen COULOMBSCHER Natur, also ionisch. Dies wird bestätigt, indem die Symplexbildung bei hohen Ionenstärken ( $>1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) nicht gegeben ist [MÜLLER 1996]. In Abbildung 5.4 wird das Grenzmodell der Leiterstruktur aus Abbildung 5.3 A gezeigt. Dieses erscheint gegenüber dem Röhremodell wahrscheinlicher, da sich der Polyelektrolyt durch gleich geladene Gruppen an seiner Oberfläche kettenähnlich strecken kann. Grundsätzlich sollten Titrationsstandards kettenförmig, möglichst unverzweigt und hinsichtlich ihrer Molmassen eng verteilt sein [MÜLLER 1996].



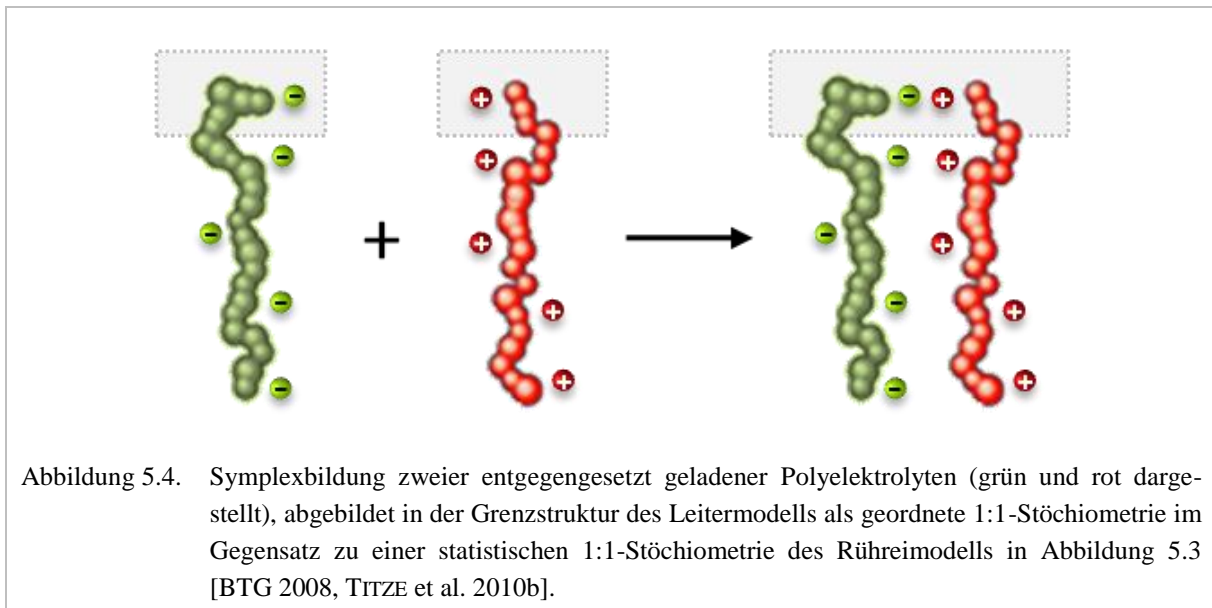


Abbildung 5.5 zeigt drei Titrationen (Dreifachbestimmung) von 0,001 n Poly-DADMAC in einer Probenlösung mit entgegengesetzt geladenen 0,001 n PES-Na. Das Probenvolumen der auf 20 °C temperierten PES-Na-Lösung entsprach genau 10,0 ml. Das gemessene Anfangspotential von  $-1.200$  mV verwies durch sein Vorzeichen auf die negativ geladene Oberfläche der Makroionen des PES-Na. Die Polyanionen bilden in wässriger Lösung eine elektrische Doppelschicht aus. Die Gegenionenwolke wurde durch die Strömung im PLD bei solchen Polyanionen verschoben, die an der PTFE-Oberfläche von Messzelle und Verdrängerkolben adsorptiv fixiert waren. Dank der Ladungstrennung bewirkten diese Partikel die Ausbildung eines messbaren Potentials. Frei bewegliche Polyanionen trugen aufgrund ihrer Mobilität nicht zum Messsignal bei.

Trotz kontinuierlicher Zugabe des entgegengesetzt geladenen Poly-DADMAC bildete sich zunächst ein stabiles Plateau aus. Dieses mündete bei einem titrierten Volumen zwischen 6 ml bis 8 ml in einen steilen Abfall des Potentials. Letzteres erreichte bei knapp 10 ml den Wert Null. Das ausgeprägte Potentialniveau belegt, dass frei bewegliche PES-Na-Moleküle in der Probenlösung im Überschuss vorliegen mussten. Grund hierfür ist eine Sättigung der kinetisch ungehinderten Moleküle durch Symplexbildung mit dem zutitrierten Poly-DADMAC. Aufgrund ihrer Beweglichkeit waren die freien Moleküle für das Titrationsmittel besser zugänglich. Erst nach Absättigung erfolgte die Symplexbildung mit den immobilisierten Molekülen. Dabei fiel das Potential exponentiell ab, bis es ungefähr bei einem titrierten Volumen von 10 ml den Äquivalenz- bzw. Nullpunkt erreichte.

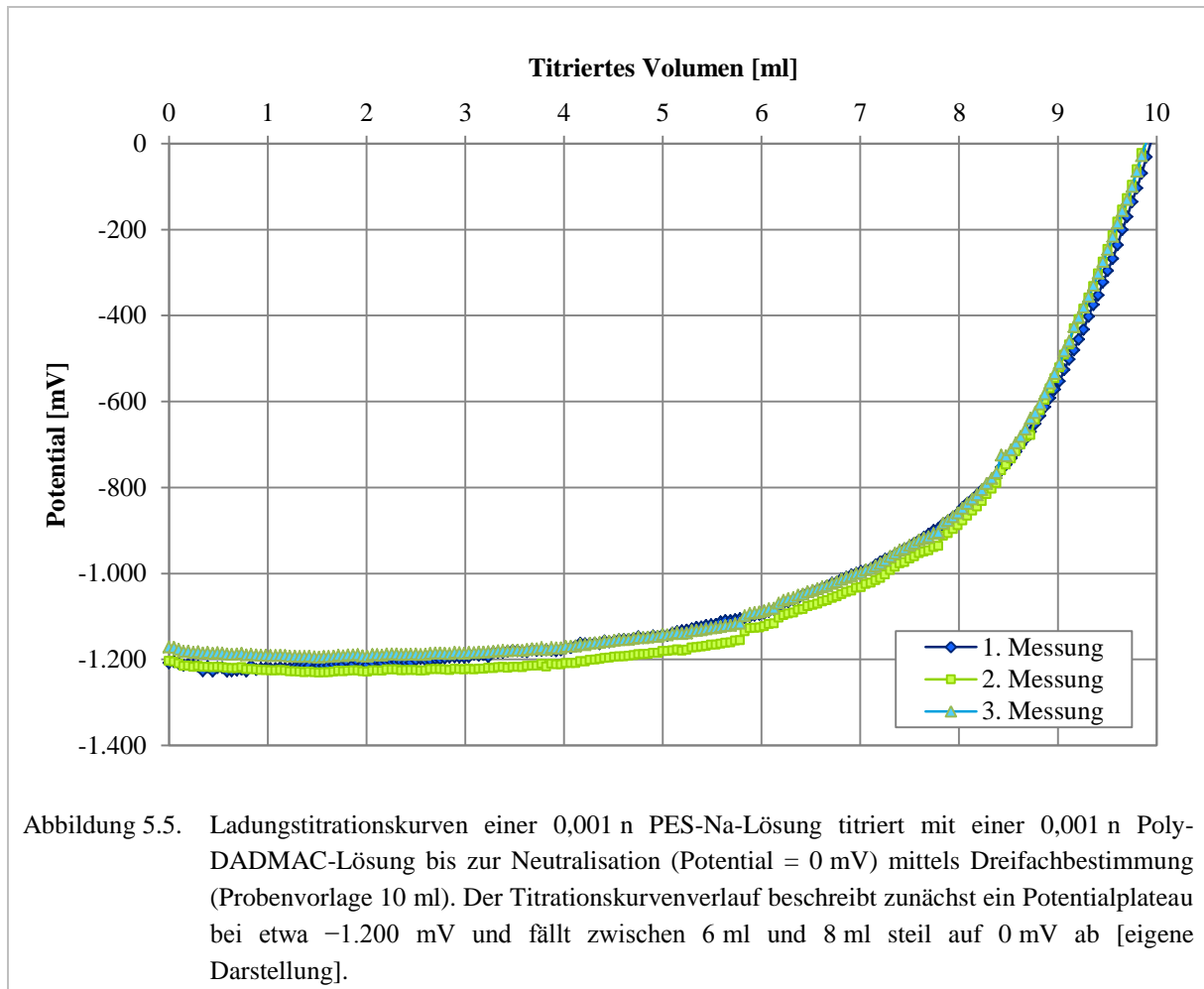


Abbildung 5.5. Ladungstitrationskurven einer 0,001 n PES-Na-Lösung titriert mit einer 0,001 n Poly-DADMAC-Lösung bis zur Neutralisation (Potential = 0 mV) mittels Dreifachbestimmung (Probenvorlage 10 ml). Der Titrationskurvenverlauf beschreibt zunächst ein Potentialplateau bei etwa -1.200 mV und fällt zwischen 6 ml und 8 ml steil auf 0 mV ab [eigene Darstellung].

Obwohl beide Polyelektrolyten stöchiometrisch miteinander reagierten, lag das titrierte Volumen etwas unterhalb von 10 ml. Gründe hierfür sind einerseits der bereits diskutierte Messfehler von -1 %, siehe Kapitel 5.1.1, sowie die Abweichungen in Säure- und Basestärke, Ladungsdichte und Molekülgeometrie der Polyelektrolyten [KÖTZ et al. 1986]. Zusätzlich zur Ladungstitrations wurde die Partikelgrößenänderung aufgrund der Symplexreaktion gemessen. Die Partikelgrößenverteilungen der Polyelektrolyte wurden als Einzelsubstanz und als Mischung mittels dynamischer Lichtstreuung gemäß Kapitel 4.4 bestimmt.

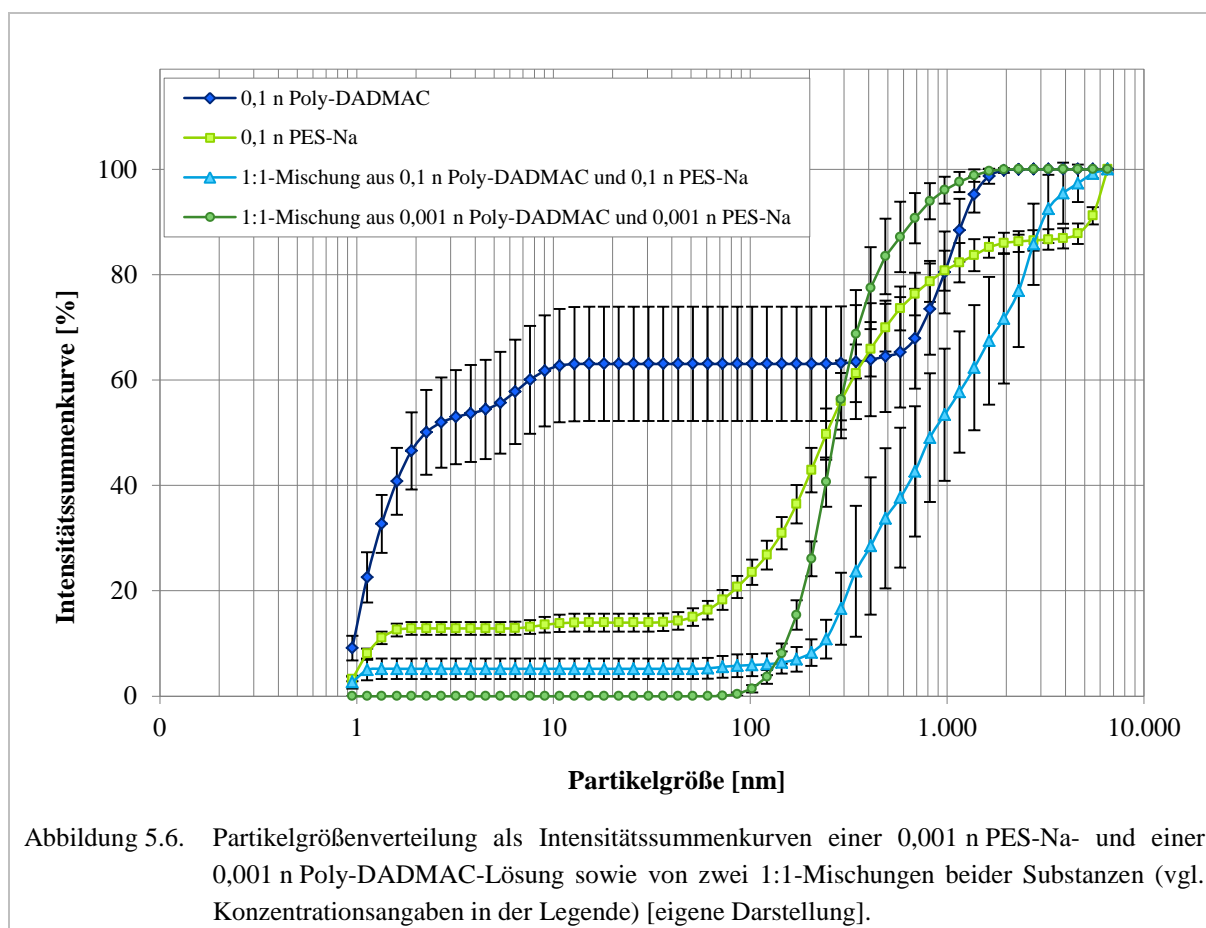
Abbildung 5.6 zeigt die Partikelgrößenverteilungen der reinen Polyelektrolytlösungen sowie zweier 1:1-Mischungen unterschiedlicher Konzentrationen. Mit der dynamischen Lichtstreuung können disperse Phasen in Konzentrationsbereichen von 0,01 Vol.-% bis 50 Vol.-% charakterisiert werden [HORN 1998].

Wurde beispielsweise zum Herstellen einer 0,001 n Lösung ein Poly-DADMAC-Konzentrat mit 20 Gew.-% in  $H_2O$  und einem mittleren Molekulargewicht von 100-200 kD verwendet, so mussten bei einer Dichte von  $1,04 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$  etwa 0,8 ml des Konzentrats mit Wasser auf ein Volumen von einem Liter gebracht werden. Unter der Annahme, dass die Dichte des reinen Poly-DADMAC in der Größenordnung von  $1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  liegt, ergibt sich bei einem 20 %igen Anteil eine Konzentration von etwa 0,016 Vol.-% des Poly-DADMAC. Da das organische

Polymer in Lösung dissoziiert vorliegt,  $(C_8H_{16}N^+ + Cl^-)_n$ , trägt der Chloranteil als gelöstes (Gegen-)Ion nicht zur Streulichtintensität bei.

Somit reduzierte sich der effektive Volumenanteil und lag mit 0,012 Vol.-% an der unteren Messgrenze. Durch die Abhängigkeit der noch messbaren Partikelgröße von der Volumenkonzentration war es nicht möglich, die Einzelsubstanzen in ihrer ursprünglichen Konzentrierung von 0,001 n zu messen. Es wurden 0,1 n-Lösungen (mit ~1,2 Vol.-%) verwendet. Somit konnte sicher gestellt werden, dass für die kleinste noch detektierbare Partikelgröße innerhalb des Messbereichs des verwendeten Messgeräts die minimale Volumenkonzentration erreicht wurde<sup>24</sup>.

Die Verteilungen in Abbildung 5.6 zeigen, dass 60-70 % der Partikel in der Poly-DADMAC-Lösung in Größen von 1 nm bis 10 nm vorliegen. Der hohe Feinanteil könnte auf eine enge Molmassenverteilung mit wenigen Verzweigungen des Moleküls hindeuten. Dies würde den Vorteil von Poly-DADMAC als Titrationsstandard belegen.



Hingegen macht der Feinanteil bei der PES-Na-Lösung nur 10 % aus. Gründe könnten in einer höheren Verzweigung der Moleküle oder in der unterschiedlichen Mizellen-Bildung des Stoffs liegen.

<sup>24</sup>Die Grenzkonzentrationen für Gold-, Silber-, Platin-, Polystyrol- und Kieselgel-Partikel sowie für biologische Partikel wie Poly-DADMAC, in Abhängigkeit der noch detektierbaren Partikelgröße des verwendeten Messsystems sind im Anhang (Kapitel 8, Abbildung 8.2) dargestellt.

Nach 1:1-Mischen beider 0,1 n-Lösungen wurde eine deutliche Verschiebung der Partikelgröße durch Symplexbildung kenntlich. Lediglich ein Rest von etwa 5 % Feinanteil war noch detektierbar. Der verbliebene Feinanteil deutet darauf hin, dass die Konzentrationslösungen von genau 0,1 n nicht exakt hergestellt werden konnten oder sich die Mischungsverhältnisse hinsichtlich ihres Volumens nicht exakt entsprachen. Dem zugrunde liegt immer die Annahme einer stöchiometrischen Reaktion der entgegengesetzten Elektrolyten. Das Bestimmen der Partikelgrößenverteilung für die Mischung der 1:1-Lösung mit niedriger Konzentration (0,001 n) war im Gegensatz zu hoch verdünnten Reinsubstanzen möglich. Hier konnte aber kein Feinanteil detektiert werden. Aufgrund der hohen Verdünnung wurden die kleinen Partikel vom Messsystem wahrscheinlich nicht erkannt.

Abbildung 5.5 zeigte für beide Fälle (1:1-Mischen mit 0,001 n und 0,1 n), dass sich die Partikel nach Mischen beider Polyelektrolyte durch Aneinanderlagern vergrößern. Daraus folgte eine Vergrößerung der Dispersion.

Aufgrund der Symplexbildung entstand nach Mischen beider Lösungen sowohl in niedriger als auch in hoher Konzentration ein weißer Niederschlag. Die Lösungen der Mischungen erschienen milchig. Der Effekt war für die 0,1 n-Konzentrationen stärker ausgeprägt. Die Reinsubstanzen hingegen waren klar.

Der durchgeführte Versuch diente neben der Bestimmung des Titrationsmittelverbrauchs beim Titrieren entgegengesetzt geladener Polyelektrolytlösungen einem weiteren Zweck. So wurde kontrolliert, ob einerseits die Titrationseinrichtung des PLD einwandfrei volumetrisch arbeitete und andererseits die Titrationsstandards alle erforderlichen Soll-Konzentrationen aufwiesen. Letzterer Aspekt war besonders wichtig, da Poly-DADMAC oft als konzentrierte wässrige Lösung gehandelt wird. Das Herstellen einer exakten Konzentrationslösung über eine Einwaage ist aufgrund des hygroskopischen Verhaltens des Stoffs nur sehr schwer möglich [MÜLLER 1996]. Daher musste die hergestellte Lösung nach dem dargestellten Verfahren wiederholt zur Kontrolle gegen eine geeignete anionische Standardlösung titriert werden. Abweichungen konnten dann gegebenenfalls auch mit einem Faktor ausgeglichen werden.

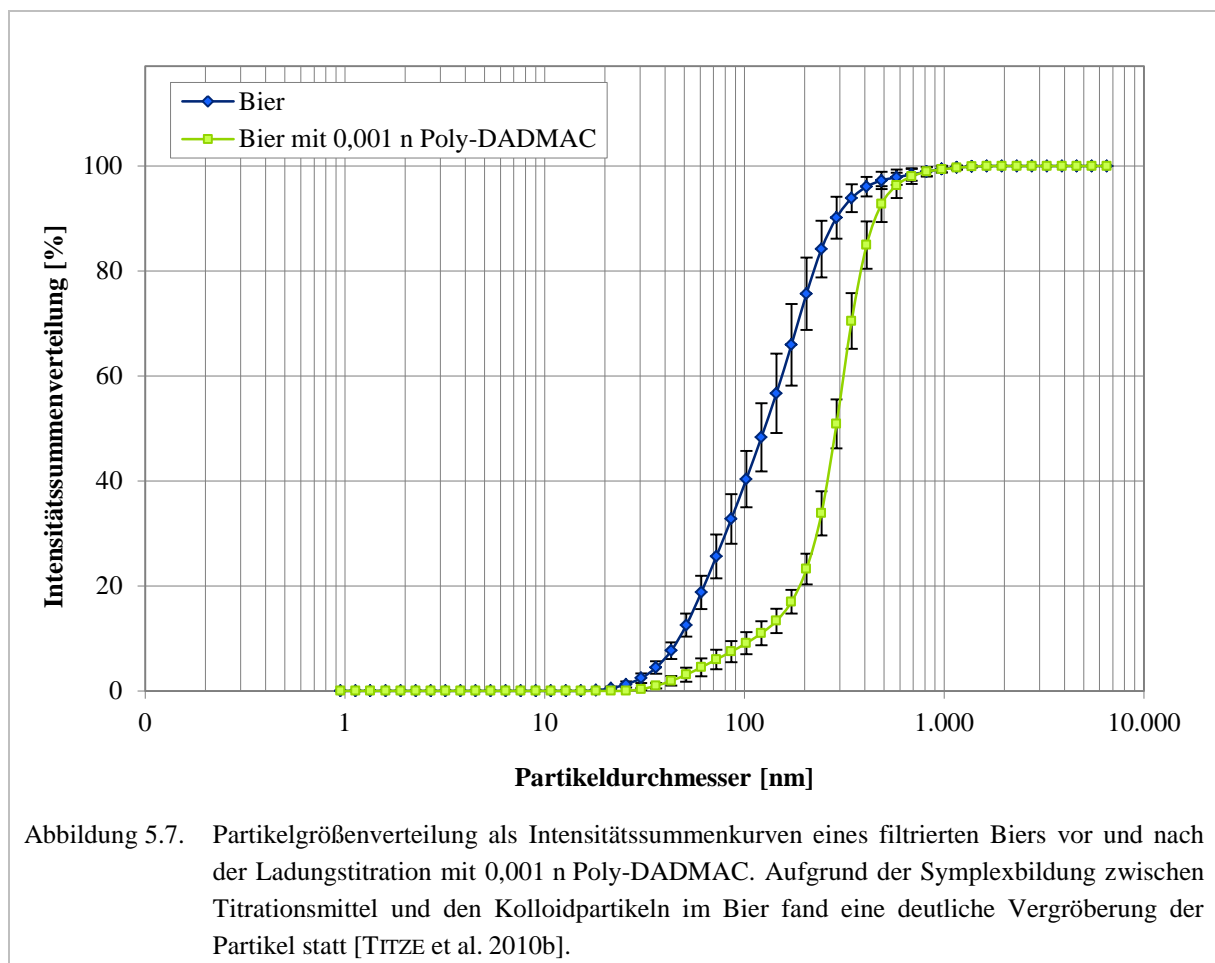
In dieser Arbeit wurde das Problem folgendermaßen gelöst: Die Titrationslösungen wurden zu Beginn einer Messreihe in ausreichendem Maße hergestellt. Damit waren zahlreiche Messungen möglich. Ein Fehler der Einwaage hätte beim Vergleich der Messungen untereinander keinerlei Auswirkungen gehabt. Ob die Voraussetzung der 1:1-Stöchiometrie zur Bestimmung der Partikeloberflächenladungen auch für die Polyelektrolyttitration von Bier gilt, wurde ebenfalls mittels Partikelgrößenmessung überprüft.

Fände keine Symplexbildung zwischen Titrationsmittel und den Kolloidpartikeln im Bier statt, könnten theoretisch beide Komponenten dennoch parallel zur Ausbildung des PLD-Signals beitragen. Das Titrationsmittel würde dann nicht wie gewünscht an der Partikeloberfläche adsorbieren, sondern aufgrund von Adsorption an der Messzellewand dem elektrokinetischen PLD-Signal kompetitiv entgegenwirken und dadurch das messbare Potential mit zunehmender Titrationsmenge verringern. Grund hierfür ist seine entgegengesetzte Oberflächenladung. In diesem Falle ließe sich nach Abschluss der Titration

aber weder eine Vergrößerung in der Partikelgrößenverteilung noch eine Trübungsbildung in der Bierprobe beobachten.

Doch gerade die Vergrößerung der Partikel im Bier konnte über die Partikelgrößenverteilung gemessen werden. Abbildung 5.7 zeigt die Partikelgrößenverteilung eines Biers einerseits vor und andererseits nach der Ladungstitration. Auch in diesem Fall konnte eine Trübung nach der Ladungstitration visuell beobachtet werden.

Die Messung belegt, dass es sich auch bei der Polyelektrolyttitration von Bier um eine 1:1-Stöchiometrie handelt. Damit wurde die Voraussetzung für die Ladungstitration zur Bestimmung der Partikeloberflächenladungen in Bier erfüllt.

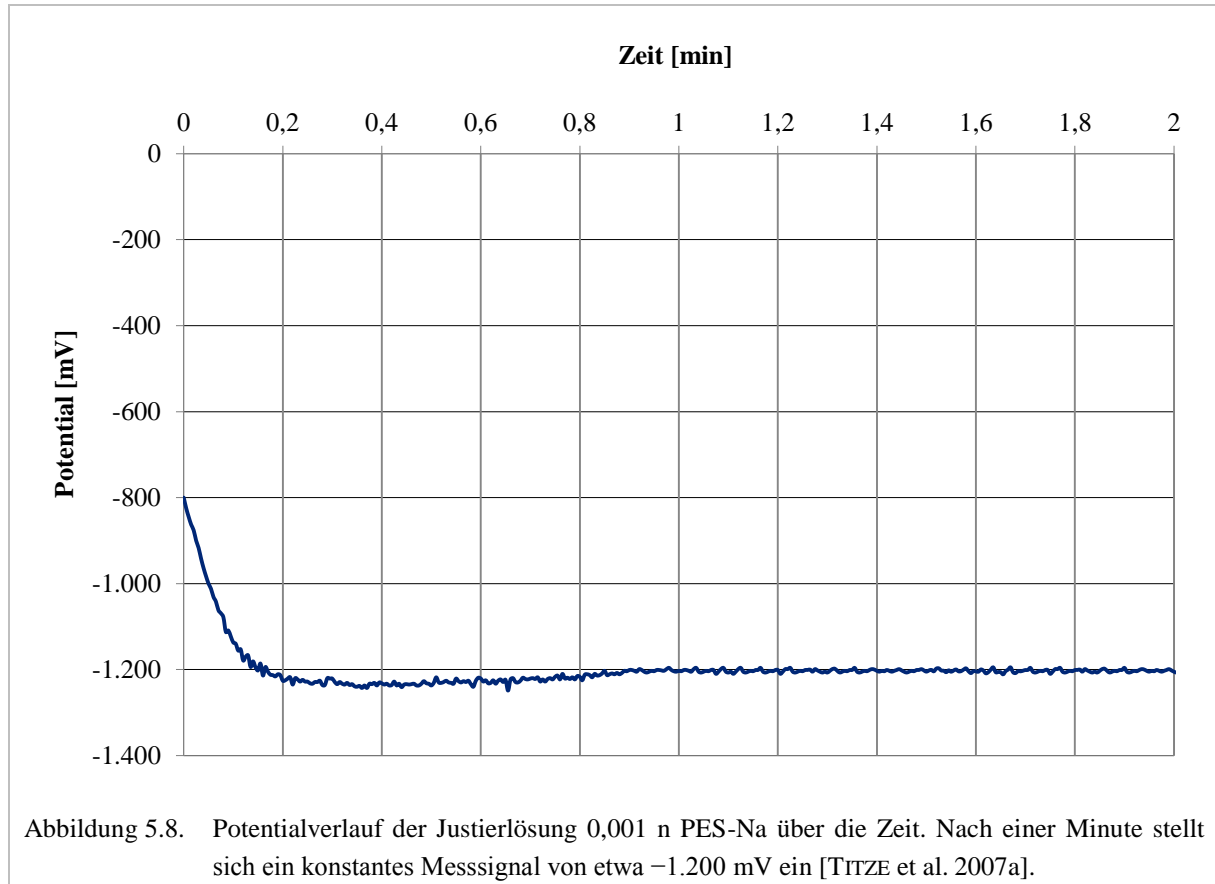


### 5.1.3 Justieren des Messsignals

Die primäre Information liegt in der Polarität des Messsignals, welches das Vorzeichen der Nettooberflächenladung eines Partikels angibt. Das mit dem PLD bestimmte Potential und das Zeta-Potential der Partikel tragen immer dasselbe Vorzeichen. Da das strömungsinduzierte Potential die Ionendoppelschicht beeinflusst, besteht im Allgemeinen auch eine gute Korrelation beider Größen. So verhält sich das gemessene Potential theoretisch proportional zum Zeta-Potential der Partikel.

Um das Signal der Potentialstärke später auch quantitativ in die Interpretationen einzuschließen, wurden zunächst die messtechnischen Einflüsse mittels Reinsubstanz getestet.

Die Vorversuche hatten gezeigt, dass Messungen der reinen Polyelektrolytlösungen gut separierbare und konstante Messsignale hervorbringen. Das Potential für die Poly-DADMAC-Lösung lag in einem Bereich von +800 mV bis +1.200 mV und für die PES-Na-Lösung zwischen -800 mV und -1.200 mV. Abbildung 5.8 zeigt eine typische Potentialkurve für eine PES-Na-Standardlösung. Auf anfängliche Schwankungen folgte nach einer Zeit von ungefähr einer Minute ein konstantes Messsignal bei -1.200 mV.



Mit Hilfe dieser Standardlösung war es möglich, vor jeder Messung die Signalverstärkung des Potentials in den Geräteeinstellungen zu überprüfen. Gegebenenfalls wurde auf ein Potential von -1.200 mV (nach)justiert.

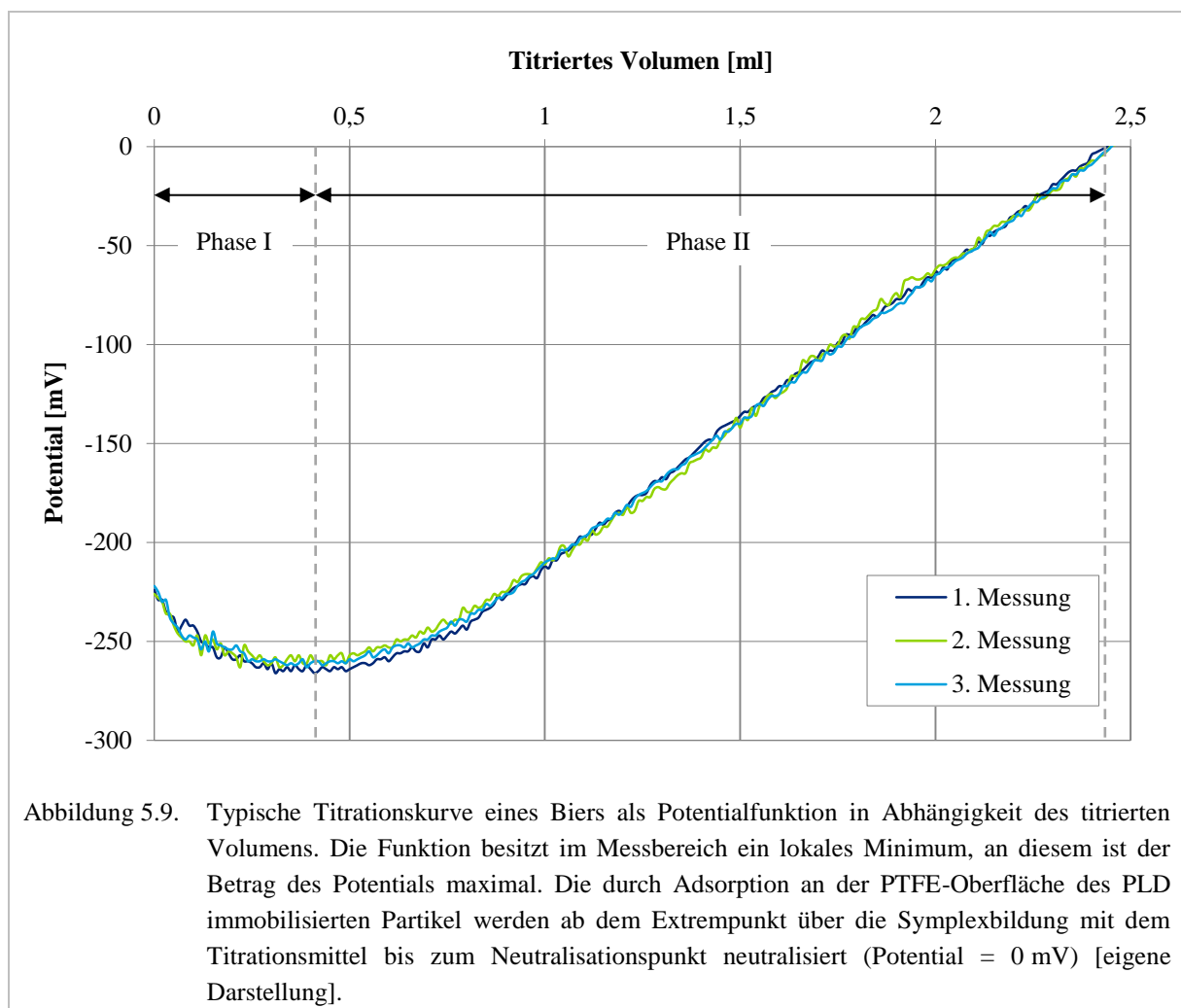
Generell diente PES-Na als anionische Justierlösung, da die Mehrheit der Bier- und Würze-proben Partikel mit negativer Oberflächenladung besaßen. Grundsätzlich fand die Justierlösung auch als Kontrolle zwischendurch Anwendung, insbesondere wenn die Potentiale bei Wiederholungsmessungen stark abwichen.

#### 5.1.4 Darstellen der Titrationskurven

Nach Justieren des Messsignals wurden 10 ml der Probenlösung in die gereinigte Messzelle pipetiert. Anschließend startete die Messung und der Probe wurde so viel Titrationsreagenz hinzugefügt, bis das messbare Signal ein Potential von 0 mV erreichte.

Abbildung 5.9 zeigt einen typischen Titrationsverlauf von Bier. Die Titrationskurve einer Bierprobe wurde durch Dreifachbestimmung ermittelt.

Nach Einfüllen der Probe waren die Partikel sowohl adsorptiv an der Oberfläche von Messzelle und Verdrängerkolben fixiert, als auch frei beweglich in Lösung. Zu Beginn der Messung trugen alle immobilisierten Partikel zur Ausbildung des Messsignals bei. Das Anfangspotential der Probe lag bei etwa  $-220$  mV. Nach Beginn der Titration stieg es auf ungefähr  $-260$  mV an. Im Anschluss sank das Potential mit zunehmendem titrierten Volumen nahezu linear auf  $0$  mV ab. Zur Beurteilung der Höhe des gemessenen Potentials wird grundsätzlich dessen Betrag betrachtet. Das Vorzeichen symbolisiert die Oberflächenladung der Partikel.



Ähnlich dem Verlauf aus Abbildung 5.5 lässt sich die Titrationskurve auch hier in zwei Phasen unterteilen. In der ersten Phase (Phase I) zeigt sich entweder ein Plateau oder ein leichter Anstieg des Potentials. In der zweiten Phase (Phase II) hingegen sinkt das Potential kontinuierlich gegen Null. Der Neutralisationspunkt wurde nach einem titrierten Volumen von etwa  $2,4$  ml erreicht.

Im Gegensatz zum Verlauf in Abbildung 5.5 erscheint das Ansteigen des Potentials in Phase I aus Abbildung 5.9 zunächst unlogisch. Die Beobachtung könnte aber anhand zweier Phänomene erklärt werden:

1. Die erste Theorie basiert auf dem Schichtenaufbau der elektrischen Doppelschicht, beschrieben in Kapitel 2.4.2. Aufgrund von Größe und spezifischer Affinität gegenüber negativ geladenen Oberflächen binden die Polykationen der zutitrierten Poly-DADMAC-Lösung in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht an das Partikel. Dadurch können die bereits adsorbierten Kationen sterisch verdrängt werden. Ist die Oberflächenladungsdichte des Polykations geringer als die Besatzdichte der Kationen in der äußeren HELMHOLTZ-Schicht, wird das Potential der inneren HELMHOLTZ-Schicht weniger stark durch Gegenladungen kompensiert. Das an der diffusen Schicht entstehende STERN-Potential ist folglich höher. Entspricht die Ladungsdichte der Polykationen der Ladungsdichte des ursprünglich adsorbierten Kationenbesatzes, wird die negative Überschussladung durch weitere Polykationen abgebaut. Das Potential sinkt auf Null. Solange eine negative Überschussladung in die Umgebung des Partikels wirkt, werden sich weitere Polykationen an die Partikeloberfläche anlagern.
2. Ein anderer Erklärungsansatz geht davon aus, dass es sich bei den meisten Partikeln um Proteine handelt. Ihre charakteristische dreidimensionale Lokalstruktur liegt begründet in elektrostatischen und VAN DER WAALS-Kräften sowie Wasserstoffbrücken- und kovalenten Disulfidbrücken. Die Polykationen zeichnen sich durch bevorzugtes Adsorptionsvermögen gegenüber hydrophilen und hydrophoben Partikeloberflächen aus. Dadurch können sie das lokalstrukturierte Protein in seiner ursprünglichen Dreidimensionalität stören. So kommt es möglicherweise zu einer neuen Anordnung in der Struktur und bisher nach innen gerichtete, geladene Gruppen wechselwirken nun nach außen hin mit der Partikelumgebung.

Zusätzlich zu den zwei oben genannten Gründen ist noch eine dritte Erklärung theoretisch möglich: Nach Einfüllen der Probenlösung wird ein Teil der Partikel zunächst an der Oberfläche von Messzelle und Verdrängerkolben adsorbiert. Dieser Vorgang könnte sich insbesondere dann zeitlich verzögern, wenn viele Partikel oder besonders stark geladene Partikel in der Lösung vorhanden sind. Durch konkurrierende Partikel und deren Abstoßungen untereinander während des Adsorptionsvorgangs an den Oberflächen wird das Einstellen eines Gleichgewichtes verlangsamt. Mit dieser Theorie ließe sich auch das anfängliche Einpendeln von  $-800$  mV auf ein konstantes Messsignal von  $-1.200$  mV der Justierlösung in Abbildung 5.8 erklären.

Für die Bestimmung der Oberflächenladungen im PLD ist Phase II von Bedeutung. Wie in Kapitel 5.1.2 diskutiert, werden hierbei die Oberflächenladungen der immobilisierten Partikel neutralisiert. Damit reduziert sich der notwendige Teil des titrierten Volumens, um die adsorbierten Partikel zu neutralisieren, die zur Ausbildung des Messsignals beitragen. Nur die an der hydrophoben PTFE-Oberfläche von Messzelle und Verdrängerkolben adsorptiv fixierten Partikel spielen eine Rolle, auch wenn Partikelüberschuss herrscht. Da das Probenvolumen 10 ml beträgt, beide Elektroden vollständig benetzt und die Elektrodenabstände immer konstant sind, war die verfügbare und relevante PTFE-Oberfläche im



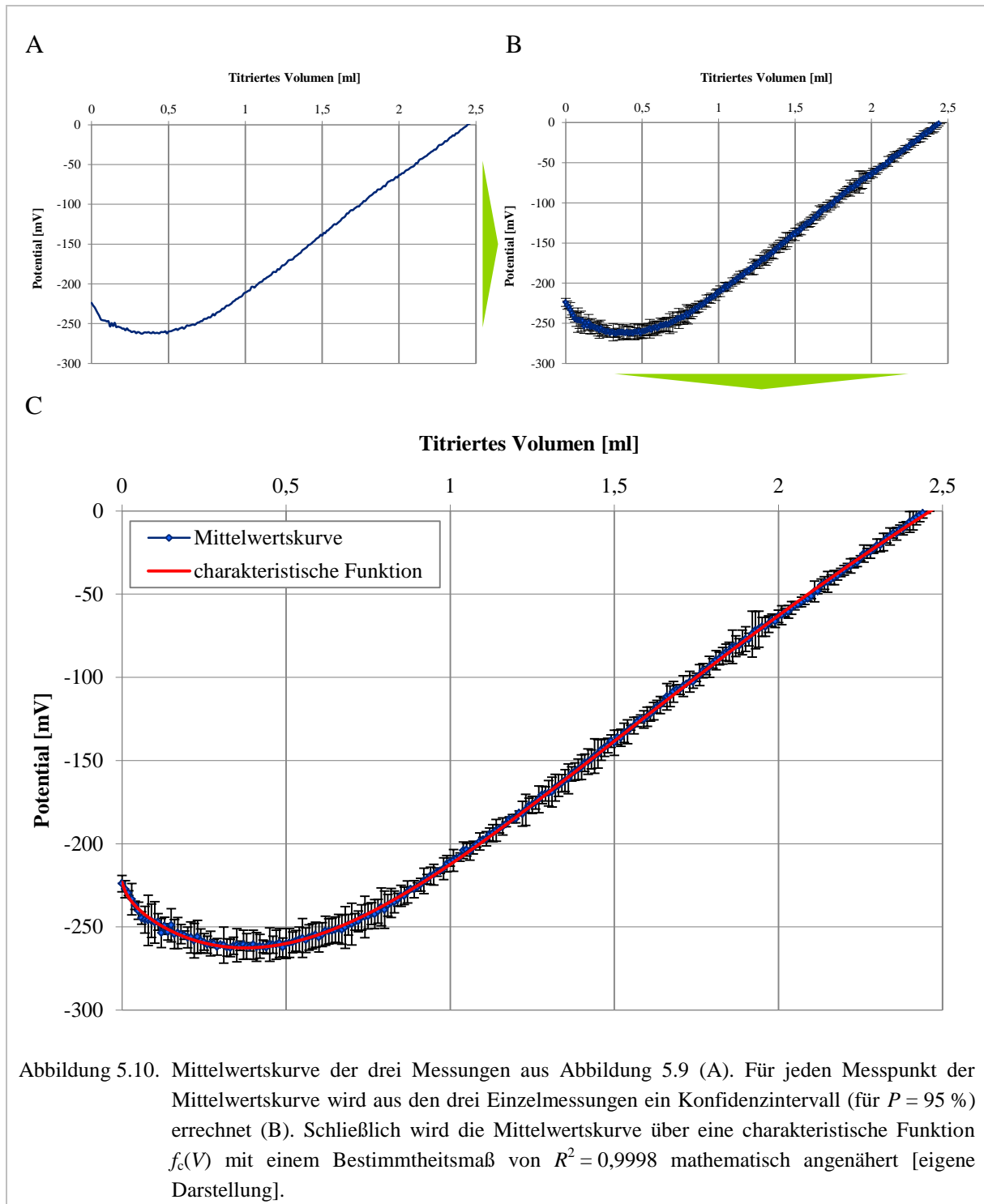
Messspalt apparatetechnisch fest vorgegeben. Über VAN DER WAALS-Adsorption werden Partikel an der Oberfläche fixiert und tragen zum Ausbilden des Messsignals bei.

Das zutitrierte Volumen und damit ein verbundenes Ansteigen des Flüssigkeitsvolumens in der Messzelle durften daher keinen Einfluss haben.

### 5.1.5 Statistische Messfehlerbetrachtung der Titrationskurven

Der in Abbildung 5.9 dargestellte Kurvenverlauf ist für alle untersuchten Bierproben charakteristisch, die Partikel mit negativer Oberflächenladung enthalten. Um die Qualität der Messergebnisse des PLD zu beurteilen, wurde die Titrationskurve einer Probe grundsätzlich über eine Dreifachbestimmung ermittelt. Aus den Messergebnissen aller drei Titrationskurven wurde eine sogenannte Mittelwertskurve berechnet. Diese charakterisiert zunächst den gemittelten Potentialverlauf in Abhängigkeit des titrierten Volumens. In Abbildung 5.10 A ist eine solche Mittelwertskurve für die drei Messungen aus Abbildung 5.9 dargestellt. Da jeder Punkt der Mittelwertskurve das arithmetische Mittel aus den Werten der drei Einzelkurven darstellt, kann zusätzlich das Konfidenzintervall eines jeden Messpunkts errechnet werden. Die Mittelwertskurve mit Konfidenzintervallen der einzelnen Messpunkte zeigt Abbildung 5.10 B.

Darüber hinaus konnten die Messpunkte der Mittelwertskurve mit dem in 4.1.2.2 beschriebenen Software-Programm durch eine mathematische Regressionsfunktion angenähert werden. Das Annähern stellt ein Anpassen mittels mathematischer Funktionsbestimmungen dar. Diese bestimmt den höchsten Zusammenhang zwischen Punktestreuung der Mittelwertskurve zu den Punkten der Regressionsfunktion für den relevanten Kurvenverlauf. Mit Hilfe des Bestimmtheitsmaß  $R^2$ , auch Determinationskoeffizient genannt, kann die Qualität der Regressionsfunktion ausgedrückt werden. Da letztere eine mathematische Beschreibung des charakteristischen Verlaufs der Titrationskurve darstellt, wird sie auch als charakteristische Funktion des Potentials  $\Psi$  in Abhängigkeit des titrierten Volumens  $V$  mit  $f_c(V)$  bezeichnet. In Abbildung 5.10 C ist die Mittelwertskurve durch eine charakteristische Funktion (rote Kurve) mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9998$  angenähert.

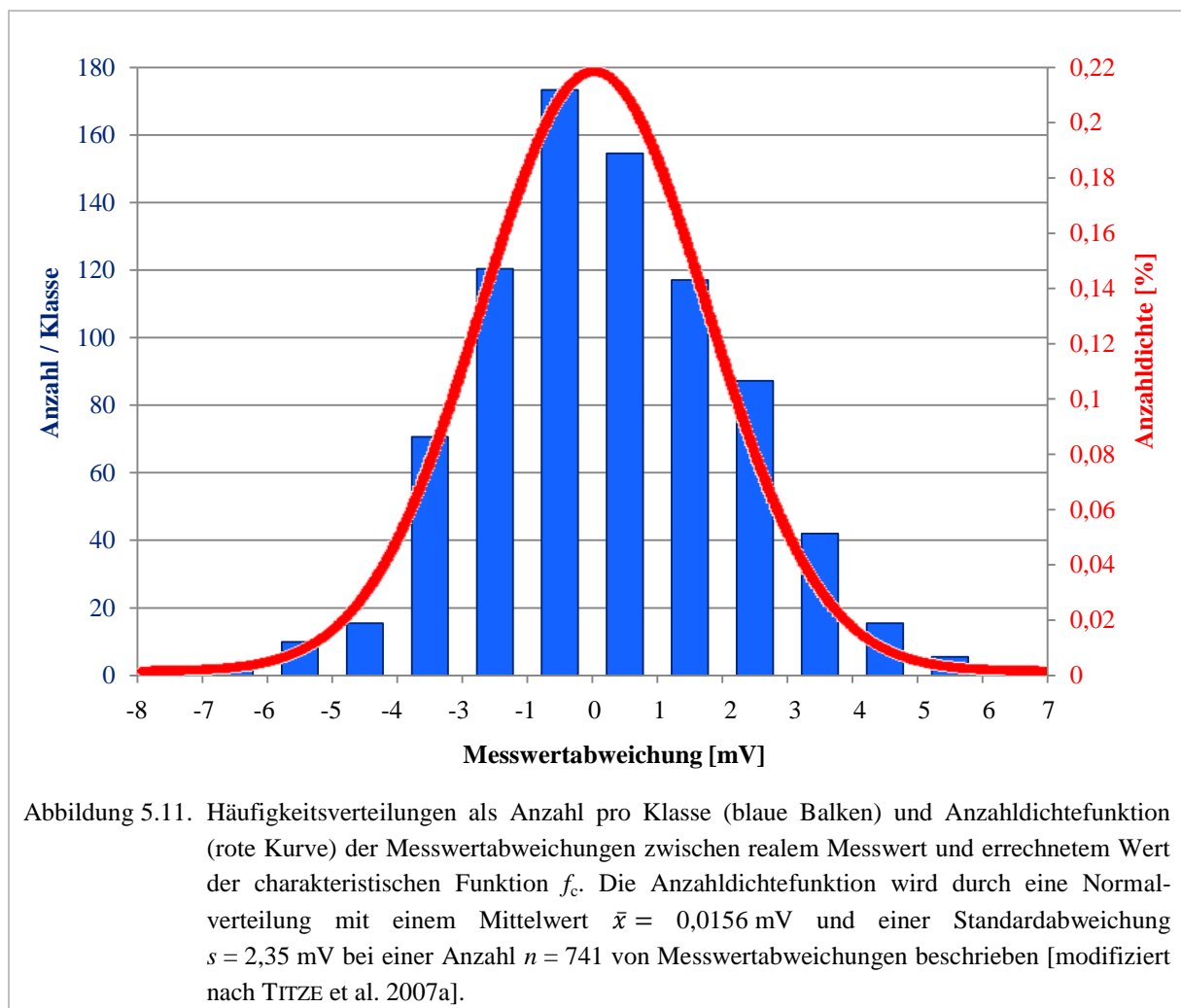


Um die Qualität der Mittelwertskurvenanpassung durch eine charakteristische Funktion zu prüfen, erfolgte eine Betrachtung von Abweichungen der im PLD bestimmten Messwerte zu den berechneten Funktionswerten. Jede Probe wurde dreimal im PLD bestimmt. So konnte bei einem entsprechenden Titrationsvolumen aus jeweils drei Messwerten das arithmetische Mittel und die Standardabweichung berechnet werden. Für die Messkurven in Abbildung 5.9 wurden für jeweils drei Messwerte pro Messpunkt Mittelwert und Standardabweichung bestimmt. Die Anzahl der Messpunkte pro Titrationskurve liegt in diesem Fall bei 247, da das PLD je 0,01 ml einen Messwert aufzeichnete. Die gemittelte Standardabweichung aller 247

Einzelstandardabweichungen beträgt 2,2 mV. Im Schnitt weichen die Einzelergebnisse um 2,2 mV vom Mittelwert ab.

Zur Qualitätsbeurteilung der charakteristischen Funktion wurden statt Mittelwertabweichungen die Differenzen zwischen allen Messwerten und dem jeweils errechneten Funktionswert von  $f_c$  an der Stelle  $V$  ermittelt. In Abbildung 5.11 sind sowohl die Häufigkeitsverteilung (blaue Balken) als auch die Anzahldichteverteilung (rote Kurve) aller Messwertabweichungen gezeigt. Die Anzahldichteverteilung wurde sowohl nach dem Test von DAVID, HARTLEY und PEARSON [DAVID et al. 1954] als auch mit Chi-Quadrat-Anpassungstest [BRONSTEIN et al. 1999] auf ihre Normalverteilung geprüft. Für die Differenzen zur charakteristischen Funktion, die sich durch die unterschiedlichen Messungen ergeben haben, zeigte sich mit sehr guter Näherung auf den Signifikanzniveaus von 90 %, 95 % und 99,5 % eine Normalverteilung. Der Schätzwert für die Standardabweichung  $s$  der Normalverteilung liegt bei 2,35 mV. Damit ist er in der Größenordnung des Mittelwerts aller zuvor berechneten Einzelstandardabweichungen von 2,2 mV einzuordnen.

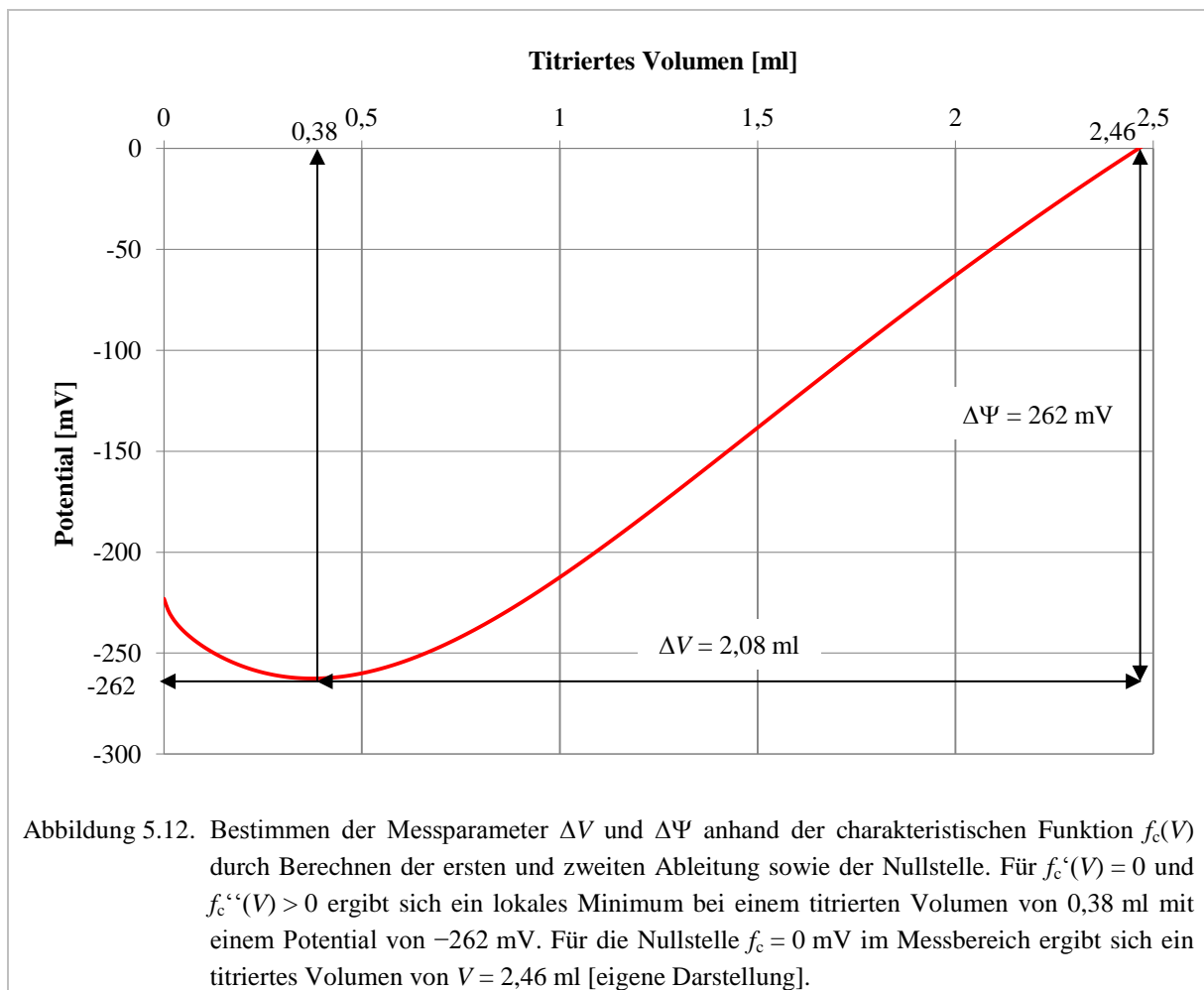
Da sich die Messwerte des PLD mit sehr guter Näherung zur charakteristischen Funktion  $f_c$  normal verteilen, wurde diese an Stelle der Mittelwertskurve für die graphische Darstellung von Titrationskurven im weiteren Verlauf der Arbeit gewählt.



### 5.1.6 Mathematische Ermittlung von Potential und titriertem Volumen

Der Grund der Berechnung einer charakteristischen Anpassungsfunktion liegt in der möglichen exakten Berechnung von Potential und titriertem Volumen. Laut Ausführungen in Kapitel 5.1.4 hat fast jede gemessene Titrationskurve eines Biers im Messbereich ein lokales Minimum, an dem der Betrag des Potentials maximal ist. Des Weiteren verfügt jede Titrationskurve über eine Nullstelle (Schnittpunkt mit der Abszisse), bei der das Potential den Wert Null annimmt.

Mit Hilfe der charakteristischen Funktion war es nach Bilden der ersten und zweiten Ableitung der Funktion möglich, den lokalen Extrempunkt im Messbereich genau zu ermitteln. Anhand des Beispiels aus Kapitel 5.1.5 soll die Vorgehensweise veranschaulicht werden. Abbildung 5.12 zeigt die in Abbildung 5.10 C dargestellte charakteristische Funktion. Durch das Berechnen der ersten und zweiten Ableitungen sowie der Nullstelle der Funktion ergeben sich die Messgrößen  $\Delta V$  und  $\Delta \Psi$ . Für den Funktionswert  $f_c = 0$  mV beträgt das titrierte Volumen 2,46 ml. Durch Gleichsetzen der ersten Ableitungsfunktion mit Null ( $f_c' = 0$ ) errechnet sich für den Messbereich ein Extrempunkt bei 0,38 ml. Die Extremstelle wurde über den Funktionswert der zweiten Ableitung an der Stelle  $f_c''(0,38 \text{ ml}) > 0$  als ein lokales Minimum verifiziert. Die Evaluierung der Messmethode mit dem PLD zeigte, dass sich  $\Delta V$  und  $\Delta \Psi$  sehr gut eignen, Titrationsverläufe zu charakterisieren.



### 5.1.7 Messbereiche des Potentials und des titrierten Volumens

Um einen Überblick über die Größenordnungen des messbaren Potentials (PLD-Potential) und der Partikelladung im Bier (titriertes Volumen) zu erhalten, wurden 604 unterschiedliche Bierproben mit dem PLD gemessen. Unter den Bierproben waren sowohl stark und schwach stabilisierte, als auch frische und gealterte Proben. Alle Biere waren filtriert und enthielten Partikel mit negativer Oberflächenladung. Tabelle 5.1 stellt für beide Messgrößen der untersuchten Biere die ermittelten Maximal- und Minimalwerte sowie den arithmetischen Mittelwert mit einem Vertrauensbereich bei  $P = 95\%$  dar. Es zeigt sich ein großer Messbereich für die untersuchten Biere. Die Minimalwerte von Potential und titriertem Volumen deuten gleichzeitig auch auf die Messgrenze des PLD hin.

Tabelle 5.1. Ergebnisbereich von Potential und titriertem Volumen, bestimmt mit einem PLD für sowohl stark und schwach stabilisierte, als auch frische und gealterte Biere bei  $n = 604$  Bierproben. Es wurden ausschließlich Biere mit Partikeln negativer Oberflächenladungen gemessen, daher trägt das Potential ein negatives Vorzeichen. Maximal- und Minimalwert des Potentials werden als Absolutwerte (Beträge) betrachtet [eigene Messungen].

Messgröße	Maximalwert	Minimalwert	Mittelwert	Vertrauensbereich*
Potential [mV]	-602	-10	-233	$-245 \leq \mu \leq -222$
Titriertes Volumen [ml]	5,213	0,005	1,64	$1,54 \leq \mu \leq 1,73$

### 5.1.8 Wiederholbarkeit von Potential und titriertem Volumen

Gemäß Tabelle 5.1 konnte bei Bier im Mittel ein Potential von  $-233$  mV und eine titrierbare Ladungsmenge von  $1,64$  ml im PLD bestimmt werden. Um die Qualität des Messsystems zu beurteilen, wurde das Präzisionsmaß der Wiederholbarkeit  $r$  gemäß DIN ISO 5725 bestimmt [DIN ISO 5725 1981]. Die Präzision ist dabei die qualitative Bezeichnung für das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen Ergebnissen bei wiederholter Anwendung eines standardisierten Ermittlungsverfahrens [DIN ISO 5725 1981].

Zum Bestimmen der Wiederholbarkeit wurden fünf Biere mit unterschiedlichem Potential und titriertem Volumen fünfmal hintereinander gemessen ( $n = 5$ ). Tabellen 5.2 und 5.3 führen die Einzelergebnisse aus den Wiederholungsmessungen sowie den Mittelwert und die Standardabweichungen der fünf Bierproben auf.

Tabelle 5.2. Ergebnisse der Wiederholungsmessungen ( $n = 5$ ) für das Potential von fünf unterschiedlichen Bieren. Aus den Werten der Einzelmessungen errechnen sich der Mittelwert und die Einzelstandardabweichung [eigene Messungen].

	Bier 1	Bier 2	Bier 3	Bier 4	Bier 5
Potential 1 [mV]	-298	-379	-406	-245	-113
Potential 2 [mV]	-298	-378	-391	-233	-114
Potential 3 [mV]	-296	-375	-395	-239	-115
Potential 4 [mV]	-309	-376	-394	-223	-109
Potential 5 [mV]	-304	-377	-396	-230	-111
Mittelwert [mV]	-301	-377	-396	-234	-112
Standardabweichung [mV]	5,39	1,58	5,68	8,43	2,41

Tabelle 5.3. Ergebnisse der Wiederholungsmessungen ( $n = 5$ ) für das titrierte Volumen von fünf unterschiedlichen Bieren. Aus den Werten der Einzelmessungen errechnen sich der Mittelwert und die Einzelstandardabweichung [eigene Messungen].

	Bier 1	Bier 2	Bier 3	Bier 4	Bier 5
titriertes Volumen 1 [ml]	1,564	0,566	0,692	1,588	1,917
titriertes Volumen 2 [ml]	1,590	0,572	0,673	1,600	1,960
titriertes Volumen 3 [ml]	1,570	0,562	0,687	1,658	1,870
titriertes Volumen 4 [ml]	1,580	0,560	0,676	1,650	1,937
titriertes Volumen 5 [ml]	1,575	0,586	0,663	1,600	1,850
<b>Mittelwert [ml]</b>	<b>1,576</b>	<b>0,569</b>	<b>0,678</b>	<b>1,619</b>	<b>1,907</b>
<b>Standardabweichung [ml]</b>	<b>0,0099</b>	<b>0,0104</b>	<b>0,0115</b>	<b>0,0323</b>	<b>0,0459</b>

Anhand der Einzelstandardabweichungen zeigt sich, dass die Höhe der Messwertabweichungen unabhängig von der Höhe des Messwerts ist. Aus den jeweiligen Einzelstandardabweichungen kann daher die Wiederholstandardabweichung  $s_r$  gemäß DIN ISO 5725 zusammengefasst werden [DIN ISO 5725 1981].

Für die Potentialbestimmung errechnet sich eine Wiederholstandardabweichung von  $s_r = 5,303$  mV. Für das titrierte Volumen ergibt sich der Wert  $s_r = 0,0264$  ml.

Nach Berechnen der Wiederholstandardabweichungen ergibt sich daraus die Wiederholbarkeit  $r$  als kritische Differenz zur Wahrscheinlichkeit  $P = 95$  % mit dem Quantil von 1,96 (zweimal die „ $\sigma$ -Grenzen“) der standardisierten Normalverteilung zu [DIN ISO 5725 1981]

$$r = 1,96 \cdot \sqrt{2} \cdot s_r. \quad (5.1)$$

Der Faktor  $\sqrt{2}$  folgt aus dem Gesetz der Fehlerfortpflanzung, da die Standardabweichung der Differenz zweier Stichproben einer Wiederholmessung das  $\sqrt{2}$ -fache der Wiederholstandardabweichung ist.

Nach DIN ISO 5725 wird jedoch zur Berechnung das Quantil 2,00 benutzt, so dass

$$r = 2,00 \cdot \sqrt{2} \cdot s_r = 2,83 \cdot s_r \quad (5.2)$$

gilt [DIN ISO 5725 1981].

Nach Einsetzen der Wiederholstandardabweichungen in Gleichung 5.2 errechnet sich für die Wiederholbarkeit des Potentials  $r = 15$  mV und für die titrierte Ladung  $r = 0,07$  ml.

In 95 % aller Fälle betragen die maximalen Differenzen zwischen zwei Messwiederholungen folglich für das Potential 15 mV und das titrierte Volumen 0,07 ml. Damit gelten gerundete Unterschiede im Potential kleiner 20 mV oder im titrierten Volumen kleiner 0,1 ml als nicht signifikant.

Es ist weiter zu beachten, dass die gemessenen Werte Zufallsergebnisse darstellen und somit nicht jeder durchgeführte Versuch zur Bestimmung von  $r$  zu denselben Werten führt. Der ermittelte Wert des Präzisionsmaßes ist ein Schätzwert, über dessen Unsicherheit in dieser Arbeit keine Aussage getroffen werden kann. Des Weiteren ermöglicht das Verfahren der Wiederholbarkeitsberechnung keine Beurteilung der Richtigkeit der Messmethode, da bislang

validierte Vergleichsdaten in Bezug auf die Matrix Bier fehlen. Die Richtigkeit wird quantitativ durch die Differenz von Erwartungswert (mittleres Ergebnis bei unablässig wiederholter Anwendung des vorgegebenen Ermittlungsverfahrens) und wahren oder richtigem Wert des untersuchten Merkmals gekennzeichnet.

### 5.1.9 Einfluss der Elektrolytbeschaffenheit

Eine der wichtigsten Einflussgrößen auf das gemessene Potential ist die elektrische Leitfähigkeit der Probenlösung. Nach den Ausführungen von Kapitel 2.5 hängt die Höhe des messbaren Potentials in der Scherebene von der Elektrolytbeschaffenheit der Probe ab.

#### 5.1.9.1 Elektrolytkonzentration und -wertigkeit

Um die Änderung des Potentials in Abhängigkeit der Elektrolytkonzentration und -wertigkeit zu beurteilen, wurde das anionische Standardtitrationmittel 0,001 n PES-Na als Probenlösung verwendet. Der Probe wurden definierte Salzlösungen zutitriert. Als Salzlösungen kamen auf 20 °C temperierte und in Wasser gesättigte Natriumchlorid-, Natriumbromid- und Calciumchloridlösungen zum Einsatz.

Abbildung 5.13 zeigt die drei Titrationskurven. Sie sind als charakteristische Funktionen aus einer Dreifachbestimmung nach Kapitel 5.1.6 dargestellt. Bereits wenig Titrationsmenge genügt, um die diffuse Schicht der Partikel zu einem deutlichen Potentialabfall hin zu komprimieren. Analog zur Theorie aus Kapitel 2.5 sinkt das Potential in der diffusen Schicht durch Zutitrieren einer zweiwertigen Salzlösung  $\text{CaCl}_2$  schneller ab, als bei den einwertigen Salzlösungen  $\text{NaCl}$  und  $\text{NaBr}$ . Bei den einwertigen Salzlösungen erklären sich die unterschiedlichen Kurvenverläufe über ihre Elektrolytkonzentrationen. So hatte die gesättigte Natriumchloridlösung mit  $c_{\text{NaCl}} \approx 360 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $\approx 6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) eine geringere Konzentration als die Natriumbromidlösung mit  $c_{\text{NaBr}} \approx 900 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $\approx 8,7 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Die zweiwertige Calciumchloridlösung mit  $c_{\text{CaCl}_2} \approx 740 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $\approx 6,7 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) war etwas weniger stark konzentriert als die  $\text{NaBr}$ -Lösung. Dennoch dominiert der Einfluss der Ionenwertigkeit auf die Kompression der diffusen Schicht gegenüber der Ionenkonzentration.

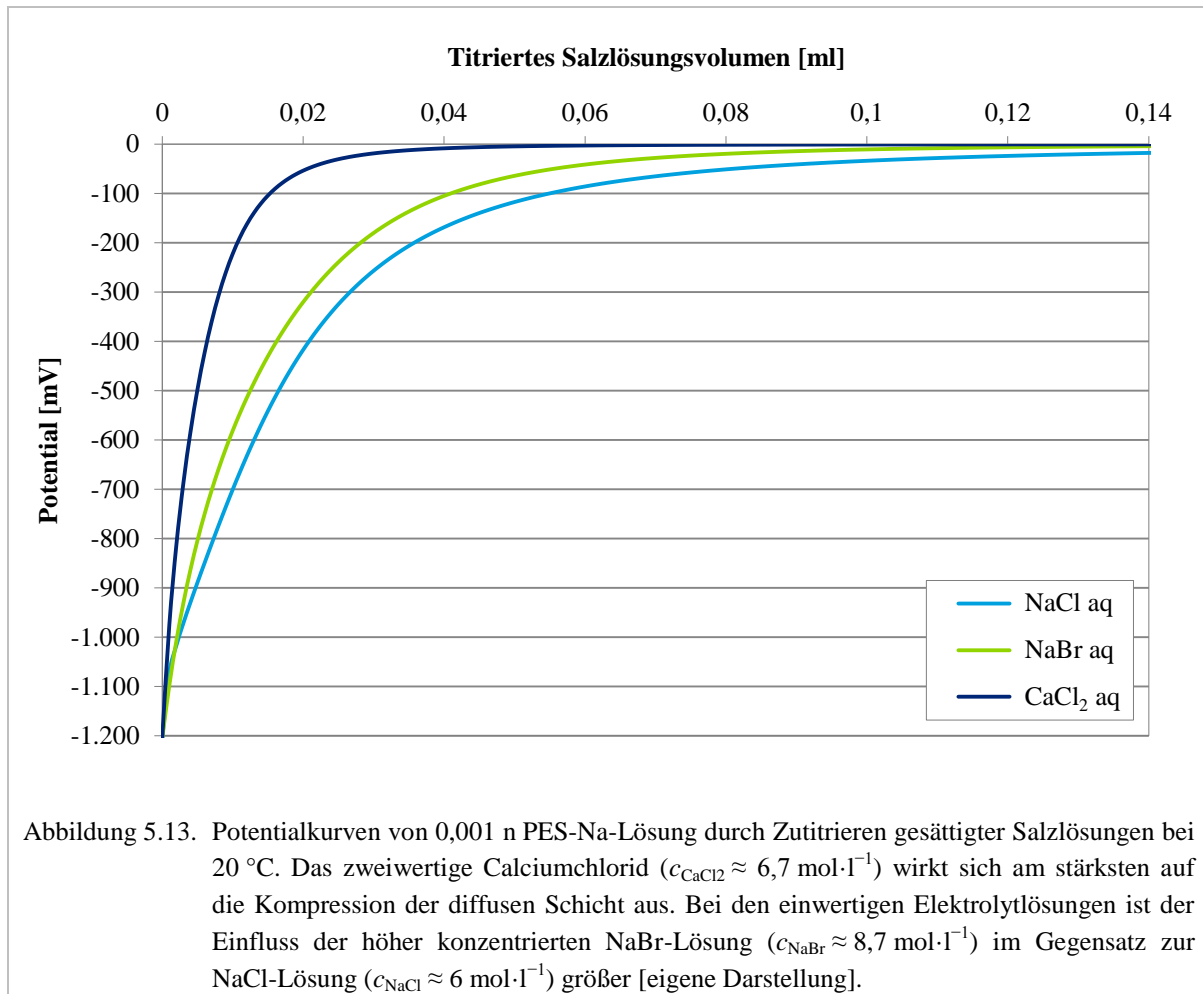
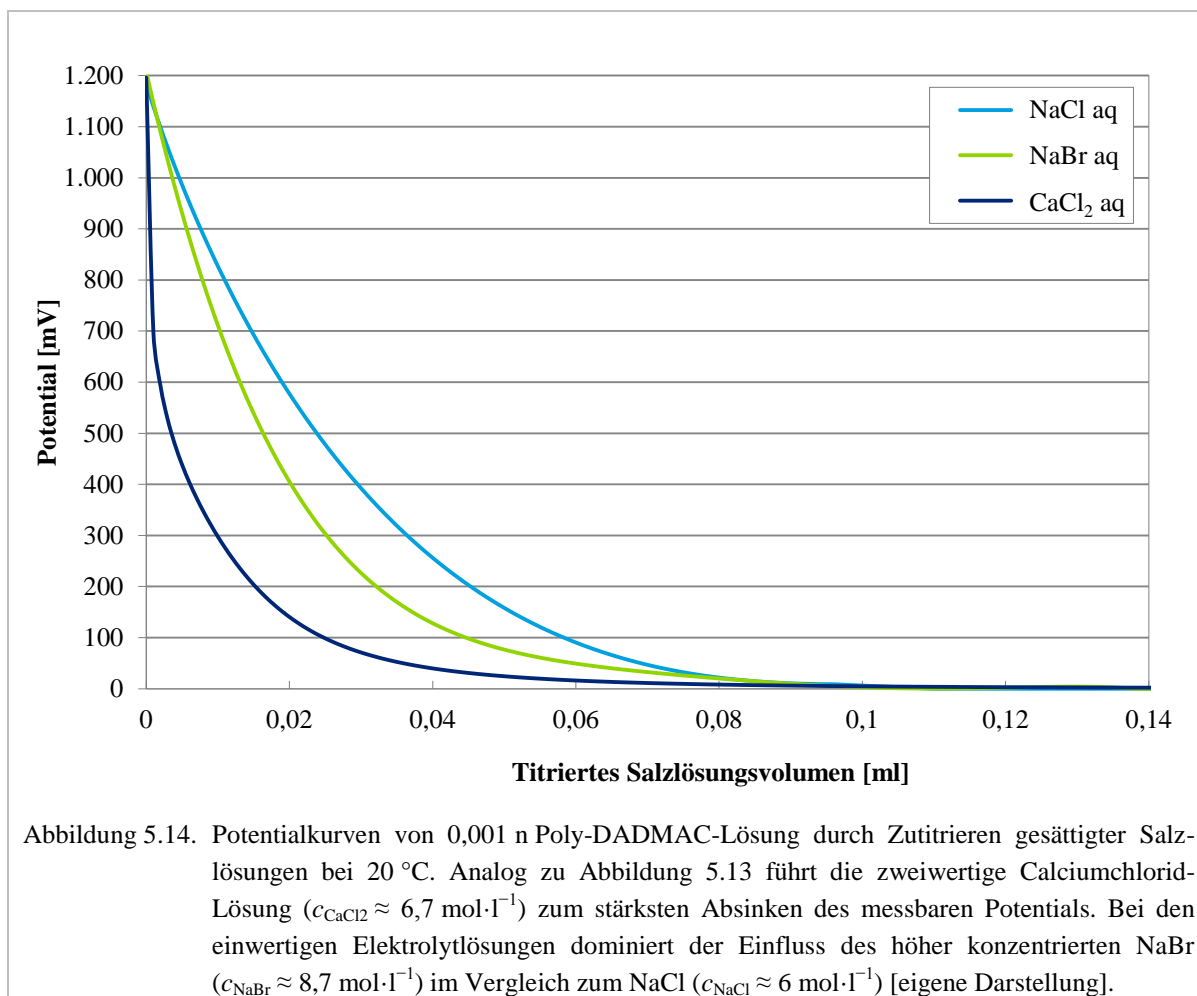


Abbildung 5.13. Potentialkurven von 0,001 n PES-Na-Lösung durch Zutitrieren gesättigter Salzlösungen bei 20 °C. Das zweiwertige Calciumchlorid ( $c_{\text{CaCl}_2} \approx 6,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) wirkt sich am stärksten auf die Kompression der diffusen Schicht aus. Bei den einwertigen Elektrolytlösungen ist der Einfluss der höher konzentrierten NaBr-Lösung ( $c_{\text{NaBr}} \approx 8,7 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) im Gegensatz zur NaCl-Lösung ( $c_{\text{NaCl}} \approx 6 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) größer [eigene Darstellung].

Derselbe Titrationsversuch wurde für die positive Standardtitrationslösung 0,001 n Poly-DADMAC durchgeführt. Analog zu den Ergebnissen aus Abbildung 5.13 zeigt Abbildung 5.14 wie die diffuse Schicht mit zunehmendem Salzlösungsvolumen immer weiter komprimiert wird. Damit sinkt das messbare Potential der Scherebene gegen Null.





### 5.1.9.2 Leitfähigkeit des Biers

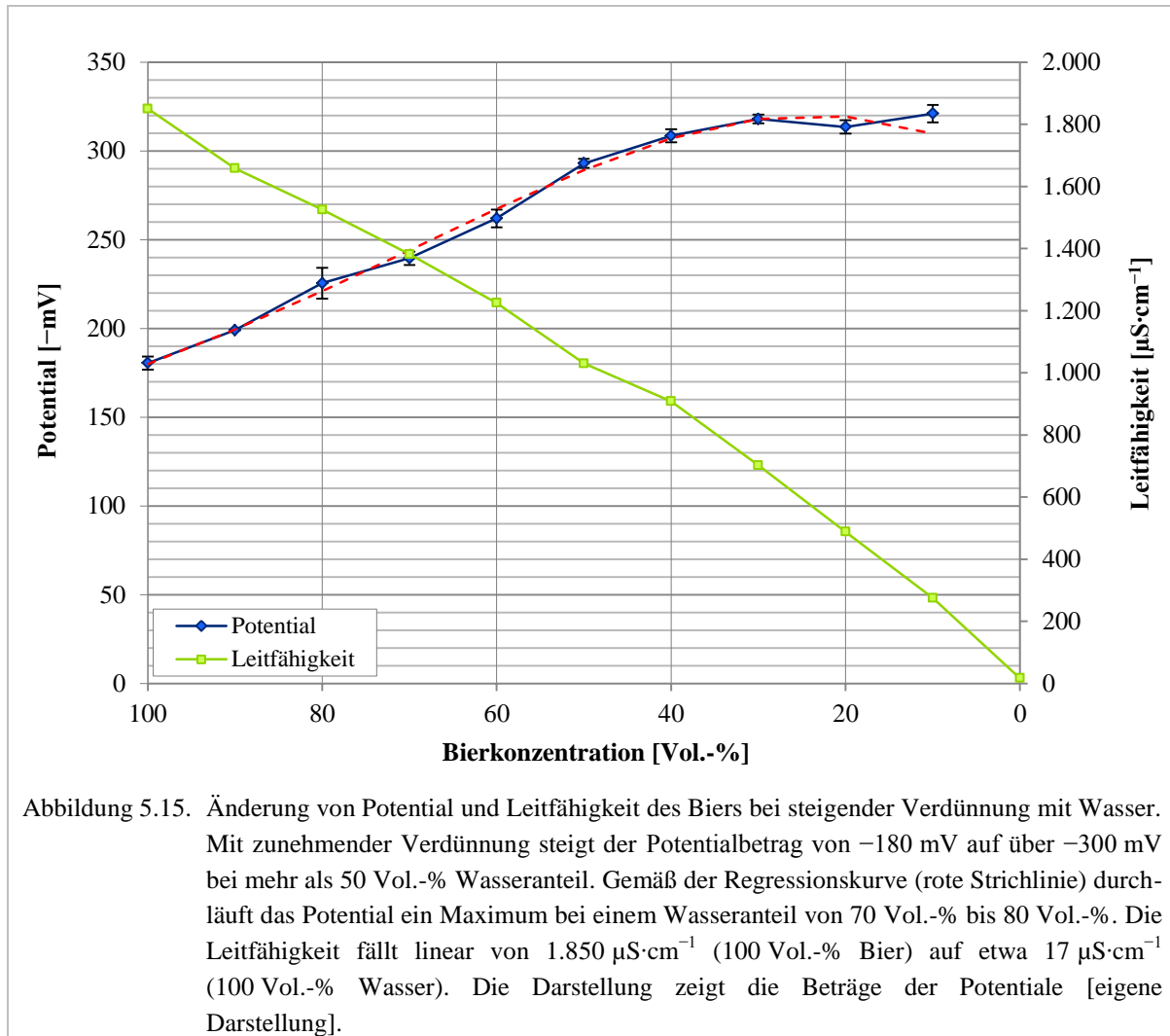
Im Gegensatz zu den reinen Salzlösungen sind im Bier unterschiedlichste Salze gelöst. Sie alle üben einen Einfluss auf die Leitfähigkeit aus. Daher wurde mit einer Verdünnungsreihe zunächst der Einfluss der Leitfähigkeitsänderung auf das Potential geprüft. Dazu wurde ein filtriertes Bier mit Wasser in 10 Volumenprozent-Schritten verdünnt und sowohl Potential als auch Leitfähigkeit bestimmt.

In Abbildung 5.15 sind die Änderungen von Potential und Leitfähigkeit gegenüber der Bierkonzentration aufgetragen. Das ursprüngliche Potential des unverdünnten Biers (Bierkonzentration von 100 Vol.-%) betrug etwa  $-180 \text{ mV}$ . Bei zunehmender Verdünnung mit Wasser stieg das Potential zunächst linear an. Ab einer Bierkonzentration von 50 Volumenprozent nahm das Potential immer weniger zu, bis es sich einem Maximalwert von etwa  $-320 \text{ mV}$  bei einer Bierkonzentration ab 70 Volumenprozenten asymptotisch annäherte. Der Potentialwert von nullprozentiger Bierkonzentration bzw. Wasser ist nicht graphisch dargestellt, da für reines Wasser theoretisch kein Potential messbar ist.

Der lineare Anstieg des messbaren Potentials lässt sich mittels Änderung der Elektrolytkonzentration im Bier erklären. Durch die Verdünnung sammeln sich weniger Ionen in der diffusen Schicht um die Partikel an.

So werden diese Gegenionen durch die Strömung leichter abgeschert. Das messbare Potential an der Scherebene nähert sich an die STERN-Schicht der Partikel an.

Bei einer Bierkonzentration von 20 Vol.-% bis 30 Vol.-% konnte ein maximales Potential gemessen werden, siehe rote Regressionskurve in Abbildung 5.15. Laut theoretischen Ausführungen in Kapitel 2.4 entspricht dieses Potential in etwa dem STERN-Potential. Dieser Aspekt wird im späteren Teil der Arbeit eine bedeutende Rolle spielen und deshalb in Kapitel 5.4.2.2 ausführlich diskutiert.

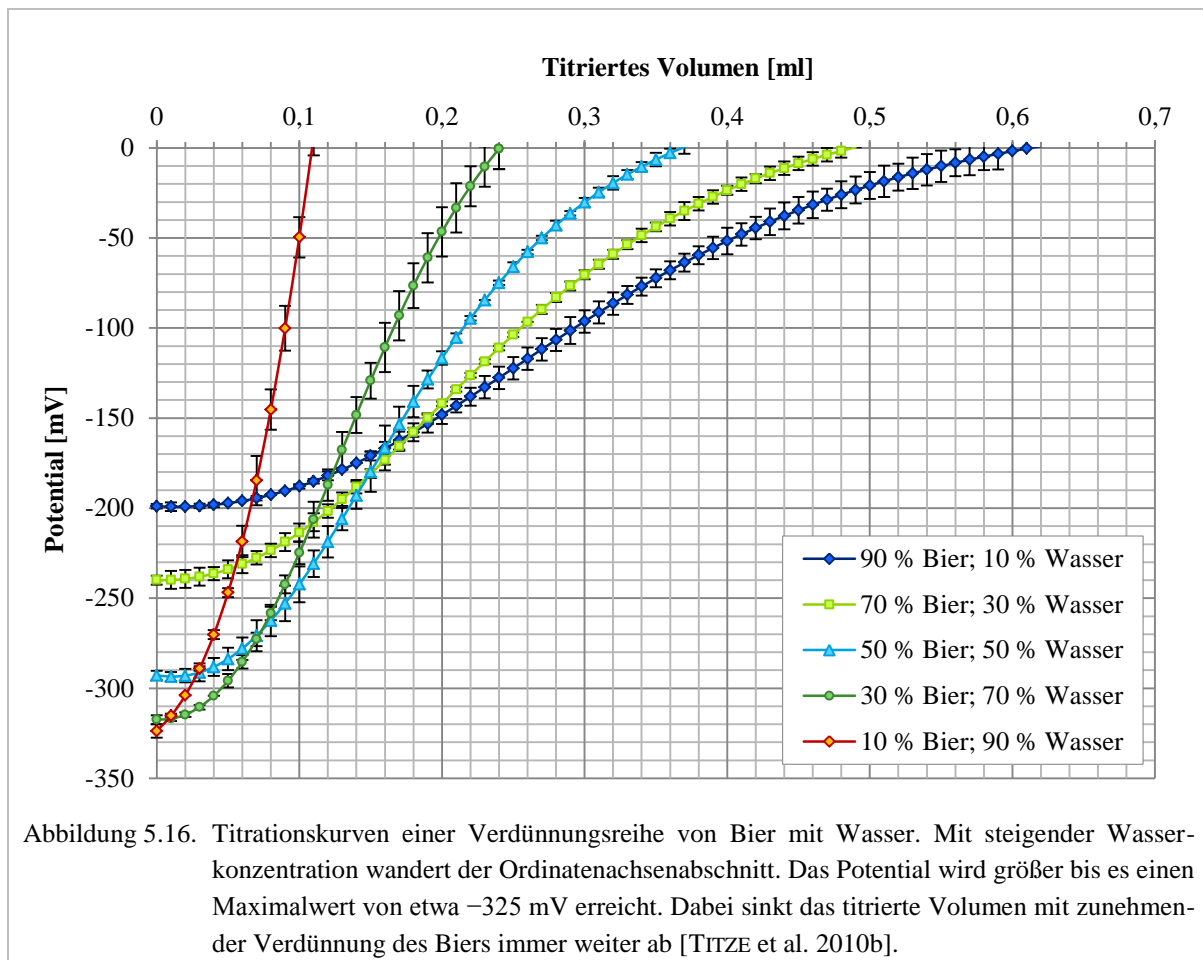


Im Gegenzug zum Ansteigen des Potentials sank die Leitfähigkeit bei einem Ausgangswert von  $1.850\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  mit zunehmender Verdünnung linear auf nahezu Null ( $17\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). Bei einer 1:1-Verdünnung von Wasser und Bier hat sich die Leitfähigkeit etwa halbiert. Mit einer Verdünnung der Bierprobe um 1 Vol.-% fiel die Leitfähigkeit um  $18\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  ( $\approx 1\%$ ).

Eine Änderung der Leitfähigkeit des Biers um nur 1 % hatte somit eine Veränderung des Potentials von 1,2 % zur Folge. Für manche Anwendungen wird ein Verdünnen der Probe empfohlen, um im PLD ein gut separierbares, hohes Messsignal zu erhalten. Voraussetzung ist aber höchste Genauigkeit bei der Probenverdünnung, um keine ungewollten Änderungen im PLD-Potential hervorzurufen.

Daher war es das Ziel dieser Arbeit, zunächst nur unverdünnte Bierproben zu messen. Um trotzdem ein gut separierbares Signal zu erhalten, wurde daher der Messspalt entsprechend verkleinert und so die Strömungsgeschwindigkeit erhöht, siehe Kapitel 4.1.2.9.

Abbildung 5.16 zeigt die Titrationskurven einer weiteren Verdünnungsreihe eines Biers. Zur besseren Übersichtlichkeit sind nur fünf Verdünnungsstufen dargestellt. Die Verschiebung des Ordinatenachsenabschnitts mit steigender Verdünnung lässt ebenfalls erkennen, wie sich das Potential einem Maximalwert annähert. Das titrierte Volumen hingegen nimmt ab.



Das in Abbildungen 5.5 und 5.9 diskutierte Potentialplateau oder -maximum zu Beginn einer Titration verschwindet in Abbildung 5.16 mit abnehmender Ausgangskonzentration der vorgelegten Bierkonzentration. Bei einer Biermenge von 10 % ist dann ein fast linearer Kurvenverlauf zu beobachten. In diesem Fall sind alle Partikel des Biers immobilisiert und tragen gleichermaßen zum Potentialsignal bei. Gemäß Beobachtungen reagiert das Signal sofort sensibel und geht in einen kontinuierlichen, monoton fallenden Kurvenverlauf bis hin zur Ladungsneutralität ( $= 0$  mV) über. MÜLLER konnte dies anhand von verdünnten PES-Na-Lösungen in einer Konzentrationsreihe zeigen [MÜLLER 1996]. Mit Hilfe der Verdünnungsreihe lässt sich die Adsorptionskapazität der PTFE-Oberfläche von Messzelle und -kolben grob abschätzen. So wird die Adsorptionskapazität für die Bierprobe in Abbildung 5.16 bei einer Bierkonzentration von etwa  $>30$  % erreicht. Die Kurve (30 % Bier,

70 % Wasser) besitzt nahezu kein Plateau oder Maximum und das Potential sinkt kontinuierlich mit zunehmender Titrationsmenge.

Die Titrationskurven in Abbildung 5.16 stellen charakteristische Funktionen dar, deren analytische Parameter in Tabelle 5.4 aufgeführt sind.

Tabelle 5.4. Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.16 [TITZE et al. 2010b].

Bierkonzentration [%]	Potential [mV]	Konfidenzintervall [mV]	Titriertes Volumen [ml]	$R^2$
90	-199	$-201 \leq \Psi \leq -197$	0,61	0,9998
70	-240	$-243 \leq \Psi \leq -236$	0,49	0,9996
50	-293	$-295 \leq \Psi \leq -291$	0,37	0,9999
30	-317	$-321 \leq \Psi \leq -314$	0,24	0,9998
10	-324	$-331 \leq \Psi \leq -316$	0,119	0,9996

Aus den Daten in Tabelle 5.4 geht hervor, dass sich die gemessenen Parameter signifikant differenzieren lassen. Zumindest für die ausgewählten Verdünnungsstufen können somit klare Aussagen über Potential und titriertes Volumen in Abhängigkeit der Verdünnung getroffen werden.

In Abbildung 5.17 sind die gemessenen Titrationsvolumina aus Abbildung 5.16 gegenüber der Bierkonzentration aufgetragen. Im Gegensatz zum Potential zeigt das titrierte Volumen einen linearen Verlauf über den gesamten Konzentrationsbereich. Beispielsweise ein Halbieren des Bieranteils bedeutete auch ein Halbieren der Partikelkonzentration und somit der Gesamtladung in der Probe (titriertes Volumen).

Die Regressionsgerade in Abbildung 5.17 wird über die Gleichung

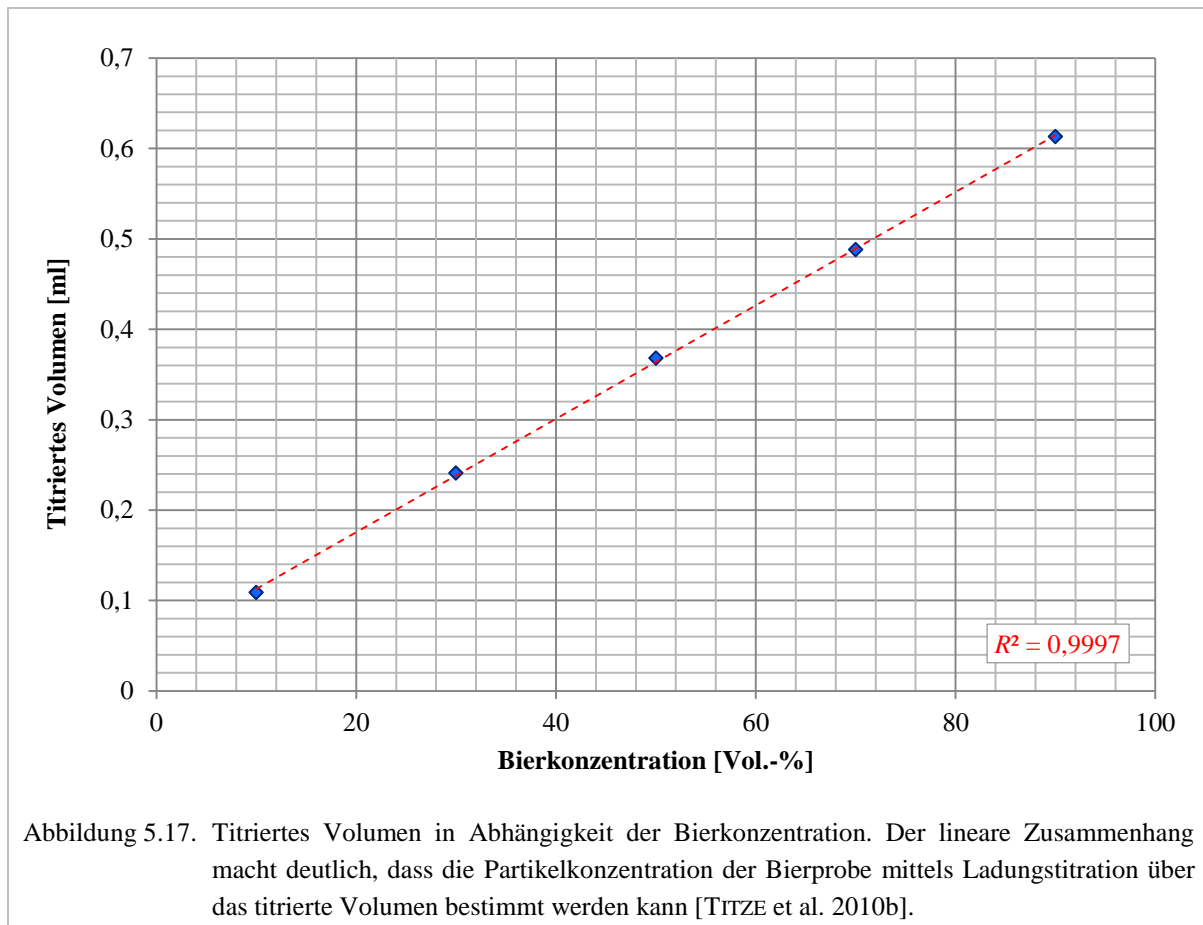
$$V = 0,0063 \text{ ml} \cdot \%^{-1} \cdot c + 0,05 \text{ ml} \quad (5.3)$$

ausgedrückt, wobei  $c$  die Bierkonzentration in Prozent darstellt. Der Ordinatenachsenabschnitt von 0,05 ml zeigt ein Offset, der als mögliche untere Messgrenze der Titrationsmenge dient. Dieser Wert liegt ebenfalls innerhalb der in Kapitel 5.1.8 berechneten Signifikanzgrenzen des titrierten Volumens von 0,1 ml.

Der lineare Zusammenhang verdeutlicht eine mögliche Quantifizierung der Bierpartikel mittels Ladungstitration über die Bestimmung der Partikeloberflächenladungen anhand des titrierten Volumens. Dabei wurde eine identische, homogene Bierprobe vorausgesetzt.

Zusammenhänge zwischen Partikelkonzentration und titrierbarer (Gesamt-)Ladungsmenge aus Polyelektrolytkonzentrationen wurden von TERTSCH mit Hilfe anionischer Modellpartikel (Latexpartikel) bereits bestätigt [TERTSCH 1993]. Hauptergebnis dieser Konzentrationsstudie war, dass eine Mindestkonzentration an Partikeln erforderlich ist, um korrekte Ladungswerte zu erhalten. Bei Unterschreiten dieser Konzentration war der Verbrauch an Titrationsreagenz größer als erwartet, zu niedrige Partikelkonzentrationen äußerten sich folglich in zu hohen Ladungswerten [TERTSCH 1993]. Dieser Effekt konnte aber bei einer minimalen Verdünnung auf 10 % Bier, wie Abbildung 5.17 beweist, nicht beobachtet werden. Demnach muss die kritische Mindestkonzentration der Partikel für Bier darunter liegen. Diese wird aber bei der

Anwendung der Ladungstitrationsmethode zur Vorhersagbarkeit der kolloidalen Stabilität untergäriger Biere nicht erreicht.



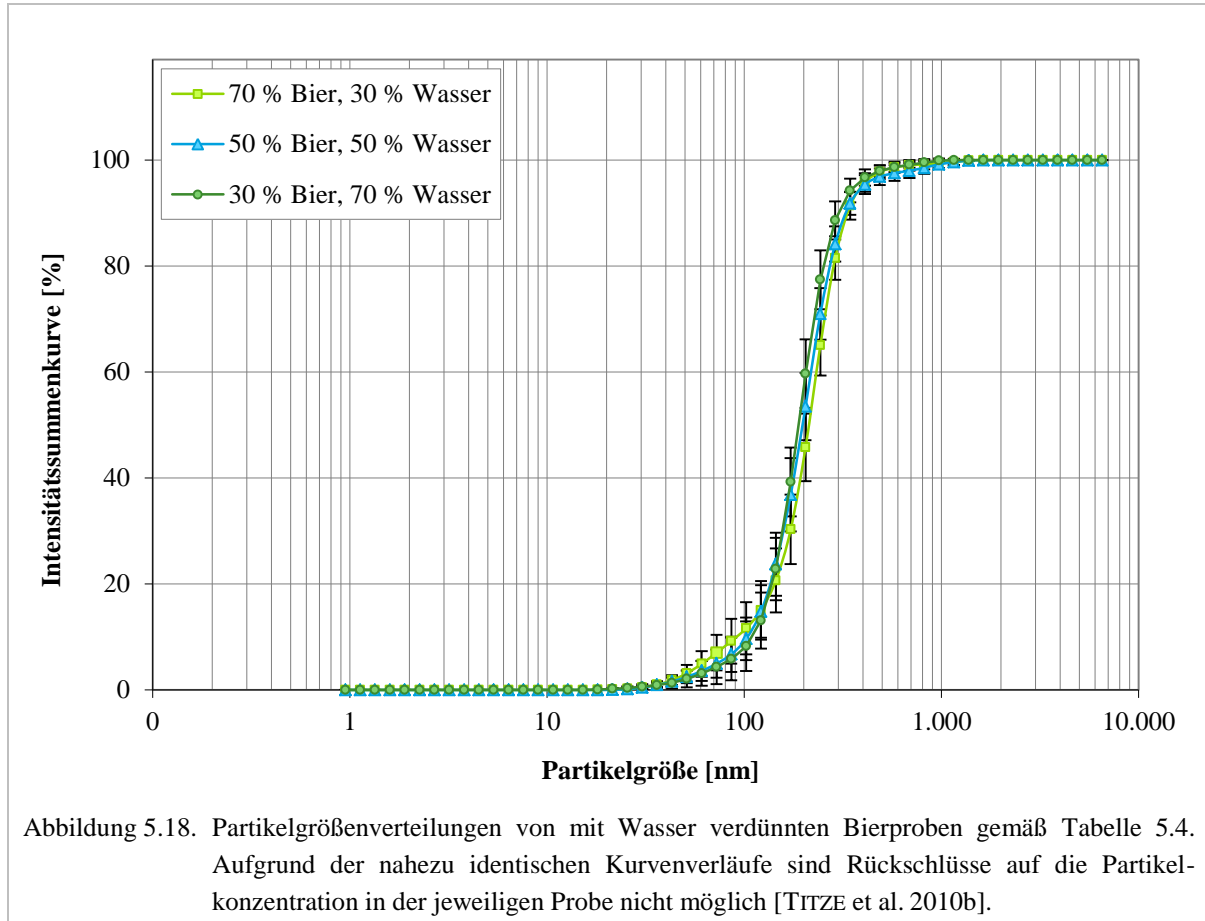
### 5.1.9.3 Partikelgrößenverteilung des Biers

Die Bedeutung der Möglichkeit, die Partikelmengen im Bier durch das titrierte Volumen zu quantifizieren, wird erst bei Betrachten der Partikelgrößenverteilung deutlich.

In Abbildung 5.18 sind Partikelgrößenverteilungen der drei mittleren Verdünnungsstufen aus Tabelle 5.4 zu sehen. Die einzelnen Partikelgrößenverteilungen zeigen keine signifikanten Unterschiede, da alle drei Summenfunktionen nahezu identische Kurvenverläufe aufweisen. Grund ist das stets konstante Verhältnis zwischen kleinen, mittelgroßen und großen Partikeln. Obwohl die Gesamtmenge mit zunehmender Verdünnung abnahm, blieben die Verhältnisse zwischen den Fein- und Grobanteilen der Partikel in der jeweiligen Probe immer konstant. So konnte von homogenem Probenmaterial ausgegangen werden.

Für diesen Versuch wurden bewusst die drei mittleren Mischungsverhältnisse gewählt, da sonst hauptsächlich messtechnische Ursachen für eine Verschiebung der Summenkurven sorgen können. Die gestreute Lichtintensität ist proportional zur sechsten Potenz des Partikeldurchmessers. So kann beispielsweise bei starker Verdünnung (Bieranteil <30 %) die Grenze des Messgeräts erreicht werden, bei der sich das Signal-Rausch-Verhältnis deutlich verschlechtert.

Wie das Beispiel beweist, ist eine Quantifizierung der Partikel im Bier allein mit der Partikelgrößenmessung nicht möglich. Aus diesem Grund wurde auch dieses Verfahren zur Charakterisierung der Partikel im Bier während der kombinierten Partikelanalytik mit der Ladungstitrationsmessung verknüpft.



### 5.1.10 Einfluss des pH-Werts

Eine weitere Voraussetzung für das reproduzierbare Bestimmen von Oberflächenpotential der Partikel und Gesamtladung der Probe ist ein definierter bzw. während der Messung konstanter pH-Wert der Probe, insbesondere bei der Messung in ungepufferten Systemen [Müller 1996]. Dazu wurde die Änderung des pH-Werts bei unterschiedlichen Bierproben während der Ladungstitrationsmessung bestimmt. Tabelle 5.5 zeigt die jeweiligen pH-Werte der Bierproben vor und nach der Titration.

Tabelle 5.5. Änderung des pH-Werts während der Ladungstitation unterschiedlicher Bierproben [eigene Messungen].

Bierprobe	titriertes Volumen [ml]	pH-Wert (Titrationsbeginn)	pH-Wert (Titrationsende)	$\Delta$ pH
<b>1</b>	1,64	4,43	4,38	0,05
<b>2</b>	0,52	4,46	4,40	0,06
<b>3</b>	0,41	4,37	4,34	0,03
<b>4</b>	1,34	4,53	4,51	0,02
<b>5</b>	1,33	4,49	4,47	0,02
<b>Mittelwert</b>	<b>1,05</b>	<b>4,46</b>	<b>4,42</b>	<b>0,036</b>

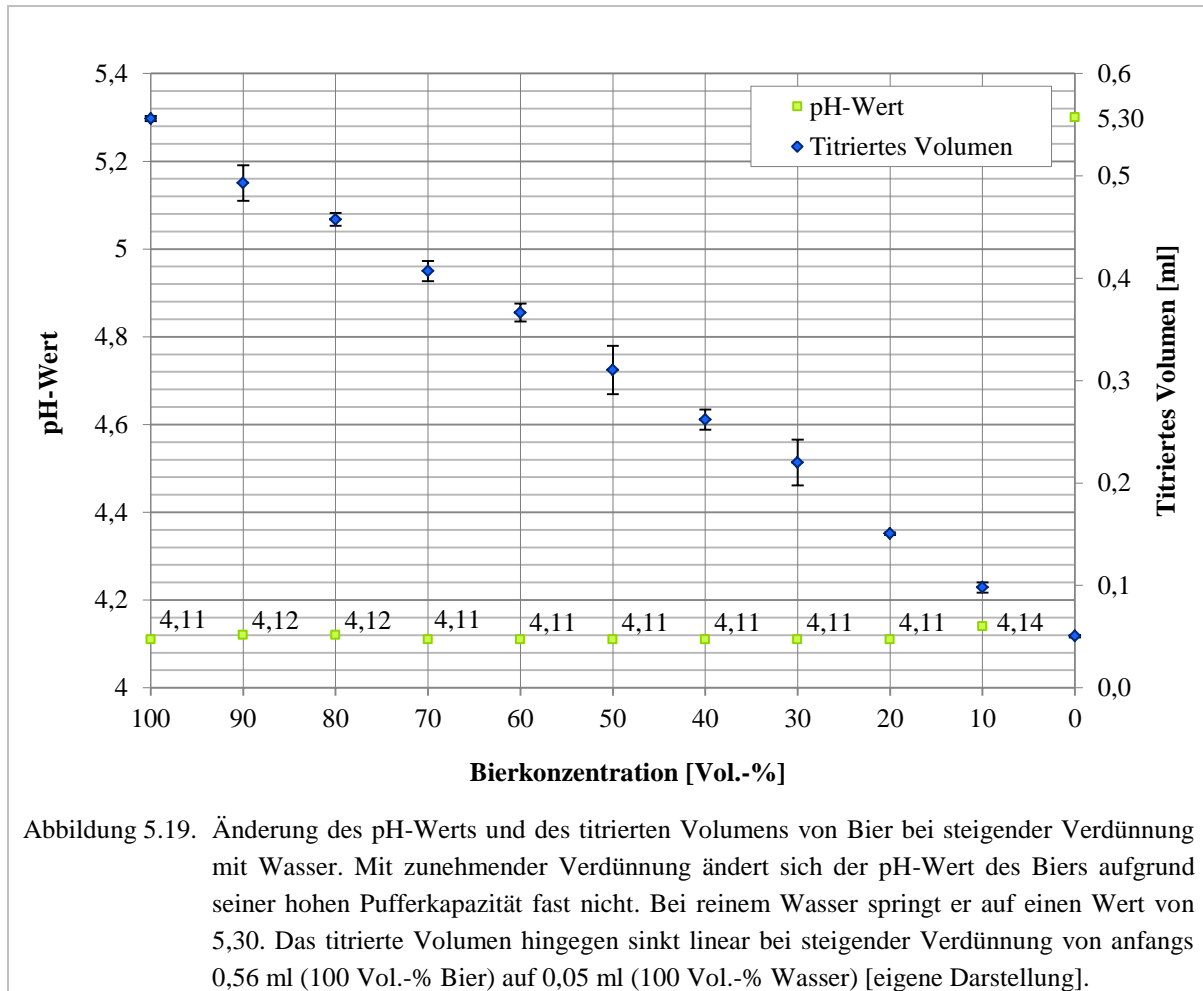
Aus den Ergebnissen in Tabelle 5.5 geht hervor, dass die Änderung des pH-Werts beinahe zu vernachlässigen ist. Zwischen den Werten zu Beginn und Ende lässt sich lediglich ein geringes Absinken des pH-Werts erkennen.

In einem weiteren Versuch wurde geprüft, wie sich der pH-Wert des Biers bei einer Verdünnung mit Wasser ändert und ob die pH-Wertänderung einen direkten Einfluss auf die titrierte Menge Polyelektrolytlösung hatte. Ausgangspunkt bildete dasselbe filtrierte, helle Vollbier aus der ersten Verdünnungsreihe in Kapitel 5.1.9.2, siehe Abbildung 5.15, welches in 10 Prozentschritten mit Reinstwasser verdünnt worden war. Für dieses wurde mittels Ladungstitation sowohl das titrierte Volumen als auch der pH-Wert bestimmt. Abbildung 5.19 zeigt zunächst den bereits im vorhergehenden Kapitel diskutierten, linearen Verlauf des titrierten Volumens. Zusätzlich wird der vor der Ladungstitation ermittelte pH-Wert der Proben dargestellt. Der pH-Wert des unverdünnten Biers betrug 4,11. Dieser relativ niedrige Wert lag aber noch innerhalb der Grenzen für die Durchschnittswerte bei Bieranalysen für Vollbier hell [VLB 2007]. Die Bestimmung des pH-Werts nach der MEBAK-Methode [MIEDANER 2002] wird hauptsächlich durch die Wahl der Entgasungsmethode beeinflusst. Unabhängig von der Qualität des Entgasungsvorgangs verbleibt immer eine CO<sub>2</sub>-Restkonzentration von etwa 2 g·l<sup>-1</sup> im Bier [BLÜML und FISCHER 2005]. Da alle Verdünnungsstufen mit demselben entgasten Bier ausgemischt wurden, war der Aspekt einer vollständigen Entgasung aber zu vernachlässigen.

Aus Abbildung 5.19 wird ersichtlich, dass nahezu keine pH-Wertänderungen im Zuge der Verdünnung mit Wasser stattgefunden hatten. Dies lässt sich auf das hohe Puffervermögen des Biers zurückführen. Es beruht hauptsächlich auf der Anwesenheit schwacher Säuren und deren Salze, primärer und sekundärer Phosphate, Eiweißstoffe sowie deren Abbauprodukte im Bier [MIEDANER 2002]. Der Begriff des Puffersystems wird ausführlich in Kapitel 3.3 diskutiert.

Die Pufferwirkung bleibt gemäß Versuch erhalten, solange die Probe einen Anteil an Bier enthält. Bis zu einer Konzentration von 10 % Bier ändert sich der pH-Wert dieser Lösungen also nicht, obwohl sich die Konzentration der Wasserstoffionen durch Wasserzugabe verringerte. Die Probe besitzt immer noch eine bestimmte Pufferkapazität.

Für reines, salzfreies, "ungepuffertes" Wasser wurde ein pH-Wert von 5,3 gemessen. Reines Wasser nimmt Kohlenstoffdioxid aus der Luft auf. Durch die Bildung von Kohlensäure ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), die zu Hydrogencarbonat- und Wasserstoffionen dissoziiert, stellt sich deshalb ein pH-Wert von knapp 5 ein, statt eines rechnerischen pH-Werts nahe 7 [MÜLLER 1996].



Ein weiterer Aspekt im Zusammenhang mit dem pH-Wert musste geprüft werden. Ziel war der Vergleich von frischen und gealterten Bieren gleicher Abfüllung. Deutliche Veränderungen des pH-Werts können im Zuge der Alterung signifikanten Einfluss auf das Ergebnis der Ladungstitation haben. Mit Hilfe einer Langzeitstudie von 131 Tagen wurden die Änderungen des pH-Werts von Bier während des Alterungsprozesses gemessen. Dabei zeigte sich, dass der pH-Wert von anfänglich 4,34 auf lediglich 4,37 anstieg<sup>25</sup>.

Grund für den leichten Anstieg konnte auch die Tatsache sein, dass die Bierprobe in 0,5 l-NRW-Glasflaschen abgefüllt wurde. So konnte mit der Zeit über den Kronenkorkverschluss  $\text{CO}_2$  entweichen. Dadurch sank die Kohlensäurekonzentration in der Bierprobe mit der Zeit und der pH-Wert stieg leicht an.

<sup>25</sup> Die Einzeldaten der Langzeituntersuchung sind im Anhang (Kapitel 8, Tabelle 8.12) aufgeführt.



Insgesamt kann der Einfluss des pH-Werts auf die Ladungstitrationsmessung bei Bier als minimal bezeichnet werden, da Bier im Allgemeinen ein ausgezeichnetes Puffersystem darstellt [MIEDANER 2002, NARZISS 2004, BACK 2008]. Er ist daher zu vernachlässigen.

## 5.2 Charakterisierung unterschiedlich stabilisierter Biere während der Alterung

Wie in Kapitel 2.9 ausführlich beschrieben, verlieren filtrierte Biere im Laufe der Zeit ihre Glanzfeinheit durch kolloidale Trübungsbildung. Die Trübung wird dabei hervorgerufen aufgrund der Entstehung sichtbarer Kolloide infolge von Wechselwirkungen zwischen den Partikeln im Bier. Mit Hilfe der Trübungsmessung<sup>26</sup> kann dieser Vorgang beobachtet und beschrieben werden.

### 5.2.1 Trübungskurven und -ausbildung während des Alterungsprozesses

Zur Charakterisierung der Trübungsstabilität von Bier lassen sich drei grundsätzliche Testmethoden<sup>27</sup> unterscheiden [MÉLOTTE 2008]:

1. *Actual Colloidal Stability Follow-up* (Real-Time-Test),
2. *Predictive Forcing Tests* (prädikativer Forciertest) und
3. *Indicative Tests* (indikative Testmethode).

Während auf die ersten beiden Methoden in den nachfolgenden Kapiteln eingegangen wird, soll der dritte Test nur kurz erwähnt werden. Mittels *Indicative Tests* werden einzelne trübungsrelevante Stoffe quantitativ erfasst, indem der Bierprobe bestimmte Substanzen zugegeben werden. Diese reagieren dann mit den Inhaltsstoffen und bilden eine Trübung aus. Auch hier können nicht immer akkurate oder sogar quantitative Ergebnisse erwartet werden, so dass sich ihre Anwendbarkeit oft nur auf die Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlich behandelten Bieren gleicher Chargen beschränkt [LEIPER und MIEDL 2009].

#### 5.2.1.1 Trübungsverlauf im Real-Time-Test

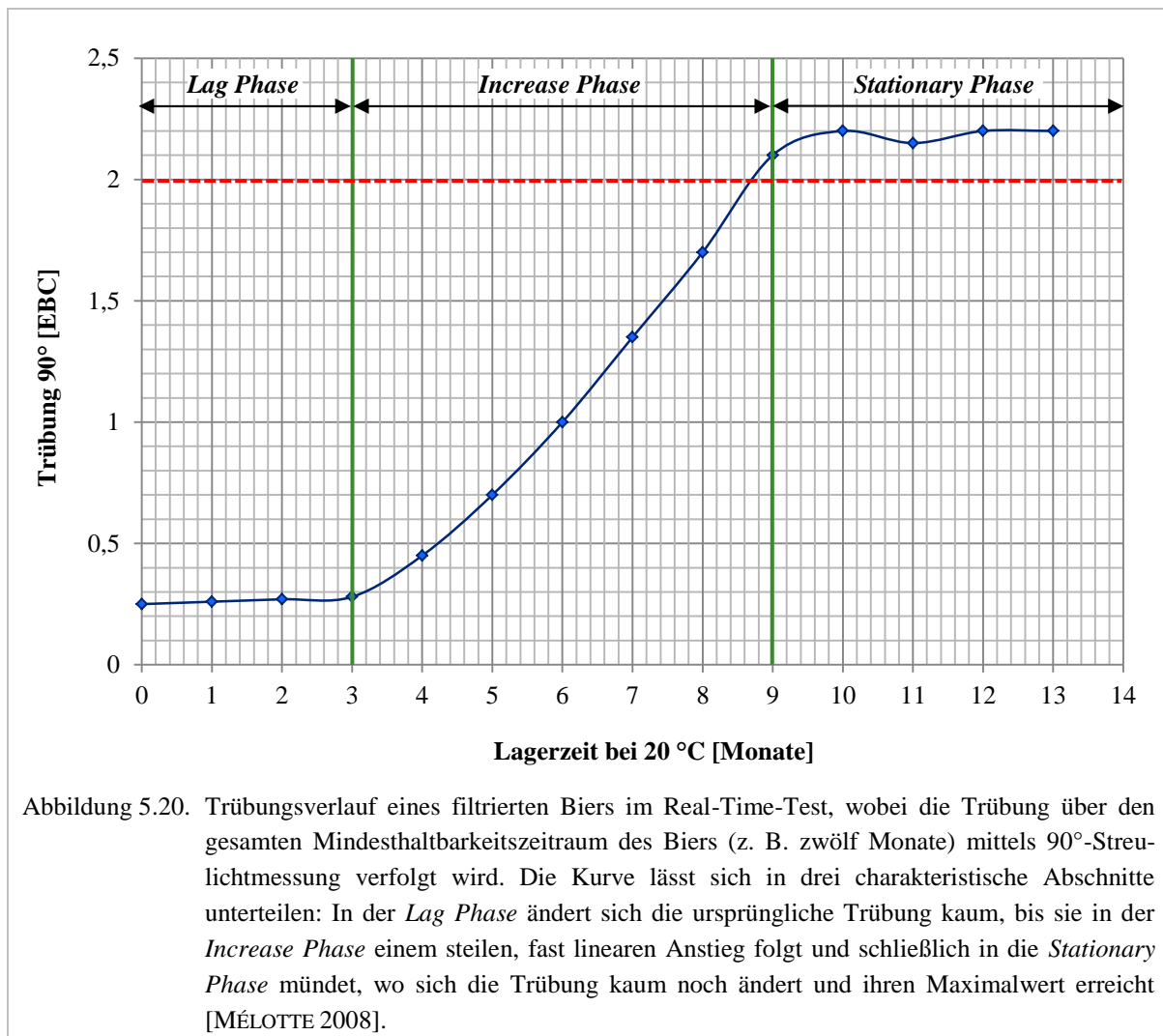
Bei der ersten Methode wird das Bier über seinen gesamten Mindesthaltbarkeitszeitraum bei 20 °C gelagert und dessen Trübungsentwicklung gemessen. Eine typische Trübungskurve zeigt Abbildung 5.20. Daraus wird deutlich, dass sich der Trübungsprozess in drei Phasen gliedert [MÉLOTTE 2008]: In der ersten Phase, der sogenannten *Lag Phase* oder *Latency Phase*, ändert sich der Anfangswert der Trübung nur minimal. Die Trübung bleibt in dieser Zeit stabil. Abhängig von der kolloidalen Stabilität des Biers kann dieser Zustand einige Monate anhalten. Je größer die *Lag Phase*, desto höher ist die kolloidale Stabilität des Biers.

<sup>26</sup>Die eingesetzte Trübungsmesstechnik mit 90°-Streulichtmessung ist in Kapitel 4.5 aufgeführt.

<sup>27</sup>Die Bezeichnungen der Methoden zur Trübungsstabilität und deren Verlaufsmerkmale werden in der englischen Originalbezeichnung (*in kursiver Schrift*) wiedergegeben, da die deutsche Übersetzung etwas ungewöhnlich klingt.

In der zweiten Phase, der *Increase Phase*, lässt sich ein schneller und plötzlicher, linearer Anstieg der Trübung beobachten. Dabei werden häufig Trübungswerte über 2 EBC erreicht, bei denen das Bier meist schon eine visuell wahrnehmbare Opaleszenz besitzt. Die Trübungsbildungsrate (Steigung der Kurve) in der *Increase Phase* hängt stark vom Biertyp ab [MÉLOTTE 2008].

Die zweite Phase geht dann in eine dritte über, wenn die Trübungszunahme sich nur noch wenig bis gar nicht mehr ändert. Daher wird sie auch *Stationary Phase* genannt. Die Trübung erreicht schließlich ihren Maximalwert, der wiederum stark vom jeweiligen Biertypus abhängt.



Der dargestellte Real-Time-Test ist sehr zeitintensiv und für die praktische Anwendung eher ungeeignet, da auch keine Voraussagen über die Langzeitstabilität des Biers möglich sind. Der dargestellte Kurvenverlauf in Abbildung 5.20 ist aber trotzdem von praktischer Bedeutung, da seine Charakteristik auch bei der zweiten Testmethode des *Predictive Forcing Test* eine Rolle spielt.

### 5.2.1.2 Trübungsverlauf während eines Langzeit-Forciertests

Forciertests sind künstliche Alterungsmethoden, die den Trübungsprozess beschleunigen. Sie stellen das häufigste Verfahren in Brauereien zur Bestimmung der chemisch-physikalischen Stabilität dar. Grundsätzlich sind hier zwei Optionen üblich:

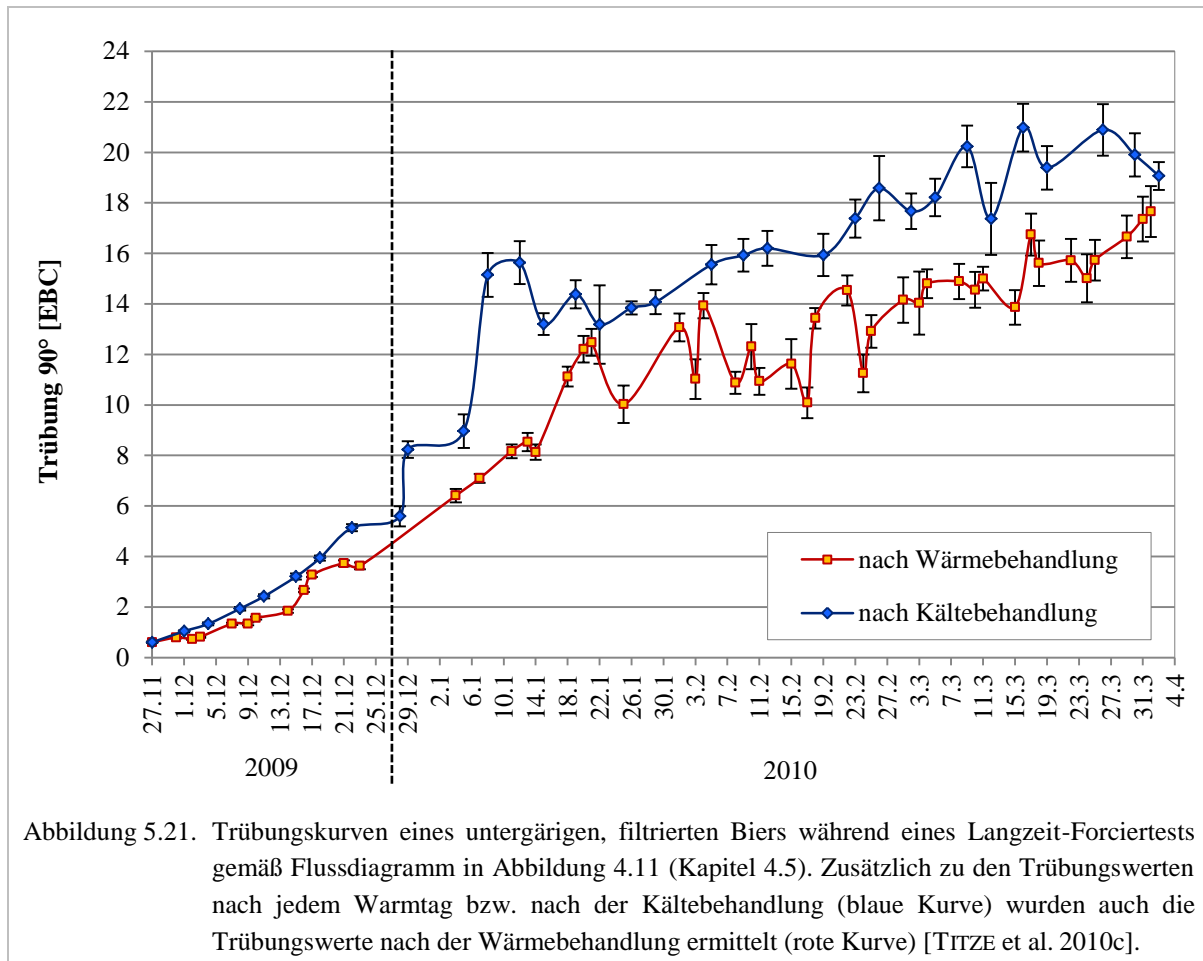
1. Messen der Trübungsbildung, d. h. Bestimmen der *Lag Phase* oder
2. Ermitteln des Trübungswerts nach einem festgelegten Zeitpunkt.

Mit Hilfe eines Langzeit-Forciertests wurde überprüft, ob sich der in 5.2.1.1 diskutierte Kurvenverlauf aus Abbildung 5.20 auch auf das Trübungsverhalten des Biers bei künstlicher Alterung übertragen lässt. Dazu wurden neun Flaschen<sup>28</sup> derselben Abfüllung eines gut stabilisierten, untergärigen Biers dem in Kapitel 4.5 beschriebenen Forciertest unterzogen.

Abbildung 5.21 zeigt anhand zweier Trübungskurven die Ergebnisse des Langzeit-Forciertests. Die Messpunkte sind Mittelwerte mit Konfidenzintervallen, bestimmt aus den jeweiligen Einzelwerten der neun Bierflaschen. Ergänzend zum Durchführungsschema in Kapitel 4.5, dargestellt als Flussdiagramm in Abbildung 4.11, wurde für diesen Versuch nach jeder Wärmebehandlung noch eine zusätzliche Trübungsmessung bei 20 °C durchgeführt. Die erste Kurve (rot) zeigt also alle Ergebnisse nach der 24-stündigen Wärmebehandlung und die zweite Kurve (blau) die Daten nach 24 Stunden Kältebehandlung. Gemäß Abbildung 4.11 stellt die blaue Kurve die Werte nach jedem vollständigen Warmtag (Wärme- plus Kältebehandlung = 48 Stunden) dar. Laut Flussdiagramm wäre der Forciertest nach 10 Warmtagen zu beenden gewesen, da der Trübungswert am 11. Dezember 2009 über 2 EBC lag. Abweichend von der MEBAK-Vorschrift wurde die Trübungsmessung nach jedem Warmtag bei 20 °C statt bei 0 °C durchgeführt. Der Forciertest wäre in diesem Fall sogar schon früher beendet.

---

<sup>28</sup>Ursprünglich waren zehn Flaschen für diesen Versuch vorgesehen, von denen aber eine gleich nach dem ersten Warmtag geplatzt war.



Zunächst ließ sich insbesondere bei der roten Kurve eine *Lag Phase* bis zum 03.12.2009 erkennen, in der die Trübungswerte zwischen 0,6 und 0,8 EBC lagen. Danach stiegen beide Kurven bis zum 22.01.2010 an (*Increase Phase*). Nach diesem Zeitpunkt nahm die Trübung nur noch langsam zu. Die Kurven gingen nach ungefähr drei Monaten in einen fast stationären Zustand (*Stationary Phase*) über.

Weiterhin wurden die berechneten Konfidenzintervalle ab einer Trübung von etwa 10 EBC immer größer. Die Wiederholbarkeit der Messung verschlechterte sich folglich. Dies deutete einerseits auf die Messgrenze des Geräts hin. Andererseits könnten die Messungenauigkeiten auch auf dem leichten Bodensatz beruhen, der sich nach ungefähr zwei Monaten bei allen neun Bierproben ausbildete. Abhängig von der Probenbehandlung während der Messung, beispielsweise durch leichtes Aufwirbeln des Bodensatzes, sind trotz identischer Probe deutliche Trübungsunterschiede möglich. Insgesamt konnte für die Trübungskurven des Biers bei der künstlichen Alterung aber ein ähnlicher Verlauf nachgewiesen werden, wie beim Real-Time-Test.

Nachdem alle Partikel der Bierprobe zu größeren Einheiten agglomeriert sind, müssten die Trübungskurven theoretisch wieder sinken. Nach Erreichen einer kritischen Partikelgröße kann die BROWNSCHE Molekularbewegung den Einfluss der Gravitationskraft nicht mehr aufheben. Die Partikel sedimentieren und das Bier klart wieder aus. Vergleichen ließe sich dieser Vorgang mit dem Ausklaren trüber Weißbiere, erläutert in Kapitel 5.6.2.

### 5.2.1.3 Trübungsbildung bei Kälte- und Wärmebehandlung

Besonders auffällig ist der signifikante Unterschied beider Kurven im Zuge des Langzeit-Forciertests in Abbildung 5.21. Hier lag der Trübungswert nach der Wärmebehandlung stets unterhalb des Werts der zuvor durchgeführten Kältebehandlung, obwohl beide Trübungsbestimmungen bei derselben Messtemperatur von 20 °C durchgeführt wurden. Die Ursache könnte in einer ungenügenden Aufwärmphase auf 20 °C von etwa 40 Minuten sein. Diese ist womöglich zu kurz, um die Kälte-trübung nach der langen Kältephase von 24 Stunden vollständig aufzulösen.

Aus diesem Grund erfolgte eine genauere Betrachtung der Bildung der Kälte-trübung. Laut Ausführungen in Kapitel 2.9 wird vor allem die Trübungsentstehung im Bier durch die Komplexbildung zwischen Proteinen und Polyphenolen in der Literatur erklärt [GOMEZ und LEWIS 1969, GRAMSHAW 1969, GRAMSHAW 1970a, GRAMSHAW 1970b, DADIC und BELLEAU 1980, WACKERBAUER und ANGER 1984, LUCK et al. 1994, CHARLTON et al. 2002, SIEBERT 2006]. Der Bildungsprozess, dargestellt in Abbildung 2.22, zeigt dabei häufig eine zunächst reversible Verbindung zwischen Protein und Polyphenol (Kälte-trübung). Diese wird später als unlöslicher Komplex beispielsweise durch den Einfluss von Metallionen oder Sauerstoff gefällt und geht in eine Dauer-trübung über [CHAPON 1994, LUCK et al. 1994, O'ROURKE 1994, HASLAM 1998, SIEBERT 1999a, SIEBERT 1999b]. Ebenfalls Einigkeit herrscht darüber, dass sowohl Zusammensetzung als auch Ausbilden der Kälte-trübung identisch mit der Dauer-trübung sind [POWER und RYDER 1989-1991]. Eine chemisch-physikalische Erklärung für die zunächst reversible Kälte-trübung bleiben die meisten Autoren aber schuldig.

Es scheint daher nicht ganz plausibel, dass ein bereits formierter Komplex zunächst reversibel und später irreversibel sein soll. Ein neuer Erklärungsansatz für die Reversibilität der Kälte-trübung wird daher an dieser Stelle aufgezeigt und diskutiert. Hierbei nimmt die Wasserbindung von Proteinen eine zentrale Rolle ein.

Grundsätzlich müssen zunächst drei unterschiedliche Bindungsformen von Wasser unterschieden werden [TERNES 2008]:

1. gebundenes Wasser,
2. immobilisiertes Wasser und
3. freies Wasser.

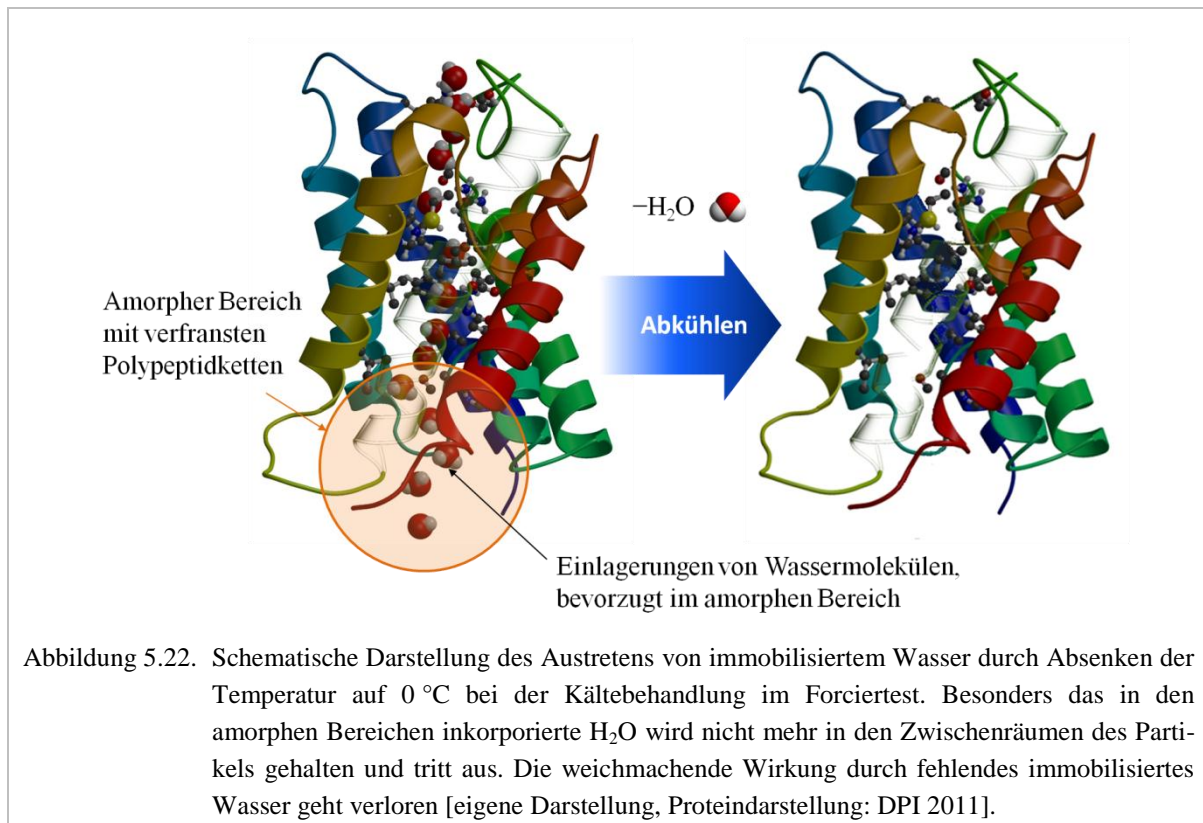
Gebundenes Wasser ist durch Wasserstoffbrückenbindungen entweder an polare Gruppen von Makromolekülen, beispielsweise Hydroxyl- oder Carboxylgruppen oder über ionisierte Gruppen fixiert [TERNES 2008]. Dadurch entsteht an Makromolekülen oder Ionen ein monomolekularer Film von H<sub>2</sub>O-Molekülen, der auch als erste Wasserschicht bezeichnet wird. An dieser Hydrathülle können sich durch Wechselwirkungen mit der monomolekularen Schicht weitere Wassermoleküle anlagern. Die zweite Schicht wird dabei als immobilisiertes Wasser bezeichnet. Freies Wasser hingegen unterscheidet sich in seinen thermodynamischen Eigenschaften von gebundenem und immobilisiertem Wasser in der Umgebung des Makromoleküls.

So kann gebundenes Wasser an Makromolekülen nicht wie freies Wasser ausfrieren. Außerdem besitzt Wasser der zweiten Schicht einen erniedrigten Gefrierpunkt [TERNES 2008].

Wasser kann durch verschiedene Makromoleküle wie Stärke, Pektine und Proteine gebunden werden. Es hat die Funktion eines Weichmachers, da es sich in den amorphen Bereichen des Moleküls einlagern kann. Dadurch verändert sich insgesamt die physikalische Eigenschaft des Makromoleküls [TERNES 2008].

Die Partikel im Bier bestehen vorwiegend aus proteinischen Substanzen. Polypeptide und Proteine besitzen Wasserbindungsvermögen, wobei jede Aminosäure durchschnittlich drei Moleküle Wasser binden kann [VOSTROWSKY 2005]. Pro Gramm Protein werden folglich ungefähr 0,3 g bis 0,5 g immobiles, nicht gefrierbares Wasser in der näheren Sphäre der Polypeptidkette angeordnet [TERNES 2008].

Wird die Temperatur des Biers beispielsweise während der Kältebehandlung im Forciertest stark erniedrigt, findet Synärese statt. Dieser Vorgang ist in Abbildung 5.22 schematisch dargestellt. Das im Partikel (z. B. Protein) zuvor eingelagerte Wasser tritt aus.



Vergleichen lässt sich dieser Mechanismus mit der Retrogradation von Stärkelösungen (Stärkekleistern). Deren besondere Eigenschaften sind die Erhöhung des Ordnungszustands unter Verringerung der Kaltwasserlöslichkeit und die Zunahme von Trübungserscheinungen [TERNES 2008]. Die Retrogradation der Stärke wird dabei durch niedrige Temperaturen stark begünstigt, insbesondere in einem Temperaturbereich von -8 °C und +8 °C [TERNES 2008].

Durch die niedrige Temperatur wird das ursprüngliche Wasserbindungsvermögen der Partikel stark reduziert und das kolloidale System stärker in zwei Phasen aufgetrennt: Flüssigkeit und feste bzw. halb feste Bestandteile. Dabei ändert sich durch die Verdichtung der Einzelphase die Grenzfläche.

Grundsätzlich wird an der Grenzfläche zwischen Partikel und Wasser Licht gebrochen und reflektiert, da beide Medien unterschiedliche Brechungsindices aufweisen. Der Partikel stellt zwar das optisch dichtere Medium dar, wird aber durch die eingelagerten Wassermoleküle in seiner Gesamtstruktur immer wieder unterbrochen. So ist das Partikel im Wasser unsichtbar. Erst nach Austreten des Wassers bildet sich eine einheitlichere Grenzfläche aus, die groß genug erscheint, um von Mensch oder Messgerät wahrgenommen zu werden. Dies könnte erklären, warum blank filtrierte Biere in der Kälte trüb werden und die Trübung sich nach Erwärmen durch Einlagern von H<sub>2</sub>O in die Partikel wieder auflöst.

Der kontinuierliche Anstieg der Kälte trübung (blaue Kurve in Abbildung 5.21) erfolgt im Lauf des Alterungsprozesses fast parallel zur Trübungszunahme nach der Wärmebehandlung. Gemäß Kapitel 2.9.2 ist die Wärmebehandlung der maßgebliche Einflussfaktor der forcierten Alterung auf die Biertrübung. Brauereien setzen häufig nur die Wärmebehandlung zur Alterung des Biers ein und ergänzen am Ende des Forciertests lediglich eine Kältephase, um den Vorteil höherer Kälte trübungswerte zu nutzen.

Somit muss die treibende Kraft der Trübungsbildung die BROWNSCHE Molekularbewegung sein, da sie hauptsächlich für Zusammenstöße der Partikel im Bier verantwortlich ist. Nach den Ausführungen in Kapitel 2.6.1 zur DLVO-Theorie kommt es dann zu einem Aneinanderlagern der Partikel, wenn die Energiebarriere  $E_{\max}$  überwunden wurde.

Für die während der Wärmebehandlung bereits agglomerierten Partikel findet ebenfalls der Synäreseffekt bei Kältebehandlung statt. Er verstärkt zusätzlich die Wahrnehmung der Trübung. Dies belegt, dass die Trübungskurve nach der Kältebehandlung auch nach Agglomeration der meisten Partikel immer noch über der Wärmebehandlungskurve liegt. Allein deshalb scheint die Behauptung unlogisch, die Trübung steige in der Kälte immer wieder an, auch nachdem die meisten Proteine und Polyphenole einen irreversiblen Komplex gebildet haben.

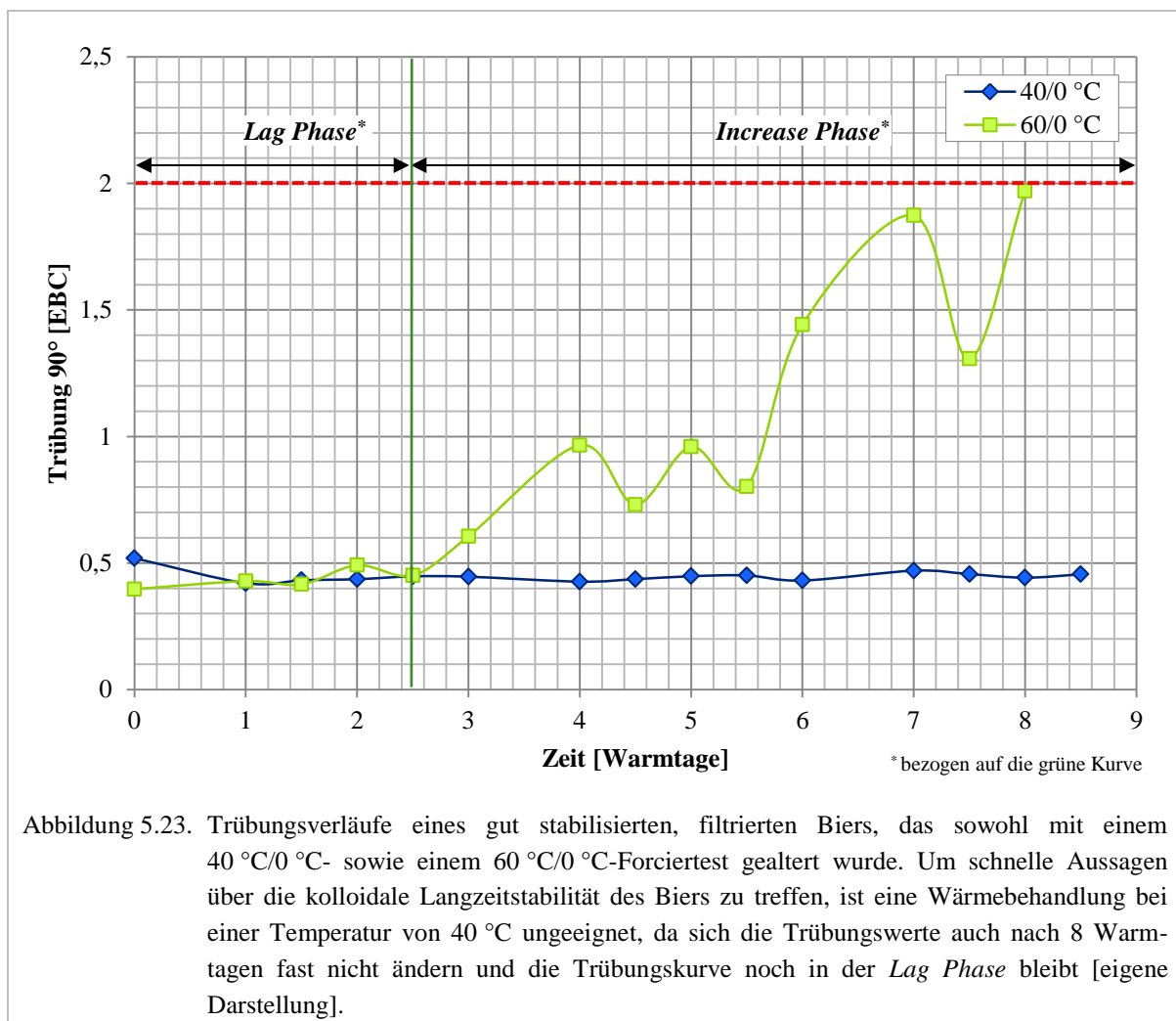
Aus den oben genannten Gründen ist die Theorie der Kälte trübung mittels Synäreseffekt wahrscheinlicher, als die Theorie der reversiblen Komplexbildung zwischen Proteinen und Polyphenolen. Das soll aber nicht heißen, dass die Komplexbildung bei der Trübung des Biers gänzlich auszuschließen ist. Sie scheint allerdings eine eher untergeordnete Rolle zu spielen.

Es wurde weiterhin diskutiert, dass sich der Alterungsprozess durch Erwärmen des Biers beschleunigen lässt. Dieser Effekt hängt maßgeblich von der Höhe der Temperatur ab. Das Fördern der Trübungsbildung durch hohe Temperaturen, sei es durch Hitzebehandlung oder höhere Lagertemperaturen des abgefüllten Biers, wurde bereits in einigen Publikationen bewiesen [SCHUR 1979, STEWART 2004, KUSCHE und GEIGER 2007].

Nach MEBAK-Vorschrift ist eine Wärmebehandlung für schwach stabilisierte Biere von 40 °C und für stark stabilisierte Biere von 60 °C vorgesehen. Diese wird abwechselnd von einer Kältebehandlung bei 0 °C unterbrochen.

Mit Hilfe eines gut stabilisierten Biers wurde der Einfluss der Temperaturen beider Wärmebehandlungen auf die Trübungsbildung geprüft. Abbildung 5.23 stellt die Trübungskurven für ein Bier dar, das einer Wärmebehandlung sowohl mit 40 °C (blaue Kurve) als auch mit 60 °C (grüne Kurve) unterzogen wurde. Während sich bei 40 °C auch nach 8 Warmtagen keine Trübungsänderung beobachten ließ, zeigte die Trübungskurve für 60 °C bereits nach 2,5 Warmtagen den Beginn des linearen Anstiegs der *Increase Phase*. Die Wahl der Temperatur ist je nach Art der Bierstabilisierung also entscheidend für den aussagekräftigen Zeitraum des Forciertests.

Abbildung 5.23 zeigt, dass die Messwerte nach einem halben Warmtag (nach der Wärmebehandlung) immer unterhalb der zuvor ermittelten Werte nach einem ganzen Warmtag (nach der Kältebehandlung) lagen.



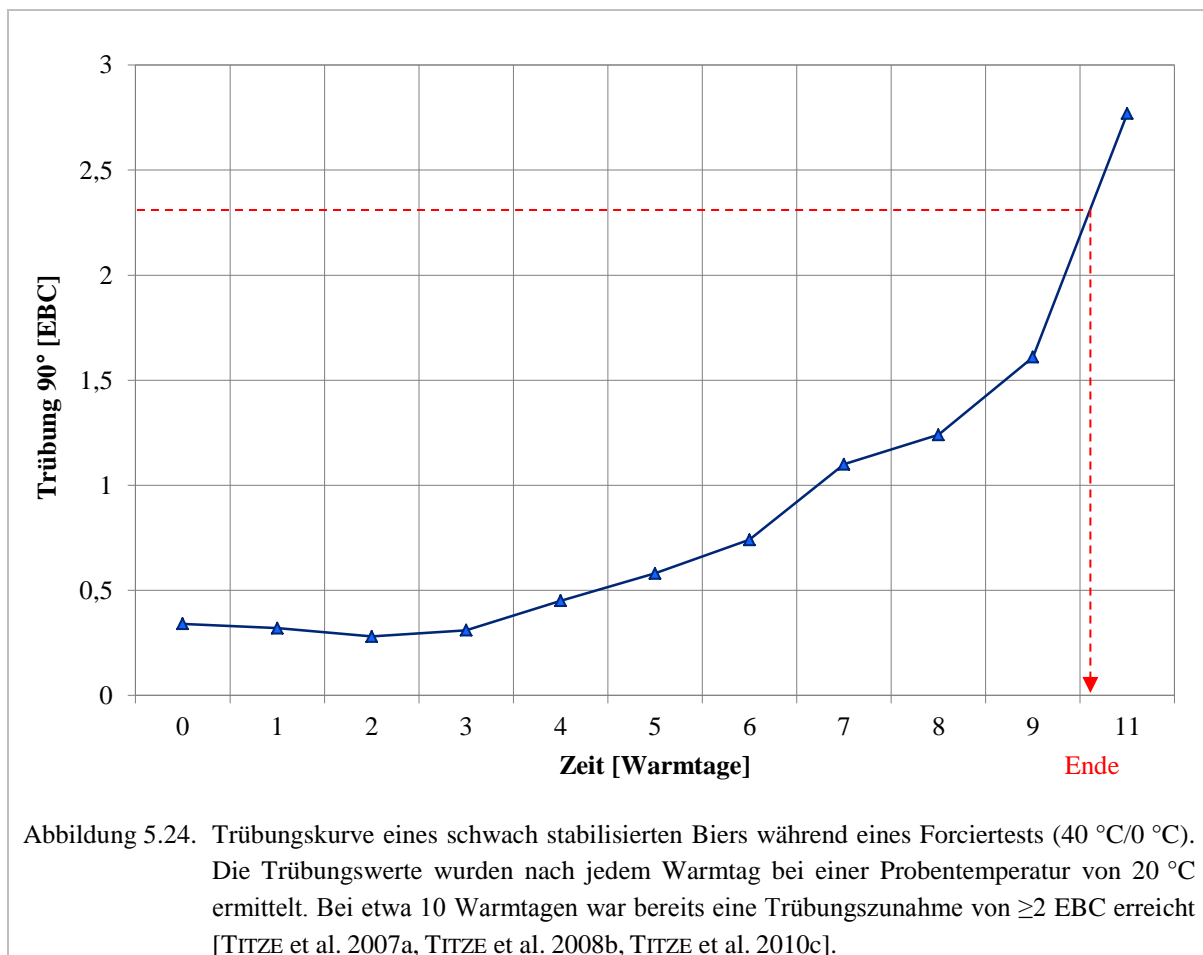
Neben einer Temperaturerhöhung könnte die notwendige kinetische Energie zum Überwinden der vorhandenen Energiebarriere zwischen den Partikeln auch durch Rühr- und Schüttelvorgänge ins Bier eingebracht werden. Problematisch wäre aber eventuell der höhere Energieeintrag im Vergleich zu dem durch die thermische Diffusionsbewegung. So werden Partikelaggregationen möglich, die unter Ruhebedingungen auch bei höheren Temperaturen allein nicht stattfinden könnten.



In diesen Fällen würde das Ergebnis keine oder nur beschränkte Aussagen über die chemisch-physikalische Stabilität des Biers unter normalen Transport- und Lagerbedingungen erlauben. Ergänzend zu Temperatur und mechanischen Bewegungen wird oft ein weiterer äußerer Faktor genannt, der die kolloidale Stabilität beeinflussen kann: der Einfall von Sonnenlicht oder dem Licht bestimmter Beleuchtungskörper, welches durch das Glas der Flasche ins Bier gelangt [BELLMER 1977, SCHUR 1979, SCHUR 1980a, STEWART 2004]. Ein optimales Aufbewahren des abgefüllten Biers erfolgt daher im Dunkeln, bei Temperaturen von 8 °C bis 10 °C [PFENNINGER 1987].

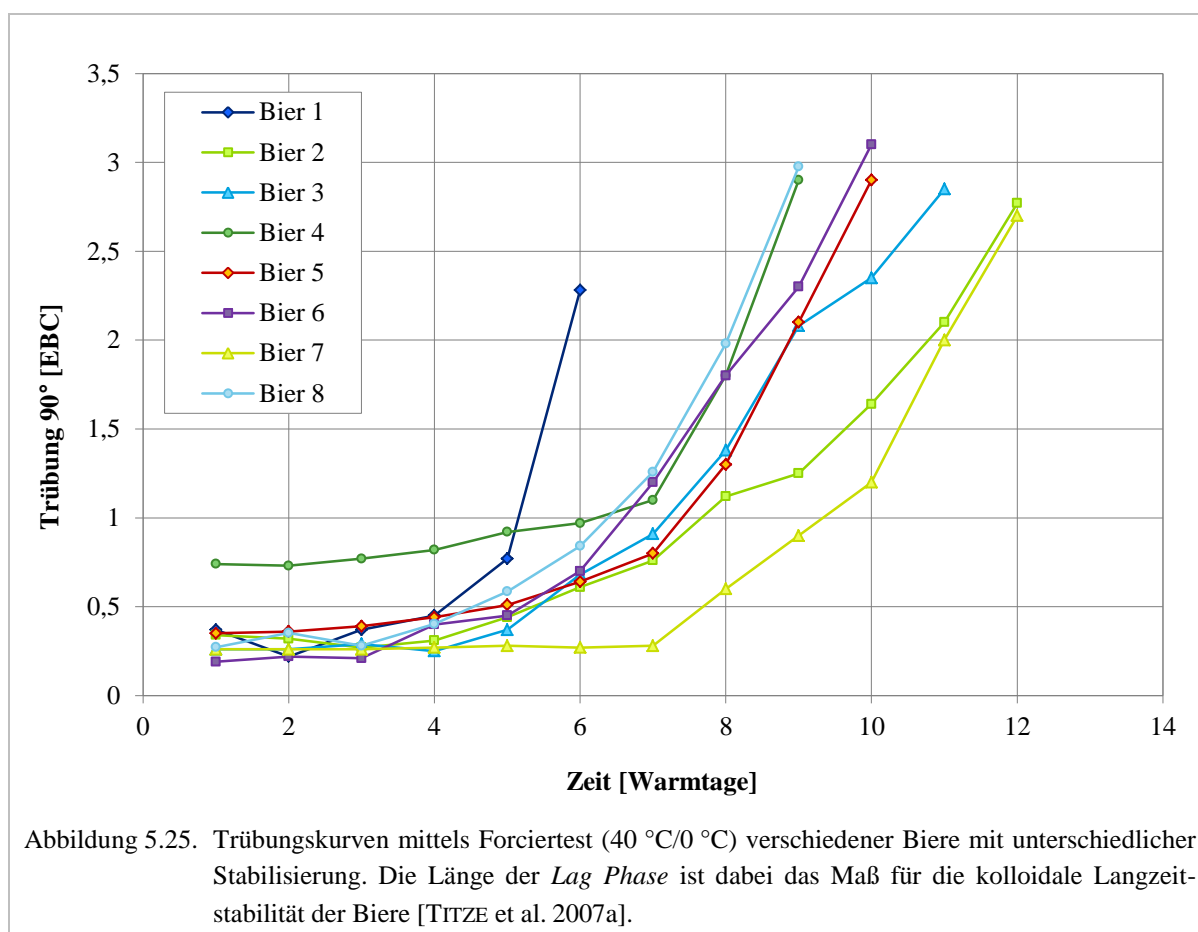
#### 5.2.1.4 Trübungsverlauf eines schwach stabilisierten Biers

Abbildung 5.24 stellt die Trübungskurve eines schwach stabilisierten Biers dar. Die Trübungswerte wurden nach jedem Warmtag bei einer Probestemperatur von 20 °C ermittelt. Die künstliche Alterung wurde dabei solange fortgesetzt, bis der Trübungswert über 2 EBC lag bzw. die Trübungsdifferenz zwischen der Ausgangstrübung (0 Warmtage) und der momentan gemessenen Trübung  $\geq 2$  EBC betrug. Die Ausgangstrübung des schwach filtrierte Biers lag bei 0,34 EBC. Eine Trübungszunahme von 2 EBC wurde nach etwa 10 Warmtagen erreicht, während der Trübungswert nach 11 Warmtagen bereits 2,77 EBC betrug. Auch hier zeigte sich der charakteristische Trübungsverlauf aus Abbildung 5.21 mit einer zunächst konstanten *Lag Phase* während der ersten drei Warmtage und einem darauf folgenden Anstieg der Trübung in der *Increase Phase*.



In Abbildung 5.25 sind Trübungskurven von acht unterschiedlichen Bieren dargestellt, die alle mittels Forciertest bei 40 °C/0 °C gealtert wurden. Die Ergebnisse des Forciertests lagen zwischen 6 bis 12 Warmtagen und damit innerhalb der Grenzwerte für Bieranalysen „Typ Pilsener“ von 0,4 bis 14,9 Warmtagen [VLB 2007].

Hierbei stellt die Länge der *Lag Phase* ein Maß dafür dar, wie gut das Bier gegenüber Trübungsbildung stabilisiert wurde. Trotzdem lässt sich offensichtlich allein mit der Länge der *Lag Phase* keine Aussage über die Steilheit der Kurve in der *Increase Phase* tätigen. Geht die Kurve aber in die *Increase Phase* über, wird mit Sicherheit früher oder später ein trübungsrelevanter Messwert im Bier überschritten.



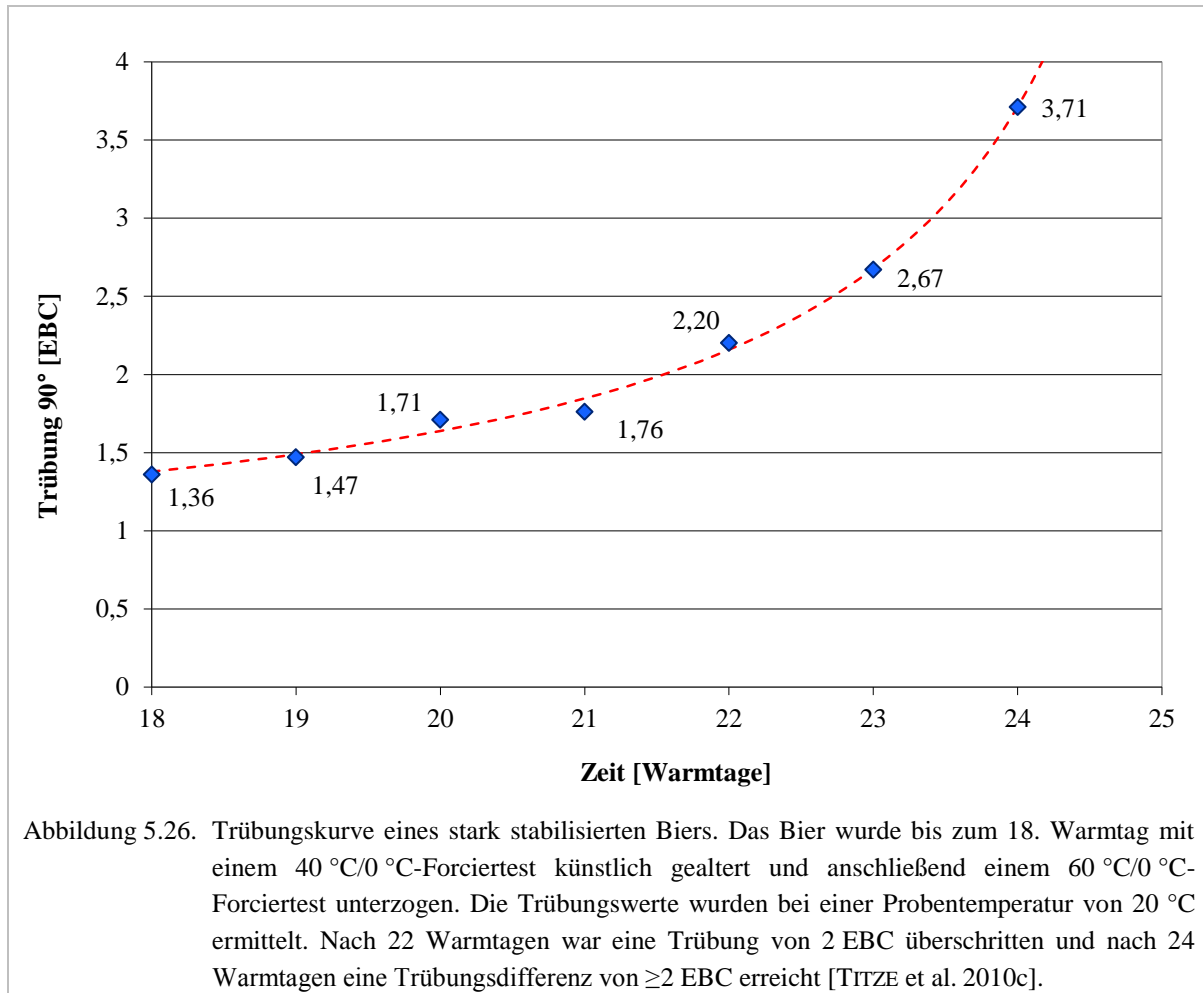
### 5.2.1.5 Trübungsverlauf eines stark stabilisierten Biers

Im Gegensatz zu Abbildung 5.24 zeigt Abbildung 5.26 die Trübungskurve eines stark stabilisierten, internationalen Lagerbiers. Obwohl das Bier eine ungewöhnlich hohe Anfangstrübung von 1,30 EBC aufwies<sup>29</sup>, war es sehr langzeitstabil.

Das Bier wurde zunächst 18 Warmtage bei 40 °C/0 °C gealtert. Da sich der Trübungswert gegenüber der Ausgangstrübung bis zum diesem Zeitpunkt nur um 0,06 EBC änderte, wurde ab dem 18. Warmtag die Alterung auf die Temperaturen 60 °C/0 °C umgestellt. Dieser Vorgang ist dargestellt in Abbildung 5.26.

<sup>29</sup>Durchschnittliche Trübungswerte internationaler Lagerbiere liegen bei etwa 0,4 EBC [VLB 2007].

Trotz hoher Ausgangstrübung konnte eine Zunahme von 2 EBC erst nach 24 Warmtagen gemessen werden. Maximalwerte bei Bieranalysen „Typ Pilsener“ liegen sonst bei 14,9 Warmtagen (40 °C/0 °C) oder 7,7 Warmtagen (60 °C/0 °C) [VLB 2007]. Das untersuchte Bier weist folglich eine überaus stabile Dispersion auf.



## 5.2.2 Änderung von Potential und titriertem Volumen während der Alterung

In mehreren Versuchsreihen wurden parallel zur Trübungsmessung nach den Warmtagen auch das Oberflächenpotential der Partikel und die Gesamtladung in der Bierprobe mittels Ladungstitration bestimmt. Im Folgenden werden die Titrationskurven der zuvor beschriebenen zwei Biere als Beispiele für schwach und stark stabilisierte Biere dargestellt und diskutiert.

### 5.2.2.1 Ladungstitration eines schwach stabilisierten Biers

Abbildung 5.27 zeigt eine Zusammenstellung der Titrationskurven des schwach stabilisierten Biers aus Kapitel 5.2.1.4 als charakteristische Funktionen bei zunehmenden Warmtagen. Der in Kapitel 5.1.4 beschriebene typische Kurvenverlauf während des Alterungsprozesses ist laut Messungen bei jeder Titration zu beobachten.

Das Bier besaß zu Beginn ein Anfangspotential von  $-450$  mV und ein titriertes Volumen von knapp  $5$  ml. Nach den durchschnittlichen Werten aus Tabelle 5.1 lag das Titrationsvolumen sehr nahe am Maximalwert von  $5,2$  ml. Nach Berechnen von  $\Delta V$  und  $\Delta \Psi$  gemäß Kapitel 5.1.6 wird deutlich, dass mit zunehmender Alterung sowohl Potential als auch Titrationsvolumen abnehmen. Dies ist graphisch in Abbildung 5.27 für den nullten ( $\Delta V_0/\Delta \Psi_0$ ) und ersten Warmtag ( $\Delta V_1/\Delta \Psi_1$ ) angedeutet.

Das Absinken des Potentials kann durch den Verlust von Partikeloberflächenladungen aufgrund des Alterungsprozesses erklärt werden. Das abnehmende titrierte Volumen wird ebenfalls mit dem Verlust der Oberflächenladungen, aber auch mit dem Abfallen der freien Partikeloberfläche aufgrund von Agglomeration begründet.

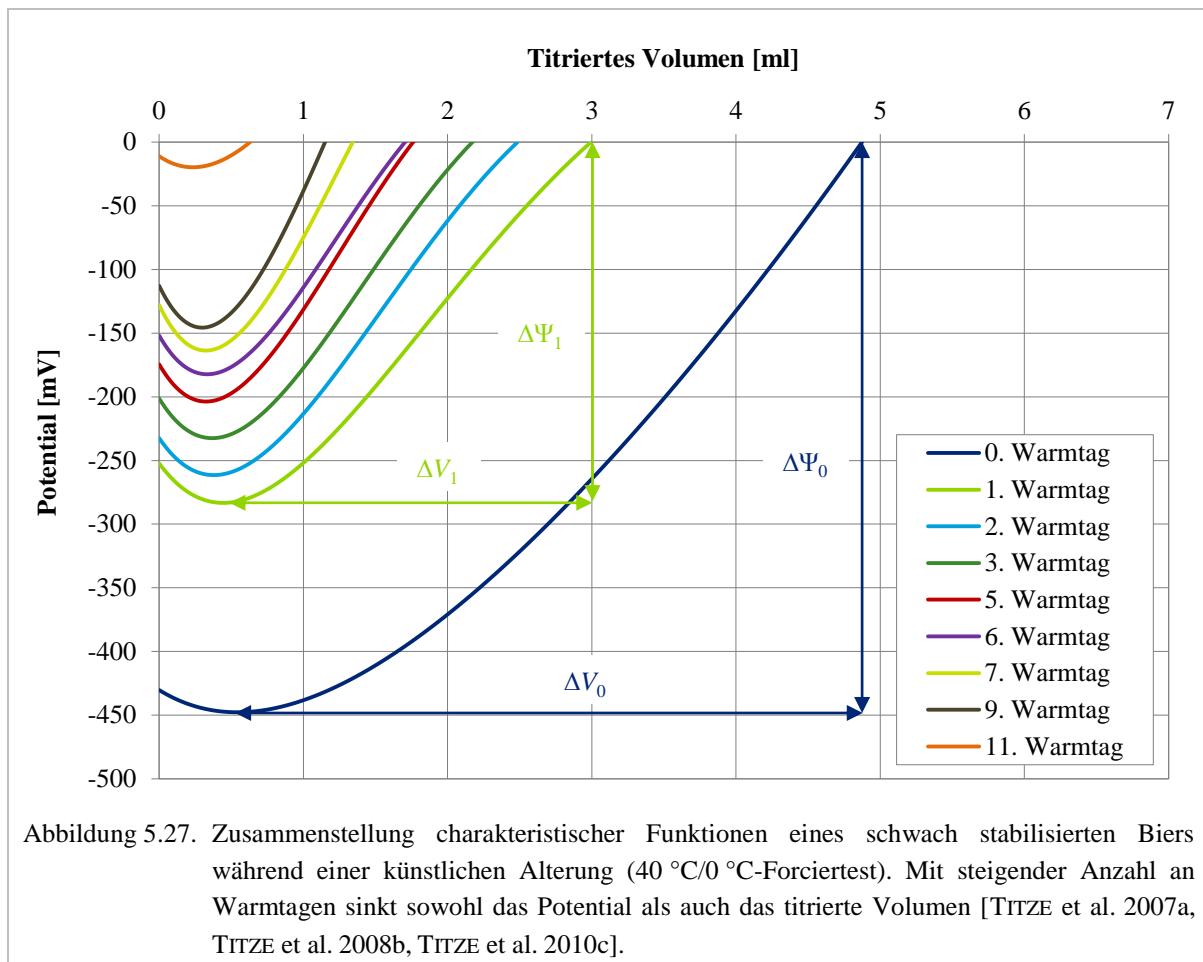


Tabelle 5.6 zeigt die Determinationskoeffizienten  $R^2$  sowie die mittleren quadratischen Fehler, ausgedrückt als Standardabweichungen  $s$ , für eine Qualitätsbeurteilung der Messung. Anhand der Berechnung des Gesamtmittelwerts lässt sich ein hoher Präzisionsgrad der durchgeführten Messungen nachweisen. Lediglich der Determinationskoeffizient für den elften Warmtag fällt etwas schlechter aus und könnte damit die Grenze des Messgeräts andeuten.

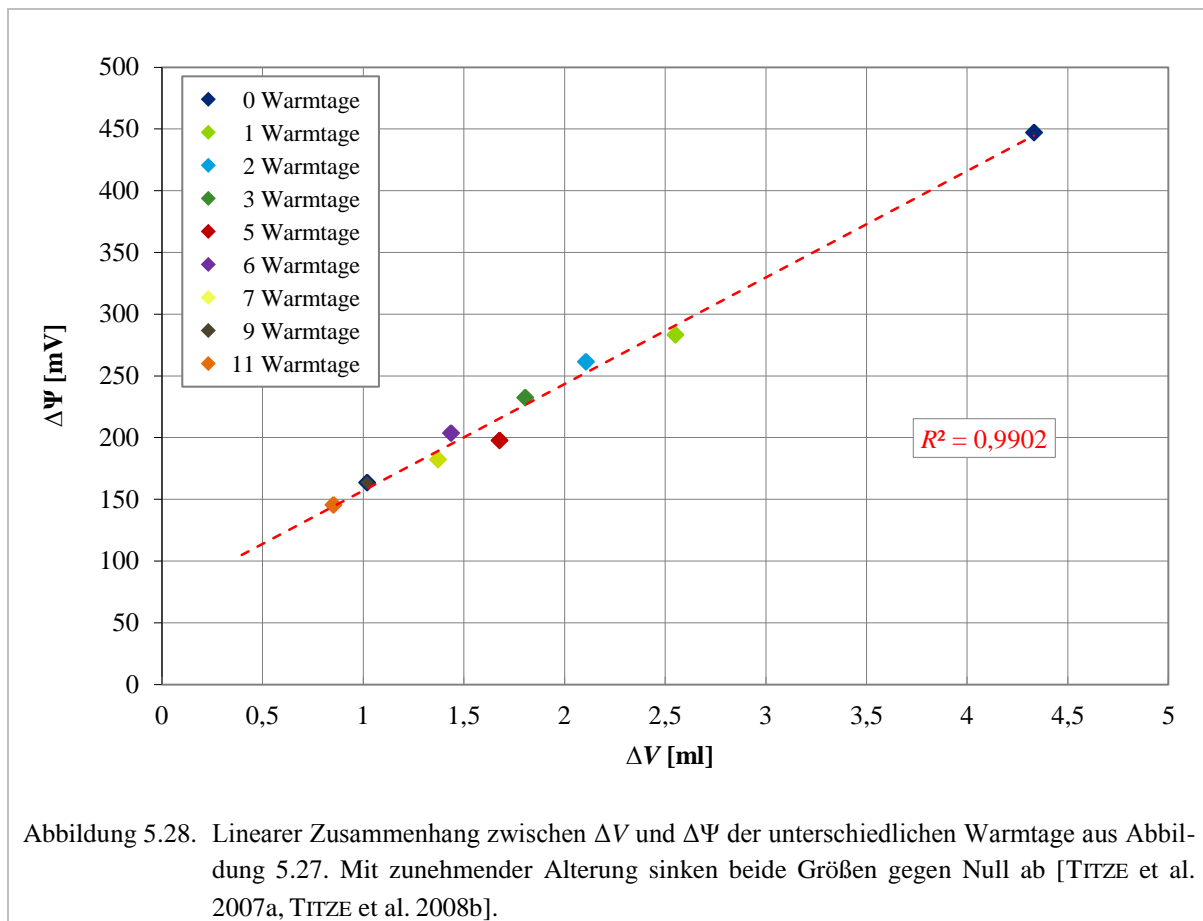
Tabelle 5.6. Determinationskoeffizienten  $R^2$  und gemittelte Standardabweichungen ( $s_1$ ) der Messwerte der Einzeltitrationskurven (Dreifachbestimmung) zu denen der Mittelwertskurve sowie die Standardabweichung ( $s_2$ ) der Abweichungen zwischen Mittelwertskurve und charakteristischer Funktion  $f_c$  für die Ladungstitrationskurven aus Abbildung 5.27 nach jedem Warntag und deren Gesamtmittelwert [TITZE et al. 2007a].

Analysentag	$R^2$	$s_1$	$s_2$
0. Warntag = Start	0,9978	7,1	6,7
1. Warntag	0,9991	1,6	2,9
2. Warntag	0,9996	2,0	1,8
3. Warntag	0,9991	2,1	2,3
5. Warntag	0,9988	2,9	2,3
6. Warntag	0,9987	4,5	2,1
7. Warntag	0,9991	3,7	2,1
9. Warntag	0,9961	1,2	2,8
11. Warntag	0,9716	1,8	1,1
<b>Mittelwert</b>	<b>0,9961</b>	<b>2,9</b>	<b>2,6</b>

Werden die jeweiligen Differenzen  $\Delta V$  und  $\Delta\Psi$  eines Warntags zueinander ins Verhältnis gesetzt, zeigt sich mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9902$  der in Abbildung 5.28 dargestellte, lineare Zusammenhang zwischen beiden Größen über die Zeit.

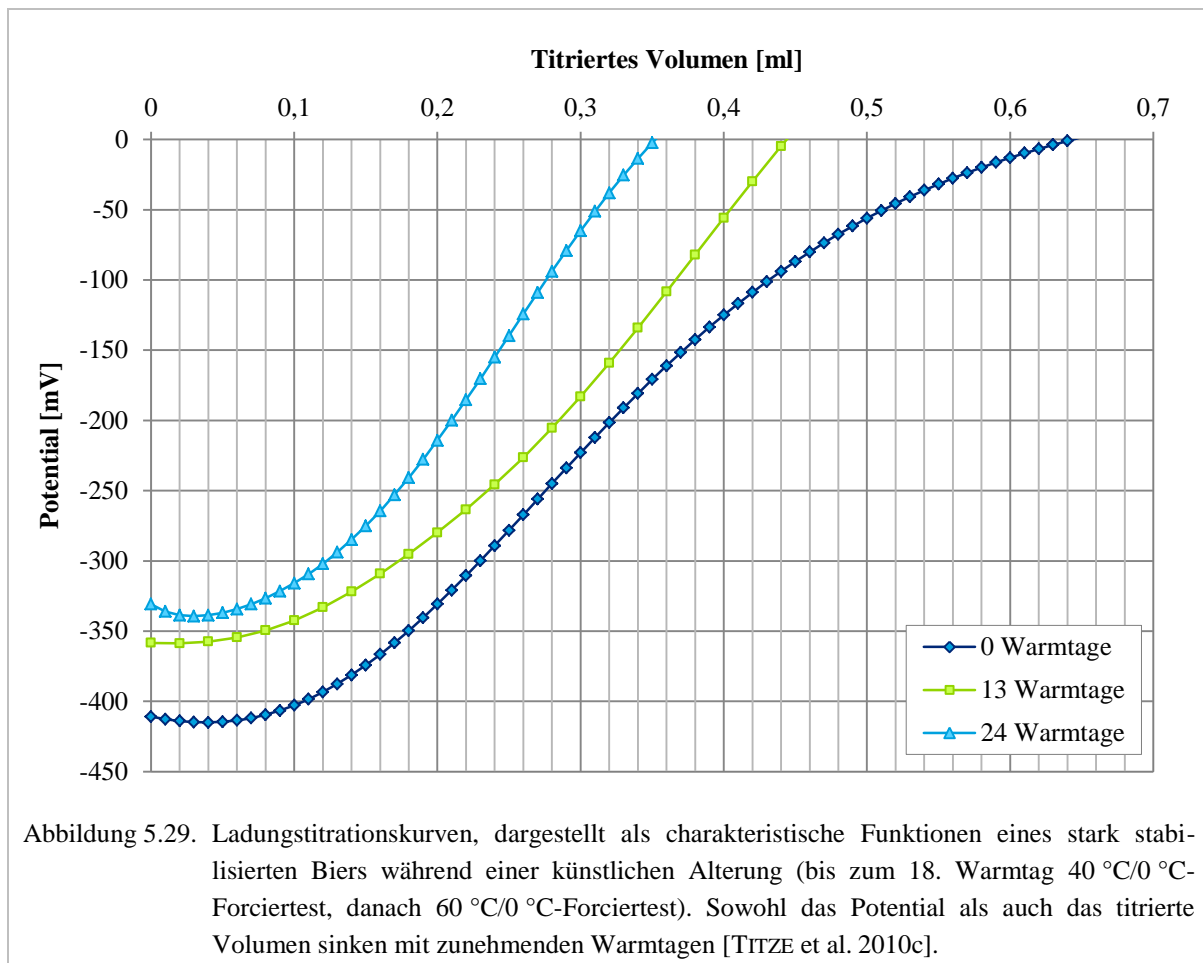
Sowohl die Abnahme des Potentials als auch die des titrierten Volumens stehen folglich in linearem Zusammenhang. Daher können beide Größen als äquivalent betrachtet werden. Während der Bieralterung gilt also:

$$\Delta V \sim \Delta\Psi. \quad (5.4)$$



### 5.2.2.2 Ladungstitrations eines stark filtrierte Biers

Im Vergleich zum schwach stabilisierten Bier aus 5.2.2.1 zeigt Abbildung 5.29 die Titrationskurven des stark stabilisierten Biers aus Kapitel 5.2.1.2 nach 0, 13 und 24 Warmtagen. Auch hier lassen sich die zuvor beschriebenen Änderungen des Potentials und des titrierten Volumens im Laufe des Alterungsprozesses erkennen.



Im Vergleich zum schwach stabilisierten Bier fällt auf, dass sich die Anfangspotentiale (0 Wärmstage) beider Biere nur geringfügig unterscheiden. Das schwach stabilisierte Bier weist mit  $-450$  mV sogar ein leicht höheres Anfangspotential auf, als das stark stabilisierte Bier mit  $-410$  mV. Gemäß den theoretischen Ausführungen in Kapitel 2.6.2 und den Durchschnittswerten aus Tabelle 5.1 gibt das relativ hohe Oberflächenpotential der Partikel für beide Biere auf eine sehr gute chemisch-physikalische Stabilität Rückschluss.

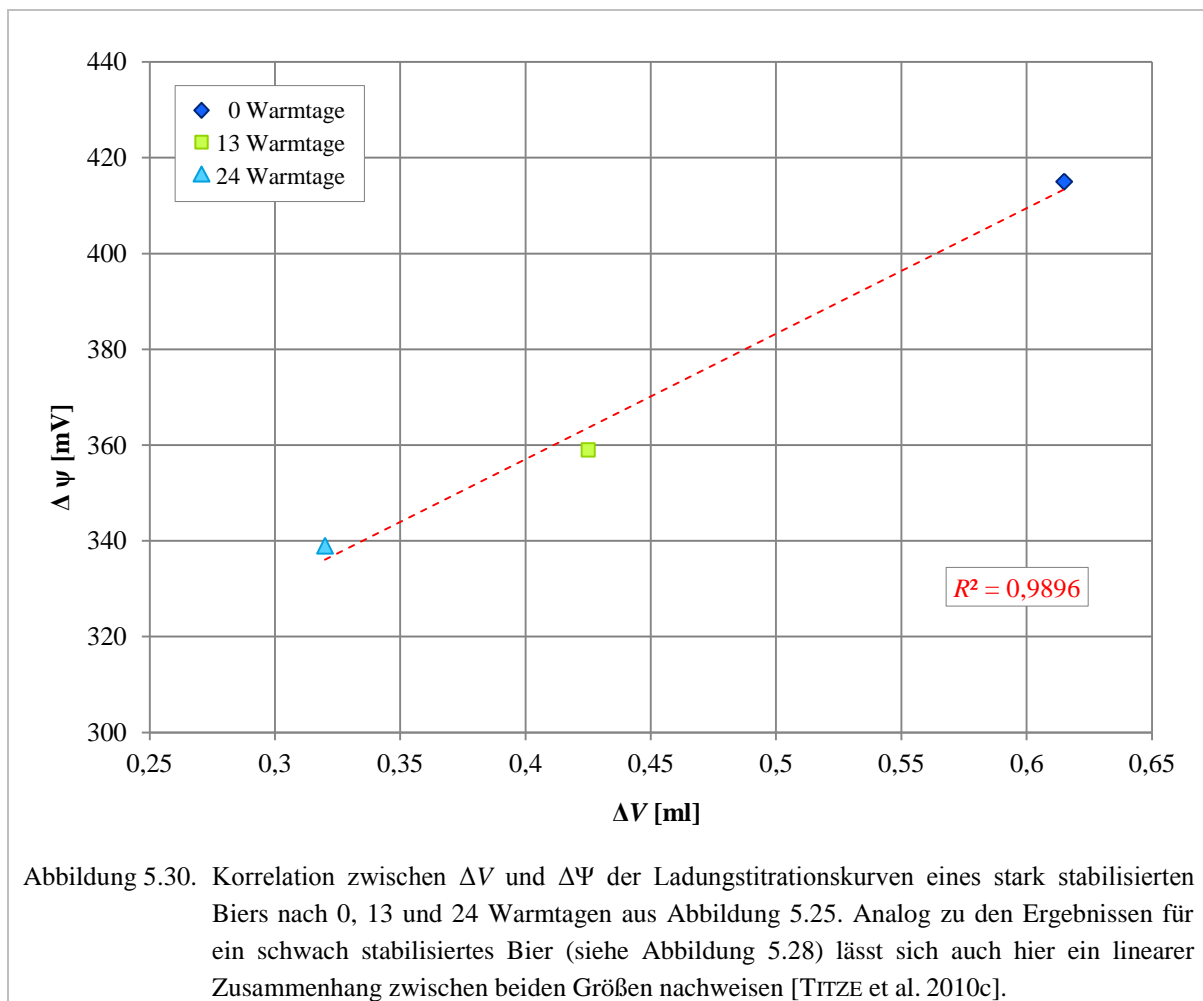
Werden aber die titrierten Volumina als Maß für die Gesamtladungsmenge verglichen, so weist das stark stabilisierte Bier mit 0,7 ml eine signifikant geringere Konzentration gegenüber dem schwach stabilisierten Bier mit fast 5 ml auf. Das titrierte Volumen stellt einen indirekten Parameter für die Partikelkonzentration in der Bierprobe dar. Die chemisch-physikalische Stabilität einer Dispersion hängt auch davon ab, mit welcher statistischen Wahrscheinlichkeit Partikel aufeinandertreffen (Voraussetzung für ein Aneinanderhaften). Somit kommt es bei höher konzentrierten Bierproben wie dem schwach stabilisierten Bier auch zu einer stärkeren Aggregation der Partikel.

Entsprechend Abbildung 5.28 wurden auch für die Titrationskurven des stark stabilisierten Biers die Parameter  $\Delta V$  und  $\Delta \Psi$  in Tabelle 5.7 berechnet und in Abbildung 5.30 gegenübergestellt.

Mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9896$  konnte der bereits in Kapitel 5.2.2.1 nachgewiesene lineare Zusammenhang zwischen den beiden Größen belegt werden. Dies unterstreicht die Anwendbarkeit der Ladungstitrationsmethode für diese Applikation.

Tabelle 5.7. Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.29 [eigene Messungen].

Analyseparameter	Warmtag	Messwert	Konfidenzintervall ( $P = 95\%$ )
Potential $\psi$ [mV]	0	-412	$-417 \leq \mu \leq -409$
$\Delta\psi$ [mV]		415	$410 \leq \mu \leq 420$
Titriertes Volumen $V$ [ml]		0,65	
$\Delta V$ [ml]		0,62	
Potential $\psi$ [mV]	13	-358	$-363 \leq \mu \leq -354$
$\Delta\psi$ [mV]		359	$355 \leq \mu \leq 363$
Titriertes Volumen $V$ [ml]		0,44	
$\Delta V$ [ml]		0,43	
Potential $\psi$ [mV]	24	-331	$-337 \leq \mu \leq -324$
$\Delta\psi$ [mV]		339	$334 \leq \mu \leq 344$
Titriertes Volumen $V$ [ml]		0,35	
$\Delta V$ [ml]		0,32	

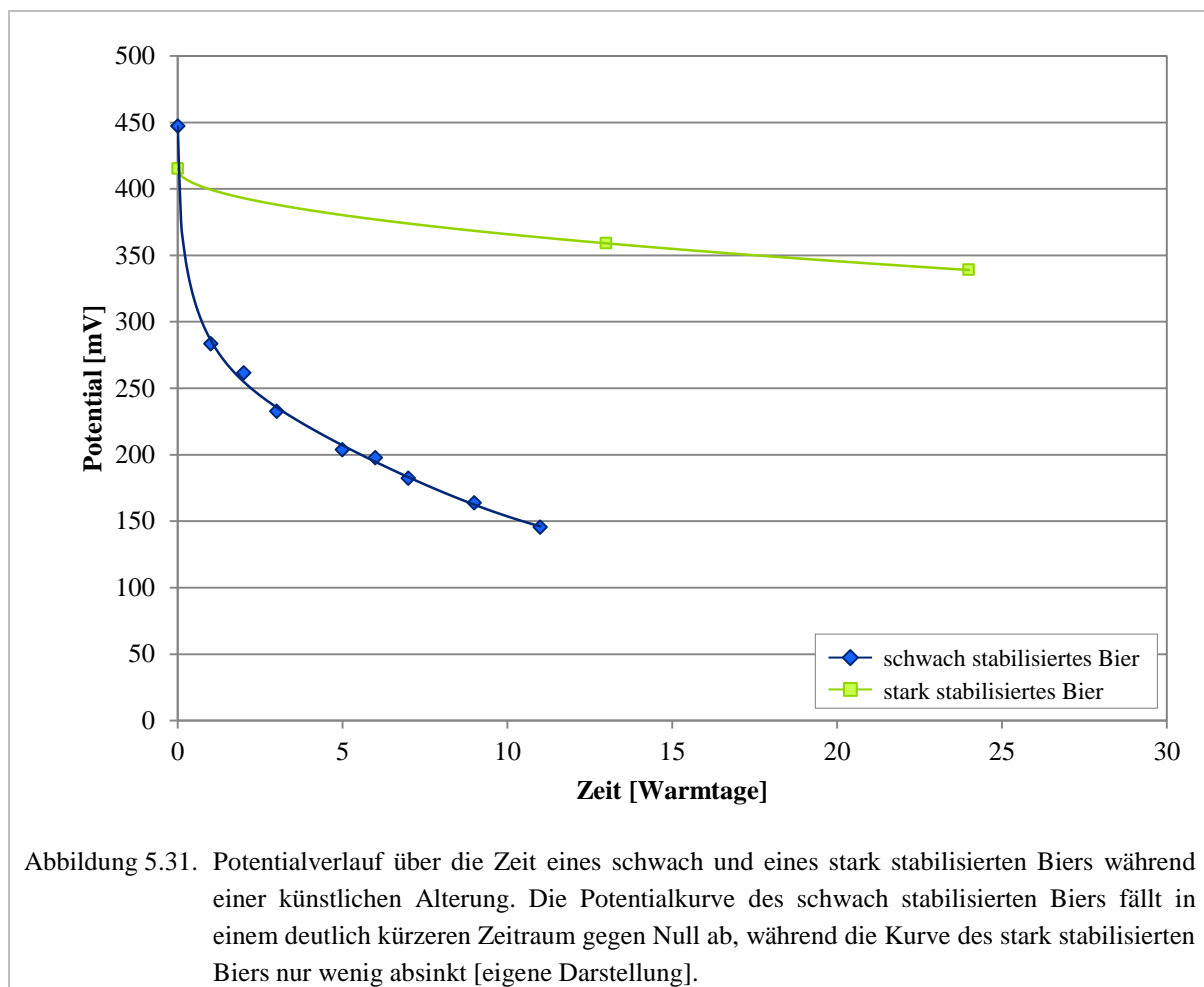




Bislang wurde davon ausgegangen, das Absinken des titrierten Volumens wäre mit zunehmender Alterung unter anderem einer Vergrößerung der Partikel durch Agglomeration zuzuordnen. Angenommen eine Dispersion ist stabil solange es weder zu Annäherung noch Aufeinandertreffen der Partikel kommt, so wurden diese Bedingungen für das stark stabilisierte Bier messtechnisch erfüllt. Sein hohes Potential (hohe elektrostatische Abstoßung) sowie die geringe Partikelkonzentration belegen dies.

Das schwach stabilisierte Bier hingegen erfüllte nur die erste Bedingung. Wegen seiner hohen Partikelkonzentration war von einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens der Partikel auszugehen. Dies führte zu einer geringeren kolloidalen Stabilität.

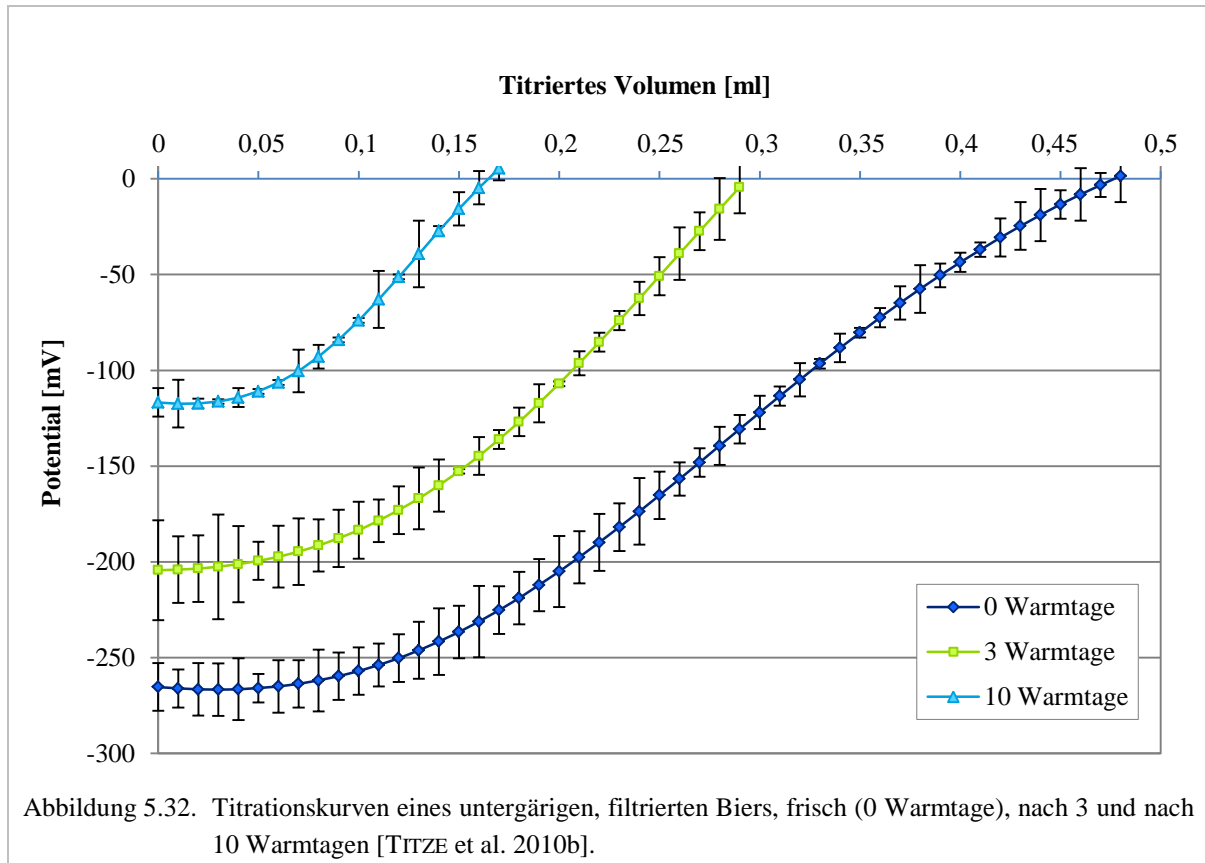
Der Unterschied zwischen beiden Bieren wird anhand der Potentialänderungen in Abhängigkeit der Alterung (Warmtage) deutlich, dargestellt in Abbildung 5.31. Die Kurve des schwach stabilisierten Biers fällt viel schneller über die Zeit, obwohl es anfangs ein leicht höheres Potential besaß, als das stark stabilisierte Bier.



### 5.2.3 Änderung der Partikelgrößenverteilung

Die Schlussfolgerung in Kapitel 5.2.2 basiert auf der Annahme, das titrierte Volumen stelle tatsächlich ein Maß für die Partikelkonzentration im Bier dar. Des Weiteren wurde das Absinken des Potentials im Zuge der Alterung mit dem Verlust von Partikeloberflächenladung aufgrund von Alterungsprozessen erklärt.

Um diese Theorie zu stützen, wurde ein weiterer Forciertest (60 °C/0 °C) mit einem abgefüllten Bier durchgeführt. Zu Beginn und nach 3 bzw. 10 Warmtagen wurden mittels Ladungstitration Potential sowie titriertes Volumen bestimmt. Aus Abbildung 5.32 lässt sich wieder klar erkennen, dass beide Messgrößen mit zunehmender Alterung absinken.



Auch zwischen Potential  $\Delta\Psi$  und titriertem Volumen  $\Delta V$  konnte ein linearer Zusammenhang mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9611$  ermittelt werden.

Um einen Einfluss der Leitfähigkeit des Biers auszuschließen, in Kapitel 5.1.9.2 ausführlich beschrieben, wurde zusätzlich zu den analytischen Ergebnissen der Ladungstitration auch die Leitfähigkeit des Biers bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 5.8.

Tabelle 5.8. Analytische Parameter der Titrationskurven aus Abbildung 5.31 sowie der gemessenen Leitfähigkeiten der Bierproben [TITZE et al. 2010b].

Warmtage	Potential [mV]	Konfidenzintervall ( $P = 95\%$ ) <sup>*</sup> [mV]	Titriertes Volumen [ml]	Leitfähigkeit [ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]	$R^{2**}$
0	-265	$-268 \leq \mu \leq -263$	0,48	1.898	0,998
3	-204	$-209 \leq \mu \leq -200$	0,29	1.873	0,998
10	-117	$-125 \leq \mu \leq -109$	0,16	1.889	0,996

<sup>\*</sup> Konfidenzintervall des Potentials zu Beginn der Titration, berechnet für die charakteristische Funktion.

<sup>\*\*</sup> Berechnet für die Anpassung der charakteristischen Funktion an die Mittelwertskurve.

Da das gemessene Potential hauptsächlich von der Leitfähigkeit der Probe abhängt, zeigt Tabelle 5.8, dass die Leitfähigkeiten aller drei Proben nahezu gleich sind. So ist nicht von einem Einfluss auszugehen. Das Absinken des Potentials durch den Verlust an Partikeloberflächenladung kann einerseits über die bereits erwähnten Alterungsprozesse erklärt werden. Andererseits spielt auch die Denaturierung und Auffaltung von Proteinen aufgrund des Temperatureinflusses (0 °C und 60 °C) und der Zeit eine Rolle.

Die Theorie geht davon aus, dass das titrierte Volumen von der Oberflächenladung der Partikel sowie von der Partikelkonzentration der Probe abhängt. Daher lässt sich theoretisch das Absinken anhand zweier Phänomene erklären [TITZE et al. 2010b]:

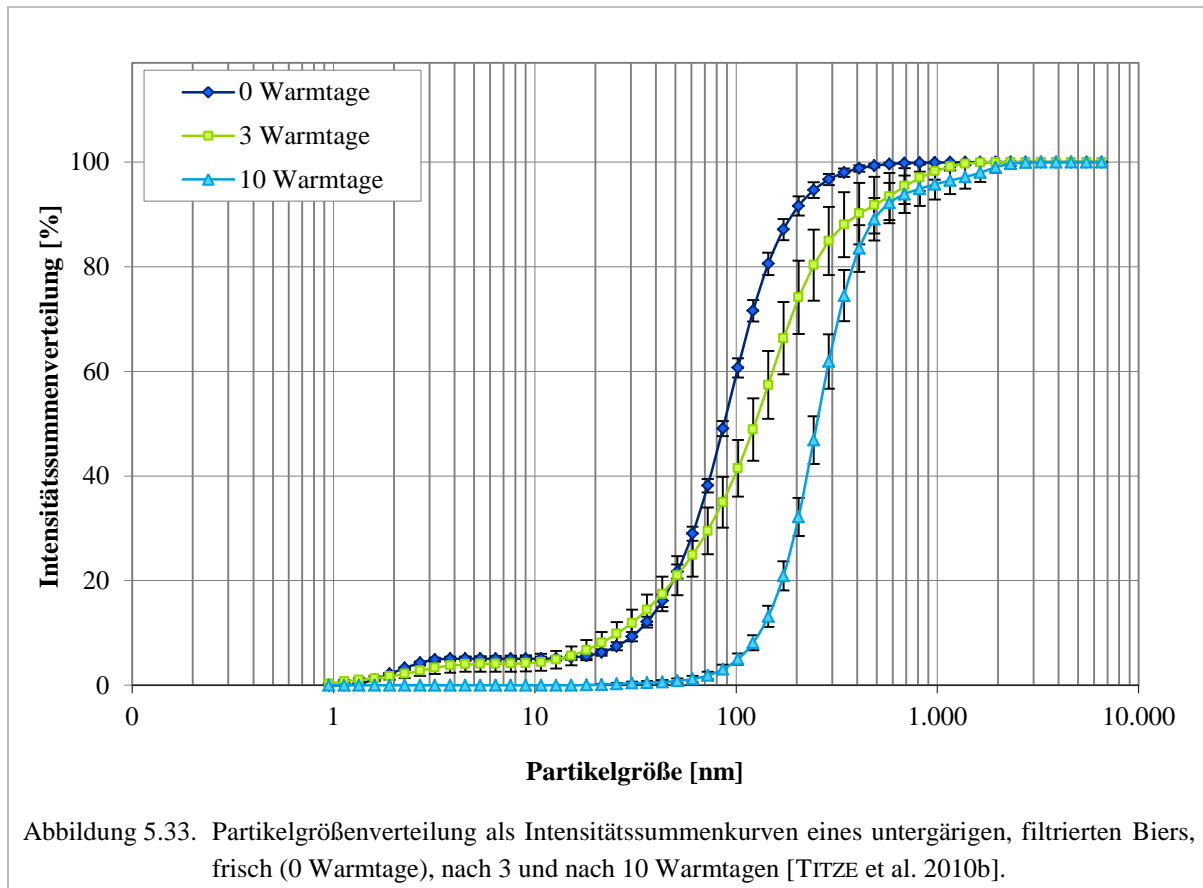
1. Die Verminderung des titrierten Volumens ist auf den Verlust von Partikeloberfläche durch Aneinanderhaften der Partikel (Agglomeration) zurückzuführen.
2. Das geringere titrierte Volumen ist durch einen Verlust an Oberflächenladung der Partikel verschuldet.

Im zweiten Fall wäre keine Änderung der Partikelgröße bzw. -oberfläche Voraussetzung. Deshalb war es notwendig, die Partikelgrößenverteilung zu ermitteln.

Abbildung 5.33 stellt die Partikelgrößenverteilung, gemessen als Intensitätssummenverteilung der drei Bierproben dar. Nach 10 Warmtagen waren im Vergleich zu den Proben nach 0 und 3 Warmtagen in der Größenklasse von 1 nm bis 100 nm keine Partikel mehr im Bier vorhanden. Mit zunehmender Alterung der Bierproben verschwanden die kleinen Partikel (<50 nm) aufgrund von Agglomeration.

Im Gegenzug steigt die Zahl größerer Partikel im Bereich von 700 nm bis 2.000 nm an. Dies zeigt sich anhand der Partikelgrößenverteilung, da bei der frischen Bierprobe (0 Warmtage) 100 % der Partikel unterhalb 500 nm lagen. Nach 10 Warmtagen betragen dann 100 % der Partikel unter 2.000 nm.

Die Ergebnisse der Partikelgrößenverteilung belegen die Vergrößerung durch Agglomeration während der Alterung.



In Kapitel 2.6.1 wurde gezeigt, dass die potentielle Energie der Partikel an oder nahe der Oberfläche größer ist, als im Inneren der flüssigen Phase. Weil das System seine freie Energie zu minimieren versucht, neigen die Partikel zur Verkleinerung ihrer Oberfläche [FLÜHLER und ROTH 2003]. Dieser Vorgang wurde während der Bieralterung durch die Änderung der Partikelgrößenverteilung bewiesen.

Durch die Kombination von Ladungstitrations und Partikelgrößenverteilung war eine vollständige Beschreibung der Agglomeration von Partikeln im Bier während des Alterungsprozesses möglich.

### 5.3 Experimentelle Untersuchung der Einflussgrößen auf die kolloidale Stabilität

Im Folgenden sollen die Einflüsse ausgewählter Parameter auf Oberflächenpotential der Partikel und Gesamtladung im Bier untersucht werden. Die Auswahl der Parameter richtete sich danach, inwieweit diese in der Literatur bereits als signifikante Einflussgrößen auf die chemisch-physikalische Bierstabilität bekannt waren.

Um die nachfolgenden Untersuchungsergebnisse auf eine gemeinsame Referenz zu beziehen, wurde eine ausreichende Menge Flaschen einer Abfüllcharge entnommen. Zur Ermittlung der Referenzwerte erfolgte die Untersuchung von Partikeloberflächenpotential und titriertem Volumen (Gesamtladung) bei fünf Bierproben mittels Ladungstitrations und Fünffachmessung.

Zusätzlich wurden mit Hilfe dreier weiterer Flaschen Stammwürze, Alkohol, pH-Wert, Leitfähigkeit sowie Sauerstoffkonzentration des Biers ermittelt. Tabelle 5.9 zeigt die Ergebnisse der Referenzanalyse als Mittelwert aus allen Bierproben.

Tabelle 5.9. Ergebnisse der Referenzanalyse aus Ladungstitrations- und Bieranalyse, berechnet als Mittelwert von Bierproben gleicher Charge ( $n$  = Anzahl der Messungen) [modifiziert nach MÜLLER 2011].

Parameter	Einheit	Mittelwert	$n$	Konfidenzintervall ( $P = 95\%$ )
Potential	mV	-372	25	$-379 \leq \mu \leq -366$
titriertes Volumen	ml	0,588	25	$0,569 \leq \mu \leq 0,607$
Stammwürze	Gew.-%	11,50	3	$11,49 \leq \mu \leq 11,52$
Alkohol	Vol.-%	4,94	3	$4,92 \leq \mu \leq 4,95$
pH-Wert	-	4,14	3	$4,14 \leq \mu \leq 4,14$
Leitfähigkeit	$\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$	1,69	3	$1,68 \leq \mu \leq 1,71$
O <sub>2</sub>	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	0,065	3	$0,043 \leq \mu \leq 0,088$

Um die Biermatrix weitgehend konstant zu halten, wurde nur die Konzentration des Einflussparameters variiert. Das Referenzbier wurde folglich auf unterschiedliche Konzentrationsstufen des jeweils zu untersuchenden Parameters, beispielsweise Alkohol eingestellt. Dies erfolgte durch Hinzufügen der gewünschten Substanz direkt in das abgefüllte (Referenz-)Bier. Die so hergestellten, konzentrierten Biere wurden sofort und nochmals 24 Stunden nach der Zugabe gemessen. Insgesamt zeigte sich, dass die Messergebnisse nach einem Tag keine signifikanten Unterschiede zu der direkten Messung aufwiesen [MÜLLER 2011]. Deshalb wurde auf die Darstellung dieser Ergebnisse verzichtet.

Anmerkung: Das bloße Hinzufügen von beispielsweise Alkohol in ein fertiges Bier kann niemals ein Bier repräsentieren, welches zwar aus denselben Rohstoffen gebraut, aber brau- prozesstechnisch höher vergoren wurde. Ein solches Bier würde sich nicht allein im Alkohol- gehalt, sondern auch in den Inhaltsstoffen und der Konzentration von einem niedriger vergorenen Bier unterscheiden. Trotzdem wurde der oben beschriebene Weg zum Versuch gewählt, um sicher zu gehen, dass nur ein Parameter prozentual variiert wurde.

### 5.3.1 Einfluss des Alkoholgehalts

Viele Autoren sind sich darüber einig, dass der Alkoholgehalt bis zu einem gewissen Grad Einfluss auf die kolloidale Stabilität des Biers hat [CURTIS 1966, GRAMSHAW 1970b, SIEBERT 1999a, SPEERS et al. 2003, SIEBERT 2006]. Gemäß dem sogenannten „High Gravity Brewing“ hergestelltes Bier wird aufgrund des höheren Alkoholgehalts beispielsweise eine gute chemisch-physikalische Stabilität vor dem Blenden bescheinigt [LEIPER und MIEDL 2009].

Um diesen Parameter anhand einer Konzentrationsreihe zu prüfen, wurde der Alkoholgehalt des Biers durch Zugabe von unvergälltem Ethanol (99,9 Vol.-%) auf etwa 5,0 Vol.-%, 5,2 Vol.-%, 5,4 Vol.-%, 5,6 Vol.-%, 5,8 Vol.-% und 6,0 Vol.-% eingestellt. Die entsprechend zugegebenen Alkoholmengen für die gewünschte Alkoholkonzentration wurden mittels Mischungsformel berechnet. Sie sind in Tabelle 5.10 dargestellt.

Neben den tatsächlich eingestellten Alkoholkonzentrationen sind auch die Größen der Bieranalyse aufgeführt, von denen ein starker Einfluss auf die Ergebnisse der Ladungstitation zu erwarten war, siehe dazu Kapitel 5.1.9.2 und 5.1.10.

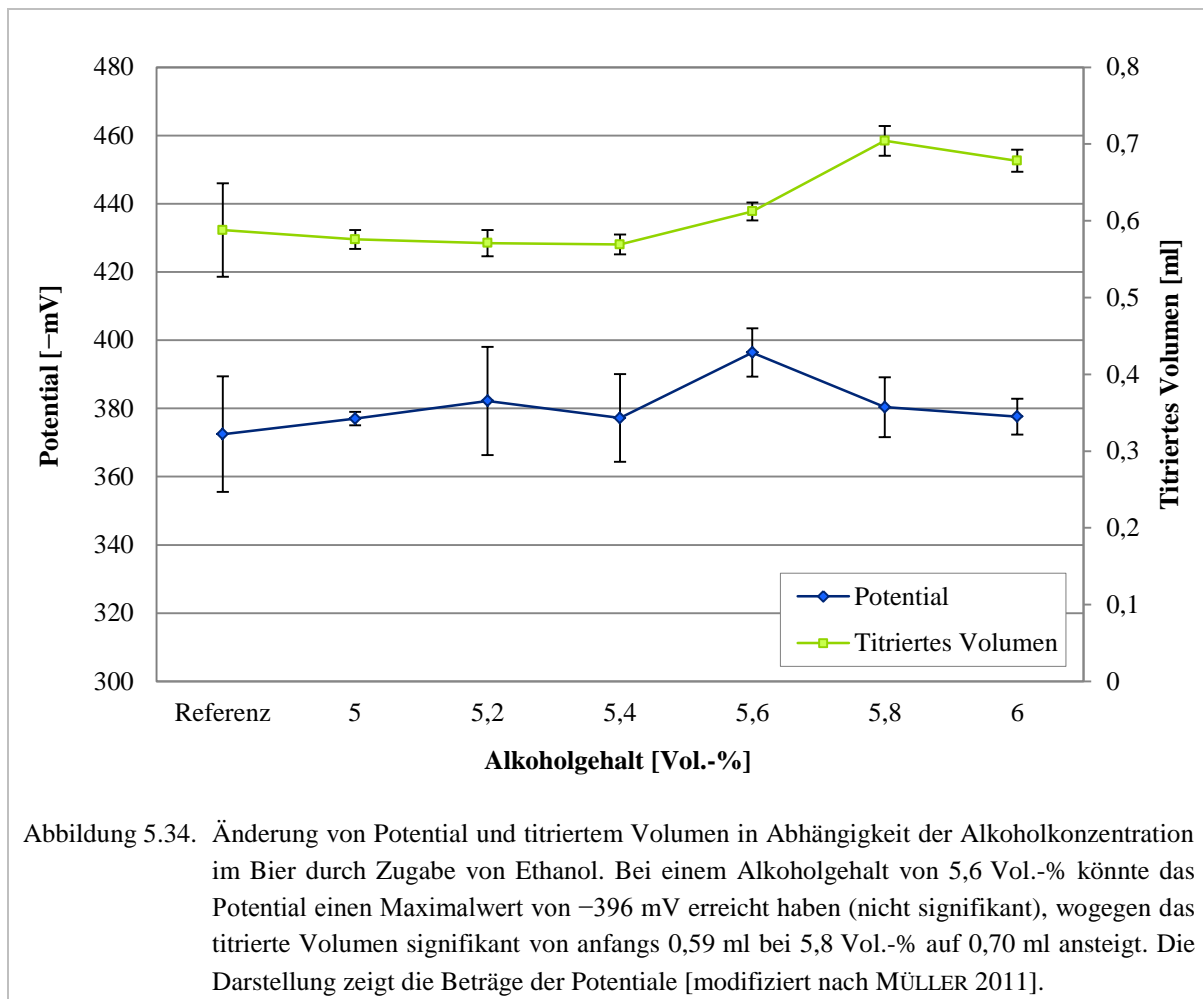
Aus Tabelle 5.10 geht weiterhin hervor, dass die Leitfähigkeit mit zunehmender Alkoholdosage absinkt. Der pH-Wert hingegen steigt leicht an. Grund hierfür ist die Verdünnung der Elektrolytkonzentration des Biers durch den Alkohol.

Tabelle 5.10. Gewünschter Alkoholgehalt, dosierte Ethanolmenge pro 500 ml Bierprobe (berechnet mit Mischungsformel) und tatsächlich eingestellter Alkoholgehalt sowie Leitfähigkeit und pH-Wert der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].

Alkoholgehalt (Zielwert) [Vol.-%]	Alkoholdosage auf 500 ml [ml]	Alkoholgehalt* [Vol.-%]	Leitfähigkeit* [mS·cm <sup>-1</sup> ]	pH-Wert*
5,0	0,266	4,99	1,70	4,16
5,2	1,398	5,20	1,68	4,16
5,4	2,401	5,39	1,67	4,16
5,6	3,473	5,52	1,67	4,16
5,8	4,550	5,78	1,65	4,17
6,0	5,562	5,99	1,64	4,17

\* Ergebnisse der Bieranalyse nach Hinzufügen der entsprechenden Alkoholmenge.

In Abbildung 5.34 sind die gemessenen Potentiale und das titrierte Volumen mit steigendem Alkoholgehalt aufgetragen. Dabei wächst das titrierte Volumen an, durchläuft ein Maximum bei 5,8 Vol.-% und sinkt dann wieder ab. Ein ähnlicher Verlauf ist auch für die Mittelwerte des Potentials zu beobachten. Das Maximum liegt hier jedoch bei 5,6 Vol.-%. Der Potentialverlauf ist aber als nicht signifikant anzusehen. Es konnte daher nicht nachgewiesen werden, ob sich das Potential als Maß für die zu erwartende Bierstabilität tatsächlich bei einem Alkoholgehalt von 5,6 Vol.-% (Maximalwert) gegenüber niedrigeren Konzentrationsstufen verbessert hatte. Zudem scheint dieser Effekt begrenzt, da die weitere Alkoholzugabe ebenfalls ein Absinken des Potentials hervorrufen kann.



Die Ergebnisse lassen sich mit den Untersuchungen von SIEBERT et al. vergleichen. Diese zeigen eine minimale Trübungsbildung im Bier bei einer bestimmten Alkoholkonzentration. Oberhalb und unterhalb dieses Werts steigt sie jedoch wieder an [SIEBERT et al. 1996, SIEBERT 1999a, SIEBERT 1999b, SIEBERT und LYNN 2003, SIEBERT 2004, SIEBERT 2006]. Arbeiten von PÖSCHL bestätigen für einen Messbereich von ungefähr 5,0 Vol.-% bis 5,5 %, dass sich die Trübungsstabilität eines mit PVPP stabilisierten Biers mit zunehmender Alkoholkonzentration verbessert [PÖSCHL 2008].

Gemäß Kapitel 5.1.9.2 ließe sich der Potentialanstieg zunächst mit dem gleichzeitigen Absinken des Leitwerts erklären. Dieser sinkt aufgrund der Verdünnung der Elektrolytkonzentration durch Alkohol. Dieses Argument wäre aber nur für den beschränkten Bereich von 4,94 Vol.-% bis 5,8 Vol.-% gültig und passt außerdem auch nicht zum parallelen Anstieg des titrierten Volumens.

Nachdem der pH-Wert nahezu unverändert bleibt, muss ein anderer Effekt für die Stabilitätserhöhung verantwortlich sein. Mit der „Verdünnung“ der kontinuierlichen Phase im Bier durch Alkohol könnte eine verbesserte Besatzdichte in der inneren HELMHOLTZ-Schicht einhergehen. Das Abstreifen der Hydrathülle sowie Anlagern der Anionen an die Partikeloberfläche werden begünstigt.

Nach GRAMSHAW fördern beispielsweise höhere Ethanolgehalte im Bier die Dehydratisierung von Proteinen [GRAMSHAW 1970b]. Dies wiederum erleichtert die Erreichbarkeit der Partikeloberfläche für Anionen aus der Umgebung. Laut Kapitel 2.4.2 bildet sich eine innere HELMHOLTZ-Schicht aufgrund von VAN DER WAALS-Kräften durch Anlagerung von Anionen an die negativ geladene Partikeloberfläche. Dadurch wird das Oberflächen- bzw. STERN-Potential erhöht. Parallel zum steigenden Alkoholanteil der Lösung erfolgt eine Verarmung der Wassermoleküle. Dies könnte sowohl das Abstreifen der Hydrathülle von Anionen, als auch eine starke Annäherung an die Partikeloberfläche durch die dehydratisierende Wirkung auf die Proteine begünstigen. Daraus resultiert eine höhere Besatzdichte. Mit zunehmender Besatzdichte steigen STERN-Potential und titriertes Volumen, die zur Neutralisation benötigt werden.

Grundsätzlich muss mehr Titrationsmenge verbraucht werden, wenn das messbare Oberflächenpotential höher ist. Damit erklärt sich die gleichzeitige Zunahme des titrierten Volumens zum Potential. Ein Anstieg der Partikelkonzentration durch die Verdünnung mit Ethanol ist auszuschließen.

Die generelle Verdünnung der Elektrolytkonzentration im Bier sollte auch unter dem Gesichtspunkt der Partikelkonzentration betrachtet werden. Die Erhöhung des Alkoholgehalts führt zu einer Senkung der Partikelkonzentration. Damit verringert sich auch die Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens zweier Partikel aufgrund der BROWNSCHEN Molekularbewegung.

Grundsätzlich haben die Ergebnisse tendenzielle Änderungen der Stabilitätsparameter im Zuge des steigenden Alkoholgehalts gezeigt. Signifikante Änderungen konnten aber für das gemessene Potential nicht nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurden die Aussagen nur mit denen der Literatur abgestimmt. Auf einen Forciertest zum Nachweis eines positiven Effekts auf die chemisch-physikalische Stabilität des Biers wurde aufgrund der kritischen Anmerkung zur Probenaufbereitung verzichtet.

### 5.3.2 Einfluss des pH-Werts

Ein weiterer Einflussparameter auf die chemisch-physikalische Stabilität des Biers ist der pH-Wert. So wies zum Beispiel SIEBERT anhand gepufferter Modelltrübungssuspensionen den Einfluss des pH-Werts auf die Trübungsstabilität nach. Optimale pH-Bereiche hängen hier wiederum stark von der Alkoholkonzentration des Biers ab [SIEBERT 2006].

Ähnlich dem Praxisversuch in Kapitel 5.3.1 wurde dem Bier für einen steigenden pH-Wert Natronlauge (NaOH) und für einen sinkenden pH-Wert Salzsäure (HCl) zugegeben. So konnten andere pH-Werte eingestellt werden, als der des Referenzbiers.

Im Gegensatz zur Berechnung der benötigten Ethanolmenge im ersten Versuch, war es nicht möglich einen bestimmten pH-Wert im Bier voraus zu berechnen. Grund ist die starke Pufferwirkung der Bierinhaltsstoffe. Die nötige Menge Salzsäure zur Absenkung bzw. Natronlauge zur Erhöhung des pH-Werts musste zuerst in Vorversuchen mit entgastem Bier geprüft werden.



Der pH-Wert konnte so bei Zugabe von 0,3 ml 4 n HCl in 500 ml Bierprobe um etwa 0,2 Einheiten abgesenkt werden. Die Zugabe von 0,2 ml 3,95 n NaOH führte hingegen zu einer Erhöhung des pH-Werts um ungefähr 0,2 Einheiten.

Letztlich wurden je drei Flaschen auf die pH-Werte 3,0, 3,4, 3,8, 4,6 und 5,0 eingestellt, wobei das Ausgangsbier (Referenzbier) einen pH-Wert von 4,14 besaß. Tabelle 5.11 zeigt die zugegebenen Mengen an HCl und NaOH in 500 ml Bier, um den gewünschten pH-Wert zu erreichen. Anhand der Differenzen zwischen gewünschtem und tatsächlich realisiertem pH-Wert wird in Tabelle 5.11 ersichtlich, dass die Einstellung des exakten pH-Werts im Bier aufgrund seiner starken Pufferwirkung sehr schwierig ist.

Tabelle 5.11. Gewünschter pH-Wert, dosierte HCl- bzw. NaOH-Mengen auf 500 ml Bierprobe und tatsächlich eingestellter pH-Wert sowie die Leitfähigkeit der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].

pH-Wert (Zielwert)	HCl [ml]	NaOH [ml]	pH-Wert*	Leitfähigkeit* [ $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]
3,0	1,5	-	2,98	2,55
3,4	0,9	-	3,41	2,11
3,8	0,3	-	3,93	1,82
4,6	-	0,6	4,67	1,87
5,0	-	1,0	4,93	1,92

\* Ergebnisse der Bieranalyse nach Hinzufügen der entsprechenden HCl- bzw. NaOH-Mengen.

Auch bei diesem Versuch zeigte sich, dass ein Dosieren von Säure und Lauge die Elektrolytkonzentration des Biers stark verändert. So steigt der Leitwert des Referenzbiers von  $1,69 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  nach maximaler Säurezugabe von 1,5 ml HCl auf  $2,55 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  und nach maximaler Laugezugabe auf  $1,92 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Die Erhöhung des Leitwerts fiel bei der Zugabe von Salzsäure stärker aus, als bei Zugabe von Natronlauge. Dies lässt sich über die unterschiedlichen Dossagemengen erklären.

Die Änderungen von Potential und titriertem Volumen zeigt Abbildung 5.35. In Abhängigkeit der Elektrolytkonzentration sinkt das Potential nach Zugabe von sowohl Säure als auch Lauge ab. Für das messbare Potential bedeutet dies, das Signal wurde vom Effekt der ansteigenden Elektrolytkonzentration überlagert [MÜLLER 1996]. In diesem Fall ist es schwierig, gesicherte Aussagen über die Stabilität des Biers anhand der Potentialmessung zu treffen.

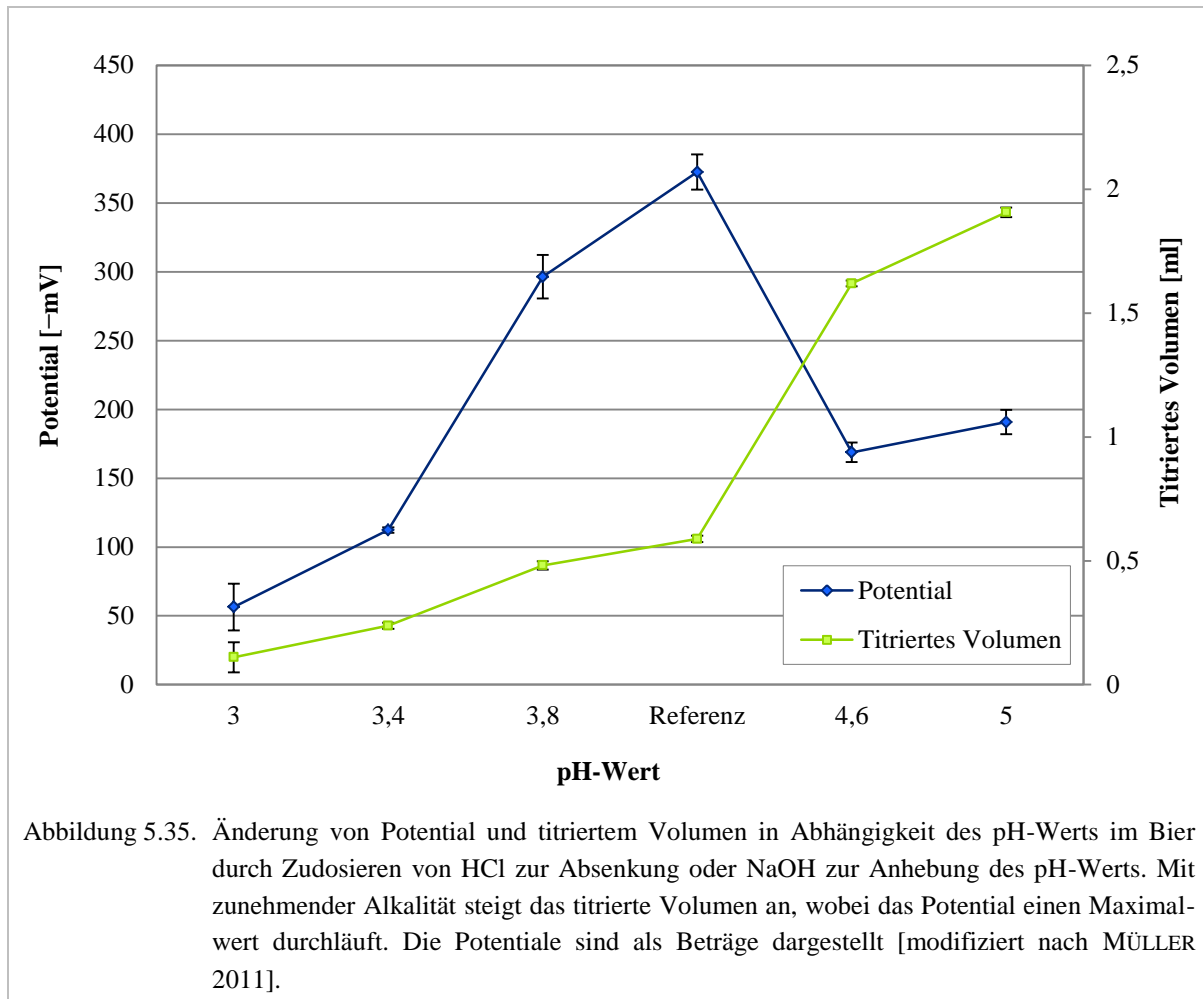


Abbildung 5.35. Änderung von Potential und titriertem Volumen in Abhängigkeit des pH-Werts im Bier durch Zudosieren von HCl zur Absenkung oder NaOH zur Anhebung des pH-Werts. Mit zunehmender Alkalität steigt das titrierte Volumen an, wobei das Potential einen Maximalwert durchläuft. Die Potentiale sind als Beträge dargestellt [modifiziert nach MÜLLER 2011].

Trotz dieser Einschränkung sollen aber weitere Aspekte diskutiert werden. So besitzt beispielsweise die Kurve des titrierten Volumens im pH-Bereich von 4,2 bis 4,6 einen Wendepunkt. Sie zeigt einen deutlichen Sprung von 0,59 ml auf 1,62 ml. Im umgekehrten Fall nahm das Titrationsvolumen ab. Bei Zugabe der Salzsäure reagieren  $H^+$ -Ionen mit den negativ geladenen Gruppen der Partikeloberfläche und den Anionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht. Dadurch sinkt das Potential. Weniger Titrationsmittel wird zur Neutralisation benötigt.

Laut MÜLLER gibt es bei der Einstellung des pH-Werts neben dem Absinken des Potentials durch die erhöhte Elektrolytkonzentration noch einen weiteren Effekt auf das gemessene Potential [MÜLLER 1996]: Durch die Verschiebung ins stark Saure werden an der Partikeloberfläche bei gleichzeitig abnehmender Deprotonierung von COOH-Gruppen zunehmend Aminogruppen protoniert. Dadurch erhöht sich das Potential ins Positive. Eine Verschiebung des pH-Werts ins Alkalische hat den umgekehrten Effekt und führt zu einem ansteigenden Potential ins Negative.

Die Ergebnisse zeigen, wie das Potential beim Absenken des pH-Werts gegen Null läuft. Dabei wäre noch zu untersuchen, ob ein weiteres Absenken die Umladung der Partikeloberflächenladungen mit anschließender Potentialsteigerung im Positiven bewirkt.

Des Weiteren wäre aufschlussreich, ob der leichte Potentialanstieg zwischen pH 4,6 und 5,0 bereits ein Indiz für den oben beschriebenen Effekt bei einer Verschiebung ins stark Alkalische darstellt.

Eine konkrete Aussage über die Bierstabilität in Abhängigkeit des pH-Werts lässt sich nur in der Arbeit von SIEBERT finden. Die besagt, dass aus pH-Werten von 4,0 bis 4,5 ein Maximum an Trübungsbildung resultiert [SIEBERT 2006]. Diese Beobachtung ließe sich über den oben gezeigten Versuch nur insofern nachvollziehen, als dass in diesem pH-Bereich eine signifikante Änderung von Potential und titriertem Volumen gemessen wurde. Bei einem pH-Wert von 4,5 wurden also ein hohes titriertes Volumen und ein vergleichsweise niedriges Potential ermittelt. Hierdurch kommt eine schwächere Stabilität im Vergleich zur Referenz zum Ausdruck.

Es ist aber sehr schwierig, überhaupt eindeutige Zusammenhänge zwischen Trübungsbildung und pH-Wert nachzuweisen. Der pH-Wert ändert sich sowohl bei unterschiedlichen Biertypen, als auch bei anderen Abfüllchargen. Keine bis schwache Korrelationen für unterschiedlich stabilisierte Biere mit verschiedenen pH-Werten belegen dies [PÖSCHL 2008]. Auch die Ergebnisse der Ladungstitation zeigen, dass der Faktor pH-Wert im Bier aufgrund der hohen Komplexität der Biermatrix eher irrelevant für die chemisch-physikalische Stabilität ist.

Klare Aussagen können demnach nur für Biere innerhalb einer Charge gemacht werden, wobei die Stabilität mit geeigneten Forciertests immer wieder zu prüfen wären. Eine generelle Übertragbarkeit auf andere Biertypen oder auch Jahrgänge ist fraglich.

### 5.3.3 Einfluss des Sauerstoffgehalts

Den größten Einfluss auf die Trübungsbildung und somit auf die chemisch-physikalische Stabilität hat nach Untersuchungen vieler Wissenschaftler der Sauerstoffgehalt des abgefüllten Biers [CURTIS 1963, GRAMSHAW 1967, BELLMER 1977, KRETSCHMER 1982, ANGER 1983, MCMURROUGH und HENNINGAN 1984, STEWART 2004, KUSCHE 2005, PÖSCHL 2008], da er neben Metallionen die Ausbildung der Dauertrübung katalysiert [O'ROURKE 1994].

Der Gesamtsauerstoff im abgefüllten Bier setzt sich aus einem gelösten und einem im Kopfraum enthaltenen Anteil zusammen. Über die Entnahme definierter Biermengen aus den abgefüllten Flaschen wurde der Kopfraum und somit die Sauerstoffkonzentration in den Bierproben variiert. Die Flaschen mussten dabei gleich lange geöffnet bleiben, um den zeitlichen Einfluss konstant zu halten. Durch anschließendes Schütteln des auf 20 °C temperierten Biers wurde der Sauerstoff zwischen Bier und Kopfraumlufte ins Gleichgewicht gebracht und seine Konzentration im Bier sofort bestimmt<sup>30</sup>.

---

<sup>30</sup>Zur Bestimmung des Sauerstoffs im Bier wurde das O<sub>2</sub>-Messsystem 3660 Analyzer for Oxygen der Orbisphere Laboratories, Schweiz eingesetzt.

Der Gesamtsauerstoffgehalt im Bier konnte unter Verwendung eines Umrechnungsfaktors berechnet werden: dem Z-Wert für Gesamt-O<sub>2</sub> bei 20 °C nach MEBAK, welcher das Kopfraumvolumen<sup>31</sup> berücksichtigt [MIEDANER 2002]. Die ermittelten Füllvolumina, der daraus berechnete Kopfraum sowie die entsprechenden Z-Werte sind in Tabelle 5.12 aufgelistet.

Tabelle 5.12. Füll- und Kopfraumvolumen, ermittelter Z-Wert nach MEBAK und daraus berechnete Sauerstoffkonzentration in der jeweiligen Bierprobe sowie pH-Wert und Leitfähigkeit der Biere [modifiziert nach MÜLLER 2011].

Füllvolumen [ml]	Kopfraum [ml]	Kopfraum* [%]	Z-Wert*	O <sub>2</sub> [mg·l <sup>-1</sup> ]	pH-Wert	Leitfähigkeit [mS·cm <sup>-1</sup> ]
487	38	7,9	3,45	<b>7,62</b>	4,29	1,78
477	48	10,0	4,12	<b>9,11</b>	4,29	1,78
463	62	13,4	5,18	<b>11,45</b>	4,31	1,78
438	87	19,9	7,20	<b>15,91</b>	4,31	1,78

\* Berechnungen gemäß MEBAK-Vorschrift [MIEDANER 2002].

Aus Tabelle 5.12 lässt sich zusätzlich erkennen, dass pH-Wert und Leitfähigkeit im Bier nach Kontamination mit Luftsauerstoff nahezu konstant bleiben.

In Abbildung 5.36 sind die Kurvenverläufe des Potentials und des titrierten Volumens der Ladungstitation dargestellt. Während das Potential mit steigender Sauerstoffkonzentration von -297 mV auf -276 mV absinkt, nimmt das titrierte Volumen von 0,55 ml auf 0,72 ml kontinuierlich zu.

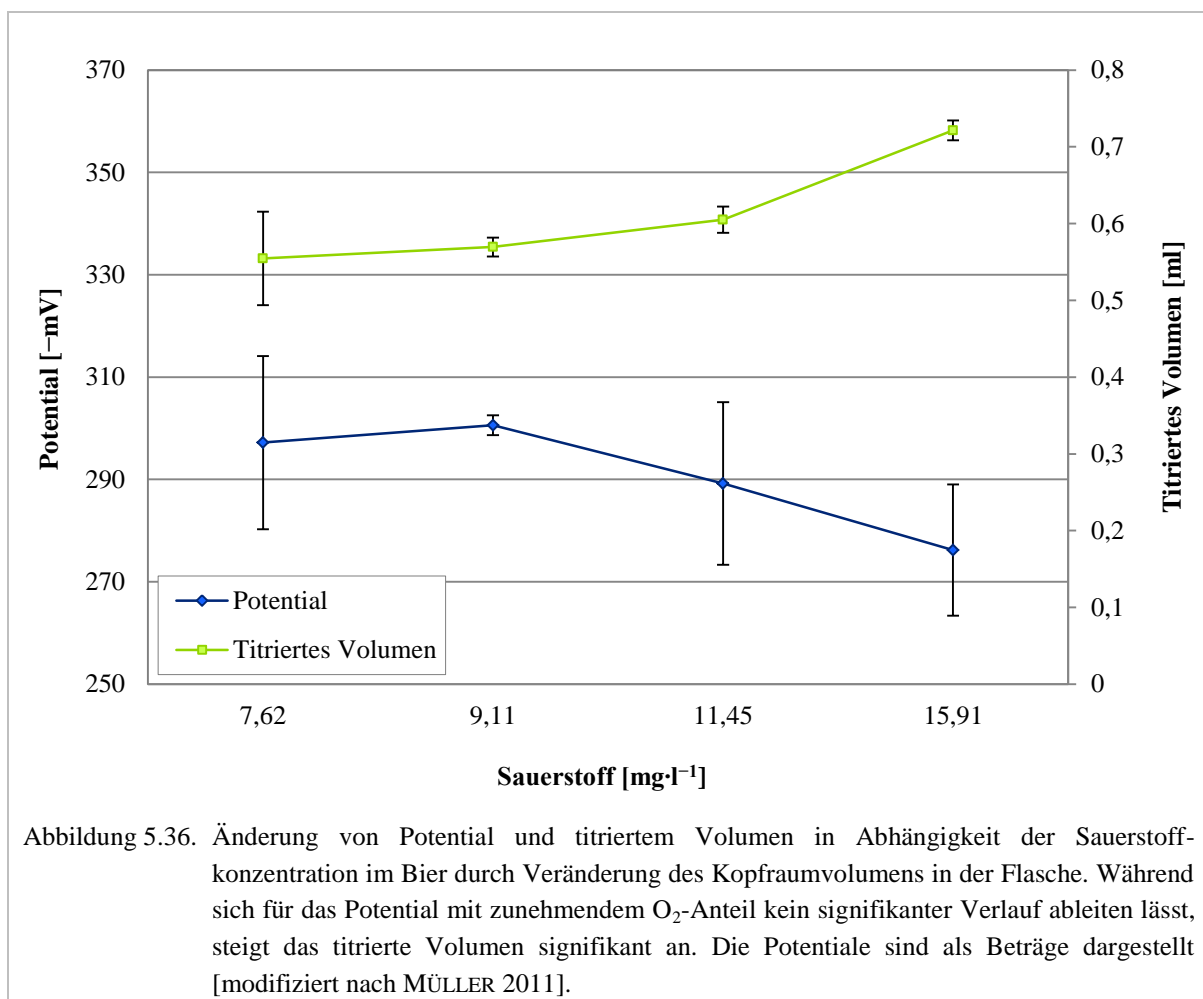
Die Ergebnisse der Ladungstitation deuten darauf hin, dass der Sauerstoffgehalt einen wesentlichen Einfluss auf die Trübungsstabilität nimmt. Die geringere Stabilität drückt sich, wie oben beschrieben, durch ein geringeres Potential und ein höheres Titrationsvolumen aus. Nur für die Ergebnisse des titrierten Volumens konnte ein signifikantes Ansteigen nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse bestätigen nur teilweise die Lehrmeinung, je höher der O<sub>2</sub>-Anteil im Bier, desto schneller verläuft die Trübungsaktivierung bzw. Polymerisierung der Gerbstoffe. Diese reagieren mit Eiweißstoffen und bilden mit diesen trübungsaktive Komplexe [NARZISS 2004]. So müssen beispielsweise Flavanoide zunächst oxidiert werden, bevor sie Polymere bilden, also zu größeren Einheiten (Oligomere) polymerisieren können [MCMURROUGH und O'ROURKE 1997]. So konnte auch PÖSCHL durch unterschiedlich langes Öffnen von Bierflaschen mit anschließendem Schütteln (15 Minuten) Sauerstoffkonzentrationen von 0,2 mg·l<sup>-1</sup> (ungeöffnetes Bier), 3,4 mg·l<sup>-1</sup> (einminütiges Öffnen) und 7,1 mg·l<sup>-1</sup> (fünfminütiges Öffnen) einstellen und damit eindeutige Korrelation zwischen dem Sauerstoffgehalt und der Langzeitstabilität des Biers nachweisen [PÖSCHL 2008].

<sup>31</sup>Das eingestellte Füllvolumen sowie das Gesamtvolumen der verwendeten Flaschen (Randvollvolumen) wurden mit Wasser bestimmt, um daraus das Kopfraumvolumen zu berechnen. Dabei gilt: Gesamtvolumen des Kopfraums = Randvollvolumen – Füllvolumen.

Nach den Erkenntnissen aus der Literatur müsste das Potential in Abbildung 5.36 absinken. Obwohl sich dies aufgrund fehlender signifikanter Unterschiede nicht bestätigt, würde sowohl ein Abfallen des Potentials, als auch das Ansteigen des Titrationsvolumens die Erklärung für die schlechtere kolloidale Stabilität des Biers darstellen. Beide Parameter entwickeln sich nachteilig.

Tendenziell zeigen die Ergebnisse, dass der Sauerstoff grundsätzlich einen negativen Einfluss auf die Bierstabilität besitzt. Zusammenfassend bestätigen die Ergebnisse der Ladungstitation die Trübungsrelevanz des Sauerstoffs im abgefüllten Bier. Die Resultate stehen im Einklang mit den Beobachtungen in der Literatur zu den wesentlichen Einflussfaktoren auf die chemisch-physikalische Stabilität des Biers.



#### 5.4 Untersuchung der Vorhersagbarkeit der kolloidalen Bierstabilität

Das Ziel dieser Arbeit war es, mittels Ladungstitationsmethode eine schnelle Vorhersage über die kolloidale Stabilität von Bier zu treffen, ohne langwierige und aufwendige Messmethoden durchzuführen.

In der Vergangenheit wurden einige Vorhersagemodelle basierend auf unterschiedlichen Beurteilungsparametern entworfen [BERG 1991, O'ROURKE 1994, MCMURROUGH et al. 1999, PAPP 2000, SCHNEIDER und RASKE 2000, KUSCHE 2005]. Diese Analysemethoden basierten

oft nur auf Bieren einer Charge, die zu Untersuchungszwecken unterschiedlich stabilisiert wurden. Aufgrund fehlender Allgemeingültigkeit sind die so gewonnenen Ergebnisse jedoch nicht unbedingt auf die gesamte Brauindustrie übertragbar.

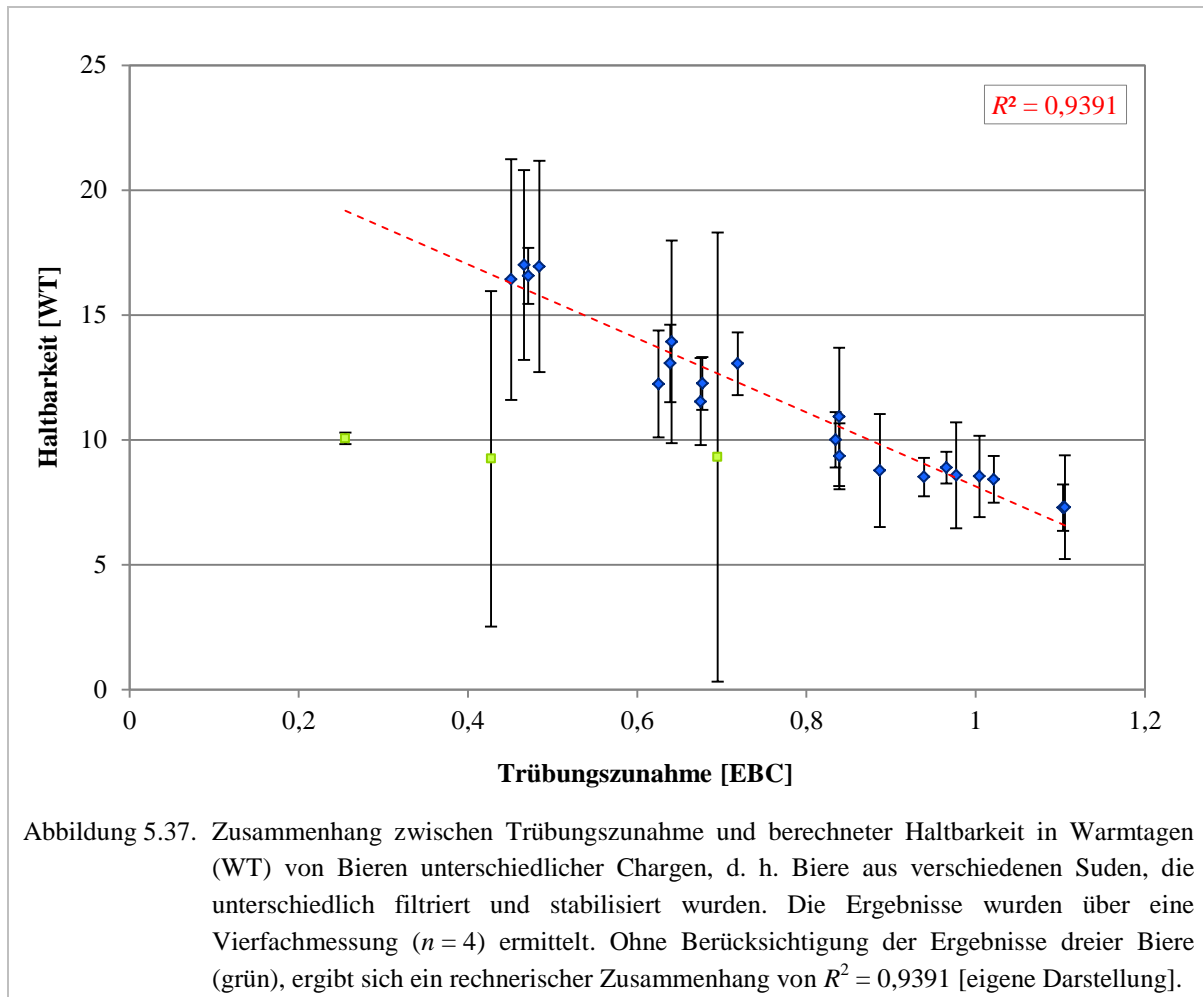
In Kapitel 5.2 wurde gezeigt, dass sowohl Potentialänderungen in Abhängigkeit der Alterung, als auch die titrierte Ausgangsmenge (Maß der Partikelkonzentration) Rückschlüsse auf die zu erwartende Langzeitstabilität eines Biers zulassen. Auch diese Aussagen beziehen sich aber nur auf Biere derselben Charge.

#### 5.4.1 Forciertest von Bieren unterschiedlicher Chargen

Zum Erstellen eines allgemeingültigen Modells wurden Bierproben 24 unterschiedlicher Abfüllungen entnommen. Die Biere entstammten folglich sicher verschiedenen Suden und waren unterschiedlich filtriert sowie stabilisiert.

Die Proben wurden zunächst im frischen Zustand mit der Ladungstitation analysiert und anschließend einem modifizierten Forciertest unterzogen. Laut Kapitel 2.9.2 ist die Wärmebehandlung die treibende Kraft der forcierten Alterung. In der angewandten Forciermethode wurde ein Zeitraum von sechs Tagen bei 60 °C ohne Unterbrechung durch beispielsweise eine Kältebehandlung gewählt. Gemäß den Erkenntnissen aus Kapitel 5.2.1.3 entspricht diese Behandlung sechs Warmtagen nach der MEBAK-Methode, da nur die Stunden der Wärmebehandlung zählen. Um höhere Zutrübnungen (Differenz zwischen Ausgangstrübung und Trübung am Ende des Forciertests) zu messen, fand nach dem sechsten Warmtag noch eine Kältephase von 24 Stunden bei 0 °C statt. Nach dieser wurde dann die Kältetrübung bestimmt.

Anhand der Zutrübnungswerte konnte auf Basis empirischer Daten für den jeweiligen Biertyp rechnerisch die voraussichtliche Haltbarkeit in Warmtagen ermittelt werden. Die Brauerei, in der dieser Versuch durchgeführt wurde, besitzt hierzu über Jahre gesammelte Erfahrungswerte. Da diese in der Praxis bereits erprobt und anerkannt waren, dienten sie zur Berechnung der Warmtage. In Abbildung 5.37 sind die errechneten Haltbarkeiten in Warmtagen gegenüber der Trübungszunahme der Biere aufgetragen. Mit steigendem Trübungswert sinkt die Anzahl der Warmtage.



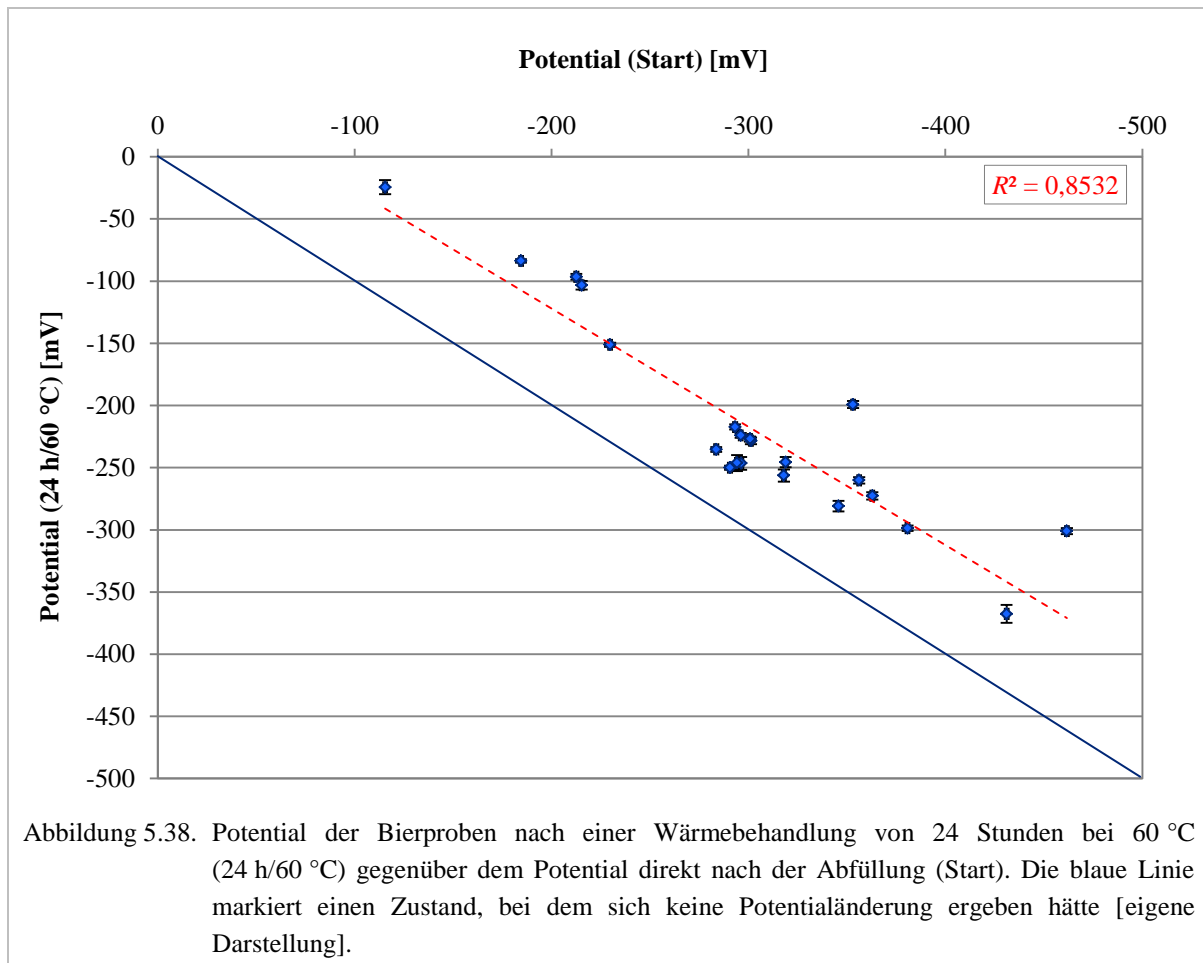
Drei Bierproben aus Abbildung 5.37 können theoretisch als Ausreißer betrachtet werden (grün markiert). Wird für die restlichen 21 Biere das Bestimmtheitsmaß ermittelt, ergibt sich ein Wert von  $R^2 = 0,9391$ . Unter Berücksichtigung der Ausreißer fällt  $R^2$  jedoch auf 0,5141. Durch sehr hohe Abweichungen (große Konfidenzintervalle) zwischen Ergebnissen der Trübungsmessung waren vereinzelt keine signifikanten Zusammenhänge erkennbar.

Aus diesem Grund stellt die rechnerische Ermittlung der Warmtage, bedingt durch hohe Schwankungen der Trübungswerte, nicht immer ein zutreffendes Maß für die Vorhersagbarkeit dar. Dies ist besonders problematisch, da der Forciertest bei den meisten Untersuchungen zur chemisch-physikalischen Bierstabilität die einzige Referenzmethode bildet. Dieser Aspekt wird in der nachfolgenden Diskussion noch eine entscheidende Rolle spielen.

#### 5.4.2 Korrelationen zwischen Forciertest und Ladungstitration

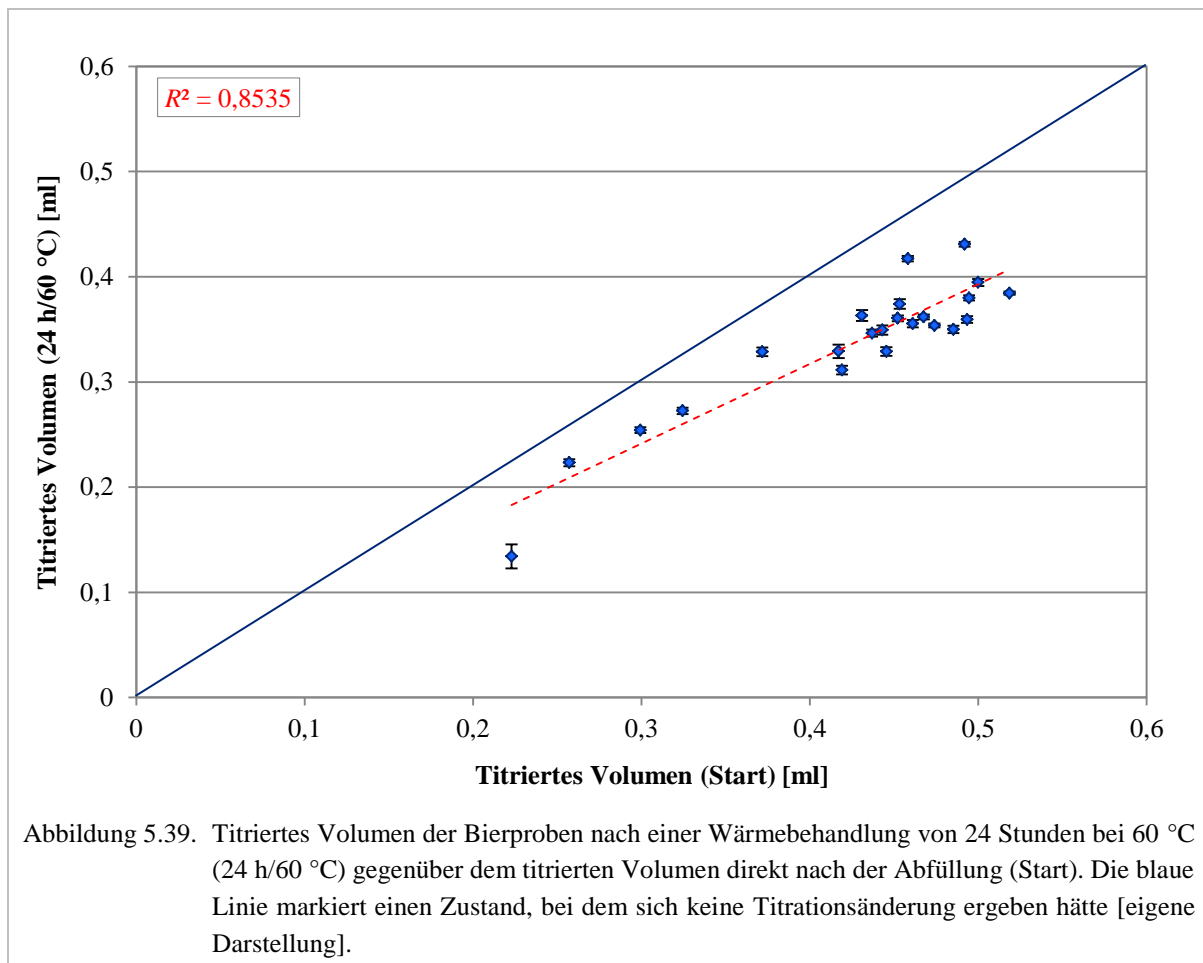
Die Ergebnisse aus Kapitel 5.2.2.2 haben gezeigt, dass bereits nach dem ersten Warmtag eine signifikante Änderung des Potentials nachweisbar ist, siehe dazu Abbildung 5.31. Um diesen Effekt zu nutzen, wurden die Proben nach der ersten 24-stündigen Wärmebehandlung bei 60 °C erneut mittels Ladungstitration gemessen. Wie Abbildung 5.38 zeigt, sinkt das Potential der Partikel aller Biere im Zuge der Wärmebehandlung.

Die blaue Linie markiert den Zustand, hätte sich keine Änderung zwischen Anfangspotential (Start) und dem Potential (24 h/60 °C) nach dem ersten Warmtag ergeben.



Gemäß den Ergebnissen aus Kapiteln 5.2.2.1 (Abbildung 5.28) und 5.2.2.2 (Abbildung 5.30) verhält sich das titrierte Volumen mit zunehmender Alterung linear zum Potential. Dieser Sachverhalt konnte auch für die Messungen der Biere in Abbildung 5.38 nachgewiesen werden. Abbildung 5.39 weist außerdem die Abnahme des titrierten Volumens nach dem ersten Warmtag nach.



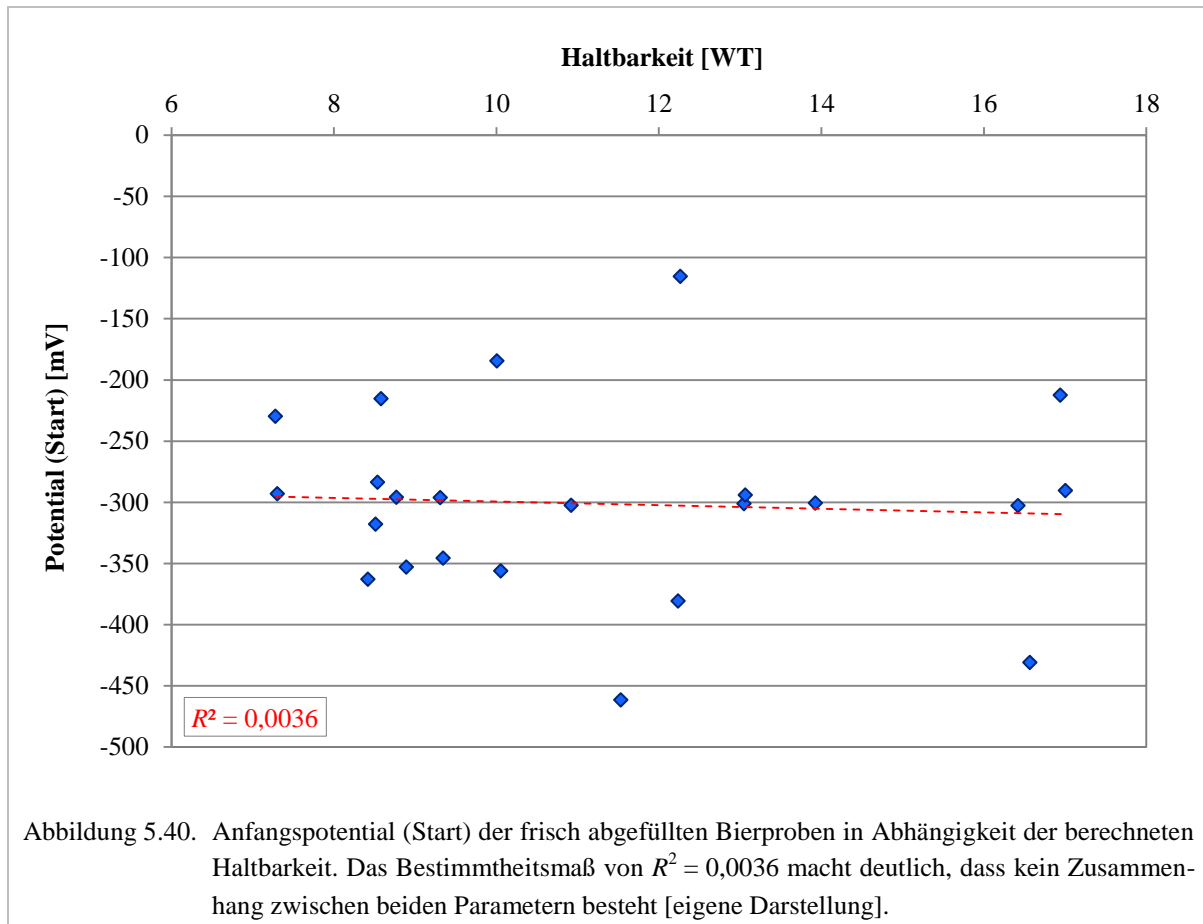


#### 5.4.2.1 Zusammenhang von Trübungszunahme und Potential bzw. Gesamtladung

Um letztlich Voraussagen über die Langzeitstabilität der einzelnen Biere zu treffen, erfolgte die Prüfung eines Zusammenhangs zwischen den stabilitätsbestimmenden Parametern und der trübungsfreien Zeit des Biers.

So wurde zunächst das Anfangspotential mit der berechneten Haltbarkeit in Beziehung gesetzt. Abbildung 5.40 zeigt, mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,0028$  konnte kein Zusammenhang zwischen Potential und Warmtagen gefunden werden. Mit  $R^2 = 0,0036$  war die Korrelation zwischen titriertem Volumen und Warmtagen ähnlich schwach. Selbst die Auftragungen von Potentialabnahme (Potential 24/60 °C – Potential Start) oder Abnahme des titrierten Volumens zeigten mit  $R^2 = 0,0212$  und  $R^2 = 0,0008$  keinerlei Zusammenhang mit der Haltbarkeit der Biere.

Die Ursache der schwachen Übereinstimmung könnte grundsätzlich auch in Mängeln der Referenzmethode liegen. Dieser Punkt soll im Folgenden näher beleuchtet werden.



#### 5.4.2.2 Beurteilung des Forciertests als Referenzmethode

Da die stabilitätsbestimmenden Parameter Potential und titriertes Volumen (Gesamtladung) für Biere unterschiedlicher Chargen nicht mit der berechneten Haltbarkeit aus dem Forciertest korrelieren, wird eine Diskussion der Referenzmethode notwendig. Für die weitere Betrachtung wurden dazu 10 der 24 Bierproben näher untersucht.

Der entscheidende Messwert zur Berechnung der voraussichtlichen Haltbarkeit ist die Zutrübung im Laufe des Forciertests. Auf dessen Basis konnte anhand von empirischen Daten die tatsächliche Haltbarkeit in Warmtagen ausgedrückt werden. Die Durchführung der Haltbarkeitsproben erfordert in der Praxis viel Zeit. Außerdem ist dazu eine Vielzahl von Proben notwendig, um statistisch abgesicherte Werte zu erhalten. Theoretisch ist es nach Kapitel 4.5, Gleichung 4.13 möglich, die Haltbarkeit in Warmtagen auch noch auf die tatsächliche Haltbarkeitsdauer mittels weiterer Umrechnungsfaktoren (brauereiintern) umzurechnen. Dies wird aber als wenig sinnvoll erachtet, da die Aufbewahrungstemperaturen, beispielsweise 6 °C im Kühlschrank oder 20 °C der Haltbarkeitsprobe und damit auch die Geschwindigkeit der Trübungsbildung zu stark variieren [PÖSCHL 2008].

Abbildung 5.41 zeigt die Auftragung der Trübungszunahme gegenüber der berechneten Haltbarkeit in Warmtagen. Trotz jahrelanger Erfahrung erreicht der Zusammenhang zwischen beiden Parametern lediglich ein Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,7732$ . Darüber hinaus fallen die Messergebnisse zweier Bierproben durch besonders große Konfidenzintervalle auf (in

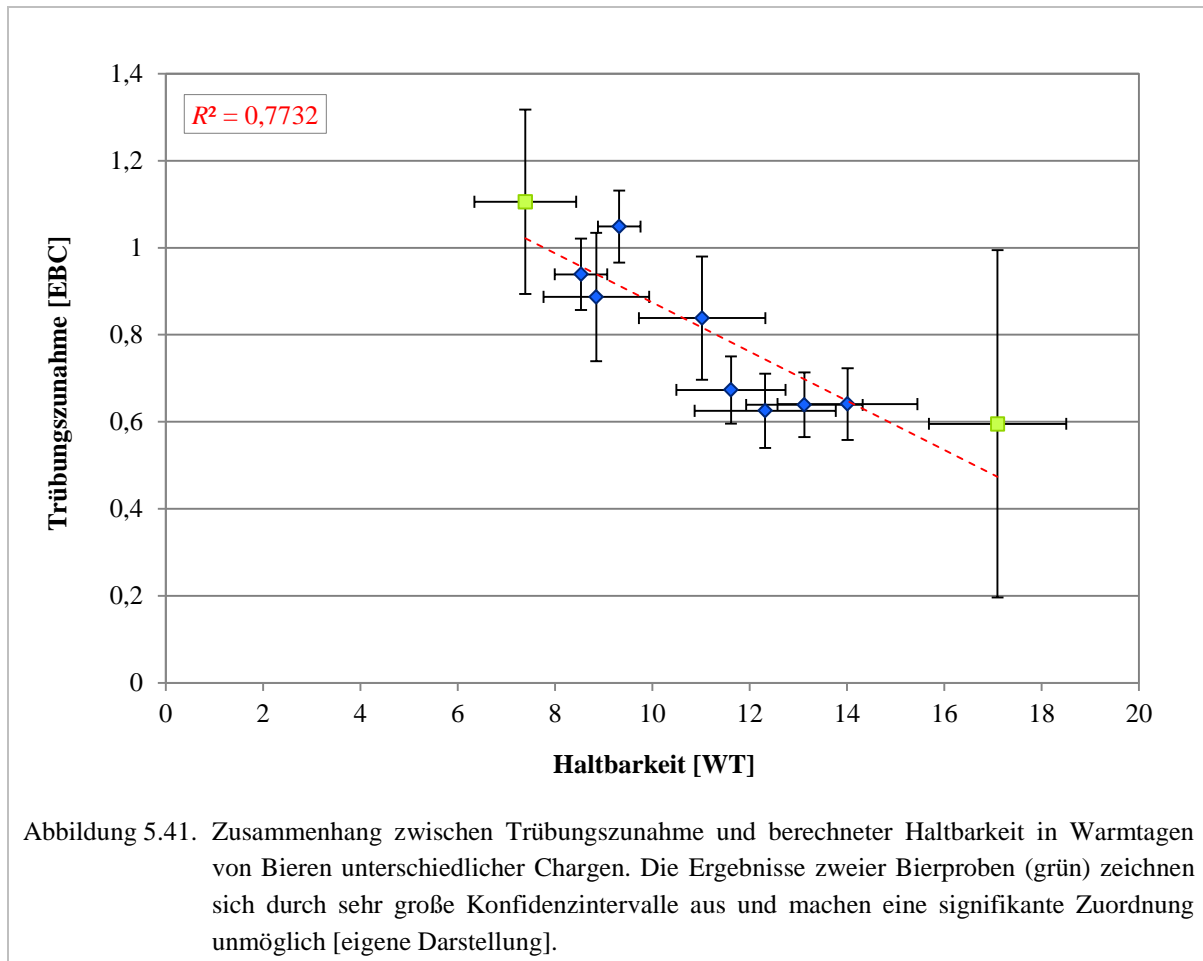
Abbildung 5.41 grün markiert). Aufgrund hoher Messwertabweichungen bei der Trübungsbestimmung stellen sie sich als nicht signifikant dar. Für eine einwandfreie Interpretation werden sie daher außer Acht gelassen, so dass sich das Bestimmtheitsmaß auf  $R^2 = 0,7848$  erhöht.

Die Parameter Zutrübung und berechnete Haltbarkeit beruhen auf Mehrfachmessungen der Biertrübung. Auch für die Haltbarkeit können Konfidenzintervalle angegeben werden (horizontale Konfidenzintervalle in Abbildung 5.41), sofern für jede Einzelmessung die theoretische Haltbarkeit errechnet wird. Die Breite jedes Konfidenzintervalls kann bis zu drei Warmtage ausmachen und zeigt die Variabilität der berechneten Haltbarkeit, dargestellt in Abbildung 5.41.

Die höchste Schwierigkeit einer Vorhersage mittels Forciertest besteht in der Umrechnung der Zutrübung auf die tatsächliche Haltbarkeit des Biers. Eigentlich benötigt der Forciertest eine Kalibrierung oder Justierung, da das Ergebnis „Warmtag“ allein wenig Aussagekraft besitzt. Um einen Warmtag in die tatsächliche Haltbarkeit umzurechnen, müssen Proben über lange Zeit beobachtet werden. Durch häufig auftretende Veränderungen im Brauprozess, bei Rohstoffen oder Hilfsmitteln werden die vorhandenen Erfahrungswerte hinfällig [MÉLOTTE 2008].

Abbildung 5.41 belegt die Schwächen des Forciertests. Sensitivität und Spezifität einer neuen Vorhersagemethode müssen daher immer in Relation zu den Schwächen der Referenzmethode interpretiert werden. So lassen sich beispielsweise mathematisch keine genaueren Korrelationsergebnisse (außer durch Zufall) erzielen, als bei der verwendeten Referenzmethode. Jede neu evaluierte Methode ist folglich so gut oder schlecht wie ihre Referenz, aber nicht nachweisbar besser.

Aus den vorangegangenen praktischen Überlegungen stellt die analytisch ermittelte Zutrübung (Trübungsdifferenz) über die Zeit ein verlässlicheres Maß zur Beurteilung der Langzeitstabilität dar, als die Warmtagberechnung. Es ist nachvollziehbar, dass eine schnellere Zutrübung im Forciertest voraussichtlich eher zu einer visuell wahrnehmbaren Dauertrübung führt. Aus diesem Grund wird im Folgenden die Beurteilung der chemisch-physikalischen Stabilität auf die Trübungsneigung der Biere abgestellt.



#### 5.4.2.3 Definition des Stabilitätswerts

Für die einzelnen Stabilitätsparameter eines Biers lässt sich also in keiner Weise ein Bezug zu seiner Haltbarkeit oder der Trübungsdifferenz herstellen. Dies führt zur Frage, ob die Parameter Potential und titriertes Volumen wirklich isoliert voneinander betrachtet werden können. Sind beide als abhängige Variablen miteinander verknüpft, ließe sich erklären, weshalb in der Einzelbetrachtung anhand des Bestimmtheitsmaßes keine Zusammenhänge zu erkennen sind. Ebenfalls wichtig könnte sein, dass sich beide Messgrößen im Zuge der Alterung abhängig voneinander verändern, siehe dazu Abbildungen 5.28 und 5.30<sup>32</sup>.

Im Allgemeinen werden Zusammenhänge zwischen einer abhängigen und einer unabhängigen Variable mit dem Bestimmtheitsmaß  $R^2$  ausgedrückt. Obwohl  $R^2$  grundsätzlich etwas über die Qualität einer funktionellen Approximation, beispielsweise einer linearen Anpassung aussagt, zeigt es nicht, ob das Modell richtig spezifiziert wurde. Ein hohes  $R^2$  indiziert eine gute Approximation an die Daten mittels geschätzter Regressionsfunktion.

<sup>32</sup>Vergleichen lässt sich dieser Fall mit der Bestimmung des Kolbachindex, auch Eiweißlösungsgrad genannt. Dieser wird mittels Quotientbildung aus zwei voneinander abhängigen Variablen, dem löslichen Stickstoff und dem Gesamtstickstoff errechnet [ANGER 2006]. Einzel betrachtet, zeigt keine Variable Linearität zum Kolbachindex.

Ein  $R^2$  nahe Null hingegen zeigt, dass es keinen Zusammenhang zwischen abhängiger und unabhängiger Variable gibt. Problematisch wird die Interpretation immer dann, wenn die abhängige Variable durch weitere Faktoren beeinflusst wird, mit denen sie mathematisch verknüpft ist.

Laut Ausführungen in Kapitel 5.2.2 stehen hohe Oberflächenpotentiale und geringe Partikelkonzentrationen für gute Stabilitätseigenschaften des Biers. Während die Langzeitstabilität mit steigendem Potential wächst, fällt sie mit zunehmender Partikelkonzentration ab. Eine physikalische Größe als Ausdruck der Stabilität, im Folgenden als Stabilitätswert bezeichnet, kann wie folgt definiert werden:

$$\text{Stabilitätswert} = \text{Potential} \cdot (\text{titriertes Volumen})^{-1}. \quad (5.5)$$

Werden Potential und titriertes Volumen der frisch abgefüllten Bierproben für die Berechnung des Stabilitätswerts herangezogen und dieser gegenüber der Zutrübung aufgetragen, lässt sich auch damit kein Zusammenhang zwischen beiden Größen ableiten ( $R^2 = 0,0301$ ). Weshalb die Auftragung des Stabilitätswerts als eine Funktion aus zwei abhängigen Variablen gegenüber der Haltbarkeit des Biers keine Abhängigkeiten zeigt, erklärt die Betrachtung der theoretischen Grundlagen.

Die Ergebnisse aus den Kapiteln 2.4.4 und 2.5 zeigten, dass die Höhe des messbaren Potentials von der Höhe des NERNST-Potentials (Oberflächenpotential) der Partikel abhängt. Je größer das NERNST-Potential, um so größer ist das messbare Potential in der diffusen Schicht. Unterschiede in den Oberflächenladungsdichten der Partikel lassen sich so über Potentialunterschiede (konstante Messbedingungen vorausgesetzt) erkennen. Gemäß Kapitel 2.9 sind besonders die Änderungen in der Oberflächeneigenschaft der Partikel für die chemisch-physikalische Stabilität des Biers verantwortlich.

Innerhalb einer Charge konnten im Zuge der Alterung solche Unterschiede mit dem PLD deutlich bestimmt werden, siehe dazu Kapitel 5.2.3, Tabelle 5.8. Die detektierbaren Unterschiede sinken aber, je höher die Elektrolytkonzentration im Bier ist. Mit zunehmender Salzkonzentration wird die diffuse Schicht immer weiter komprimiert und der messbare Unterschied in den Potentialen sinkt. Es ist deshalb nahezu unmöglich, die Potentialwerte zweier Bierproben mit unterschiedlichen Leitfähigkeiten sinnvoll zu interpretieren. Beim Vergleich innerhalb einer Charge trat dieses Problem nicht auf, da die Leitfähigkeit im Zuge der Alterung nahezu konstant blieb. Grund für fehlende Zusammenhänge zwischen Potential und Trübungszunahme könnten daher leitfähigkeitsbedingte Änderungen des Potentials zwischen den unterschiedlichen Abfüllchargen sein. Diese würden als Unterschiede in der Oberflächenladungsdichte fehlinterpretiert [MÜLLER 1996].

Doch welche Potentiale lassen sich sinnvoll bei Bieren unterschiedlicher Leitfähigkeiten vergleichen? Mit dem PLD wird das Potential an der Scherebene in der diffusen Schicht bestimmt. Stärkeres Abscheren der diffusen Schicht im Messspalt erhöht das messbare Potential. Dies kann theoretisch durch ein Erhöhen der Strömungsgeschwindigkeit erreicht werden. Hierzu muss eine kritische Strömungsgeschwindigkeit existieren, die mindestens erforderlich ist, um nahezu die gesamte diffuse Schicht abzuscheren. Allerdings ist auch stärkere Strömung weder in der Lage, ein vollständiges Abscheren der diffusen Schicht noch

ein Abscheren der STERN-Schicht herbeizuführen [MÜLLER 1996]. Der Messspalt von 0,5 mm bei Verwendung des Justierkolbens wurde durch einen Austausch mit dem Messkolben auf eine Spaltbreite von 0,2 mm verringert. Nach den Strömungsberechnungen in Kapitel 4.1.2.9 konnte die Geschwindigkeit von  $229 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  auf  $591 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  mehr als verdoppelt werden. Trotz dieser messtechnischen Änderung schien es nicht möglich, das messbare Potential ausreichend in Richtung des STERN-Potentials zu erhöhen. Die Elektrolytkonzentration im Bier ist vergleichbar mit einer  $10^{-2}$  molaren KCl-Lösung [ILBERG 1996]. Damit ist sie zu hoch, um der Kompression der diffusen Schicht durch die Ionen mittels Erhöhen der Strömungsgeschwindigkeit entgegenzuwirken.

In Kapitel 2.5 wurde diskutiert, ob sich das messbare Potential bei extrem niedrigen Elektrolytkonzentrationen dem STERN-Potential annähert und diesem folglich gleichgesetzt werden kann. Obwohl im Zuge der Probenvor- und aufbereitung nach Kapitel 4.1.1 stets versucht wurde, die Probenmatrix möglichst wenig zu verändern, war ein Verdünnen der Biere mit Wasser unvermeidbar. Die Ergebnisse in 5.1.9.2 belegen, dass sich das messbare Potential durch diese Maßnahme erhöht. Gemäß Abbildung 5.15 erreicht es bei einer Bierkonzentration von 30 % einen Maximalwert. Eine weitere Bierprobenverdünnung hat keinen Einfluss mehr auf die Potentialerhöhung. Es wird daher angenommen, dass dieses Potential dem STERN-Potential der Partikel entspricht.

ILBERG fand in seinen Untersuchungen heraus, dass sich eine Verdünnung von Bier mit partikelfreiem, destilliertem Wasser positiv auf die Erhöhung der Filtrationsleistung auswirkt. Grund hierfür waren weiterreichendere elektrostatische Kräfte zwischen Partikel und Membran, die den Abscheidemechanismus bei der Membranfiltration positiv beeinflussten [ILBERG 1996].

Ein weiterer Vorteil der Verdünnung liegt in der Änderung der absoluten Standardabweichung einer Messung. Diese ist bei niedrigen Potentialen nur unwesentlich geringer als bei hohen Potentialen. So fällt eine Standardabweichung von 2,41 mV bei einem Potentialwert von  $-112 \text{ mV}$  stärker ins Gewicht, als 5,68 mV bei einem Potential von  $-396 \text{ mV}$ . Eine Messung im Niedrig-Elektrolytmedium mit maximalen Potentialwerten erleichtert also den Nachweis, dass sich zwei gemessene Werte signifikant unterscheiden [MÜLLER 1996].

Um die (STERN-)Potentiale der Biere zu vergleichen, wurden die Proben im Verhältnis zu 70 % mit entmineralisiertem Wasser verdünnt und mittels Ladungstitrationsmethode analysiert. In Abbildung 5.42 sind Potential und titriertes Volumen in Abhängigkeit der Bierkonzentration für ein Bier (Probe 1) aufgetragen. Im Gegensatz zum linearen Absinken des titrierten Volumens steigt das Potential mit zunehmender Bierprobenverdünnung an. Bei etwa 30 % Bieranteil durchläuft es ein Maximum.

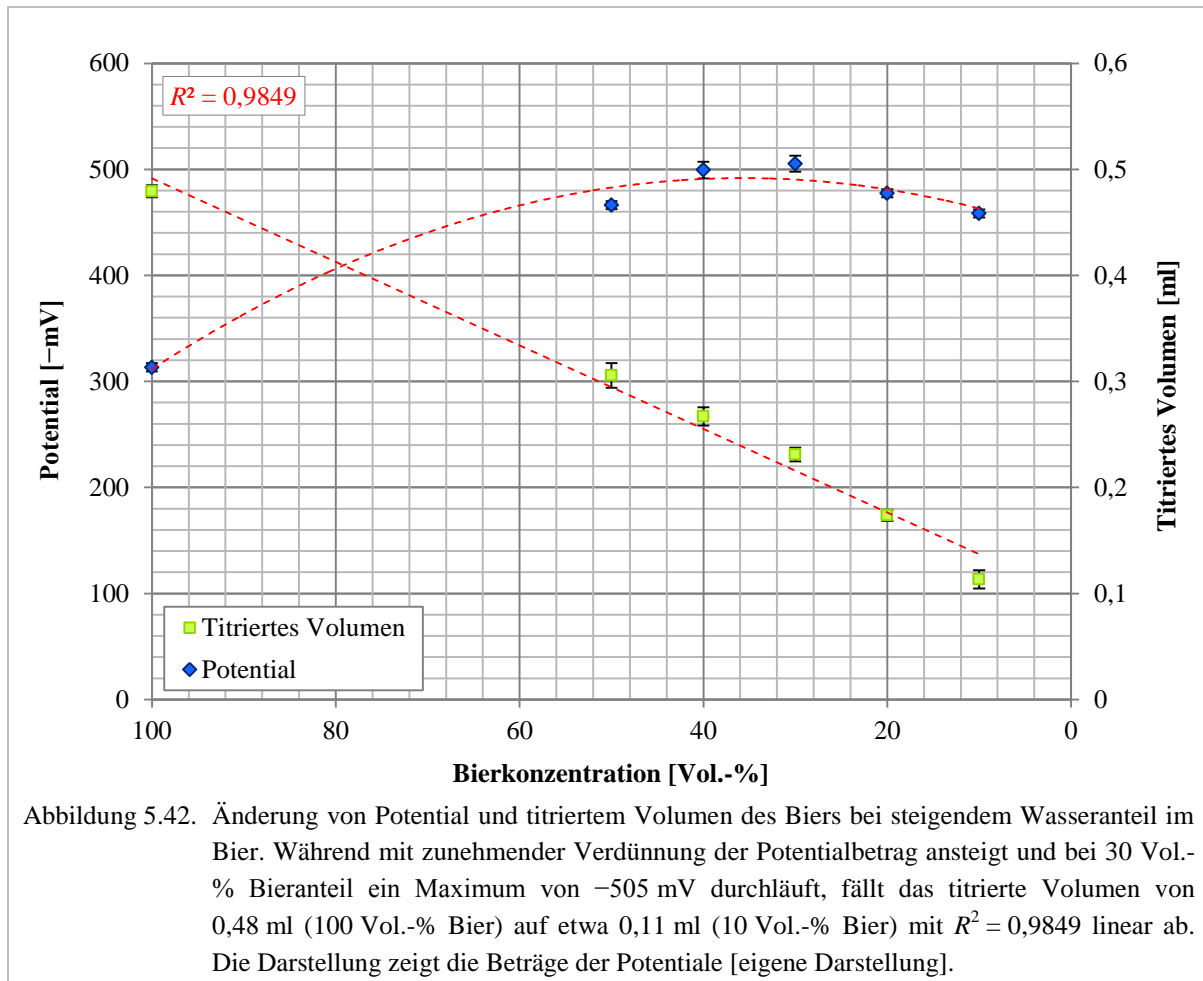


Tabelle 5.13 zeigt die Anfangspotentiale der frisch abgefüllten Biere aus Abbildung 5.41 im unverdünnten Zustand (100 % Bier) und bei einer Bierkonzentration von 30 %. Daneben sind die entsprechenden titrierten Volumina aufgeführt. Aus dem Potential bei 30 % Bier und dem zugehörigen titrierten Volumen errechnet sich der Stabilitätswert nach Gleichung 5.5.

Tabelle 5.13. Potential und titriertes Volumen der verdünnten und unverdünnten Bierproben. Aus dem Potentialwert und dem entsprechenden titrierten Volumen der verdünnten Biere errechnet sich nach Gleichung 5.5 der Stabilitätswert. Zusätzlich sind Trübungszunahme und Bestimmtheitsmaß der Proben aufgeführt [modifiziert nach MÜLLER 2011].

Probe	100 % Bier		30 % Bier		Stabilitätswert** [ $-\text{mV}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Trübungsdifferenz [EBC]	$R^{2***}$
	Potential [mV]	titriertes Volumen [ml]	Potential* [mV]	titriertes Volumen [ml]			
1	-313	0,48	-505	0,23	2.188	0,64	0,9849
2	-288	0,38	-409	0,20	2.015	0,89	0,9586
3	-300	0,40	-425	0,20	2.123	1,11	0,9704
4	-286	0,38	-420	0,19	2.178	0,60	0,9612
5	-330	0,47	-511	0,24	2.139	1,05	0,9687
6	-293	0,42	-453	0,20	2.235	0,64	0,9782
7	-337	0,53	-503	0,23	2.160	0,84	0,9938
8	-308	0,57	-450	0,22	2.004	0,94	0,9982
9	-299	0,39	-458	0,18	2.510	0,63	0,9894
10	-286	0,40	-447	0,18	2.421	0,67	0,9906

\* Entspricht theoretisch dem STERN-Potential.

\*\* Berechnet aus dem Quotient Potential und titriertem Volumen bei einer Verdünnungsstufe von 30 % Bier.

\*\*\* Ermittelt nach Auftragen des titrierten Volumens gegenüber der Bierkonzentration für die Verdünnungsstufen von 100 Vol.-%, 50 Vol.-%, 40 Vol.-%, 30 Vol.-% und 10 Vol.-% Bier.

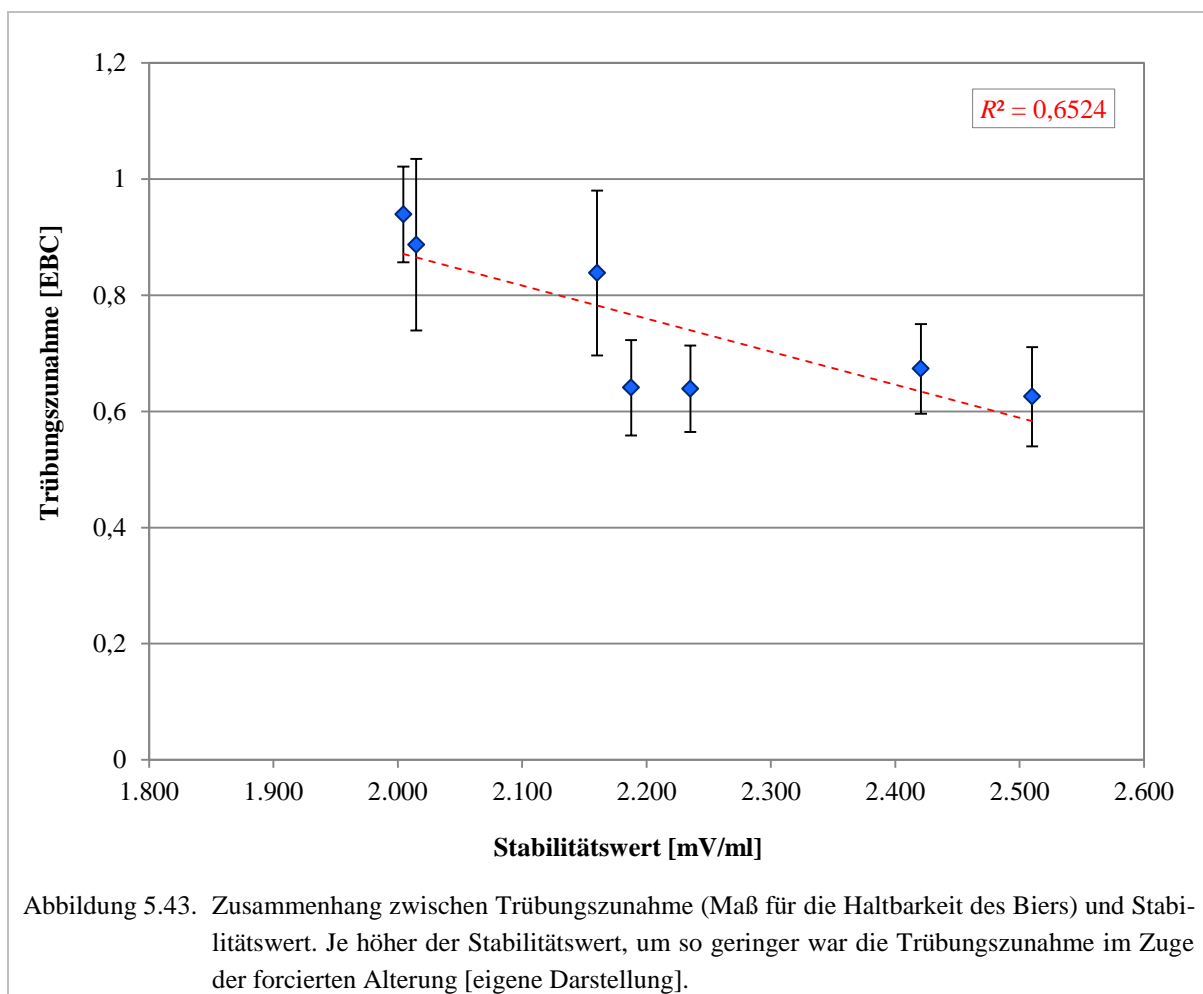
Während in Gleichung 5.5 immer das STERN-Potential der Probe als Zähler gilt, wäre die Berechnung grundsätzlich auch mit dem titrierten Volumen jeder anderen Verdünnungsstufe möglich. Dieses ändert sich linear, wie Abbildungen 5.17 und 5.42 zeigen. Zum Vergleich verschiedener Proben muss allerdings immer dieselbe Verdünnungsstufe für das titrierte Volumen als Nenner des Stabilitätswerts gelten. Tabelle 5.13 stellt in der letzten Spalte die errechneten Bestimmtheitsmaße aller Proben bei Auftragung des titrierten Volumens gegenüber der Bierkonzentration zusammen. Die Linearität ist für alle Proben als signifikant zu beurteilen. Damit ist auch erklärt, warum innerhalb einer Verdünnung keine lineare Beziehung zwischen titriertem Volumen und Potential bestehen kann.

Die zwei Biere, deren Trübungszunahme sich nicht eindeutig einer Haltbarkeit aufgrund ihrer sehr großen Konfidenzintervalle zuordnen lassen, bleiben in der weiteren Betrachtung unberücksichtigt (grün markiert in Abbildung 5.41 und grau unterlegt in Tabelle 5.13). Für die übrigen acht Biere in Tabelle 5.13 lässt sich ein Zusammenhang zwischen Stabilitätswert und Trübungsdifferenz mit  $R^2 = 0,5026$  erkennen. Auf dessen Basis kann über die Regressionsgerade ein Soll-Wert approximiert werden. Mit Hilfe der Regressionsgeraden ist es möglich, für jeden Messwert die relative Abweichung zu bestimmen. Anschließend wurde ein Ausreißertest nach NALIMOV durchgeführt, der speziell für eine geringe Datenmenge konzipiert ist [GOTTWALD 2000]. Damit lässt sich für Probe 5 ein Ausreißer nachweisen (rot unterlegte Werte in Tabelle 5.13).



Nach der Ausreißerbereinigung wurde für die verbliebenen 7 Biere die Trübungszunahme gegenüber ihren Stabilitätswerten aufgetragen. Es zeigt sich ein linearer Zusammenhang mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,6524$ , siehe Abbildung 5.43. Je größer die Trübungsdifferenz, desto kleiner ist der Stabilitätswert. Die Höhe des Stabilitätswerts gibt also an, wie langzeitstabil das Bier ist. Das Bestimmtheitsmaß liegt in der Größenordnung der Referenzmethode von  $R^2 = 0,7848$ , wie Abbildung 5.41 (ohne Berücksichtigung der grünen Werte) zeigt.

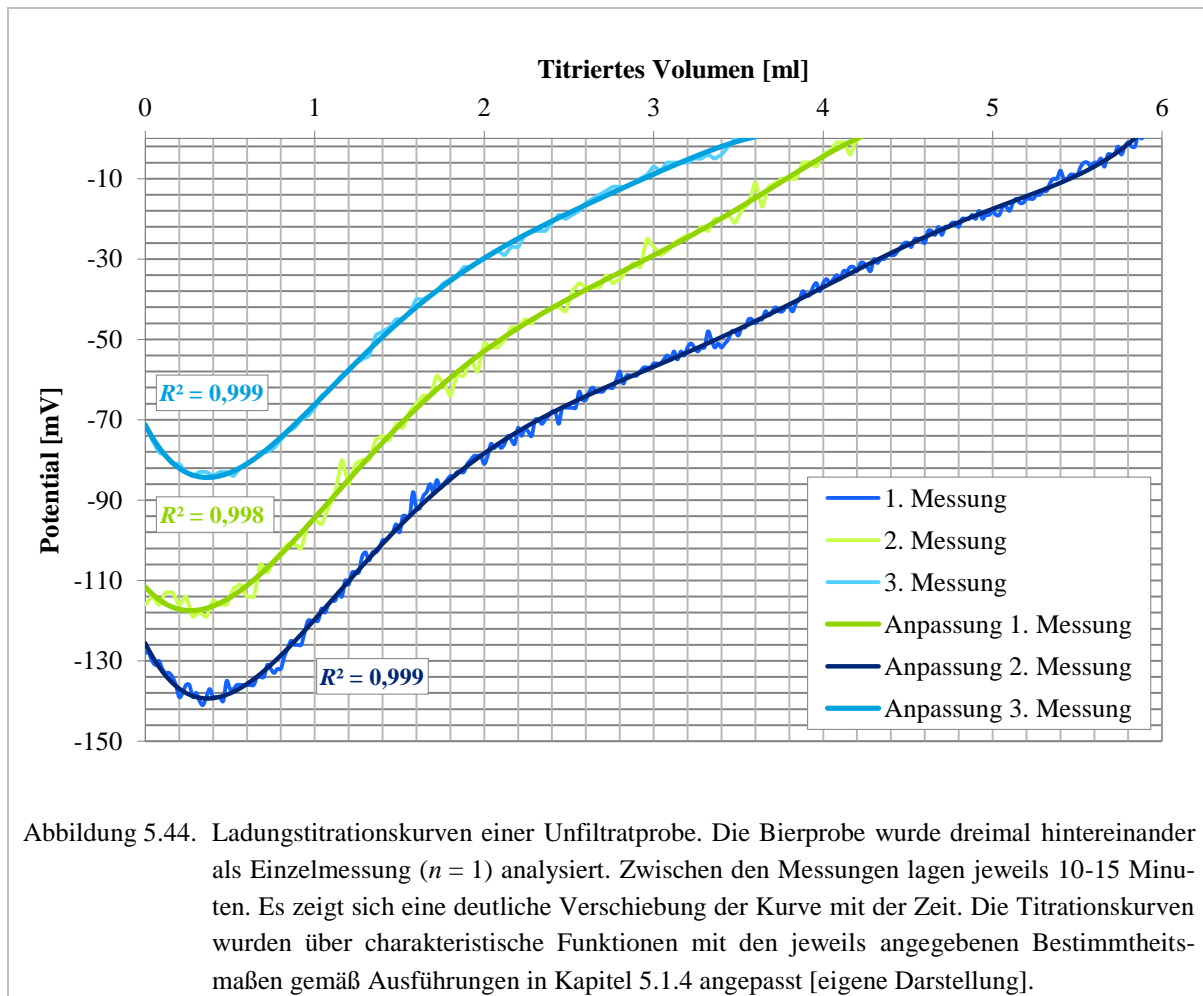
Zur Beurteilung der Anwendbarkeit dieser Ladungstitrationsmethode ist die Qualität der Referenzmethode nach wie vor der limitierende Faktor. Ein Zusammenhang zwischen der aufgestellten Theorie und der Referenzmethode mit Hilfe von Verdünnungen wurde dennoch gefunden. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, dass die Zutribung den besseren Referenzwert darstellt.



Es wurde deutlich, dass eine Beurteilung über die Stabilität des Biers ausschließlich anhand der frisch analysierten Probe durchgeführt werden konnte. Dies zeigt den entscheidenden Vorteil der Ladungstitrations gegenüber dem Forciertest: Mit der Ladungstitrations ist es möglich, innerhalb weniger Stunden eine Aussage über die kolloidale Stabilität eines Biers zu treffen. So kann die Stabilität festgestellt werden, noch bevor das Produkt die Brauerei verlässt.

### 5.5 Grenzen der Ladungstitrationsmethode

Eine wichtige Voraussetzung für sinnvolle Messergebnisse bei der Ladungstiteration ist eine homogene Bierprobe. Im Folgenden soll kurz auf die Problematik einer inhomogenen Bierprobe eingegangen werden. Abbildung 5.44 stellt die Ladungstitrationskurven eines nicht stabilisierten und unfiltrierten Biers dar. Die Probenahme fand also vor dem Filterkeller statt. Die Probe wurde in einem zeitlichen Abstand von 10-15 Minuten dreimal gemessen. Mit Hilfe mathematischer Funktionen wurden die Titrationskurven angenähert und das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  für die Anpassung berechnet. Es fällt auf, dass sich die Lage der Titrationskurve in Abhängigkeit der Zeit verschiebt. Sowohl das gemessene Potential als auch das titrierte Volumen nehmen über die Zeit ab.



Die Vorgänge können über die Titrationskurven erklärt werden. Mit der Zeit sedimentieren große Partikel im Unfiltrat (unfiltriertes Bier) aufgrund hoher Sedimentationsgeschwindigkeiten aus und werden deshalb bei einer späteren Messung nicht mehr erfasst. Die Folge ist die Reduzierung des Titrationsvolumens.

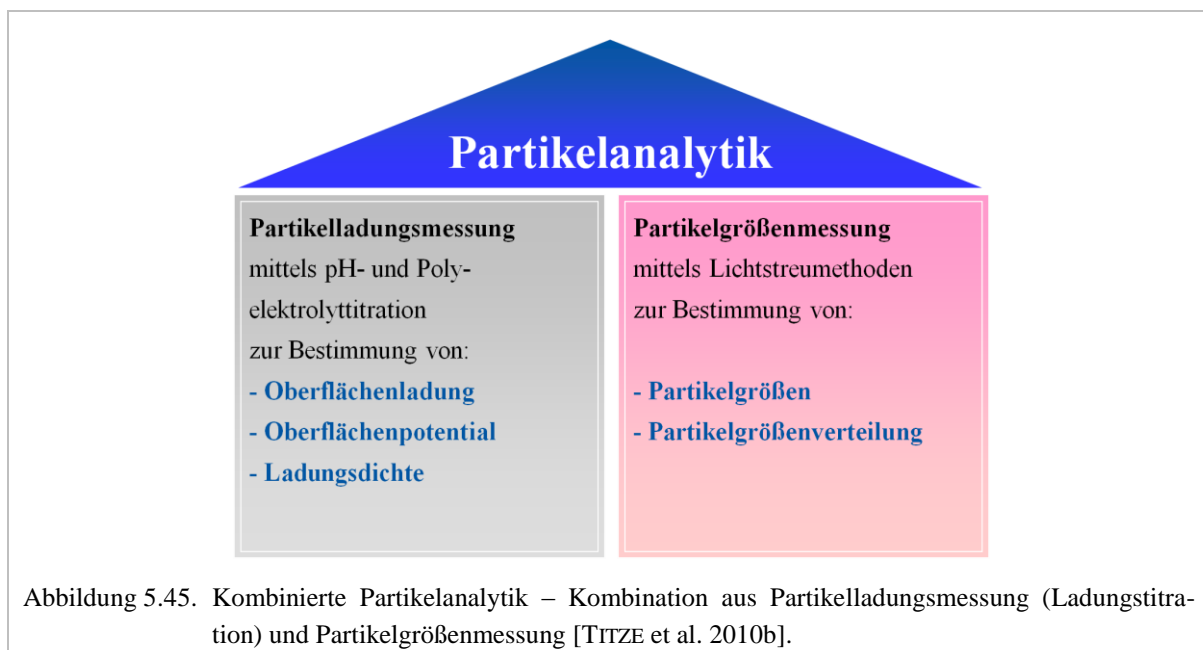
Gealterte Bierproben, die bereits deutlichen Bodensatz aufweisen, können außerdem zu falschen Interpretationen führen. Da bereits ein Großteil der Partikel agglomeriert ist, befinden sich diese Partikel im Bodensatz und nicht mehr in Lösung.

Wird bei der Probenahme ein Aliquot aus dem Überstand entnommen, werden die Partikel im Bodensatz nicht miterfasst und können keinen Beitrag zur Signalausbildung leisten. Die Grenze der Ladungstitrationsmethode ist folglich immer dann erreicht, wenn im Bier keine homogene Dispersion vorliegt.

## 5.6 Weitere Applikationsbeispiele der Ladungstitrationsmethode

Nachdem in Kapitel 5.4 der Einsatz der Ladungstitrationsmethode zur Voraussage der kolloidalen Stabilität von filtrierten Bieren aufgezeigt wurde, sollen im Folgenden weitere Applikationen der Messmethode vorgestellt werden. Diese Beispiele stehen dabei im direkten oder indirekten Zusammenhang mit der chemisch-physikalischen Stabilität von Getränken.

Im Laufe dieser Untersuchungen wurde die Ladungstitrationsmethode immer häufiger mit der Partikelgrößenmessung kombiniert, um eine ganzheitliche Betrachtung der charakteristischen Parameter von Partikeln zu ermöglichen. Dieser Ansatz wurde in der Brauwissenschaft erstmals unter dem Begriff „kombinierte Partikelanalytik“ vorgestellt [TITZE et al. 2010b]. Wie in Abbildung 5.45 dargestellt, verbindet die Partikelanalytik die Partikelladungsmessung zur Bestimmung von Oberflächenladung<sup>33</sup>, -potential und -ladungsdichte mit der Partikelgrößenmessung zur Analyse von Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilung.



### 5.6.1 Ladungstitrationsmethode zur Charakterisierung hoch-molekularen Stickstoffs

Sowohl die Rohstoffe als auch die Bierbereitung selbst haben großen Einfluss auf die kolloidale Langzeitstabilität des fertigen Biers. Im prozesstechnischen Bereich der Würzekochung ist beispielsweise die Abscheidung des hitzekoagulierbaren Eiweißes zu nennen. In der Phase der Heißhaltung werden Eiweißverbindungen bzw. Eiweiß-Gerbstoff-Komplexe der

<sup>33</sup>Unter dem Begriff der Oberflächenladung wurde im Gegensatz zum Oberflächenpotential nur die Information des Vorzeichens der (Netto-)oberflächenladung der Partikel, d. h. Plus oder Minus, verstanden.

Würze als sogenannter Bruch ausgeschieden. Die Konzentration von noch vorhandenem koagulierbarem Stickstoff in der gekühlten Würze und später im Bier beeinflusst den Biercharakter ebenso, wie die kolloidale Stabilität [NARZISS 2004]. Mangelnde Eiweißkoagulation führt zu kolloidal instabilen Bieren [BACK 2008]. Die Bestimmung des Stickstoffs erfolgt heute meist nach den Methoden von KJELDAHL.

Dieses Beispiel zeigt die Einsatzmöglichkeiten der Ladungstitrationsmethode zur Beschreibung von Konzentrationsänderung des koagulierbaren Stickstoffs während des Kochvorgangs.

#### 5.6.1.1 Stickstoffkoagulation während des Würzekochens

Während des Kochens beginnen Stickstoffsubstanzen zu denaturieren, zu agglomerieren und auszufallen [NARZISS 2004, KUNZE 2011]. Der größte Teil dieser Substanzen sind hochmolekulare Proteinfractionen. Ungeachtet der Länge der Kochzeit bleibt immer ein geringer und durchaus erwünschter Rest an koagulierbarem Stickstoff in der Würze. Einerseits beeinflusst diese Restkonzentration den Biercharakter positiv, wie Schaum und Vollmundigkeit. Andererseits entscheidet er über die kolloidale Stabilität des Biers.

Der Koagulationsvorgang beim Würzekochen verläuft in zwei Stufen, die ineinander übergehen. Die erste Phase ist eher chemischer Natur und wird Denaturierung genannt. In der zweiten Phase findet die Koagulation des denaturierten Eiweißes statt [NARZISS 2004]. Der Koagulationsvorgang hängt neben der Kochtemperatur auch von der Durchmischung, der Kochdauer und dem pH-Wert der Würze ab [NARZISS und BACK 2009].

Zur Bestimmung des noch koagulierbaren Stickstoffs in der Würze müssen hochmolekulare Proteinfractionen analysiert werden. Die exakte Analyse dieser Konzentration ist für die Vorhersage der chemisch-physikalischen Stabilität des Biers von Bedeutung. Die heute üblichen Bestimmungsmethoden nach KJELDAHL erfordern einen sehr hohen Zeitaufwand [MIEDANER 2002] und können zusätzlich von bestimmten Parametern wie den Lagerbedingungen der Probe vor der Analyse beeinflusst werden.

In unterschiedlichen Kochreihen wurde mit einer standardisierten, gehopften Würze gearbeitet, die einen Extraktgehalt von 12 Gew.-% aufwies, siehe dazu Kapitel 4.9.3. Die chemisch-physikalischen Eigenschaften sowie die Abwandlungen der Partikel während des Koagulationsvorgangs der Würze wurden mit der Ladungstitrationsmethode beschrieben. Zusätzlich wurden Änderungen der Leitfähigkeit, des pH-Werts, des Extrakts und der Partikelgrößenverteilung analysiert.

#### 5.6.1.2 Zusammenhang zwischen koagulierbarem Stickstoff und titriertem Volumen

Nachdem das Würzegranat in entsalztem Wasser gelöst war, wurden noch vor Kochbeginn so viele Hopfenpellets<sup>34</sup> hinzugefügt, dass diese Mengen bei einer Ausbeute von 27 % etwa

---

<sup>34</sup>Die Spezifikationen der eingesetzten Hopfenpellets sind in Kapitel 4.9.4 aufgeführt.

16 Bittereinheiten im fertigen Bier ausmachen würden. Anschließend wurde die Würze 100 Minuten in einem 5-Liter-Kolben mittels Labor-Heizpilz und Rückflusskühler gekocht.

Vor Kochbeginn sowie alle 20 Minuten nach Kochbeginn wurde eine repräsentative Probe-menge entnommen, sofort mit Eis abgekühlt, filtriert und analysiert.

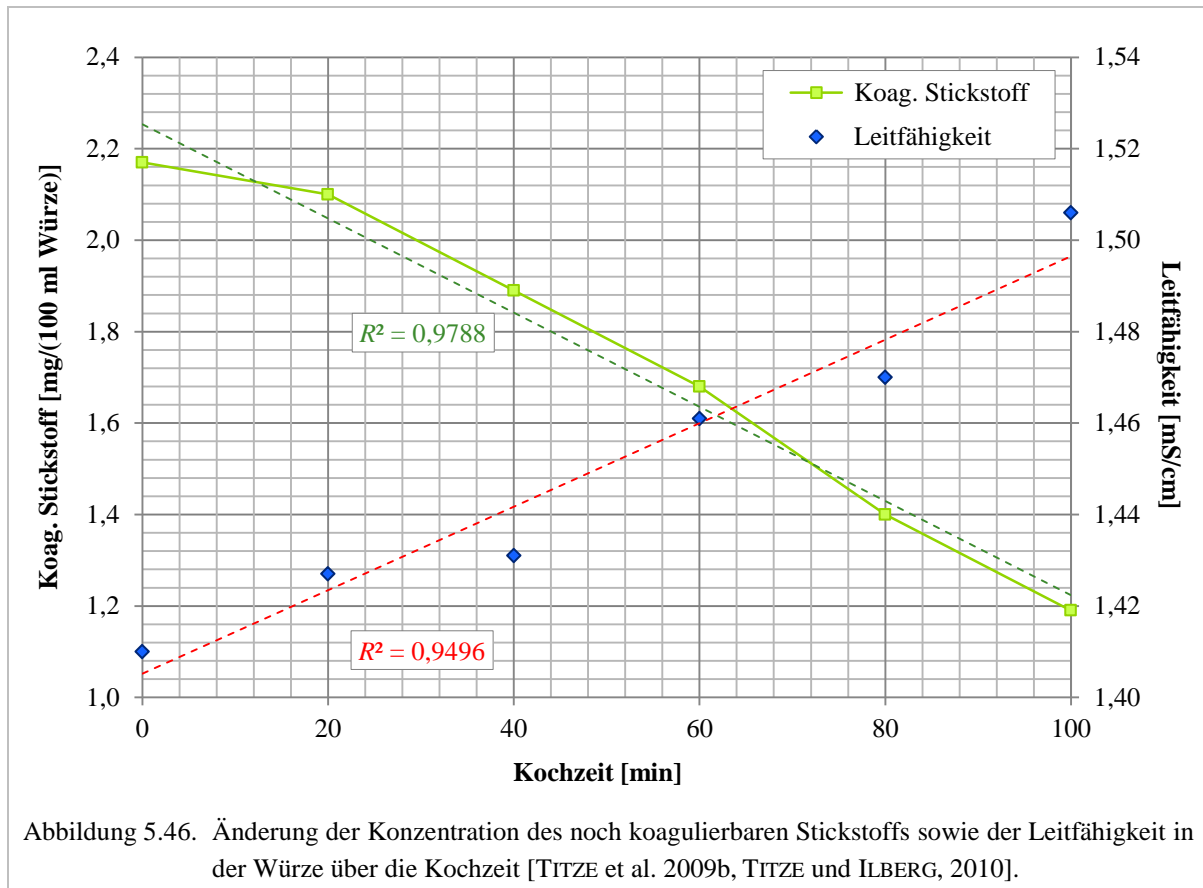
Tabelle 5.14 zeigt die Veränderungen des pH-Werts sowie des Extrakts über die Kochzeit. Daraus lässt sich erkennen, dass der pH-Wert während des Kochvorgangs nur wenig absinkt. Dies steht zwar nicht ganz im Einklang mit dem in der Literatur berichteten Absinken des pH-Werts der Würze um 0,1-0,2 [NARZISS und BACK 2009], kann aber mit der bereits vor Kochbeginn erfolgten Hopfengabe sowie dem Einsatz des Würzegrnulats erklärt werden. Jedenfalls ist die geringe pH-Wertänderung Ausdruck für die starke Pufferkapazität der Würze.

Tabelle 5.14. Änderungen des pH-Werts und des Extrakts über die Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010].

Kochdauer [min]	pH-Wert	Extrakt der Würze [Gew.-%]
0	5,69	11,94
20	5,73	12,00
40	5,74	12,05
60	5,75	12,11
80	5,73	12,32
100	5,68	12,50

Erwartungsgemäß stieg der Würzeextrakt aufgrund von Verdampfung, die sich trotz geschlossener Kochung nicht vollständig vermeiden ließ. Durch den Heizmantel konnte eine direkte Erhitzung der Würze gewährleistet werden. So war es möglich, die Würze lokal zu überhitzen bzw. kurzzeitig höheren Temperaturen auszusetzen. Dies wirkte sich positiv auf die Geschwindigkeit der Stickstoffausfällung aus, da eine gute Kochung mit starker Bewegung und Turbulenzen notwendig ist. So werden trübungsrelevante Substanzen ausgefällt, die ansonsten bis hin zum Bier überleben [LEIPER und MIEDL 2009].

Abbildung 5.46 zeigt das Absinken der Konzentration des noch koagulierbaren Stickstoffs, ermittelt durch die KJELDAHL-Methode, siehe Kapitel 4.8 und den Anstieg der Leitfähigkeit der Würze über die Kochzeit. Das Absinken des koagulierbaren Stickstoffs verläuft in Übereinstimmung mit den von NARZISS und RÖTTGER publizierten Stickstoffkurven [NARZISS und RÖTTGER 1974].



Durch den Einsatz des Würzgranulats, beschrieben in Kapitel 4.9.3, liegt der koagulierbare Stickstoff zu Kochbeginn bei knapp  $2,2 \text{ mg} \cdot (100 \text{ ml Würze})^{-1}$ . Nicht instantisierte, 12 %ige Würzen weisen meist höhere Werte von  $3\text{-}9 \text{ mg} \cdot (100 \text{ ml Würze})^{-1}$  auf [NARZISS und BACK 2009]. Der Unterschied in der Ausgangskonzentration macht deutlich, dass durch den Trocknungsprozess bei der Granulatherstellung bereits ein Großteil des Stickstoffs koaguliert und ausgefallen war. Bis zum Ende des Kochvorgangs sinkt die Stickstoffkonzentration auf  $1,2 \text{ mg} \cdot (100 \text{ ml Würze})^{-1}$  und liegt damit unterhalb üblicher Richt- und Praxiswerte für Ausschlagwürzen von  $1,5\text{-}3,5 \text{ mg} \cdot (100 \text{ ml Würze})^{-1}$  [BACK 2008]. Für den Versuch war dies aber ohne Belang, da es nur um die Bestimmung der Stickstoffkonzentration in der Würze ging und nicht um Untersuchungen von kolloidaler Stabilität, Bierschaum, Geschmack oder Vollmundigkeit eines daraus bereitetes Biers.

In Abbildung 5.47 sind die Titrationskurven der Würzproben in Abhängigkeit der Kochzeit dargestellt. Alle sechs Proben zeigen ein negatives Potential. Somit besitzen die Partikel in der Würze eine negative (Netto-)Oberflächenladung.

Aus den Kurvenverläufen geht hervor, dass mit fortschreitender Kochzeit sowohl das titrierte Volumen, als auch das Potential abnehmen. Die Änderungen des Potentials lassen sich mit dem Anstieg der Leitfähigkeit, dargestellt in Abbildung 5.46, begründen. In Kapitel 5.1.9.2 konnte für Bier gezeigt werden, dass eine Erhöhung der Leitfähigkeit um etwa 1 % eine Senkung des Potentials um etwa 1,2 % zur Folge hat. Das Potential der Partikel in der Würze verringert sich folglich ungeachtet des Leitfähigkeitseinflusses über die Kochzeit nur geringfügig.

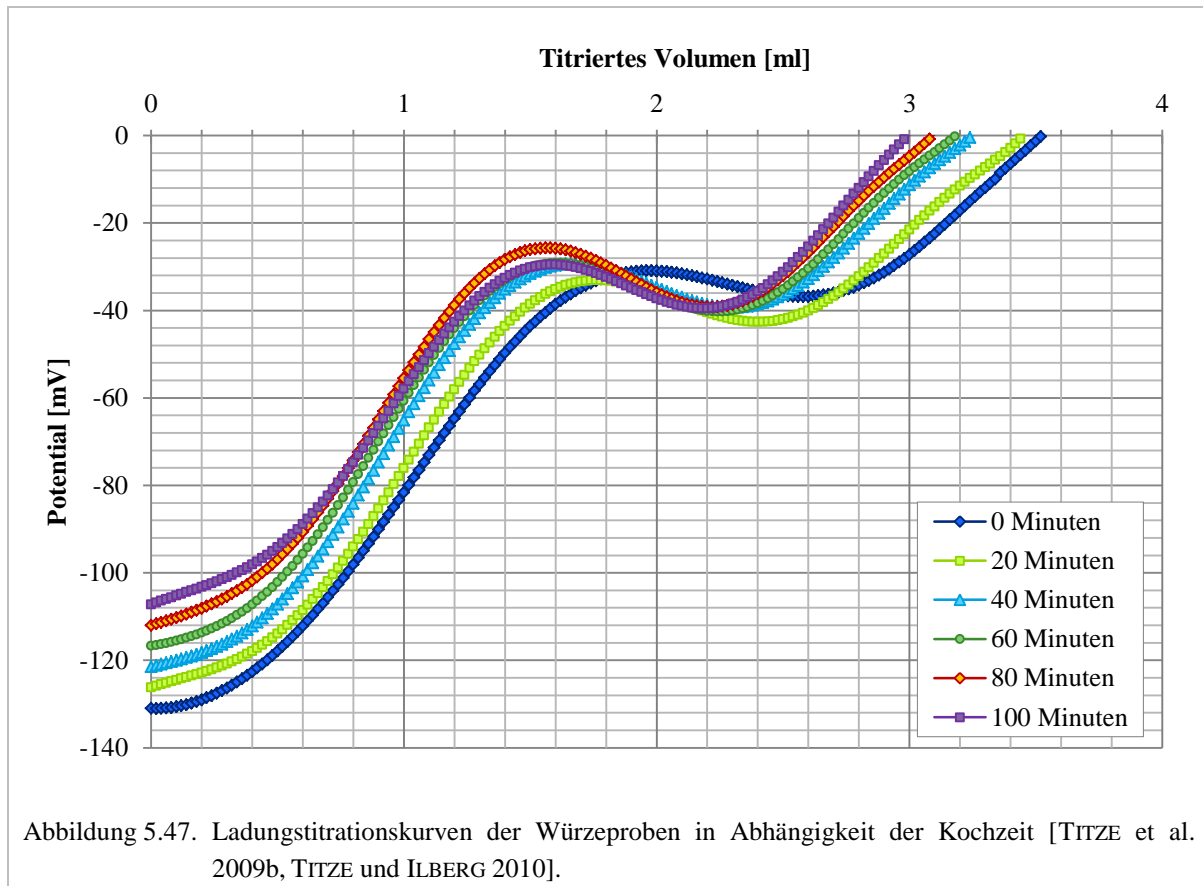
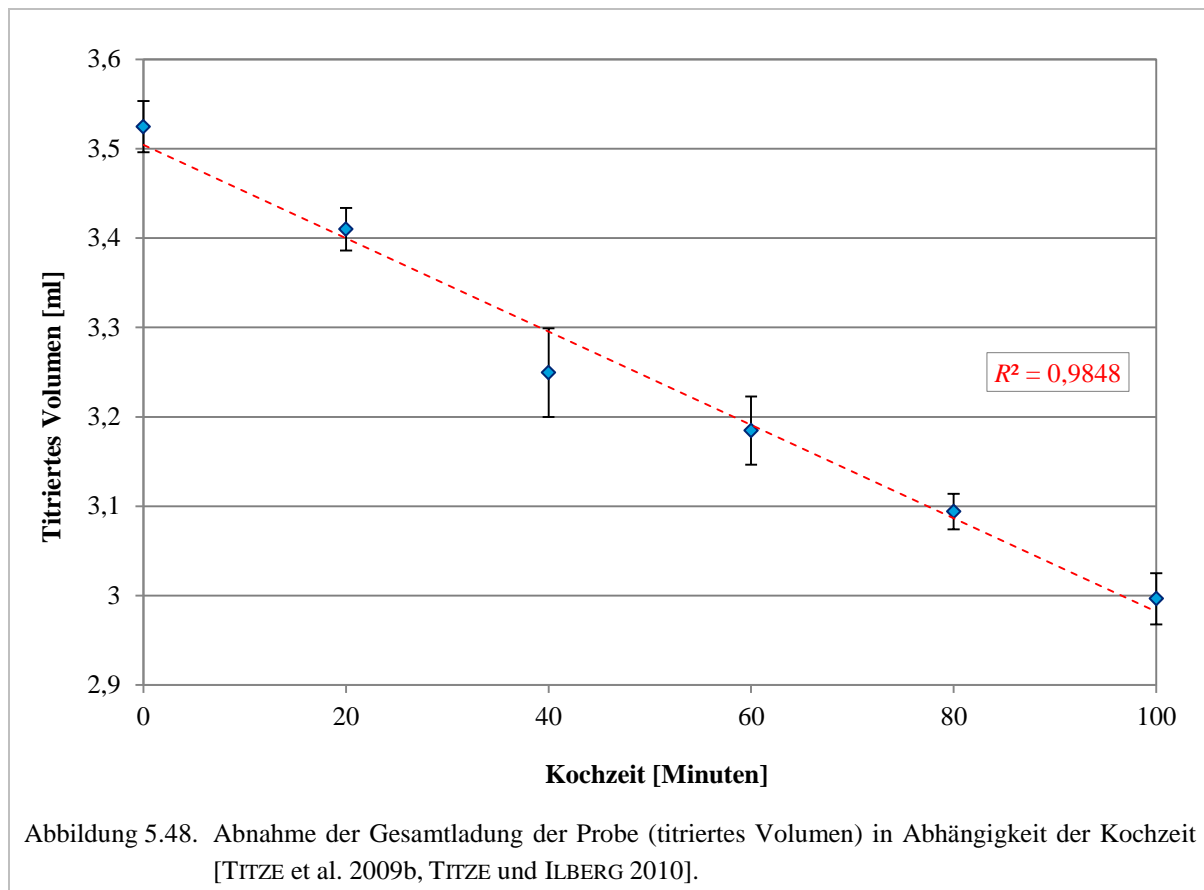


Abbildung 5.47. Ladungstitrationskurven der Würzproben in Abhängigkeit der Kochzeit [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010].

Im Gegensatz dazu sinkt in Folge der Stickstoffausfällung das titrierbare Volumen (Maß für die Gesamtmenge an Partikeloberflächenladungen) deutlich. Abbildung 5.48 stellt die lineare Abnahme der Gesamtladung in der Probe, bestimmt durch das titrierte Volumen, über die Kochzeit mit  $R^2 = 0,9848$  dar.

Auch ein linearer Zusammenhang zwischen der Menge an koagulierbarem Stickstoff, siehe Abbildung 5.45 und titriertem Volumen, siehe Abbildung 5.48, kommt durch das Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,9416$  zum Ausdruck (Auftragung ist nicht gezeigt).

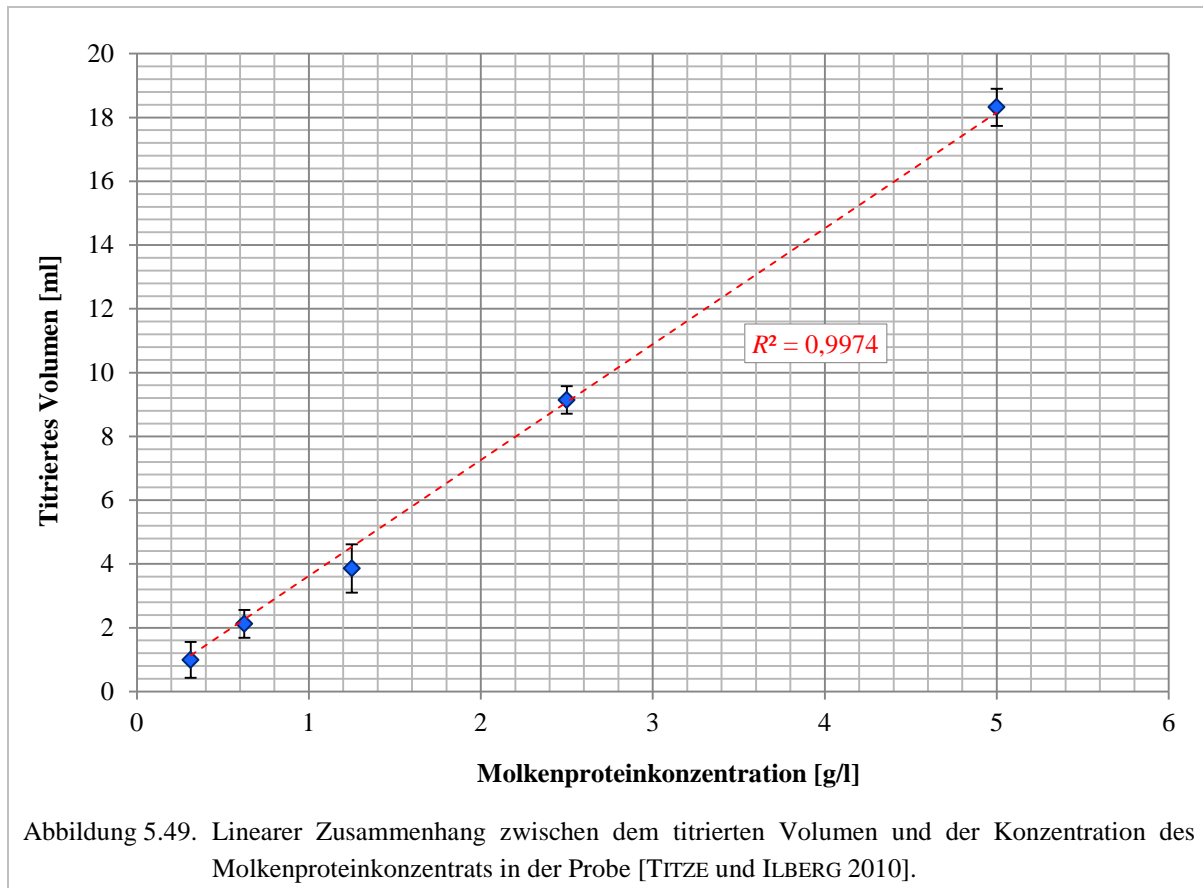


### 5.6.1.3 Korrelation zwischen Molkenproteinkonzentration und titriertem Volumen

Um die Ergebnisse der Ladungstiteration im Hinblick auf die Bestimmbarkeit von Proteinen zu überprüfen, wurde eine Verdünnungsreihe mit definiertem Molkenproteinkonzentrat durchgeführt, das in Kapitel 4.9.5 beschrieben ist. Dabei wurde der Molkenproteinanteil in der Probe bei einer Ausgangskonzentration von  $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  in vier Schritten um die jeweilige Menge halbiert und mit der Ladungstiteration bestimmt<sup>35</sup>. Nach Auftragen des titrierten Volumens gegenüber der Proteinkonzentration konnte analog zur Korrelation zwischen koagulierbarem Stickstoff und titriertem Volumen ( $R^2 = 0,9416$ ) ein linearer Zusammenhang mit  $R^2 = 0,9974$  gefunden werden, dargestellt in Abbildung 5.48.

<sup>35</sup>Die Titrationskurven der Molkenproteinproben sind im Anhang (Kapitel 8, Abbildung 8.3) dargestellt.

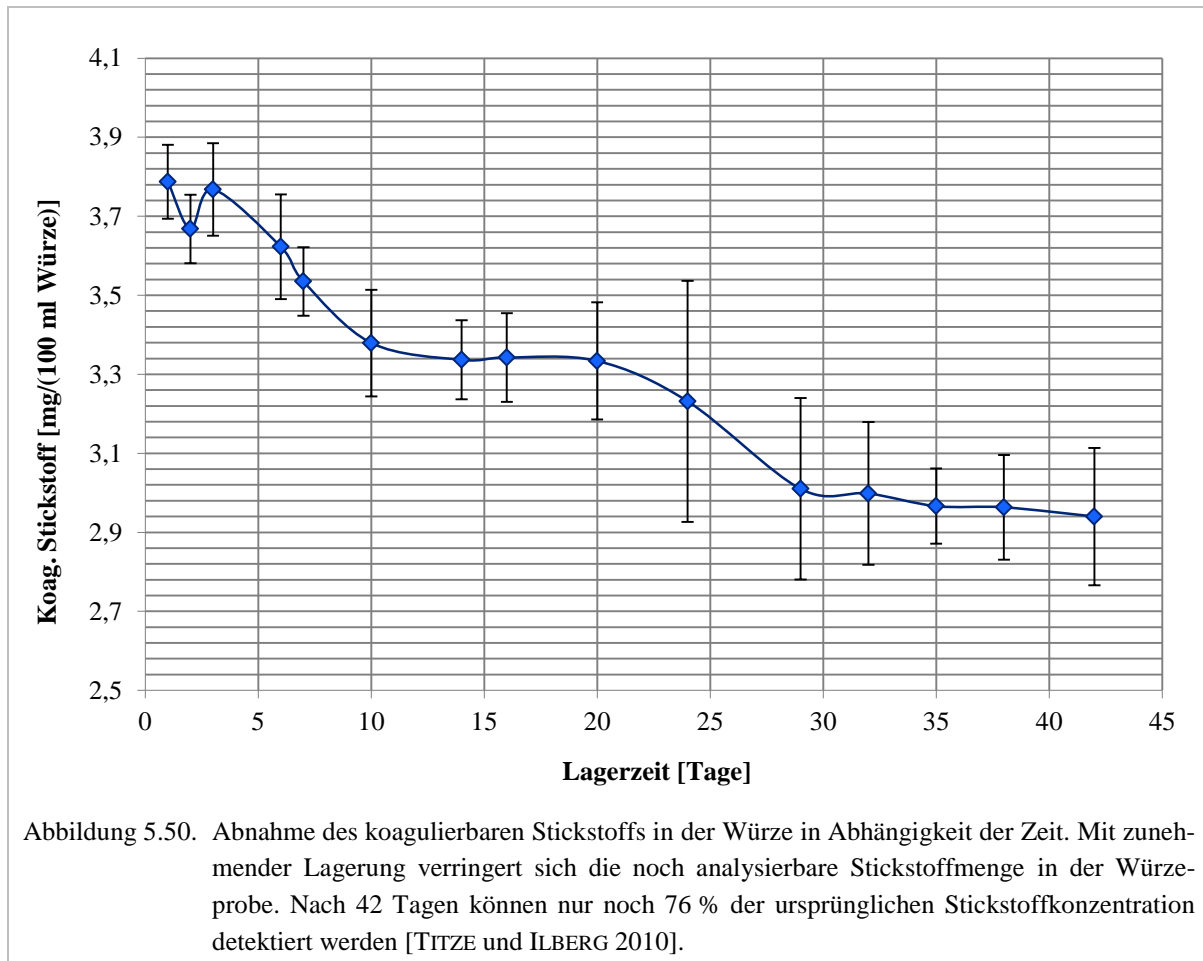




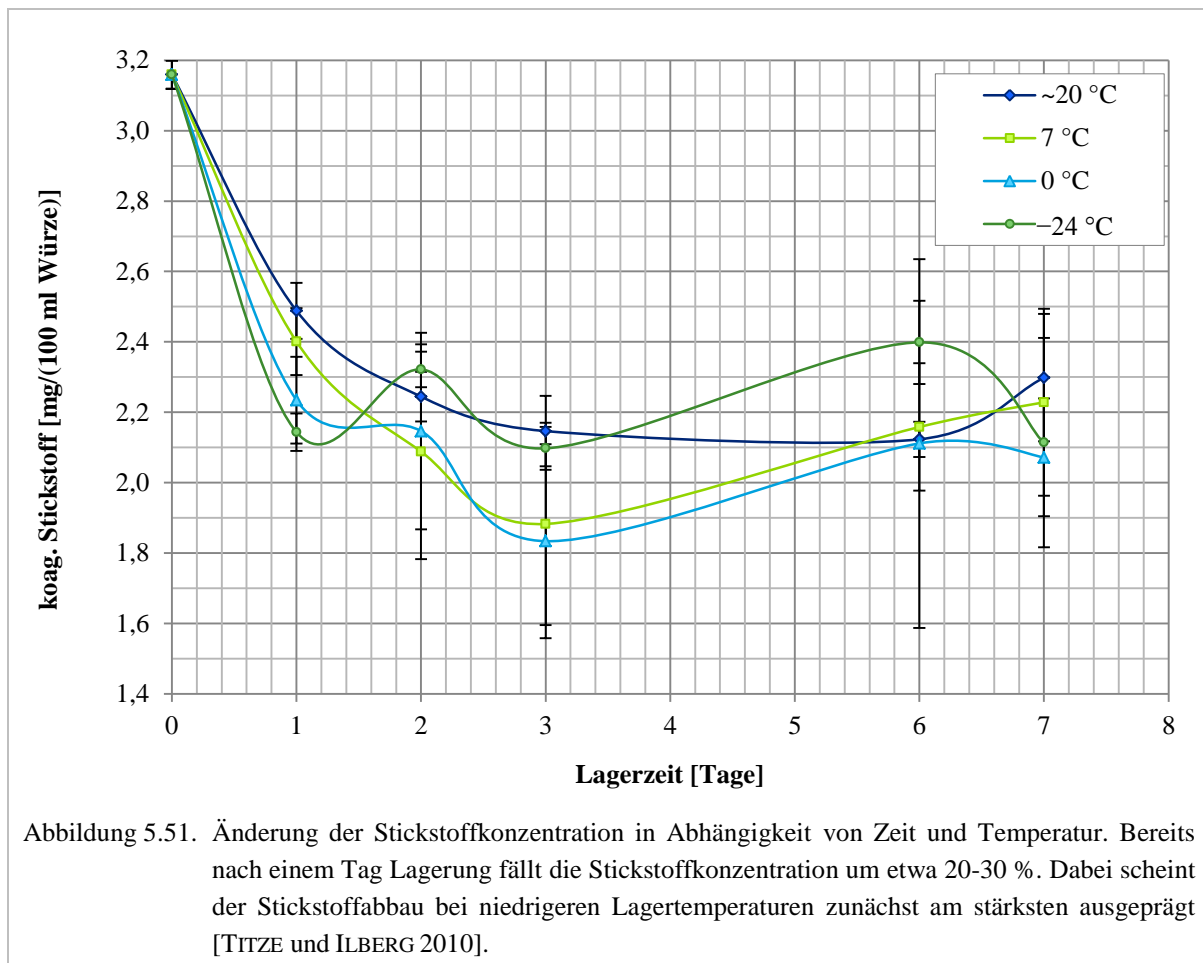
Die Ergebnisse der Verdünnungsreihe zeigen, dass es mittels Ladungstitration einerseits möglich ist, Proteine zu detektieren und andererseits deren Konzentrationen indirekt zu bestimmen. Vergleicht man die Ergebnisse beider Versuche, siehe Abbildungen 5.48 und 5.49, wird deutlich, dass sich das titrierte Volumen bzw. die Gesamtladung der Probe als ein Maß für die Partikel- bzw. Proteinkonzentration interpretieren lässt.

#### 5.6.1.4 Änderung der Stickstoffkonzentration in Abhängigkeit der Lagerbedingungen

Die Ladungstitration lässt sich direkt bzw. zeitnah durchführen, also wenige Minuten nach Probennahme. Um diesen entscheidenden Vorteil zu zeigen, wurden in einem Langzeittest Würzproben eines Suds über einen Zeitraum von 42 Tagen gelagert. Nach unterschiedlichen Lagerzeiten wurde die Stickstoffkonzentration mittels KJELDAHL-Methode nach MEBAK bestimmt. Die Bedeutung des Analysezeitpunkts zeigt Abbildung 5.50. Bereits nach 10 Lagertagen hatte sich die noch analysierbare Stickstoffmenge um etwa  $0,4 \text{ mg} \cdot (100 \text{ ml Würze})^{-1}$  in der Probe verringert.



In einem weiteren Versuch wurde der Einfluss der Lagertemperatur untersucht. Die Würzproben wurden bei Temperaturen von  $-24\text{ °C}$  bis  $+20\text{ °C}$  gelagert. Entsprechend Abbildung 5.50 zeigt sich auch in Abbildung 5.51 ein Absinken der Stickstoffkonzentration bei unterschiedlichen Lagertemperaturen über die Zeit. Unabhängig von der Lagertemperatur tritt bereits nach einem Tag eine signifikante Konzentrationsänderung ein.



Beide Untersuchungen belegen, dass der Analysezeitpunkt nach der Probenahme einen entscheidenden Einfluss auf das Messergebnis des koagulierbaren Stickstoffs in der Würze hat.

#### 5.6.1.5 Änderung der Partikelgrößenverteilung während der Kochung

Der in 5.6.1.3 diskutierte Zusammenhang zwischen der Menge des noch koagulierbaren Stickstoffs in der Würze und dem titrierten Volumen beruht einerseits auf dem Ausfällen von Stickstoffen (Reduzieren der Partikelkonzentration in der Lösung). Außerdem wichtig ist auch der Verlust von Partikeloberfläche durch Aneinanderlagern der Stickstoffpartikel (Agglomeration). Um diesen Effekt mit der Partikelgrößenverteilung nachzuweisen, wurde eine zweite Kochreihe analog zum oben beschriebenen Versuch durchgeführt. Nur die Kochzeit wurde von 100 Minuten auf 120 Minuten verlängert.

Mit Hilfe von Partikelgrößenmessungen im Mikrometer-Bereich konnte bereits die Vergrößerung von Eiweißsubstanzen beschrieben werden [KÜHBECK et al. 2007]. So wurde davon ausgegangen, dass die Bruchbildung bereits in der Aufheizphase sowie zu Beginn der Kochung stattfand, gegen Kochende aber nur wenig Änderungen zu beobachten waren. Dies steht allerdings nicht im Einklang mit der Tatsache, dass der noch koagulierbare Stickstoff in der Würze über den gesamten Zeitraum der Kochung abnimmt [NARZISS und RÖTTGER 1974].

Wären jedoch nur Aufheizphase und Kochbeginn für die Bruchbildung verantwortlich, müssten die Stickstoffkurven ihre Endkonzentration vorzeitig erreichen. Eine anschließende Heißhaltung wäre für die Bruchausscheidung folglich irrelevant. Dies wird allerdings nicht von Stickstoffkurven in der Literatur bestätigt [NARZISS und RÖTTGER 1974]. Auch wenn die Hopfung noch in der Aufheizphase (vor Kochbeginn) stattgefunden hat, wie in Abbildung 5.46 dargestellt, findet dies keine Bestätigung.

Grund für die Überzeugung der Autoren war der Messbereich des Partikelmessgeräts. So wurden Feinanteile bei 5  $\mu\text{m}$ , mittlere Partikelfraktionen bei 20-25  $\mu\text{m}$  und Grobanteile bei  $>200 \mu\text{m}$  gemessen. Grundsätzlich lässt sich die Bruchbildung, also die Agglomeration des Stickstoffs während des Kochprozesses auch mit bloßem Auge beobachten<sup>36</sup>. Dieser Vorgang wird besonders zu Beginn der Kochung deutlich.

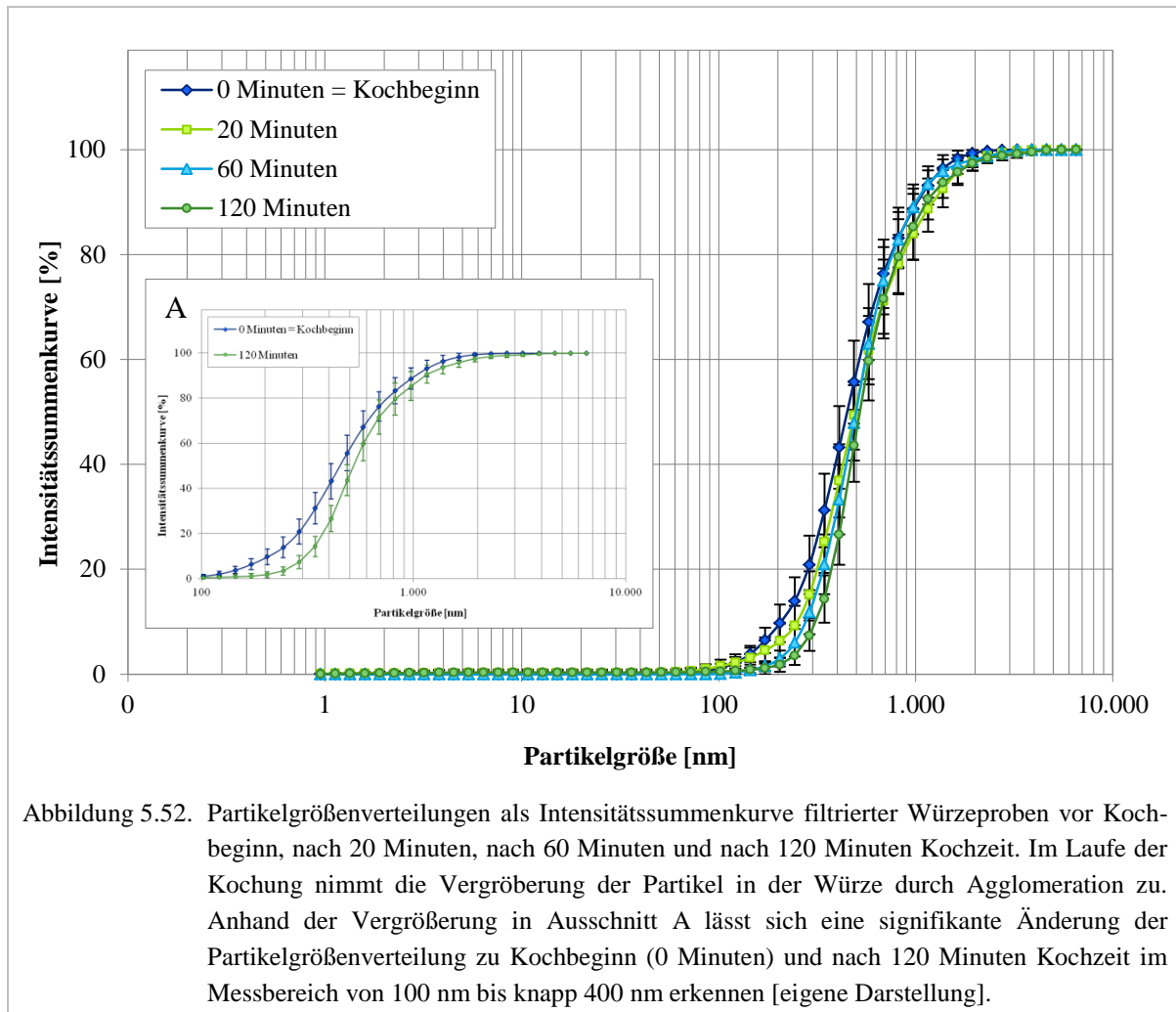
Eine weitere Reduzierung des koagulierbaren Stickstoffs gegen Ende der Kochung ist in der fast blanken Würze dagegen nicht mehr visuell wahrnehmbar. Daraus resultierte die Frage, ob auch für die in der Würze kolloidal gelösten Stickstoffe im Größenbereich von 1 nm bis 1.000 nm eine Verschiebung in der Partikelgrößenverteilung nachzuweisen war. Durch das Filtrieren der Würze gemäß Kapitel 4.1.1.2 konnte der nicht mehr echt gelöste, koagulierbare Stickstoff entfernt und das Filtrat mittels Partikelgrößenmessung analysiert werden.

In Abbildung 5.52 sind die Partikelgrößenverteilungen für die Proben vor Kochbeginn, nach 20 Minuten, nach 60 Minuten und nach 120 Minuten Kochzeit dargestellt. Mit zunehmender Kochdauer verschieben sich die Kurven nach rechts. Die Vergrößerung der Partikel in der Würze nimmt somit aufgrund von Agglomeration zu. Der Ausschnitt in Abbildung 5.52 A belegt, dass signifikante Änderungen in der Partikelgrößenverteilung zwischen den Kurven zu Kochbeginn (0 Minuten) und nach 120 Minuten Kochzeit für den Größenbereich von 100 nm bis knapp 400 nm detektierbar sind.

Mit der Messung konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Summenkurven im kolloidalen Bereich zwar sehr nahe beieinander liegen. Die Größen der noch in Lösung befindlichen Stickstoffpartikel nahmen aber während des Würzekochens bis zum Kochende hin signifikant zu. Somit nimmt der Dispersiongrad der Würze über den gesamten Kochzeitraum kontinuierlich zu.

---

<sup>36</sup>Die Bruchbildung des Stickstoffs ist im Anhang (Kapitel 8, Abbildung 8.4 A bis D) zu sehen.



Der vorgestellte Versuch wurde unter vereinfachten Bedingungen mit standardisierter Würze im Labormaßstab durchgeführt. Auch der Hopfen wurde der Würze zu Beginn bzw. schon in der Aufheizphase zugegeben. In der Praxis sind aber mehrere Hopfengaben üblich, die sich über den gesamten Kochzeitraum verteilen können. Da der Hopfen einen nicht unwesentlichen Anteil an Partikeln mitbringt, werden sich die titrierbaren Mengen in solchen Fällen signifikant verändern. Daher sollte der Aspekt unterschiedlicher Hopfengaben in zukünftigen Arbeiten noch weiter untersucht werden.

### 5.6.2 Verbesserung der kolloidalen Stabilität durch den Einsatz der KZE

Im Zuge wachsender Globalisierung sind nicht nur die Absatzwege der Brauereien immer länger geworden, sondern auch die zeitlichen Garantiebedingungen im Bezug auf kolloidale Stabilität des Biers. So dürfen filtrierte Biere innerhalb der Mindesthaltbarkeit nicht trüb werden. Andernfalls verlieren die Produkte ihre Verkehrsfähigkeit.

Auch die Anforderungen an die Produktion mikrobiologisch stabiler Biere sind gestiegen. In vielen Exportbrauereien ist daher der Einsatz der Kurzzeiterhitzung (KZE) unabdingbar. Praktische Erfahrungen haben gezeigt, dass sich der Einsatz der KZE durchaus positiv auf die kolloidale Stabilität von Bier auswirken kann [ENGLMANN et al. 2010].

Aus diesem Grund erfolgte mittels Ladungstitration und Partikelgrößenmessung eine Untersuchung des Einflusses von Kurzzeiterhitzern auf die kolloidale Stabilität sowohl blank filtrierter als auch naturtrüber Biere.

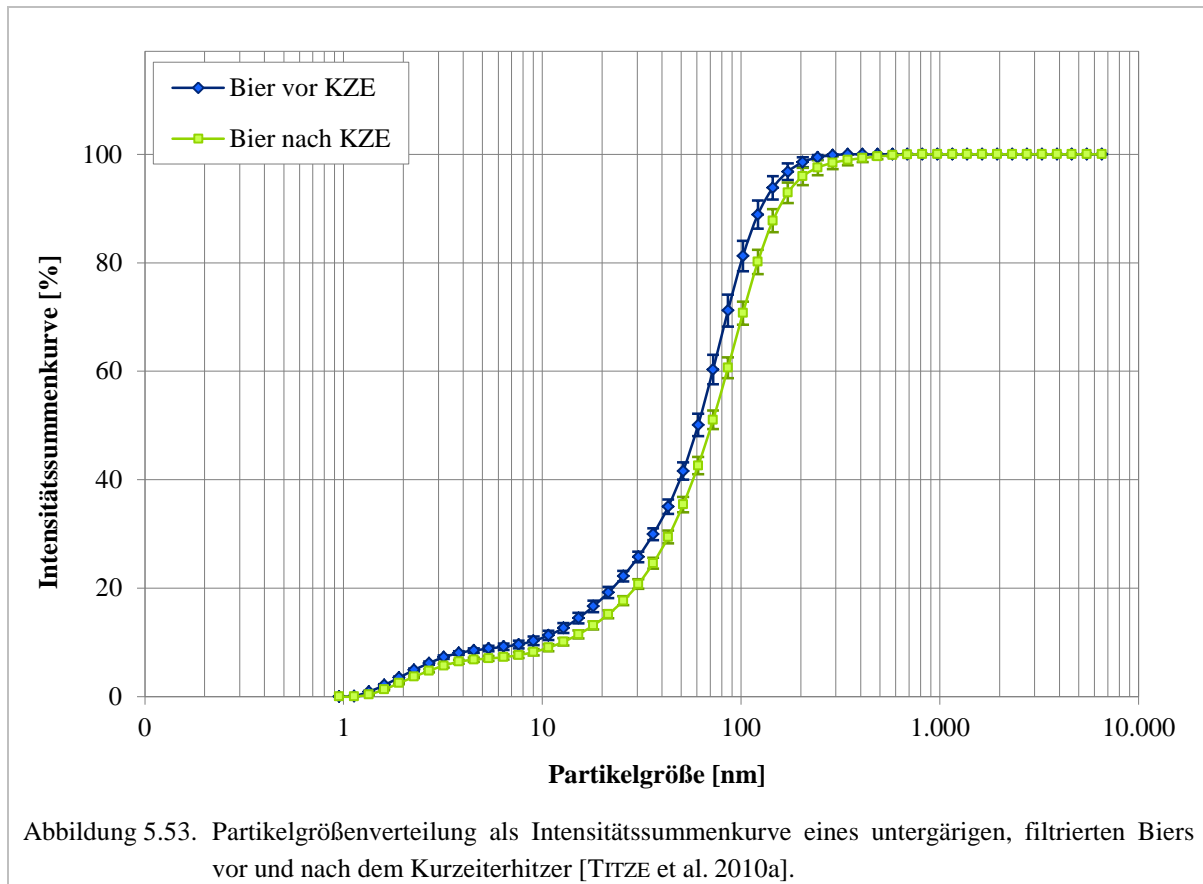
### 5.6.2.1 Einfluss der KZE auf filtrierte Biere

Zunächst sollte der Einfluss der KZE auf die Partikeleigenschaften eines untergärigen, blank filtrierten Biers in einer Brauerei erforscht werden. Dazu wurden während des Abfüllens jeweils fünf Proben zu unterschiedlichen Abfüllzeitpunkten vor und nach der Erhitzereinheit analysiert. Tabelle 5.15 zeigt die Ergebnisse der Ladungstitration. Für alle Proben konnte nach Hitzeeinwirkung sowohl ein leichtes Absinken des Potentials der Partikel, als auch geringere Gesamtladungsmengen bestimmt werden.

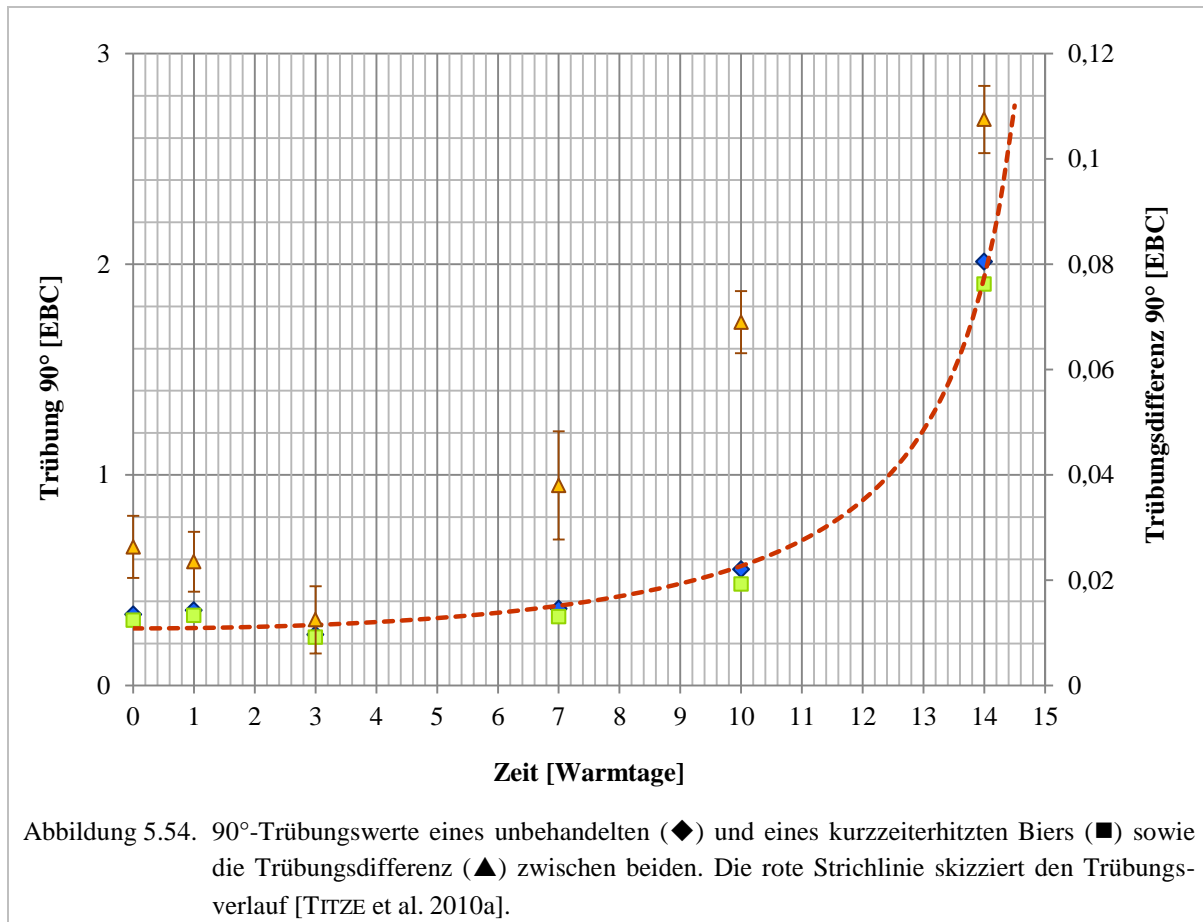
Tabelle 5.15. Potential und titriertes Volumen von untergärigem, filtriertem Bier vor und nach der Kurzzeiterhitzung im Laufe der Abfüllung [TITZE et al. 2010a].

Probennummer	Ort der Probennahme	Potential [mV]	Titriertes Volumen [ml]
1.1	vor KZE	-151	0,267
1.2	nach KZE	-125	0,231
2.1	vor KZE	-124	0,250
2.2	nach KZE	-96	0,243
3.1	vor KZE	-151	0,271
3.2	nach KZE	-129	0,255
4.1	vor KZE	-170	0,287
4.2	nach KZE	-149	0,276
5.1	vor KZE	-186	0,345
5.2	nach KZE	-148	0,312

Die Abnahme der Ladungsmenge lässt sich durch den Verlust von Oberflächen aufgrund von Partikelagglomeration durch die Temperatureinwirkung erklären. Die Vergrößerung der Partikel konnte durch die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung analytisch nachgewiesen werden, siehe dazu Abbildung 5.53.



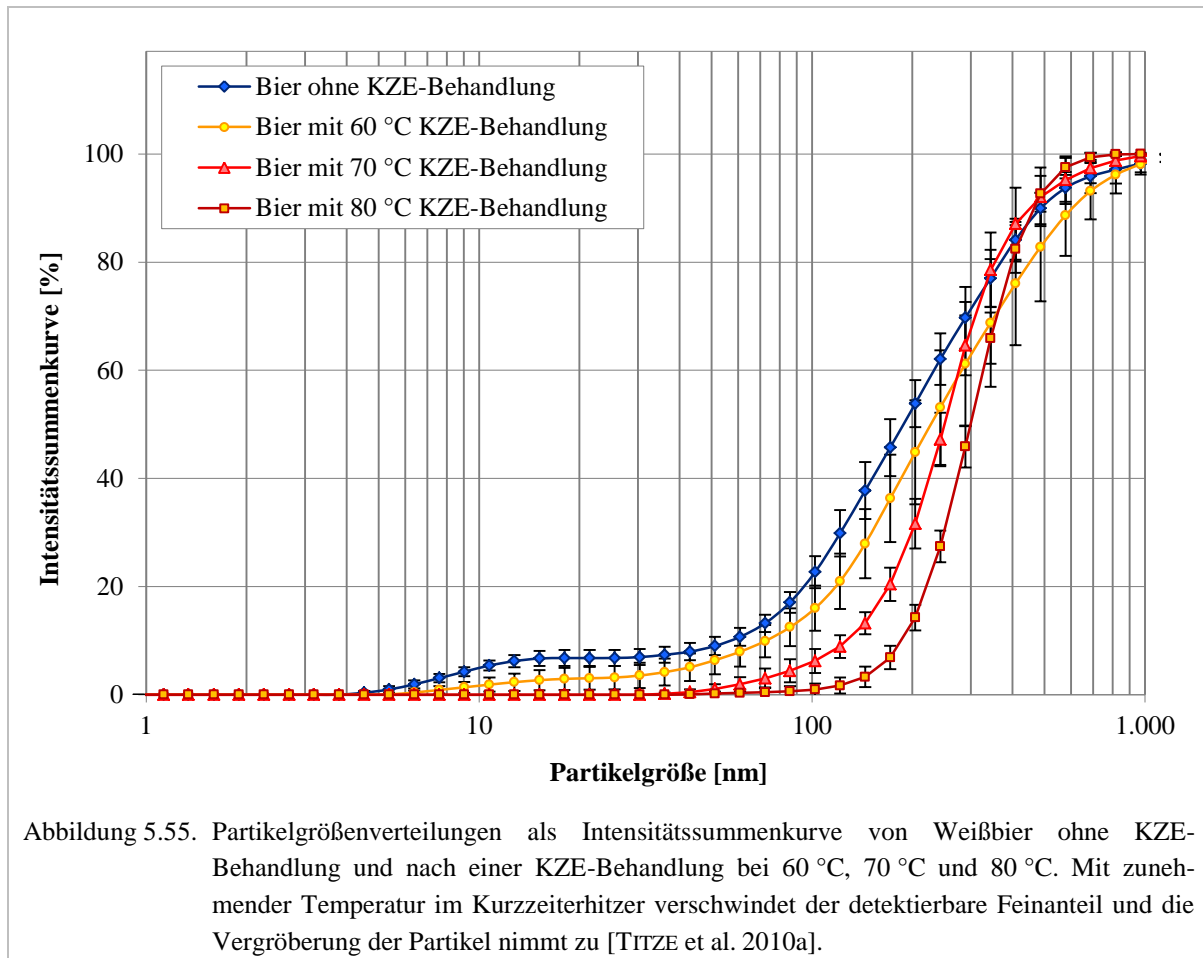
Laut Praxiserfahrung besitzt die KZE einen positiven Einfluss auf die Langzeitstabilität. Dies wurde zunächst mit Hilfe eines Forciertests geprüft, beschrieben in Kapitel 4.5. Abbildung 5.54 zeigt die Trübungskurven eines Biers, das sowohl thermisch unbehandelt, als auch kurzzeiterhitzt war. Zusätzlich ist die jeweilige Trübungsdifferenz zwischen beiden Bierproben dargestellt. Bereits nach 14 Wärmtagen hatte das unbehandelte Bier einen um 0,11 EBC höheren Trübungswert, als das behandelte Bier. Dies zeigt den positiven Effekt der KZE auf die kolloidale Stabilität.



### 5.6.2.2 Einfluss der KZE auf naturtrübe Biere

Für naturtrübe Biere konnten ähnliche Beobachtungen zur Langzeitstabilität gemacht werden, wie in Kapitel 5.6.2.1. Dazu wurde die Wirkung der KZE auf (naturtrübes) Weißbier mit Hilfe einer Versuchsanordnung geprüft, die ausführlich in Kapitel 4.7 beschrieben ist. Auch die Partikelgrößenverteilung der Weißbierproben änderte sich mit zunehmender Temperatur, wie Abbildung 5.55 zeigt.





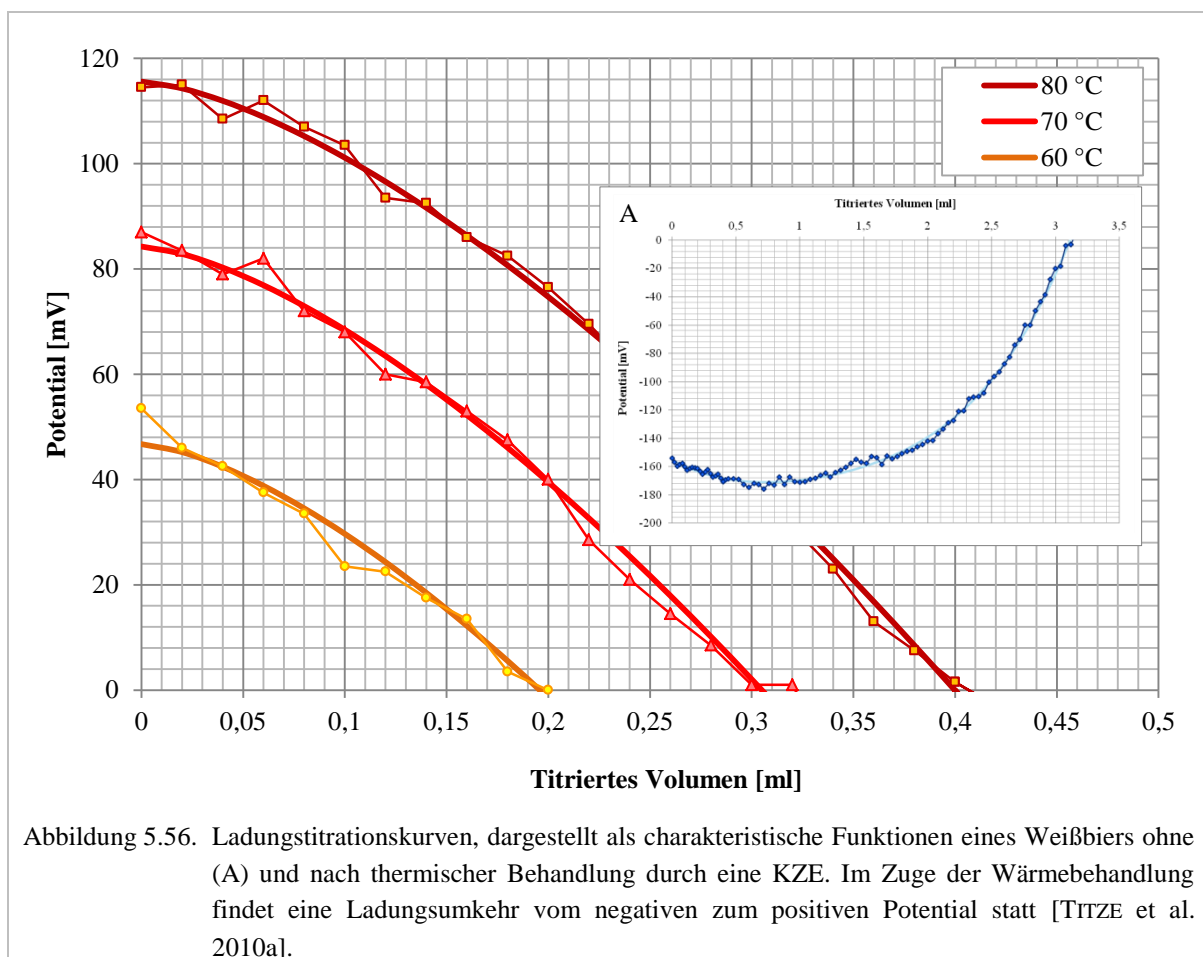
Im Vergleich dazu zeigt Abbildung 5.56 wie sich Potential und titriertes Volumen mit steigender Temperatur ändern. Hierbei bewirkte die KZE eine Ladungsumkehr vom negativen Potential der Partikel des unbehandelten Biers, siehe Abbildung 5.56 A, zum positiven Potential. Eine Verschiebung in die positive Richtung konnte bereits bei filtriertem Bier beobachtet werden, siehe dazu Kapitel 5.6.2.1.

Grundsätzlich gibt es für den Vorzeichenwechsel (Ladungsumkehr) der Partikel laut den Ausführungen in Kapitel 2.5.1 zwei Erklärungen:

1. Ist die Wechselwirkung der negativen Partikeloberfläche mit den Anionen der Umgebung schwächer ausgeprägt als mit den Kationen, so kommt es zur Adsorption von positiven Ionen in der inneren HELMHOLTZ-Schicht. Bei mittlerer Elektrolytkonzentration und daraus resultierender Besatzdichte in der inneren HELMHOLTZ-Schicht kann es zur Ladungsumkehr kommen. Die Partikeloberfläche an sich besitzt dabei weiterhin eine negative (Netto-)Oberflächenladung, siehe Abbildung 2.15.
2. Durch den thermischen Einfluss hat sich die Partikeloberfläche derart verändert, dass sie mehr positive als negativ geladene Gruppen aufweist. Folglich ergibt sich ein positives Oberflächenpotential, siehe Abbildung 2.16.

Beide Theorien basieren auf der Annahme, dass native Proteine im Bier durch die Hitze einwirkung denaturiert werden. Im Zuge der Denaturierung findet eine strukturelle Veränderung (z. B. Auffaltung) des Moleküls statt. Dadurch können völlig neue Grenzflächen entstehen. Ein Modell zur Erklärung der Hitzedenaturierung beschreibt diesen Prozess dadurch, dass sich der hydrophobe Kern des Proteins öffnet und die unpolaren Seitenketten nach außen gelangen [BALDWIN 1986]. Dies geschieht bereits häufig bei Temperaturen weit unterhalb von 100 °C [SCHROER 2008]. Die so erhaltenen Strukturen neigen zur Aggregation. Aufgrund der verbesserten Stabilität der thermisch behandelten Biere ist daher von einer partiellen Hitzedenaturierung auszugehen. Die Temperatur zu Beginn der Denaturierung ist je nach Protein unterschiedlich. Die Annahme setzt das Vorhandensein nativer Proteine im Bier voraus. Solche Proteine und Polypeptide, die von der Hefe während der Fermentation stammen, konnten beispielsweise von MOHAN et al. bei Untersuchungen von Bierschaum nachgewiesen werden [MOHAN et al. 1992].

Abbildung 5.56 A zeigt die Titrationskurve des unbehandelten Biers. Es lässt sich ein deutliches Potentialplateau erkennen. Dieses belegt, dass nahezu alle Partikel im Bier negative Oberflächenpotentiale aufweisen, siehe dazu auch Kapitel 5.1.2, Abbildung 5.5. Ein Plateau lässt sich bei den Titrationskurven der behandelten Proben aber nicht erkennen. Die Partikelgrößenverteilungen in Abbildung 5.55 belegen die zunehmende Vergrößerung bei steigender Temperatur. Nach den Erkenntnissen aus Kapitel 5.2.2 müsste das titrierte Volumen aber aufgrund des Oberflächenverlusts durch Agglomeration der Partikel sinken. Tatsächlich steigt aber das titrierte Volumen, wie die Titrationskurven in Abbildung 5.56 belegen.



Das PLD-Signal ist heterogen zusammengesetzt, da alle Partikel ihren Beitrag dazu leisten, die adsorptiv immobilisiert sind. Mit steigender Temperatur könnte ein Teil der Proteine im Bier denaturieren und das PLD-Signal aufgrund der Umladung der Partikel ins Positive verschieben. Mit weiterer Temperaturerhöhung wird der Anteil an denaturierten Partikeln immer größer und das messbare Potential steigt an. Somit muss auch die Menge des titrierbaren Volumens wachsen, die für dessen Neutralisation benötigt wird. Nach dieser Theorie wäre außerdem interessant, thermisch unbehandeltes und behandeltes Bier zu mischen. So zeigt sich, ob sich negative Dipole mit den positiven gegenseitig in der Lösung aufheben. Mit Hilfe der Ladungstitration und der Partikelgrößenverteilung konnte der positive Einfluss der KZE auf die Langzeitstabilität des Biers messtechnisch nachgewiesen werden.

### 5.6.3 Vorhersage des Gushingpotentials alkoholfreier Getränke

Ein weiteres Applikationsbeispiel wird für das spontane Übersäumen von Getränken beim Öffnen kohlenensäurehaltiger Getränke nicht geschüttelter Flaschen vorgestellt. Dieses Phänomen wird als „Gushing“ bezeichnet, dessen Ursachen und Entstehung in einer Vielzahl von Publikationen beschrieben und untersucht wurden [KASTNER 1909, GJERTSEN 1967, WEIDENEDER 1992, BELLMER 1995, ZEPF 1998, BACH et al. 2001, FISCHER 2001, KUNERT et al. 2001, PELLAUD 2002, SCHUMACHER 2002, BURKERT 2006, CHRISTIAN et al. 2011a-2011d, u. a.].

CHRISTIAN et al. entwickelten auf Basis existierender Nachweismethoden für Gushing [DONHAUSER et al. 1990, FISCHER et al. 1997, ANGER 2006, ILBERG et al. 2009, RATH 2009] einen speziellen Gushingtest für alkoholfreie Getränke [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011]. Die Besonderheit der Methode liegt darin, dass bereits am selben Tag Grundstoffe zur Herstellung von Schorlen auf Gushing untersucht werden konnten.

In den Arbeiten kamen Grundstoffe (A1 bis A5) zur Herstellung von Apfelschorlen und später Grundstoffe zur Herstellung von Apfelmischschorlen zum Einsatz. Geringe Mengen der Grundstoffe wurden dazu in PET-Flaschen gegeben, die CO<sub>2</sub>-haltiges Wasser enthielten. Nach einem standardisierten Behandlungsverfahren wurde das Gushingpotential anhand der Überschäummenge nach dem Öffnen der Flaschen ermittelt [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Von den genannten Grundstoffen zeigten mit Hilfe dieses Tests die Proben A1, A2 und A5 deutliches Gushing(verhalten). Bei den restlichen Grundstoffen wurde kein Übersäumen beobachtet. Parallel zum Gushingtest erfolgte von allen Proben die Bestimmung von sowohl Ladungstitration als auch Partikelgrößenverteilung im Zuge der kombinierten Partikelanalytik [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Mit Hilfe der Partikelgrößenverteilung konnte CHRISTIAN et al. nachweisen, dass sich die Apfelgrundstoffe deutlich in der Partikelanzahl mit Größen von 1 nm bis 2 nm unterschieden. Bei den gushing-positiven Grundstoffen A1, A2 und A5 wurden signifikant höhere Intensitäten detektiert, als bei den gushing-negativen Grundstoffen A3 und A4. Bei den gushing-positiven Grundstoffen bildeten die Partikelgrößen von 1-2 nm 40 % der Gesamtintensität. Aufgrund der überaus geringen Größen deutete dies auf eine enorm hohe Konzentration dieser Kleinstteilchen hin [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Durch den Einsatz der Ladungstiteration wurde weiterhin überprüft, ob die detektierten Nanopartikel mit den vermutlich höheren Konzentrationen in den gushing-positiven Apfelgrundstoffen auch quantifizierbar sind [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Abbildung 5.57 zeigt, dass zur vollständigen Neutralisation der Gesamtoberflächenladung gushing-negativer Grundstoffe (A3 und A4) Titrationsvolumina von bis zu 2,0 ml verbraucht wurden. Bei den gushing-positiven Grundstoffen (A1, A2 und A5) waren hingegen deutlich größere Mengen von 2,5 ml bis 4,0 ml nötig. Wie in Kapitel 2.3.2 ausführlich erläutert, resultiert der deutlich höhere Verbrauch an Titrationslösung für die gushing-positiven Grundstoffe aus der höheren Gesamtoberflächenladung der Partikel. Diese lässt sich wiederum auf die erhöhte Konzentration von 1-2 nm Teilchen zurückführen [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

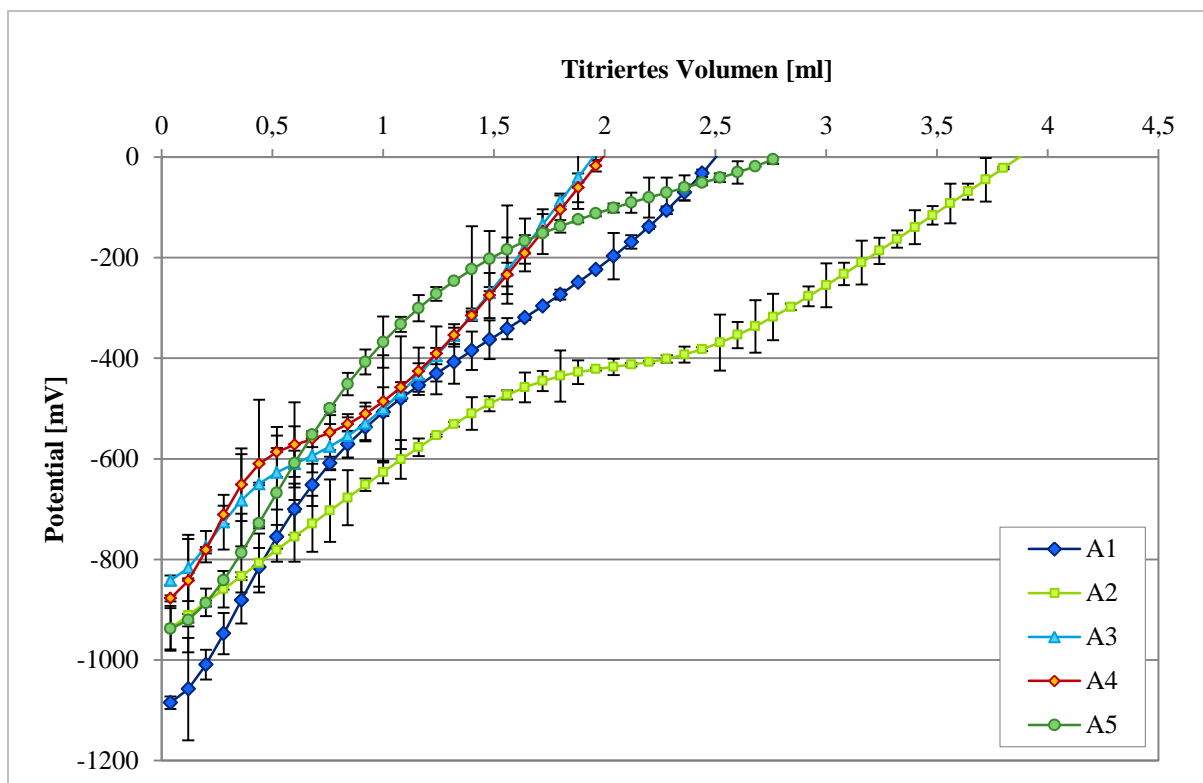


Abbildung 5.57. Titrationskurven von fünf unterschiedlichen Grundstoffen für Apfelsaftschorlen. Die Proben A1, A2 und A5 wurden gushing-positiv getestet. Ihre Mengen an titrierbarer Ladung lag bei  $\geq 2,5$  ml. Für Probe A2 waren fast 4 ml bis zum Nullpunkt an titrierbarem Volumen notwendig. A3 und A4 hingegen zeigten kein Gushing und lagen mit etwa 2 ml titrierbarem Volumens deutlich darunter [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Die Ergebnisse von CHRISTIAN et al. geben Hinweise, dass 1-2 nm große Partikel in Abhängigkeit ihrer Konzentration Gushing auslösen können. Das titrierbare Volumen stellt daher eine geeignete Messgröße zum Quantifizieren von Partikeln dar, deren Größe mit Hilfe der Partikelgrößenverteilung identifiziert wurden [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Auch wenn weitere Untersuchungen für die kombinierte Partikelanalytik als Vorhersagemethode für Gushing notwendig sind, konnten die Beobachtungen durch Analysen weiterer Grundstoffe zur Herstellung von Apfelkirchschorlen bestätigt werden [CHRISTIAN et al. 2010, CHRISTIAN 2011].

Zusammenfassend zeigt die Anwendung der kombinierten Partikelanalytik und damit der Einsatz von Ladungstitation, dass Partikelgröße und -oberflächenladung nützliche Analyseparameter sind, um Gushing vorherzusehen. Hier liegt der klare Vorteil gegenüber konventionellen Gushingtests in der Schnelligkeit der Analysendurchführung.



## 6 Zusammenfassung

Grundlage für die vorliegende Ausarbeitung bildeten die steigenden Ansprüche an die Produktstabilität in der Brauindustrie und die damit verbundenen größeren Anforderungen an Messtechnik und -methode. Folglich war das Ziel dieser Arbeit die Elaboration theoretischer und praktischer Aspekte bei der Anwendung der Ladungstitrationsmethode zur schnelleren Vorhersagbarkeit der kolloidalen Stabilität untergäriger Biere.

Zur Einführung in die Thematik wurde zuerst die Theorie der Kolloidchemie als Grundlage für die Partikelanalytik erarbeitet und von molekularer Chemie/Physik sowie Festkörperphysik/-chemie abgegrenzt. Dies war insofern bedeutsam, da die Betrachtungsweise der Kolloidchemie bislang eher selten in der einschlägigen Literatur der Brauwissenschaft zu finden war. Dabei konnte anhand der Grundüberlegung zu Gemeinsamkeiten aller Getränke hinsichtlich ihrer chemischen-physikalischen Eigenschaften die folgende Allgemeindefinition festgelegt werden: *Ein Getränk ist eine Flüssigkeit, in der neben echt gelösten Substanzen Kolloide dispergiert oder emulgiert vorliegen.* Für Bier ließ sich diese Aussage entsprechend spezifizieren: *Bier ist ein kolloiddisperses, elektrolythaltiges Wasser-Ethanol-Gemisch, dessen kontinuierliche Phase flüssig und die dispergierte Phase fest ist.*

Mit der Darstellung von Partikeloberfläche und ihren Oberflächenladungen wurde das Grenzflächenphänomen der elektrischen Doppelschicht anschaulich hergeleitet. Hierbei konnte erstmals der vollständige Schichtenaufbau nach der STERNschen Theorie, durch die Vorstellung von GRAHAME und der Modellierung nach BOCKRIS et al. ergänzt, in modifizierter Form erklärt werden [STERN 1924, GRAHAME 1947, BOCKRIS et al. 1963]. Über die Potentialverteilung im Schichtenmodell wurde das Zeta-Potential hergeleitet. Anschließend folgte die Diskussion dessen Höhe und Vorzeichen in Abhängigkeit der Eigenschaften der elektrischen Doppelschicht sowie deren Beeinflussbarkeit durch Peptisatoren. Das Zeta-Potential der Partikel als Maß für die elektrostatische Abstoßung untereinander, stellte sich in der Theorie als wichtigster Stabilitätsfaktor der Dispersion Bier heraus. In komprimierter Form konnte die Wechselwirkung zweier Partikel über die DLVO-Theorie erklärt [DERJAGUIN und LANDAU 1941, VERWEY und OVERBEEK 1948] und durch weiterführende Überlegungen ergänzt werden, die sowohl die BROWNSche Molekularbewegung als auch die Partikelkonzentration einschlossen. Da proteinische Substanzen die Haupttrübungsbildner im Bier sind [BELITZ et al. 2001, NARZISS 2004, LEIPER und MIEDL 2009], wurde auf deren Aufbau, Primär- und Raumstrukturen sowie Faltung und Stabilität eingegangen. Nach der Begriffsbildung zur Produktstabilität als zentrale Voraussetzung der Bierqualität folgte eine kritische Betrachtung der bisherigen Lehrmeinung zur Trübungsbildung zwischen Protein und Polyphenolen. Hierbei stellte sich heraus, dass diese Interaktionen nach wie vor als Hauptursache für die Trübungsbildung angesehen wird [LEIPER und MIEDL 2009], obwohl im Bier weitaus mehr Polypeptide als Polyphenole enthalten sind [SIEBERT et al. 1996]. Durch Anhaften der Polyphenole an den Zellwänden der Hefe [LEIPER und MIEDL 2009], kommen letztlich nur etwa 3,3 % der insgesamt vorhandenen Polyphenole zur Trübungsbildung in Frage [MCMURROUGH und BAERT 1994]. Durch diesen geringen Beitrag der Polyphenole an der Trübungsbildung erscheint die bisherige Fokussierung auf die Komplexbildung als Ursache ungerechtfertigt. Dies begründet somit den Schwerpunkt der Arbeit, Partikel im Bier aus kolloidchemischer Sicht zu untersu-

chen, deren physikalische Stabilität durch zwischenpartikuläre Wechselwirkungen nach der DLVO-Theorie erklärbar ist.

Im nächsten Teil der Arbeit erfolgte die Definition von elektrischer Leitfähigkeit und pH-Wert sowie deren Erläuterung im Zusammenhang mit den entsprechenden elektrochemischen Bestimmungsmethoden. Dies diente dem besseren Verständnis und als Grundlage zur Beurteilung der wichtigsten Einflussfaktoren sowohl auf die Partikeloberflächenladung als auch die Ausprägung der diffusen Schicht. Theoretisch konnte erarbeitet werden, dass die Leitfähigkeit immer dann ein eindeutiges Maß für die Lösungskonzentration darstellt, wenn in ihr nur eine Elektrolytart gelöst ist und deren Leitfähigkeitsmaximum nicht im Messbereich liegt. Bier ist jedoch ein Mehrstoffgemisch, dessen Komponenten den Messwert unterschiedlich stark beeinflussen. Dadurch ist es unmöglich, nur mittels Leitfähigkeitsmessung auf die Art der gelösten Salze und Säuren im Bier zu schließen. Es können lediglich Aussagen bezüglich der Gesamtmineralisation und des Säuregehalts getroffen werden. Trotz dieser erheblichen Einschränkung ist die Leitfähigkeit gerade im Hinblick auf die nachfolgenden Ergebnisse der wichtigste Einflussparameter des Elektrolyten auf die Bestimmung des Partikeloberflächenpotentials im Bier. Alle Vorgänge des Bierbereitungsprozesses werden durch den pH-Wert direkt und indirekt beeinflusst [NARZISS 1992]. Dennoch legten die theoretischen Grundlagen dar, dass dieser Parameter für die chemisch-physikalische Stabilität eine untergeordnete Rolle spielt. Gründe sind die hohe Pufferkapazität und folglich ein relativ konstanter pH-Wert des Biers.

Neben der Angabe aller Materialien und Methoden erfolgte auf Basis der theoretischen Grundlagen eine detaillierte Beschreibung der Ladungstitrationsmesstechnik und der Ausbildung des Messsignals. Zusätzlich wurden die Strömungsverhältnisse im Messspalt des PLD für Bierproben berechnet. Die REYNOLDS-Zahlen zeigten, dass von einer laminaren Strömung im Messspalt ausgegangen werden konnte.

Die praktische Umsetzung der theoretisch erarbeiteten Ergebnisse zur Anwendung der Ladungstitrationsmethode, insbesondere für die Analyse von Bier, wurde im letzten Abschnitt dieser Arbeit behandelt. Zunächst wurden die Einflüsse auf die Signalwirkung und das titrierte Volumen untersucht sowie deren Präzision evaluiert. Dabei stellte sich heraus, dass der Messfehler des titrierten Volumens bei niedrigeren Temperaturen der Titrationslösung zwar geringer ausfiel, aber 20 °C bei einem Messfehler von -1 % für die Praxis durchaus vertretbar waren. Mittels entgegengesetzt geladener Polyelektrolyte wurde die Ladungsneutralisation über eine Symplexbildung im PLD bestätigt, die auch MÜLLER nachgewiesen hatte [MÜLLER 1996]. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass es sich bei der Polyelektrolyttitration von Bier ebenfalls um eine 1:1-Stöchiometrie handelte. Somit wurde die Voraussetzung für die Ladungstitrations zur Bestimmung der Partikeloberflächenladungen in Bier erfüllt. Mit der Polyelektrolytlösung PES-Na als Standardlösung war es möglich, vor jeder Messung die Signalverstärkung des Potentials in den Geräteeinstellungen zu testen und zu justieren. Dadurch konnte das Signal der Potentialstärke später auch quantitativ in die Interpretationen mit einbezogen werden. Für die Bestimmung der Oberflächenladungen der Partikel im PLD zeigte sich für Bier ein typischer Kurvenverlauf. Dieser ließ sich in zwei Phasen unterteilen, wobei nur



Phase II Bedeutung besaß. Der Grund hierfür liegt in der Neutralisation der Oberflächenladungen von ausschließlich immobilisierten Partikeln.

Die Titrationskurven wurden durch Mehrfachmessungen über eine Mittelwertskurve dargestellt. Eine statistische Messfehlerbetrachtung zeigte dann, dass sich die Messwerte des PLD mit sehr guter Näherung zu einer Mittelwertskurvenanpassung normal verteilen. Diese Anpassung konnte daher als eine charakteristische Funktion für die graphische Darstellung von Titrationskurven verwendet werden. Mit dieser war eine exakte Berechnung von Potential und titriertem Volumen möglich. Um die Präzision der Ladungstitration zu prüfen, wurde gemäß DIN ISO 5725 die Wiederholbarkeit von Potential und titriertem Volumen durch Wiederholungsmessung bestimmt [DIN ISO 5725 1981]. In 95 % aller Fälle betragen die maximalen Differenzen zwischen zwei Messwiederholungen für das Potential 15 mV und das titrierte Volumen 0,07 ml. Um die Änderung des Potentials in Abhängigkeit der Elektrolytkonzentration und -wertigkeit zu beurteilen, wurden Standardtitrationmittel mit definierten Salzlösungen titriert. Im Einklang mit der dargestellten Theorie sank dabei das Potential in der diffusen Schicht mit zunehmender Elektrolytkonzentration und steigender Wertigkeit des Salzes. Der Einfluss der Ionenwertigkeit auf die Kompression der diffusen Schicht dominierte aber den der Ionenkonzentration. Im Gegensatz zu den reinen Salzlösungen sind im Bier unterschiedlichste Salze gelöst, die alle einen Einfluss auf die Leitfähigkeit ausüben. Eine Verdünnungsreihe von Bier mit Wasser zeigte, dass mit steigender Verdünnung das Potential anstieg und das titrierte Volumen fiel. Im Gegenzug zum linearen Abfallen des titrierten Volumens stieg das Potential zunächst an, um sich einem Maximalwert anzunähern. Des Weiteren konnte mit der Verdünnungsreihe die Adsorptionskapazität der PTFE-Oberfläche von Messzelle und -kolben abgeschätzt werden. Für Bierproben wurde diese bei einer Bierkonzentration von etwa >30 % erreicht. Nach TERTSCH äußern sich zu niedrige Partikelkonzentrationen in zu hohen Ladungswerten [TERTSCH 1993]. Dieser Effekt konnte aber bei einer minimalen Verdünnung von 10 % Bier noch nicht beobachtet werden. Demnach musste die kritische Mindestkonzentration der Partikel für Bier darunter liegen. Mit Partikelgrößenverteilungen der verdünnten Bierproben wurde bewiesen, dass eine Quantifizierung der Partikel im Bier allein mit der Partikelgrößenmessung nicht möglich war. Aus diesem Grund trug die Ladungstitrationssmessung maßgeblich zu einer vollständigen Charakterisierung der Partikel im Bier bei. Eine weitere Voraussetzung für das reproduzierbare Bestimmen von Oberflächenpotential der Partikel und deren Gesamtladung war ein definierter bzw. während der Messung konstanter pH-Wert der Probe. Dieser änderte sich durch die hohe Pufferwirkung während der Ladungstitrationssmessung kaum. Auch in der Verdünnungsreihe blieb die Pufferwirkung erhalten, solange die Probe einen Bieranteil enthielt. Insgesamt konnte der Einfluss des pH-Werts auf die Ladungstitrationssmessung bei Bier als minimal bezeichnet werden. Er wurde daher im weiteren Verlauf der Arbeit vernachlässigt.

Der nächste Abschnitt befasste sich mit der Beschreibung unterschiedlich stabilisierter Biere mittels Ladungstitration. Zu Beginn wurden anhand der Ergebnisse eines Langzeit-Forciertests die Trübungskurven und -ausbildung während des Alterungsprozesses diskutiert. In diesem Zusammenhang konnte ein neuer Erklärungsansatz für die Reversibilität der Kälte-trübung im Bier entwickelt werden. So findet während der Kältebehandlung im Forciertest wahrscheinlich Synärese statt. Es konnte begründet werden, weshalb diese Theorie plausibler

ist, als die Theorie der reversiblen Komplexbildung zwischen Proteinen und Polyphenolen. Die Komplexbildung bei der Trübung des Biers ist deshalb aber nicht gänzlich auszuschließen. Sie spielt eher eine untergeordnete Rolle. Die Ergebnisse der Ladungstitration zweier unterschiedlich trübungsstabiler Biere zeigten, im Zuge der Alterung nahmen sowohl das Potential als auch das titrierte Volumen ab. Für beide Größen konnte über die Zeit ein linearer Zusammenhang nachgewiesen werden. Der Unterschied zwischen beiden Bieren wurde anhand der Potentialänderungen in Abhängigkeit der Alterung deutlich. Die Kurve des schwach stabilisierten Biers fiel wesentlich schneller über die Zeit, obwohl dieses anfangs ein leicht höheres Potential besaß, als das stark stabilisierte Bier. Grundsätzlich wurde das sinkende Potential im Zuge der Alterung mit dem Verlust von Partikeloberflächenladung aufgrund von Alterungsprozessen erklärt. Die Abnahme des titrierten Volumens hingegen wurde dem Verlust von Oberflächen durch Partikelvergrößerung zugeordnet. Die Annahme einer Vergrößerung durch Agglomeration während der Bieralterung konnte durch die Ergebnisse der Partikelgrößenverteilung bewiesen werden.

Ein weiterer Teil in der experimentellen Untersuchung befasste sich mit Einflussgrößen auf die kolloidale Stabilität, die von der Literatur her bereits bekannt waren. Um die Biermatrix weitgehend konstant zu halten, wurde ein Referenzbier auf unterschiedliche Konzentrationsstufen des jeweils zu untersuchenden Parameters eingestellt. In Übereinstimmung mit der Literatur [SIEBERT et al. 1996, SIEBERT 1999a, SIEBERT 1999b, SIEBERT und LYNN 2003, SIEBERT 2004, SIEBERT 2006, PÖSCHL 2008] zeigte sich dabei, dass ein steigender Alkoholgehalt im Bier die Stabilitätsparameter (Potential und titriertes Volumen) tendenziell positiv beeinflusste. Signifikante Änderungen konnten aber nur für das titrierte Volumen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Ladungstitration zeigten, dass der Faktor pH-Wert im Bier aufgrund der hohen Komplexität der Biermatrix irrelevant für die chemisch-physikalische Stabilität war. Das bestätigten auch die Beobachtungen von PÖSCHL [PÖSCHL 2008]. Als letzter Parameter wurde der Sauerstoffeinfluss getestet. Die Ergebnisse der Ladungstitration deuteten darauf hin, dass der Sauerstoffgehalt einen wesentlichen Einfluss auf die Trübungsstabilität nimmt. Die geringere Stabilität drückte sich durch ein geringeres Potential und ein höheres Titrationsvolumen aus, wobei nur für das titrierte Volumen ein signifikantes Ansteigen nachgewiesen werden konnte. Hier sei jedoch kritisch angemerkt, dass bloßes Hinzufügen von beispielsweise Alkohol ins fertige Produkt niemals ein Bier repräsentiert, welches brauprozess technisch höher vergoren wurde. Dies würde sich nicht allein im Alkoholgehalt, sondern auch in den Inhaltsstoffen und der Konzentration von einem niedriger vergorenen Bier unterscheiden. Dennoch war diese Vorgehensweise ein Weg, um sicherzustellen, dass nur ein Parameter variiert wurde.

Ein wichtiges Ziel dieser Arbeit war es, mittels Ladungstitrationsmethode eine schnelle Vorhersage über die kolloidale Stabilität von Bier zu treffen, ohne langwierige und aufwendige Messmethoden durchzuführen. Während im ersten Teil der Arbeit der Alterungsprozess von Bieren ausschließlich einer Charge charakterisiert wurde, kamen zum Erstellen eines allgemeingültigen Modells Bierproben unterschiedlicher Abfüllungen zum Einsatz. Da die stabilitätsbestimmenden Parameter Potential und titriertes Volumen für Biere verschiedener Chargen anfangs nicht mit der berechneten Haltbarkeit aus dem Forciertest korrelierten, wurde eine Diskussion der Referenzmethode fällig. Dies stellte dann die Qualität des Forcier-

tests als Referenzmethode lediglich als limitierenden Faktor dar. Trotz fehlender Korrelationen konnte schließlich doch ein Zusammenhang zwischen der aufgestellten Theorie und der Referenzmethode gefunden werden. Mit Hilfe von Verdünnungen war es möglich, die Einflüsse auf das messbare Potential zu minimieren. Die Überlegung basierte auf der Annahme, durch ein Verdünnen der Probe würde die Ionenkonzentration in der diffusen Schicht so stark reduziert, dass eine Bestimmung des STERN-Potentials der Partikel mit dem PLD möglich war. So konnten Potentiale von Bieren unterschiedlicher Chargen verglichen werden. Über die Definition eines Stabilitätswerts, der mittels Quotienten aus (STERN-)Potential und titriertem Volumen errechnet wurde, zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen den Ergebnissen des Forciertests und der Ladungstitation. Das entsprechende Bestimmtheitsmaß betrug  $R^2 = 0,6524$ . Je größer dabei die ermittelte Trübungsdifferenz war, desto kleiner fiel der Stabilitätswert aus. Die Höhe des Stabilitätswerts gab an, wie langzeitstabil das Bier war. Das Bestimmtheitsmaß lag in der Größenordnung der Referenzmethode von  $R^2 = 0,7848$ . Eine Beurteilung der Stabilität des Biers ausschließlich anhand einer frisch analysierten Probe konnte also durchgeführt werden. Dies zeigte den entscheidenden Vorteil der Ladungstitation gegenüber dem Forciertest: Mit der Ladungstitation war es möglich, innerhalb weniger Stunden eine Aussage über die kolloidale Stabilität eines Biers zu treffen. Somit kann die Stabilität festgestellt werden, noch bevor das Produkt die Brauerei verlässt. Im Laufe der Arbeit haben sich neben Möglichkeiten aber auch Schwächen in der Anwendbarkeit der Ladungstitationsmethode offenbart. Eine Grenze war immer dann erreicht, wenn im Bier keine homogene Dispersion vorlag. Eine sinnvolle Interpretation von Ergebnissen der Ladungstitation von Unfiltratproben oder Bieren, die bereits Bodensatz aufwiesen, war somit unmöglich.

Den Abschluss der Arbeit bildet die Vorstellung dreier weiterer Applikationsbeispiele der Ladungstitationsmethode, die im direkten oder indirekten Zusammenhang mit der chemisch-physikalischen Stabilität von Getränken standen. Die erste Anwendung zeigte, dass die Konzentrationsänderung im Zuge des Ausfällens des koagulierbaren Stickstoffs während des Würzekochens mit Hilfe einer standardisierten Würze über die Ladungstitationsmethode beschrieben werden konnte. Im Gegensatz zu der zeitaufwändigen Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL besteht somit die Möglichkeit, die Stickstoffausfällung noch während des Kochvorgangs mit der Ladungstitationsmethode vor Ort vorauszubestimmen. Dadurch können künftig zeitnahe Anpassungen der Kochzeit im Hinblick auf die chemisch-physikalische Stabilität und den Schaum des Biers vorgenommen werden. Weiter haben äußere Faktoren wie die Lagerzeit durch die sofortige Analyse der Würzprobe keinen Einfluss auf das Ergebnis der Ladungstitationsmessung. Mit Ladungstitationsmessungen mittels standardisierter Würzen werden zukünftig auch Vergleiche in der Ausfällgeschwindigkeit des koagulierbaren Stickstoffs zwischen unterschiedlichen Kochsystemen möglich.

Nach Praxiserfahrung besitzt die KZE einen positiven Einfluss auf die Langzeitstabilität. Mit Hilfe der Ladungstitationsmethode konnte ein positiver Effekt messtechnisch nachgewiesen werden, indem sich das Potential mit zunehmender KZE-Behandlung erhöhte. Die Annahme besagte, mit steigender Temperatur denaturiert ein Teil der nativen Proteine im Bier und beeinflusst so das Signal. Eine vollständige Erklärung der tatsächlichen Vorgänge steht aber noch aus.

Das letzte Beispiel behandelte das Thema Gushing von kohlenensäurehaltigen alkoholfreien Getränken. Der Einsatz der Ladungstitrationsmethode konnte zeigen, das titrierte Volumen stellt in Kombination mit der Partikelgrößenbestimmung als Maß für die Konzentration von Kleinstteilchen einen nützlichen Analysenparameter dar, um Gushing vorherzusehen. Auch hier lag der klare Vorteil gegenüber konventionellen Gushingtests in der Schnelligkeit der Analysendurchführung.

## 7 Literaturverzeichnis

- ABRAMSON, H. A., 1934: *Electrokinetic phenomena and their application to biology and medicine*, The Chemical Catalog Company, New York.
- ADAM, G., LÄUGER, P., STARK, G., 2009: *Physikalische Chemie und Biophysik*, 5. Auflage, Springer, Berlin.
- ADAM, N. K., 1941: *The Physics and Chemistry of Surfaces*, 3. Auflage, Oxford University Press, London.
- AFG ANALYTIC GMBH (AFG), 2006: *Operation Instructions CAS – Charge Analyzing System*. Firmenschrift.
- AFG ANALYTIC GMBH (AFG), 2008: *Eine neue Generation der Ladungstechnik – CAS Partikelladungsmeßgerät*. URL: <http://www.afg-analytic.de/german/downloads/casdeu.pdf>, letzter Zugriff am 21.12.2008. Firmenschrift.
- ANGER, H. M., 1983: *Über die Stabilisierung von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole*, Technische Universität Berlin, Fachbereich für Lebensmitteltechnologie und Biotechnologie, Dissertation.
- ANGER, H. M. (Hrsg.), 2006: *Brautechnische Analysenmethoden. Rohstoffe. Methodensammlung der Mitteleuropäischen Analysekommision (MEBAK)*, MEBAK, Freising.
- ANS, J. und LAX, E., 1960: *Taschenbuch für Chemiker und Physiker*, Springer, Berlin.
- ASANO, K., SHINAGAWA, K., HASHIMOTO, N., 1982: *Characterisation of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation*. – Journal of the American Society of Brewing Chemists 40, Nr. 4, S. 147-154.
- ATKINS, P. W. und PAULA, J., 2006: *Physikalische Chemie*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- ATKINS, P. W. und PAULA, J., 2008: *Kurzlehrbuch Physikalische Chemie*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- BACH, H.-P., GÖRTGES, S., BURGER, K., SCHNEIDER, R., 2001: *Das Wildwerden oder Überschäumen (Gushing) des Sektes*. – Der Deutsche Weinbau 23, S. 36-41.
- BACK, W. (Hrsg.), 2008: *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie*, 2. Auflage, Hans Carl, Nürnberg.
- BALDWIN, R. L., 1986: *Temperature dependence of the hydrophobic interaction in protein folding*. – Natl. Acad. Sci. USA 83, Nr. 21, S. 8069-8072.
- BAMFORTH, C. W., 1999: *Beer haze*. – Journal of the American Society of Brewing Chemists 57, Nr. 3, S. 81-90.
- BARZ, D. und EHRHARD, P., 2005: *Simulation of flow and mass transport in a meander micro-channel subject to electrrsmotic pumping*. – J. Microscale Thermophysical Engineering 9, S. 305-316.

- BELITZ, H.-D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P., 2001: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 5. Auflage, Springer, Berlin.
- BELLAU, G. und DADIC, M., 1981: *Beer hazes. II. Further analyses of basic components by high performance liquid chromatography*. – Journal of the American Society of Brewing Chemists 39, Nr. 4, S. 142-146.
- BELLMER, H.-G., 1977: *Polyphenole und Alterung des Bieres*. – Brauwelt 117, Nr. 20, S. 660-669.
- BELLMER, H.-G., 1995: *Forschungsprojekt "Gushing"*. – Brauwelt 135, S. 1167-1170.
- BERG, K. A., 1991: *A method for the rapid evaluation of colloidal stability in beer*. – MBAA Technical Quarterly 28, Nr. 4, S. 163-167.
- BISHOP, L. R., 1975: *Haze- and foam-forming substances in beer*. – Journal of the Institute of Brewing 81, Nr. 6, S. 444-449.
- BLÜML, S. und FISCHER, S., 2005: *Manual of Filling Technology*, Behr, Hamburg.
- BOCKRIS, J. O'M., DEVANATHAN, M. A. V., MULLER, K., 1963: *Water Molecule Model of the Double Layer*. – Proc. Roy. Soc. 55, A274.
- BOETTCHER, K. und BARZ, D., 2006: *Numerische Simulation eines elektroosmotischen Mikromischers*, Wissenschaftliche Berichte FZKA 7228, Forschungszentrum Karlsruhe, Karlsruhe.
- BOHL, W., 1998: *Technische Strömungslehre*, 11. Auflage, Vogel, Würzburg.
- BÖRNER, M., JACOBASCH, H.-J., SIMON, F., CHURAEV, N. V., SERGEEVA, I. P., SOBOLEV, V. D., 1994: *Zeta potential measurements with fibre plugs in 1:1 electrolyte solutions*. – Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 85, Nr. 1, S. 9-17.
- BOTSCH, W., HÖFLING, E., MAUCH, J., 1984: *Chemie in Versuch, Theorie und Übung*, 2. Auflage, Diesterweg, Frankfurt a. M.
- BRONSTEIN, I. N., SEMENDJAJEW, K. A., MUSIOL, G., MÜHLIG, H., 1999: *Taschenbuch der Mathematik*, 4. Auflage, Harri Deutsch, Frankfurt am Main.
- BTG INSTRUMENTS GMBH (BTG), 2008: *Ladungsmesstechnik*. Herrsching, Oktober 2008. Firmenschrift.
- BURKERT, B., 2006: *Untersuchungen zu den strukturellen Ursachen von Primärem Gushing*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Dissertation.
- CERBE, G., 1992: *Grundlagen der Gastechnik*, 4. Auflage, Hanser, München.
- CHAPMAN, D. L., 1913: *A contribution to the theory of electrocapillarity*. – Phylos. Mag. 25, S. 475-481.
- CHAPON, L., 1994: *The mechanisms of beer stabilization*. – Brewers` Guardian 123, Nr. 12, S. 46-50.

- CHARLTON, A. J., BAXTER, N. J., KHAN, M. L., MOIR, J. G., HASLAM, E., DAVIES, A. P., WILLIAMSON, M. P., 2002: *Polyphenol/Peptide binding and precipitation*. – Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, Nr. 6, S. 1593-1601.
- CHRISTIAN, M., TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., 2010: *Combined particle analysis as a new tool to predict gushing shown with alcoholic free beverage products*. – BrewingScience 63, Nr. 5/6, S. 62-71.
- CHRISTIAN, M., TITZE, J., JACOB, F., PARLAR, H., ILBERG, V., 2011a: *Entwicklung und Unterdrückung von Gushing in der Würzherstellung*. – Brauwelt 151, Nr. 18, S. 558-561.
- CHRISTIAN, M., TITZE, J., JACOB, F., PARLAR, H., ILBERG, V., 2011b: *Aktuelle Forschungsentwicklung in der Gushing-Analyse - Teil 1*. – Brauwelt 151, Nr. 23, S. 696-699.
- CHRISTIAN, M., TITZE, J., JACOB, F., PARLAR, H., ILBERG, V., 2011c: *Aktuelle Forschungsentwicklung in der Gushing-Analyse - Teil 2*. – Brauwelt 151, Nr. 23, S. 842-845.
- CHRISTIAN, M., TITZE, J., ILBERG, V., 2011d: *New chemical structure system of fatty substances for gushing development & suppression and a new gushing-positive peptide amino acid sequence*. – Journal of the American Society of Brewing Chemists 69, Nr. 3, S. 170-179.
- CHRISTIAN, M., 2011: *Einflussfaktoren, Entstehung und Analytik des Phänomens Gushing*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Dissertation.
- CONWAY, B. E., 1957: *Elektrochemische Tabellen*, Govi-Verlag, Frankfurt am Main.
- CRC CHEMICAL RUBBER Pub. Co., 1968/1969: *Handbook of Chemistry and Physics*, Cleveland Ohio, Nr. 1968-69.
- CURTIS, N. S., 1963: *Non-biological stability*. – Journal of the Institute of Brewing 69, S. 216-227.
- CURTIS, N. S., 1966: *The activities and achievements of the haze group of the European Brewery Convention*. – MBAA Technical Quarterly 3, Nr. 4, S. 253-257.
- DADIC, M. und BELLEAU, G., 1980: *Beer hazes. I. Isolation and preliminary analysis of phenolic and carbohydrate components*. – Journal of the American Society of Brewing Chemists 38, Nr. 4, S. 154-158.
- DAUTZENBERG, H., JAEGER, W., KÖTZ, J., PHILIPP, B., SEIDEL, C., STSCHERBINA, D., 1994: *Polyelectrolytes: Formation, Characterization and Application*, Hanser, München.
- DAVID, H. A., HARTLEY, H. O., PEARSON, E. S., 1954: *The distribution of the ratio, in a single normal sample, of range to standard deviation*. – Biometrika 41, Nr. 3/4, S. 482-493.
- DEBYE, P. und HÜCKEL, E., 1923: *Zur Theorie der Elektrolyte. I. Gefrierpunkterniedrigung und verwandte Erscheinungen*. – Physikalische Zeitschrift 24, S. 185-206.

- DENTEL, K. und KINGERY, K. M., 1988: *Theoretical Principles of Streaming Current Detection*. – Wat. Sci. Tech. 21, S. 443-453.
- DERJAGUIN, B. V. und LANDAU, L., 1941: *Theory of stability of highly charged lyophobic sois and adhesion of highly charged particles in solutions of electrolytes*. – Acta Phys. Chem. 14, S. 633-662.
- DERJAGUIN, B. V., CHURAEV, N. V., MULLER, V. M., 1987: *Surface Forces*. – übersetzt von: Poverkhnostnye Sily, Plenum, New York.
- DIETRICH, H., SCHÄFER, E., SCHÖPPLEIN, E., 1991: *Eine neue Kontrollmöglichkeit bei der Schönung von Fruchtsäften – Anwendung eines Streaming Current Detectors*. – Flüssiges Obst 58, Nr. 7, S. 354-359.
- DIN ISO 5725:1981-11, 1981: *Präzision von Prüfverfahren - Bestimmung von Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit durch Ringversuche*.
- DIN 10753:2000-12, 2000: *Untersuchung von Honig - Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit*.
- DIN 524:1922-08, 1922: *Normaltemperatur*.
- DIN EN 27888:1993-11, 1993: *Wasserbeschaffenheit; Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit*. (ISO 7888:1985). Deutsche Fassung EN 27888:1993 vgl. DIN 38404 T8.
- DIN 38404-5:2009-07, 2009: *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C) - Teil 5: Bestimmung des pH-Werts (C 5)*.
- DINNER, A. R., SALI, A., SMITH, L. J., DOBSON, C. M., KARPLUS, M., 2000: *Understanding protein folding via free-energy surfaces from theory and experiment*. – Trends Biochem. Sci. 25, S. 331-339.
- DOBSON, C. M., SALI, A., KARPLUS, M., 1998: *Protein folding: a perspective from theory and experiment*. – Angew. Chem. Int. Ed. 37, S. 868-893.
- DONHAUSER, S., WEIDENEDER, A., WINNEWISSER, W., GEIGER, E., 1990: *Test zur Ermittlung der Gushingneigung von Rohfrucht, Malz, Würze und Bier*. – Brauwelt 130, S. 1317-1320.
- DÖRFLER, H.-D., 2002: *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme. Physik und Chemie*, Springer, Berlin.
- DRITTES PHYSIKALISCHES INSTITUT (DPI), 2011: *Lehre der Biophysik und der Physik komplexer Systeme – Computergestützte Biophysik I*. Fakultät für Physik. Georg-August-Universität, Göttingen. URL: [http://www.dpi.physik.uni-goettingen.de/Lehre/Bachelor/images/comp\\_biophys1.jpg](http://www.dpi.physik.uni-goettingen.de/Lehre/Bachelor/images/comp_biophys1.jpg), letzter Zugriff am 05.11.2011.
- DROST, M. A., 1999: *Methoden zur Untersuchung der Auswirkungen mechanischer Belastung auf kolloidale Struktur, Rheologie und Filtrationsverhalten von Bier*, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Dissertation.



- ELICKER, M. L., RESTA, J. J., HUNT, J. W., DENTEL, S. K., 1992: *Fundamental Considerations in Use of the Streaming Current Detector*. – In: Klute, R, Hahn, H. H. (Hrsg.): *Chemical Water and Wastewater Treatment II*, Springer, Berlin.
- ENGLMANN, J., JACOB, F., ILBERG, V., TITZE, J., 2010: *Vergrößerung erwünscht - Einfluss der Kurzzeiterhitzung auf die Trübungsstabilität von Weißbier*. – *BrauIndustrie* 95, Nr. 8, S. 16-19.
- EVANS, E., ROBINSON, L. H., SHEEHAN, M. C., TOLLHURST, R. L., HILL, A., SKERRITT, J. S., BARR, A. R., 2003: *Application of immunological methods to differentiate between foampositive and haze-active proteins originating from malt*. – *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 62, Nr. 2, S. 55-62.
- EUROPEAN BREWERY CONVENTION ANALYSIS COMMITTEE (EBC), 1998: *Analytica-EBC*, Hans Carl, Nürnberg.
- FISCHER, S., SCHWILL-MIEDANER, A., ILBERG, V., SOMMER, K., 1997: *Untersuchung von Einflussfaktoren des Gushingphänomens*. – *Brauwelt* 137, S. 210-214.
- FISCHER, S., 2001: *Blasenbildung von in Flüssigkeiten gelösten Gasen*, Technische Universität München, Fakultät Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Dissertation.
- FLÜHLER, H. und ROTH, K., 2003: *Physik der Ungesättigten Zone, 4 Oberflächenenergie und Kapillarität*, Wintersemester 2003/04, ETH Zürich und Universität Heidelberg. Version 2003.1, URL: [http://www.soil.tu-bs.de/lehre/Bachelor-WaBoLu/Literatur/Fluehler\\_Kap4\\_Kapillaritaet.pdf](http://www.soil.tu-bs.de/lehre/Bachelor-WaBoLu/Literatur/Fluehler_Kap4_Kapillaritaet.pdf) letzter Zugriff am 15.06.2011. Vorlesungsskript.
- FORSTER, C., 1996: *Der Einfluß der Darrtechnologie auf die Malz- und Bierqualität*, Technische Universität München, Fakultät für Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Dissertation.
- FRENS, J., 1968, Universität Utrecht, Dissertation. – In: Sonntag, H., 1977: *Lehrbuch der Kolloidwissenschaft*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- FRICK, F., 2008: *Unsichtbare neue Welt*. – In: Sonderbeilage "Bild der Wissenschaft plus" 6/08 Nr. 2, S. 4-9, URL: [http://www.bwstiftung.de/uploads/tx\\_ffbwspub/bdw\\_der\\_grosse\\_wurf.pdf](http://www.bwstiftung.de/uploads/tx_ffbwspub/bdw_der_grosse_wurf.pdf), letzter Zugriff am 05.11.2011.
- GERDES, W. F., 1966: *A New Instrument – The Streaming Current Detector*. – In: *Proceedings 12<sup>th</sup> Natl. Analysis Instr. Sym.*, Houston, TX.
- GERTHSEN, C. und VOGEL, H., 1999: *Gerthsen Physik*, 20. Auflage, Springer, Berlin.
- GJERTSEN, P., 1967: *Gushing in Beer*. – *The Brewers Digest* 42, S. 80-84.
- GOMEZ, L. J. und LEWIS, M. J., 1969: *Observations on beer haze*. – In: *Proceedings of the ASBC-Congress*, ASBC, S. 142-148.
- GOSSET, W. S., 1908: *The probable error of a mean*. – *Biometrika* 6, S. 1-25.
- GOTTWALD, W., 2000: *Statistik für Anwender*, Wiley-VCH, Weinheim.

- GOUY, G., 1910: *Sur la constitution de la charge électrique a la surface d'un électrolyte.* – J. Phys. Radium 9, S. 457-468.
- GOUY, G., 1917: *Electrocapillarity function.* – Ann. Physique 7, S. 129-184.
- GRAHAM, T., 1861: *Liquid diffusion applied to analysis.* – Phil. Trans. Roy. Soc. 151, S. 183-224.
- GRAHAME, D. C., 1947: *The electrical double layer and the theory of electrocapillarity.* – Chem. Rev. 41, S. 441.
- GRAMSHAW, J. W., 1967: *B Phenolic constituents of beer and brewing materials. II. The role of polyphenols in the formation of non-biological haze.* – Journal of the Institute of Brewing 73, S. 455-472.
- GRAMSHAW, J. W., 1969: *Beer polyphenols and the chemical basis of haze formation, part I: Phenolic constituents of beer and its raw materials.* – MBAA Technical Quarterly 6, Nr. 4, S. 239-259.
- GRAMSHAW, J. W., 1970a: *Beer polyphenols and the chemical basis of haze formation, part II: Changes in polyphenols during the brewing and storage of beer – the composition of hazes.* – MBAA Technical Quarterly 7, Nr. 2, S. 122-131.
- GRAMSHAW, J. W., 1970b: *Beer polyphenols and the chemical basis of haze formation, part III: The polymerization of polyphenols and their reactions in beer.* – MBAA Technical Quarterly 7, Nr. 3, S. 167-179.
- GREHN, J. (Hrsg.), 1991: *Metzler Physik*, 2. Auflage, J. B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- GUZMAN, J. E., MCKEOWN, I. P., GLEAVES, M., STEWART, G. G., DOYLE, A., 1999: *Selective protein adsorption with silica gel.* – MBAA Technical Quarterly 36, Nr. 2, S. 227-230.
- HABER, K. (Hrsg.), 2008: *pH-Messung – leichter zu verstehen.* Stand: 27.11.2007, URL: <http://www.bingo-ev.de/~kh3515/phmess.html>, letzter Zugriff am 14.12.2008. private Homepage.
- HAMAKER, H. C., 1940: *Formation of deposition by electrophoresis.* – Trans. Faraday Soc. 36, S. 279-287.
- HAMANN, C. H. und VIELSTICH, W., 2005: *Elektrochemie*, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- HASLAM, E., 1998: *Practical polyphenolics – from structure to molecular recognition and physical action*, Cambridge University Press, Cambridge.
- HAWLEY, S. A., 1971: *Reversible Pressure-temperature Denaturation of Chymotrypsinogen.* – Biochemistry 10, Nr. 13, S. 2436-2442.
- HEIMENZ, P. C. und RAJAGOPALAN, R., 1997: *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, 3. Auflage, Marcel Dekker, New York.
- HELMHOLTZ, H. v., 1879: *Studien über elektrische Grenzschichten.* – Ann. Phys. und Chem. 7, S. 337-382.

- HENNICKE, J. und HENNICKE, H. W., 1981: *Formgebung in der Keramik. Teil II: Formgebung durch Abscheidung von Schlickern im elektrischen Feld (Elektrophorese)*, Handbuch der Keramik, Schmid, Freiburg.
- HOFMANN, T., 2004: *Kolloide: Die Welt der vernachlässigten Dimensionen*. – Chemie unserer Zeit 38, Nr. 1, S. 24-35.
- HOLLEMANN, A. und WIBERG, E., 1995: *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 101. Auflage, Gruyter, Berlin.
- HORN, D., 1998: *Ein Kolloid – was ist das eigentlich?* – In: BASF: Kolloide, Vorstoß in die Nanowelt, BASF, Ludwigshafen, Firmenschrift.
- HÜTTER, L. A., 1988: *Wasser und Wasseruntersuchung*, 3. Auflage, Diesterweg, Frankfurt am Main.
- HUNTER, R. J., 1981: *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*, Academic Press, New York.
- HYFOMA (Hrsg.), 2008: *Prozessbeschreibung Bier*. Hyfoma, Vaasen. Stand: 27.11.2008, URL: <http://www.hyfoma.com/de/content/herstellungsverfahren-nahrung-produktion/getraenke/bier/>, letzter Zugriff am 27.11.2008. Firmenschrift.
- ILBERG, V., 1996: *Untersuchung des Abscheidemechanismus von Submikrometerpartikeln an Membranen*, Technische Universität München, Fakultät Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Dissertation.
- ILBERG, V., TITZE, J., CHRISTIAN, M., JACOB, F., PARLAR, H., 2009: *Current developments and findings in rapid gushing test analysis*. – Brauwelt International 27, Nr. 1, S. 22-25.
- INSTITUT FÜR CHEMIE, 2011: *Physikalisch-Chemische UE für LAK – Strömungspotentialmessung*. Universität Graz, Stand: 05.09.2002, URL: <http://physchem.kfunigraz.ac.at/pc1-lak/Stroemungspotentialmessung.pdf>, letzter Zugriff am 01.01.2011.
- INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC), 2002: *Definition and Classification of Colloids*. Stand: 05.09.2002, URL: [http://old.iupac.org/reports/2001/colloid\\_2001/manual\\_of\\_s\\_and\\_t/node33.html](http://old.iupac.org/reports/2001/colloid_2001/manual_of_s_and_t/node33.html), letzter Zugriff am 10.05.2010.
- JACOBASCH, H.-J., 1984: *Oberflächenchemie faserbildender Polymere*, Akademie-Verlag, Berlin.
- JENNINGS, B. R. und PARLOW, K., 1988: *Particle Size Measurement: The Equivalent Spherical Diameter*. – In: Proceedings of the Royal Society of London. Series A 419, S. 137-149.
- KAPPLER, E., 1939: *Die Brownsche Molekularbewegung*. – Die Naturwissenschaften 27, S. 649.
- KARLSON P., DOENECKE, D., KOOLMAN, J., 2005: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. Auflage, Thieme, Stuttgart.
- KASTNER, H., 1909: *Das Wildwerden des Malzbieres*. – Wochenschrift für Brauerei 26, S. 169-170.

- KESSLER, H. G., 1996: *Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik – Molkereitechnologie*, 4. Auflage, A. Kessler, München.
- KÖTZ, J., LINOW, K.-J., PHILLIP, B., HU, L. P., VOGL, O., 1986: *Effects of Charge Density and Structure of Sidechain Branching on the Composition of Polyanion-Polycation Complexes: Poly(Alkylene Oxide)Ionomers*. XV. – *Polymer* 27, Nr. 10, S. 1574-1580.
- KOHLRAUSCH, F., 1968a: *Praktische Physik*, Band 2, 22. Auflage, Teubner, Stuttgart.
- KOHLRAUSCH, F., 1968b: *Praktische Physik*, Band 3, 22. Auflage, Teubner, Stuttgart.
- KOHLRAUSCH, F., 1996: *Praktische Physik*, Band 3, 24. Auflage, Teubner, Stuttgart..
- KOLASINSKI, K. W., 2008: *Surface Science: Foundations of Catalysis and Nanoscience*, 2. Auflage, John Wiley & Sons, Chichester.
- KRETSCHMER, H., 1982: *Die Tannoide im Brauprozes*. – *Brauwelt* 16, S. 676-683.
- KRUYT, H. R. (Hrsg.), 1952: *Colloid Science*, Elsevier, New York.
- KÜHBECK, F., BACK, W., KROTTENTHALER, M., KURZ, T., 2007: *Particle size distribution in wort during large scale brewhouse operations*. – *Am. Institute of Chemical Engineers* 53, Nr. 5, S. 1376-1386.
- KUNERT, M.; SACHER, B., BACK, W., 2001: *Ergebnisse einer Umfrage in deutschen Brauereien zum Thema "Gushing"*. – *Brauwelt* 141, S. 350-362.
- KUNZE, W., 2011: *Technologie Brauer und Mälzer*, 10. Auflage, VLB, Berlin.
- KUSCHE, M., 2005: *Kolloidale Trübungen in untergärigen Bieren – Entstehung, Vorhersage und Stabilisierungsmaßnahmen*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Dissertation.
- KUSCHE, M. und GEIGER, E., 2007: *Kinetics of haze formation in beer – turbidity and flavan-3-ols*. – *BrewingScience* 60, Nr. 1/2, S. 38-47.
- KYUSHU INSTITUTE OF TECHNOLOGY (KIT), 2006: *BioInfo Bank. Biomolecules Gallery*. URL: <http://gibk26.bse.kyutech.ac.jp/jouhou/image/gallery.html>, letzter Zugriff am 29.08.2006.
- LAGALY, G., 1984: *Energetische Wechselwirkungen in Dispersionen und Emulsionen*. – In: Asche, H., Essig, D., Schmidt, P. C. (Hrsg.): *Technologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, S. 31-61.
- LATSCHA, H. P. und KLEIN, H. A., 1995: *Analytische Chemie*, 3. Auflage, Springer, Berlin.
- LEATHER, R. V., DALE, C. J., MORSON, B. T., 1997: *Characterization of beer particle charges and the role of particle charge in beer processing*. – *J. Inst. Brew.* 103, S. 337-380.
- LEIPER, K. A., STEWART, G. G., MCKEOWN, I. P., 2003a: *Beer polypeptides and silica gel. Part I. Polypeptides involved in haze formation*. – *Journal of the Institute of Brewing* 109, Nr. 1, S. 57-72.
- LEIPER, K. A., STEWART, G. G., MCKEOWN, I. P., 2003b: *Beer polypeptides and silica gel. Part II. Polypeptides involved in foam formation*. – *Journal of the Institute of Brewing* 109, Nr. 1, S. 73-79.

- LEIPER, K. A., STEWART, G. G., MCKEOWN, I. P., NOCK, T., THOMPSON, M. J., 2005: *Optimising beer stabilisation by the selective removal of tannoids and sensitive proteins.* – Journal of the Institute of Brewing 111, Nr. 2, S. 118-127.
- LEIPER, K. A. und MIEDL, M., 2009: *Colloidal stability of beer.* – In: Bamforth, C. W. (Hrsg.): *Beer: A Quality Perspective*, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam - New York.
- LI, D., 2004: *Electrokinetics in microfluidics.* – In: Hubbard, A. (Hrsg.): *Interface Science and Technology 2*, Academic Press, New York.
- LÖFFLER, G., PETRIDES, P. E., HEINRICH, P. C. (Hrsg.), 2007: *Biochemie und Pathobiochemie*, 8. Auflage, Springer, Berlin.
- LUCK, G., LIAO, H., MURRAY, N. J., GRIMMER, H. R., WARMINSKI, E. E., WILLIAMSON, M. P., LILLEY, T. H., HASLAM, E., 1994: *Polyphenols, astringency and proline-rich proteins.* – *Phytochemistry* 37, Nr. 2, S. 357-371.
- LUDWIG, W., GRONEICK, E., KRÜGER, E., 1986: *Ein Schnellforciertest zur Vorhersage der kolloidalen Stabilität.* – *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, Heft 2, S. 76-79.
- LUSTIG, S., 1994: *Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess*, Technische Universität München, Fakultät für Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Dissertation.
- LYKLEMA, J., 1999a: *Elektrische Doppelschichten: Elektrostatik und Elektrodynamik.* – *Chem.-Ing.-Tech.* 71, Nr. 12, S. 1364-1369.
- LYKLEMA, J., 1999b: *Fundamentals of Interface and Colloid Science.* – Academic Press, London, S. 456.
- MARSHALL, T. und WILLIAMS, K. M., 1987: *High resolution two-dimensional electrophoresis of the proteins and macromolecular constituents of beer and wine.* – *Electrophoresis* 8, S. 493-495.
- MATISSEK, R., STEINER, G., FISCHER, M., 2009: *Lebensmittelanalytik*, 4. Auflage, Springer, Berlin.
- MCMURROUGH, I. und HENNIGAN, G. P., 1984: *Tanning properties of flavanols in barley and hops measured by reaction with cinchonine sulphate in relation to haze formation in beer.* – *Journal of the Institute of Brewing* 90, S. 24-32.
- MCMURROUGH, I. und BAERT, T., 1994: *Identification of proanthocyanidins in beer and their direct measurement with a dual electrode electrochemical detector.* – *Journal of the Institute of Brewing* 100, S. 409-416.
- MCMURROUGH, I. und O'ROURKE, T., 1997: *New insights into the mechanism of achieving colloidal stability.* – *MBA Technical Quarterly* 34, S. 271-277.
- MCMURROUGH, I., MADIGAN, D., KELLY, R., O'ROURKE, T., 1999: *Haze formation. Shelflife prediction for Lager beer.* – *Food Technology* 53, Nr. 1, S. 58-62.

- MÉLOTTE, L., 2008: *Measurements of Beer Colloidal Stability*. XIIIth J. De Clerck Chair, Sept. 2008, URL: <http://www.uclouvain.be/cps/ucl/doc/inbr/documents/DeClerckChairMelotte.pdf>, letzter Zugriff am 05.11.2011.
- METTLER TOLEDO, 2000: *MP220 basic and MP/225 general purpose pH bench meter*, 02/2000 (Betriebsanleitung Rev. B, 2/00), Firmenschrift.
- METTLER TOLEDO, 2004: *Electrodes in motion – powered by Seven*. 12/2004 (ME-51724332A). Firmenschrift.
- MICHAELS, A. S., MIR, L., SCHNEIDER, N. S., 1965: *A Conductometric Study of Polycation-Polyanion Reactions in Dilute Aqueous Solution*. – Journal of Physical Chemistry 69, S. 1447.
- MIEDANER, H. (Hrsg.), 2002: *Brautechnische Analysenmethoden. Band II. Methodensammlung der Mitteleuropäischen Analysenkommission (MEBAK)*, 4. Auflage, MEBAK, Freising.
- MOHAN, S. B., SMITH, L., KEMP, W. und LYDDIATT, A., 1992: *An immunological analysis of beer foam*. – Journal of the Institute of Brewing 98, S. 187-192.
- MÜLLER, A., 2011: *Ausgewählte Aspekte zur Machbarkeit der Implementierung der Ladungstitrationsmethode in die Brauereianalytik zur Vorhersage der kolloidalen Stabilität*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Diplomarbeit.
- MÜLLER, R. H., 1996: *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- MURRAY, N. J., WILLIAMSON, M. P., LILLEY, T. H., HASLAM, E., 1994: *Study of the interaction between salivary proline-rich proteins and a polyphenol by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy*. – European Journal of Biochemistry 219, Nr. 37, S. 923-935.
- MUSSCHE, R. A., 1997: *Treatment of the protein fraction with tannins, enzymes or silicagels*. – Cerevisia 22, Nr. 2, 44-57.
- MUSSCHE, R. A. und DE PAUW, C., 1999: *Total stabilisation of beer in a single operation*. – Journal of the Institute of Brewing 105, Nr. 6, S. 386-391.
- NARZISS, L. und RÖTTGER, W., 1974: *Über die Veränderung der Eiweißfraktionen während des Mälzungs- und Brauprozesses*. – Brauwelt 114, Nr. 27/28, S. 570-579.
- NARZISS, L., 1992: *Die Bierbrauerei. Band 2. Die Technologie der Würzebereitung*, 7. Auflage, Enke, Stuttgart.
- NARZISS, L., 1994: *Chemisch-physikalische Stabilität des Bieres*. – Brauwelt 44, S. 2337-2338.
- NARZISS, L., 2004: *Abriss der Bierbrauerei*, 7. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- NARZISS, L. und BACK, W., 2009: *Die Bierbrauerei. Band 2. Die Technologie der Würzebereitung*, 8. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- NELSON, D. L. und COX, M. M., 2009: *Lehninger Biochemie*, 3. Auflage, Springer, Berlin.

- OHM, G. S., 1827: *Die galvanische Kette, mathematisch bearbeitet*, T. H. Riemann, Berlin.
- O'REILLY, J. P., 1994: *The use and function of PVPP in beer stabilisation*. – *Brewers' Guardian*, September, S. 32-36.
- O'ROURKE, T., 1994: *The requirements of beer stabilization*. – *Brewers' Guardian*, August, S. 30-33.
- OESTERLE, G., 1990: *Leitfähigkeitsmessung*, R. Oldenburg, München.
- OSTERHOLD, M. und SCHIMMELFENNIG, K., 1992: *Bestimmung der Oberflächenladung von Pigmenten und Additiven*. – *farbe + lack* 98, Nr. 11, S. 841-844.
- OUTTRUP, H., 1989: *Haze active peptides in beer*. – In: *Proceedings of the 22<sup>nd</sup> EBC Congress*, Zürich, European Brewery Convention.
- OUTTRUP, H., FOGH, R., SCHAUMBURG, K., 1987: *The interaction between proanthocyanidins and peptides*. – In: *Proceedings of the 21<sup>st</sup> EBC Congress*, Madrid, European Brewery Convention.
- PAPP, A., 2000: *Erarbeitung von Beurteilungskriterien zur Vorhersage der Stabilisierbarkeit und der chemisch-physikalischen Stabilität im unfiltrierten Bier*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Dissertation.
- PARTICLE METRIX, 2004: *Zetapotential - Bestimmung mit Hilfe der Elektrophorese-Methode*. Stand: März 04, URL: [http://www.particle-metrix.de/fileadmin/pdf\\_technologien/Zetapotential\\_Elektrophorese\\_07.pdf](http://www.particle-metrix.de/fileadmin/pdf_technologien/Zetapotential_Elektrophorese_07.pdf), letzter Zugriff am 05.11.2011, Firmenschrift.
- PARTICLE METRIX, 2007: *StabiSizer<sup>®</sup> - Ladungstitration & Nano-Partikelgrößenverteilung*. URL: [http://www.particle-metrix.de/fileadmin/pdf/Stabisizer\\_Mar\\_07\\_de.pdf](http://www.particle-metrix.de/fileadmin/pdf/Stabisizer_Mar_07_de.pdf). März 2007, letzter Zugriff am 07.11.2011, Firmenschrift.
- PATTON, P. A. und LEE, D. T., 1993: *Charge analyses: powerful tools in wet-end optimization*. – *Tappi Journal* 76, S. 107-115.
- PELLAUD, J., 2002: *Gushing: State of the Art*. – *Cerevisia* 27, S. 189-205.
- PFENNINGER, H., 1987: *Die kolloidale Stabilität – ein wichtiges Qualitätskriterium von Bier*. – *Brauerei-Rundschau* 98, Nr. 7, S. 129-152.
- PFENNINGER, H. (Hrsg.), 1996: *Brautechnische Analysenmethoden. Band III. Methodensammlung der Mitteleuropäischen Analysenkommission (MEBAK)*, MEBAK, Freising.
- PHILIPP, B., DAWYDOFF, W., LINOW, K. J., 1982: *Poly-Electrolyte Complexes*. – *Zeitschrift für Chemie* 22, S. 1-13.
- PLANK, J. und LERF, A., 2010: *Nanostrukturierte Materialien. Folie 01-34*. Lehrstuhl für Bauchemie. Technische Universität München, München. URL: <http://www.bauchemie.ch.tum.de/master-framework/?p=Nano&i=90&m=1&lang=de>, letzter Zugriff am 07.11.2011.

- PLANZT, P. E., 2006: *Nanotracs ULTRA - Measurement of Low Concentration, Very Small Sized Particulate Systems*. Application Note SL-AN-18 Rev A. Microtrac Inc. Particle Size Measuring Instrumentation, Stand: 04.04.2006, URL: <http://www.microtrac.com/LinkClick.aspx?fileticket=VystXBxbsO0%3D&tabid=105>, letzter Zugriff am 05.11.2011.
- PLATIKANOV, D. und EXEROWA, D. (Hrsg.), 2009: *Highlights in Colloid Science*, Wiley-VCH, Weinheim.
- PÖSCHL, M., 2008: *Die kolloidale Stabilität untergäriger Biere – Einflussmöglichkeiten und Vorhersagbarkeit*, Technische Universität München, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Dissertation.
- POWER, J. und RYDER, D., 1989-1991: *Some principal points of colloidal stabilization*. – *Brewing Room Book*, Pauls Malts, S. 55-65.
- RATH, F., 2009: *Gushing in 2008 - trialling the "Modified Carlsberg test"*. – *Brauwelt International* 27, S. 26-29.
- RASKE, W., 2000: *Cationic Chargers in Beer - A Method to Predict the Colloidal Stability*. Singapore Exhibition, OPTO-EMS, Dannstadt, Stand: 28.06.2006, URL: <http://www.opto-ems.de/english/Reports/beer/E-Cationic%20Charges%20in%20Beer.pdf>, letzter Zugriff am 05.11.2011.
- REITLER, W., 1990: *Konduktive Erwärmung von Lebensmitteln*, Technische Universität München, Institut für Energietechnik, Dissertation.
- ROBINSON, L. H., HOME, S., KAUKOVIRTA-NORJA, A., VILPOLA, A., ALDRED, P., FORD, C. M., HEALY, P., GIBSON, C. E., EVANS, D. E., 2007: *Improving beer haze stability by investigation the interaction between malt protein quality and brewing conditions*. – In: *Proceedings of the 31<sup>st</sup> EBC Congress, Venice, European Brewery Convention*.
- SCHEMPF, W. und TRAU, H. T., 1981: *Die Polyelektrolyttitration-Methode, Aussage, Einschränkungen*. – *Wochenbl. Papierfabr.* 19, S. 726-732.
- SCHEMPF, W., HESS, P., KRAUSE, T., 1982: *Polyelectrolytic titration - an alternative to zeta-potential measurements*. – *Papier* 36, S. 41-46.
- SCHNEIDER, J. und RASKE, W., 2000: *Neue Schnellbestimmung der Trübung*. – *Brauwelt* 42/43, S. 1694-1695.
- SCHROER, M., 2008: *Röntgenkleinwinkelstreuung an dem Protein Staphylokokken Nuklease und dessen Mutanten*, Technische Universität Dortmund, Fakultät Physik, Diplomarbeit.
- SCHUHMAN, R., 1995: *Physikalische Stabilität parenteraler Fettemulsionen – Entwicklung eines Untersuchungsschemas unter besonderem Aspekt analytischer Möglichkeiten*, Freie Universität Berlin, Pharmazeutisches Institut, Dissertation.
- SCHUMACHER, T., 2002: *Gushing in Fruchtsaftschorlen – Ursachen und Gegenmaßnahmen*. – *Flüssiges Obst* 69, S. 304-310.
- SCHUR, F., 1979: *Bierstabilisierung*. – *Brauerei-Rundschau* 90, Nr. 1/2, S. 5-12.



- SCHUR, F., 1980a: *Stand der Erkenntnisse auf dem Gebiet der Bierstabilisierung 2. Teil.* – Brauerei- Journal, Heft 18, S. 520-522.
- SCHUR, F., 1980b: *Stand der Erkenntnisse auf dem Gebiet der Bierstabilisierung 3. Teil.* – Brauerei- Journal, Heft 19, S. 578-580.
- SCHWEDT, G., 2008: *Analytische Chemie – Grundlagen. Methoden und Praxis*, 2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- SCHWISTER, K. (Hrsg.), 2003: *Taschenbuch der Umwelttechnik*, Carl Hanser, München.
- SHAW, D. J., 1980: *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, 3. Auflage, Butterworths, London.
- SIEBERT, K. J., CARRASCO, A., LYNN, P. Y., 1996: *Formation of protein-polyphenol haze in beverages.* – Journal of Agricultural and Food Chemistry 44, S. 1997-2005.
- SIEBERT, K. J. und LYNN, P. Y., 1997: *Mechanisms of beer colloidal stabilization.* – Journal of the American Society of Brewing Chemists 55, Nr. 2, S. 73-78.
- SIEBERT, K. J., 1999a: *Protein-Polyphenol haze in beverages.* – Food Technology 53, Nr. 1, S. 54-57.
- SIEBERT, K. J., 1999b: *Effects of protein-polyphenol interactions on beverage haze, stabilization, and analysis.* – Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, Nr. 2, S. 353-362.
- SIEBERT, K. J. und LYNN, P. Y., 2003: *Effects of alcohol and pH on protein-polyphenol haze intensity and particle size.* – Journal of the American Society of Brewing Chemists 61, Nr. 2, S. 88-98.
- SIEBERT, K. J., 2004: *pH and beer colloidal stability.* – Cerevisia 30, Nr. 3, S. 189-194.
- SIEBERT, K. J., 2006: *Haze formation in beverages.* – LWT (published by Elsevier Ltd.) 39, S. 987-994.
- SIGRIST-PHOTOMETER AG, 2000: *Betriebsanleitung LabScat Sigrist Labortrübungsmessgerät.* 01.08.2000 (Dokumentennummer 10140D Version 2). Firmenschrift.
- SMELLER, L., 2002: *Pressure-temperature phase diagram of biomolecules.* – Biochim. Biophys. Acta 1595, S. 11-29.
- SMOLUCHOWSKI, M., 1921: *Elektrische Endosmose und Strömungsströme.* – In: Graetz, L.: *Handbuch der Elektrizität und des Magnetismus*, Band II, Barth-Verlag, Leipzig, S. 366-427.
- SONNTAG, H., 1977: *Lehrbuch der Kolloidwissenschaft*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- SOUCI, S. W., FACHMANN, W., KRAUT, H., 2008: *Die Zusammensetzung der Lebensmittel – Nährwert Tabellen*, 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- SPEERS, R. A., JIN, Y.-L., PAULSON, A. T., STEWART, R. J., 2003: *Effects of  $\beta$ -Glucan, shearing and environmental factors on the turbidity of wort and beer.* – Journal of the Institute of Brewing 109, Nr. 3, S. 236-244.

- STATTER, A. und EISENSCHMID, K., 1993: *Erfahrungen mit Meß- und Regelanlagen im Kreislauf der Altpapieraufbereitung*. – Wochenblatt für Papierfabrikation 23/24, S. 1018-1023.
- STEINER, E., GASTL, M., BECKER, T., 2011: *Die Identifizierung von Trübungen in Bier (I)*. – Brauwelt 151, Nr. 5/6, S. 161-166.
- STERN, O., 1924: *Zur Theorie der elektrischen Doppelschicht*. – Z. Elektrochem. 30, S. 508-516.
- STEWART, G. G., 2004: *The chemistry of beer instability*. – Journal of Chemical Education 81, Nr. 7, S. 963-968.
- TERNES, W., 2008: *Naturwissenschaftliche Grundlage der Lebensmittelzubereitung*, 3. Auflage, Behr, Hamburg.
- TERTSCH, K., 1993: *Untersuchungen elektrokinetischer Eigenschaften von Polymerkolloiden mit Hilfe der Laser-Lichtstreu-Elektrophorese*, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen (RWTH), Dissertation
- THUM, WERNER (Hrsg.), 2008: *pH-Wert. Leitfähigkeiten von Salzlösungen*. chemie-master.de, Ablar-Werdorf, URL: <http://www.chemie-master.de/FrameHandler.php?loc=http://www.chemie-master.de/lex/begriffe/106.html>, letzter Zugriff am 20.11.2008. private Homepage.
- TIESCH, D., 2008: *Einfluss der Kurzzeiterhitzung auf die Trübungsstabilität von Weißbier*, Technische Universität München, Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, Diplomarbeit.
- TITZE, J., ILBERG, V., FRIESS, A., JACOB, F., PARLAR, H., 2007a: *Enhanced long term stability measurement using a charge analyzing system*. – In: Proceedings of the 31<sup>th</sup> EBC Congress, Venice, European Brewery Convention, S. 718-735.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., FRIESS, A., PARLAR, H., 2007b: *Performance comparison of calibrated Fourier transformation infrared spectroscopy (FTIR) and automated beer analyzer in quality control studies*. – BrewingScience 60, Nr. 1/2, S. 21-31.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., PARLAR, H., 2008a: *Einsatzmöglichkeiten der Ladungstitrationsmethode zur Beurteilung der chemisch-physikalischen Bierstabilität, Teil 1*. – Brauwelt 148, Nr. 18/19, S. 506-509.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., PARLAR, H., 2008b: *Einsatzmöglichkeiten der Ladungstitrationsmethode zur Beurteilung der chemisch-physikalischen Bierstabilität, Teil 2*. – Brauwelt 148, Nr. 23, S. 624-627.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., FRIESS, A., PARLAR, H., 2008c: *The use of Fourier transformation infrared spectroscopy (FTIR) for the determination of malt and wort parameters*. – In: Proceedings of the World Brewing Congress 2008, Honolulu, Hawaii, Master Brewers Association of the Americas and the American Society of Brewing Chemists, P-84-a.

- TITZE, J. und VOGELPOHL, H., 2009: *Mehr Wettbewerb - Zunahme der Vielfalt, Neue EU-Richtlinie zur Festlegung von Nennfüllmengen in Fertigpackungen.* – BrauIndustrie 94, Nr. 2, S. 26-30.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., FRIESS, A., PARLAR, H., 2009a: *Efficient and quantitative measurement of malt and wort parameters using FTIR.* – Journal of the American Society of Brewing Chemists 67, Nr. 4, S. 193-199.
- TITZE, J., ILBERG, V., FRIESS, A., JACOB, F., PARLAR, H., 2009b: *New method for characterizing high-molecular protein fractions in wort using a charge analyzing system.* – 32<sup>nd</sup> EBC Congress Hamburg. P011, URL: <http://www.ebc2009hamburg.org/pdf/EBC%202009%20Hamburg%20Posters.pdf>, letzter Zugriff am 05.11.2011.
- TITZE, J., 2010: *Qualitätssiegel oder Medaille? – Güte und Sicherheit von Produkten richtig kommunizieren.* – Getränkeindustrie 64, Nr. 10, S. 52-55.
- TITZE, J. und ILBERG, V., 2010: *Ladungstitration zur Charakterisierung hoch-molekularer Stickstoffverbindungen während des Würzekochens.* – Brauwelt 150, Nr. 15/16, S. 456-459.
- TITZE, J., ILBERG, V., JACOB, F., PARLAR, H., 2010a: *Flash pasteurization – A significant influence on the long-term stability of beer.* – In: Program Book of the 123<sup>rd</sup> MBAA Anniversary Convention/Brewing Summit 2010, Providence, Rhode Island, Master Brewer's Association of the Americas, P-66.
- TITZE, J., CHRISTIAN, M., ILBERG, V., JACOB, F., 2010b: *Particle analysis – A combined method to analyze the colloidal characteristics of particles.* – BrewingScience 63, Nr. 5/6, S. 62-71.
- TITZE, J., CHRISTIAN, M., JACOB, F., PARLAR, H., ILBERG, V., 2010c: *The Possibilities of Particle Analysis Demonstrated by the Measurement of the Colloidal Stability of Filtered Beer.* – Journal of the Institute of Brewing 116, Nr. 4, S. 405-412.
- TKA WASSERAUFBEREITUNGSSYSTEME GMBH, 2007: *Mit Sicherheit clean! - TKA GenPure.* 11/2007 (GP-TOC01de 2000 GT). Firmenschrift.
- VERSUCHS- UND LEHRANSTALT FÜR BRAUEREI IN BERLIN (VLB), 2007: *Durchschnittswerte bei Bieranalysen.* – Brauerei Forum 22, Nr. 9, S. 19.
- VERSUCHS- UND LEHRANSTALT FÜR BRAUEREI IN BERLIN (VLB), 2008: *Durchschnittswerte bei Bieranalysen.* – Brauerei Forum 23, Nr. 3, S. 21.
- VERWEY, E. J. W. und OVERBEEK, J. T. G., 1948: *Theory of Stability of Lyophobic Colloids,* Elsevier Publ. Comp., Amsterdam - New York.
- VOSTROWSKY, O., 2005: *Chemie der Naturstoffe – Ein Seminar für Chemiker und Biologen.* Institut für Organische Chemie II. Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen. URL: <http://www.chemie.uni-erlangen.de/vostrowsky/natstoff/11Proteine.pdf>, letzter Zugriff am 05.11.2011.

- WACKERBAUER, K. und ANGER, H.-M., 1984: *Bierstabilisierung unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole*. – Monatschrift für Brauwissenschaft 37, Nr. 4, S. 153-161.
- WALKER, C. J., BOLSHAW, L., CHANDRA, S., 2001: *Healthy drinks – Beer and cider antioxidants*. – In: Proceedings of the 28<sup>th</sup> EBC Congress, Budapest, European Brewery Convention.
- WEDLER, G., 2004: *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 5. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim.
- WEIDENEDER, A., 1992: *Untersuchungen zum malzverursachten Wildwerden (Gushing) des Bieres*, Technische Universität München, Dissertation.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 1995: *Standard-Leitfähigkeitsmeßzelle/Standard-conductivity cell – TetraCon<sup>®</sup> 325*. 01/1995 (Betriebsanleitung BA55301/01.95/Pap/TetraCon325-2). Firmenschrift.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 2001: *Multi 340i – Universal-Taschenmessgerät*. 06/2001 (Betriebsanleitung ba52319defs01), Firmenschrift.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 2008a: *Messtechnik für Labor & Umwelt*. Ausgabe Mai 2008, Firmenschrift.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 2008b: *Leitfähigkeits-Fibel*. URL: [http://www.omnilab.de/hpb/export/1/COND\\_D.PDF](http://www.omnilab.de/hpb/export/1/COND_D.PDF), letzter Zugriff am 08.12.2008. Firmenschrift.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 2008c: *pH-Fibel*. URL: [http://www.omnilab.de/hpb/export/1/PH\\_D.PDF](http://www.omnilab.de/hpb/export/1/PH_D.PDF), letzter Zugriff am 09.12.2008. Firmenschrift.
- WISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHE WERKSTÄTTEN (WTW), 2008/2009: *Messtechnik für Labor & Umwelt*. Kapitel: *pH-Meter*. Ausgabe 2008/2009, Firmenschrift.
- WOLSKE, W., 1991: *Surface treatment and rheological properties of alumina suspensions*. – Ceramic forum international 68, Nr. 10/11, S. 513-519.
- ZEPF, M., 1998: *Gushing-Ursachenfindung anhand von Modellversuchen*, Technische Universität München, Fakultät Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaft, Dissertation.

## 8 Anhang

Tabelle 8.1. Elektrische Leitfähigkeit  $\kappa$  wässriger Lösungen bei 20 °C in  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  in Abhängigkeit des Massengehalts  $p$  der Lösung als Salz (Salze sind wasserfrei gerechnet.) [KOHLEAUSCH 1968b].

$p$ [%]	KCl	NH <sub>4</sub> Cl	NaCl	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	ZnSO <sub>4</sub>	CdSO <sub>4</sub>
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	71,9	95,4	70,1	47,8	27,5	20,0	15,2
10	141,0	184,2	126,3	89,5	43,4	33,5	25,7
15	209,2	267,4	164,7 <sup>37</sup>		50,4	43,4	33,8
20	276,6	347,3	188,0 <sup>37</sup>		50,2	49,3	40,5
25		414,9	204,1		43,9	50,5	44,9
30			223,2			46,8	45,7
35							44,5

$p$ [%]	CuSO <sub>4</sub>	AgNO <sub>3</sub>	KOH	NaOH	HCl	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	19,7	26,7	178	203	407	266	214
10	33,4	49,7	327	322	650	474	402
15	44,0	71,2	442 <sup>37</sup>	366	768	630	558
20		90,9	519	348	785	731	672
25		110,2	563	292	745	791	739
30		129,1	566	226	682	807	764
35		146,4	534	173	609	791	749
40		162,9	474	136	530	755	709
50		193,2		97		651	562
60		218,9				529	389
70						408	227
80						274	119

<sup>37</sup>Die Werte sind mittels Näherungsfunktion berechnet.

Tabelle 8.2. Äquivalentleitfähigkeiten  $\Lambda_{\text{eq}}$  verschiedener wässriger Elektrolytlösungen bei 25 °C in Abhängigkeit der Äquivalentkonzentration  $c_{\text{eq}}$  [CRC 1968/1969].

$\Lambda_{\text{eq}} [\text{S}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^2]$						
$c_{\text{eq}} [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$	HCl aq	NaOH aq	KCl aq	NaCl aq	CuSO <sub>4</sub> aq	CH <sub>3</sub> COOH aq
$(n_{\text{eq}})$	(1)	(1)	(1)	(1)	(2)	(1)
0	426,16	247,8	149,86	126,45	133,6	390,57
0,0001114						127,71
0,0005	422,74	245,6	147,81	124,50	121,6	
0,001	412,36	244,7	146,95	123,74	115,3	
0,001028						48,13
0,005	415,80	240,8	143,35	120,65	94,1	
0,005912						20,96
0,01	412,00	238,0	141,27	118,51	83,1	
0,0125						
0,01283						14,37
0,02	407,24		138,34	115,51	72,2	11,56
0,05	399,09		133,37	111,06	59,1	7,36
0,1	391,32		128,96	106,74	50,6	5,20

Tabelle 8.3. Technische Daten des CAS Partikelladungsmesssystems, Typ Charge Analyzing System der AFG Analytic GmbH, Leipzig [AFG 2008].

CAS Partikelladungsmesssystems (Charge Analyzing System)		
Partikelladungsdetektor		
Messbereich/Auflösung	–2.000 mV bis +2.000 mV	Potential-Bereich
	1 mV	Auflösung Potential
	0 µl bis 25 ml	Titrationvolumen-Bereich
	1 µl	Auflösung Verbrauch
	0 bis 14	pH-Bereich
	0,01	Auflösung pH
Probe	11 mS·cm <sup>-1</sup>	maximale Leitfähigkeit der Probe Durch selektive Probenvorbereitung sind Proben mit wesentlich höherer Leitfähigkeit messbar.
	10 ml	minimales Probevolumen
	25 ml	maximales Probevolumen
Dosiersystem	pH 0 bis 14	wählbares Endkriterium
	–2.000 bis +2.000 mV	wählbares Endkriterium
	0 ml bis 25 ml anionischer oder kationischer Verbrauch	wählbares Endkriterium
	0 ml bis 25 ml saurer oder basischer Verbrauch	wählbares Endkriterium
	manuelles Messende durch Benutzer	wählbares Endkriterium

Tabelle 8.4. Technische Daten des Partikelladungsdetektors, Typ StabiSizer® der Particle Metrix GmbH, Meerbusch [PARTICLE METRIX 2007].

<b>StabiSizer® Ladungstitrations-System</b>		
<b>Partikelladungsdetektor</b>		
Messbereich/Auflösung	-2.400 mV bis +2.400 mV	Potential-Bereich
	1 mV	Auflösung Potential
	0 µl bis 25 ml	Titrationvolumen-Bereich
	1 µl	Auflösung Verbrauch
	2 bis 12	pH-Bereich
	0,01	Auflösung pH
Probe	wässrige, makromolekulare Lösungen, Dispersionen	Probenart
	50 µm	maximale Partikelgröße
	0,1 Gew./Vol.-% bis 10 Gew./Vol.-%	Probenkonzentration
	10 ml	minimales Probevolumen
	25 ml	maximales Probevolumen
Dosiersystem	pH 2 bis 12	wählbares Endkriterium
	-2.000 bis +2.000 mV	wählbares Endkriterium
	0 bis 25 ml anionischer oder kationischer Verbrauch	wählbares Endkriterium
	0 bis 25 ml saurer oder basischer Verbrauch	wählbares Endkriterium
	manuelles Messende durch Benutzer	wählbares Endkriterium
	fixiert, dynamisch	Titrimationsmodi

Tabelle 8.5. Technische Daten des Messumformers MPC 227 pH/Conductivity meter von Mettler-Toledo GmbH, Gießen (Deutschland) [METTLER TOLEDO 2000].

<b>MPC 227 pH/Conductivity meter</b>		
<b>Leitfähigkeitsmessung</b>		
Messbereich/Auflösung	0,00 bis 1.000 mS·cm <sup>-1</sup>	variabel
Genauigkeit	±1 digit	
	0 bis 200 mS·cm <sup>-1</sup>	±0,5 % des Messbereichs
	200 bis 1.000 mS·cm <sup>-1</sup>	±0,5 % des Messbereichs oder 0,15 Ω, je nachdem, welcher Wert größer ist
Temperaturkompensation	0,0 bis 80,0 °C (ATC)	wählbar durch den Temperaturkoeffizienten
Autokalibrierpunkte	Null und: 84 µS·cm <sup>-1</sup> , 1.413 µS·cm <sup>-1</sup> , 12,88 mS·cm <sup>-1</sup> , 80 mS·cm <sup>-1</sup>	
Referenztemperatur	20/25 °C	wählbar
Temperaturkoeffizient	0,0 bis 10,0 %/°C	wählbar
Temperaturbereiche des Geräts wählbar durch den Temperaturkoeffizienten	0,0 bis 2,0 %	= 0 bis 80 °C
	2,0 bis 3,0 %	= 0 bis 60 °C
	3,0 bis 4,0 %	= 0 bis 50 °C
	4,0 bis 7,0 %	= 0 bis 40 °C
Anzeige	LCD	

Tabelle 8.6. Technische Daten des Sensorelements InLab®730 von Mettler-Toledo GmbH, Gießen (Deutschland) [METTLER TOLEDO 2004].

<b>Leitfähigkeitselektrode</b>	<b>InLab®730</b>
Zellart	4 Graphite Poles
Zellkonstante	0,56 cm <sup>-1</sup>
Messbereich	0,01 bis 1.000 mS·cm <sup>-1</sup>
Temperaturbereich	0 bis 100 °C
Schaftmaterial	Epoxy, schwarz
Schaftlänge	120 mm
Schaftdurchmesser	12 mm
Aufbewahrungsmedium	Luft
<b>Thermistor</b>	<b>Integrierter NTC 30 kΩ</b>
Thermistorgehäuse	Graphit
Arbeitsbereich	0 bis +100 °C
Genauigkeit	±0,2 °C

Tabelle 8.7. Technische Daten des Messumformers Universal-Taschenmessgerät Multi 340i von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 2001, WTW 2008/2009].

<b>Multi 340i</b>		
<b>Leitfähigkeitsmessung</b>		
Messbereich/Auflösung	0 bis 1.999 μS·cm <sup>-1</sup>	1 μS·cm <sup>-1</sup>
	0,00 bis 19,99 mS·cm <sup>-1</sup>	0,01 mS·cm <sup>-1</sup>
	0,0 bis 199,9 mS·cm <sup>-1</sup>	0,1 mS·cm <sup>-1</sup>
	0 bis 500 mS·cm <sup>-1</sup>	1 mS·cm <sup>-1</sup>
Temperaturbereich/Auflösung	-0,5 bis +105,0 °C	0,1 °C
Genauigkeit	±1 digit	
	Nichtlineare Kompensation (nLF):	
	± 0,5 %	bei 0 bis 35 °C nach EN 27888 [DIN EN 27888 1993]
	± 0,5 %	bei 35 bis 50 °C erweiterte nLF-Funktion nach WTW-Messungen
Temperaturgenauigkeit	± 0,1 °C	
Referenztemperatur	20/25 °C	wählbar
Anzeige	LCD	
<b>pH-Messung</b>		
Messbereich/Auflösung	-2,000-bis +19,999 pH	
	-2,00 bis 19,99 pH	
Temperaturbereich/Auflösung	-5,0 bis +105,0 °C	0,1 °C
Korrekturfunktion	-20 bis +130 °C	manuell
Genauigkeit	±1 digit	
	± 0,01 pH	nach Kalibrierung
	± 0,003 pH	bei +15 bis +35 °C
Temperaturgenauigkeit	± 0,1 °C	



Tabelle 8.8. Technische Daten des Sensorelements Standard Leitfähigkeitsmesszelle TetraCon<sup>®</sup> 325 von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 1995, WTW 2008a].

<b>Leitfähigkeitselektrode</b>	<b>TetraCon<sup>®</sup> 325</b>	
Zellart	4-Graphit	
Zellkonstante	0,475 cm <sup>-1</sup>	±1,5 %
Messbereich	1 μS·cm <sup>-1</sup> bis 2 S·cm <sup>-1</sup>	
Temperaturbereich	0 bis 100 °C	
Schaftmaterial	Epoxy, schwarz	
Schaftlänge	120 mm	
Schaftdurchmesser	15,3 mm	
<b>Thermistor</b>	<b>Integrierter NTC (30 kΩ/25 °C)</b>	
Thermistorgehäuse	Graphit	
Arbeitsbereich	-5 bis +100 °C	
Genauigkeit	±0,2 °C	

Tabelle 8.9. Technische Daten des Sensorelements SenTix<sup>®</sup> 41-3 pH-Messkette von WTW GmbH & Co. KG, Weilheim (Deutschland) [WTW 2008a, WTW 2008/2009].

<b>pH-Einstabmesskette</b>	<b>SenTix<sup>®</sup> 41t</b>	
Messbereich	0 bis 14 pH	
Einsatzbereich Temperatur	0 bis 80 °C	
Bezugselektrolyt	Gel	
Innenpuffer	pH = 7,0	±0,25
Membranform	Zylindermembran	
Membranwiderstand	<1 GΩ	bei 25 °C
Diaphragma	Faser	
Schaftmaterial	Noryl	
Schaftlänge	120 mm	±1 mm
Schaftdurchmesser	12 mm	±0,3 mm
pH nach Kalibrierung	±0,01	
<b>Thermistor</b>	<b>Integrierter NTC (30 kΩ)</b>	
Genauigkeit	±0,1 °C	

Tabelle 8.10. Technische Daten des Sensorelements pH-Einstabmess EGA133/BNC (Sonderanfertigung) von Meinsberg GmbH, Leipzig (Deutschland) [AFG 2008].

<b>pH-Einstabmesskette</b>	<b>EGA133/BNC (Sonderanfertigung)</b>
Messbereich	0 bis 14 pH
Einsatzbereich Temperatur	-5 bis 80 °C
Bezugselektrolyt	Gel
Innenpuffer	pH = 7
Membranform	Zylindermembran
Diaphragma	Keramik
Schaftmaterial	PMMA
Schaftlänge	ca. 55 mm
Schaftdurchmesser	10 mm
pH nach Kalibrierung	±0,01
<b>Thermistor</b>	<b>Integrierter NTC (30 kΩ)</b>
Genauigkeit	±0,1 °C

Tabelle 8.11. Technische Daten des Labortrübungsmessgeräts LabScat von SIGRIST-PHOTOMETER AG, Ennetbürgen (Schweiz) [SIGRIST-PHOTOMETER AG 2000].

<b>Lab Scat SIGRIST Labortrübungsmessgerät</b>				
<b>Trübungsmessung</b>				
Messbereich/Auflösung	0 EBC bis 200 EBC	in Flaschen oder Küvetten		
	0 EBC bis 200 EBC	in Küvetten 25 mm (Option)		
	kleiner als ±1 %	vom Messwert +1 mEBC		
	max. 100 EBC	Farbtiefe der Probe (max. 50 EBC) + Trübung		
Messprinzip	90°/25°	Streulichtmessung		
Reproduzierbarkeit	Messbereich	90°	25°	
	0 EBC bis 2 EBC	±1 %	±1 %	vom Messwert +1 mEBC
	2 EBC bis 100 EBC	±2 %	±3 %	vom Messwert +2 mEBC
Temperaturgenauigkeit	kleiner als $-0,15 \% \cdot K^{-1}$	vom Messwert		
Umgebungstemperatur	0 °C bis 40 °C			
Flaschenfarbe	Braun, Grün, Weiß			

Tabelle 8.12. Analysenergebnisse einer Bierprobe im Langzeitalterungstest über einen Zeitraum vom 15.12.2006 bis 25.04.2007 [TITZE et al. 2008c, TITZE et al. 2009a].

Date	Stammwürze [Gew.-%]	Dichte ( $S_L$ 20/20)	Alkohol [Gew.-%]	Alkohol [Vol.-%]	schein. Extrakt [Gew.-%]	wirkl. Extrakt [Gew.-%]	schein. Vergärung [%]	wirkl. Vergärung [%]	Brennwert [kcal]	pH-Wert
15.12.	11,56	1,00817	3,96	5,05	2,08	3,92	82,76	67,31	43,60	4,34
15.12.	11,56	1,00813	3,96	5,05	2,07	3,91	82,8	67,36	43,57	4,33
18.12.	11,57	1,00817	3,97	5,05	2,09	3,92	82,72	67,28	43,63	4,33
18.12.	11,54	1,00820	3,96	5,04	2,09	3,92	82,68	67,27	43,58	4,34
20.12.	11,53	1,00816	3,95	5,04	2,07	3,91	82,55	67,25	43,51	4,37
20.12.	11,54	1,00818	3,95	5,03	2,08	3,92	82,77	67,27	43,51	4,36
21.12.	11,55	1,00810	3,97	5,05	2,06	3,90	82,85	67,38	43,50	4,35
21.12.	11,55	1,00815	3,97	5,05	2,08	3,91	82,79	67,35	43,54	4,38
05.01.	11,46	1,00825	3,94	5,01	2,09	3,91	82,74	67,24	43,31	4,34
05.01.	11,49	1,00823	3,95	5,03	2,09	3,91	82,79	67,24	43,38	4,35
11.01.	11,47	1,00823	3,94	5,02	2,09	3,90	82,75	67,27	43,32	4,35
11.01.	11,48	1,00818	3,95	5,03	2,08	3,90	82,83	67,35	43,37	4,35
08.02.	11,46	1,00824	3,93	5,00	2,09	3,90	82,75	67,23	43,25	4,36
08.02.	11,46	1,00821	3,93	5,01	2,08	3,90	82,81	67,28	43,22	4,35
09.02.	11,50	1,00821	3,96	5,04	2,10	3,91	82,87	67,30	43,43	4,36
09.02.	11,50	1,00824	3,95	5,03	2,10	3,91	82,83	67,25	43,40	4,36
15.02.	11,47	1,00821	3,94	5,01	2,09	3,90	82,68	67,21	43,30	4,34
15.02.	11,47	1,00823	3,94	5,01	2,09	3,91	82,64	67,2	43,29	4,33
21.03.	11,38	1,00813	3,9	4,97	2,04	3,85	82,96	67,58	42,90	4,36
21.03.	11,38	1,00812	3,9	4,97	2,03	3,84	83,03	67,6	42,92	4,34
23.04.	11,45	1,00824	3,92	4,99	2,09	3,90	82,62	67,22	43,20	4,33
23.04.	11,45	1,00821	3,92	5,00	2,08	3,89	82,67	67,28	43,23	4,30
25.04.	11,36	1,00821	3,88	4,95	2,07	3,87	82,54	67,22	42,87	4,39
25.04.	11,38	1,00819	3,89	4,96	2,07	3,87	82,66	67,29	42,91	4,37
MW	11,48	1,00819	3,93	5,01	2,07	3,89	82,75	67,30	43,32	4,34
$s_r$	0,062	0,00004	0,025	0,030	0,016	0,021	0,11	0,10	0,23	0,019
$s_r^*$	0,150	0,00001	0,100	-	0,020	-	-	-	-	0,020

\* Wiederholstandardabweichung nach MEBAK [MIEDANER 2002].

### Ausführung

- Anfangswerte (Blindwert) von 5 Flaschen bei +20 °C mittels Trübungsmessgerät messen
- Flaschen 24 h bei 40 °C bzw. 60 °C aufbewahren
- nach Abkühlung auf Zimmertemperatur 24 h bei 0 °C aufbewahren
- Trübung wie oben messen
- Warm-Kaltbehandlung solange wiederholen, bis eine Trübung von 2 EBC-Formazineinheiten bzw. eine Zunahme der Trübung um 2 EBC-Einheiten bezogen auf den Anfangswert bzw. visuell eine leichte Opaleszenz zu beobachten ist (Blindwert der Flaschen berücksichtigen)
- Haltbarkeit, ausgedrückt in Warmtage 40 °C bzw. 60 °C bis zum Auftreten einer Kälte-trübung von 2 EBC-Formazineinheiten bzw. einer leichten Opaleszenz ermitteln

Abbildung 8.1. Ausschnitt „Ausführung“ des Kapitels 2.15.2.1 Forciermethode der Brautechnischen Analysenmethode der MEBAK [MIEDANER 2002].

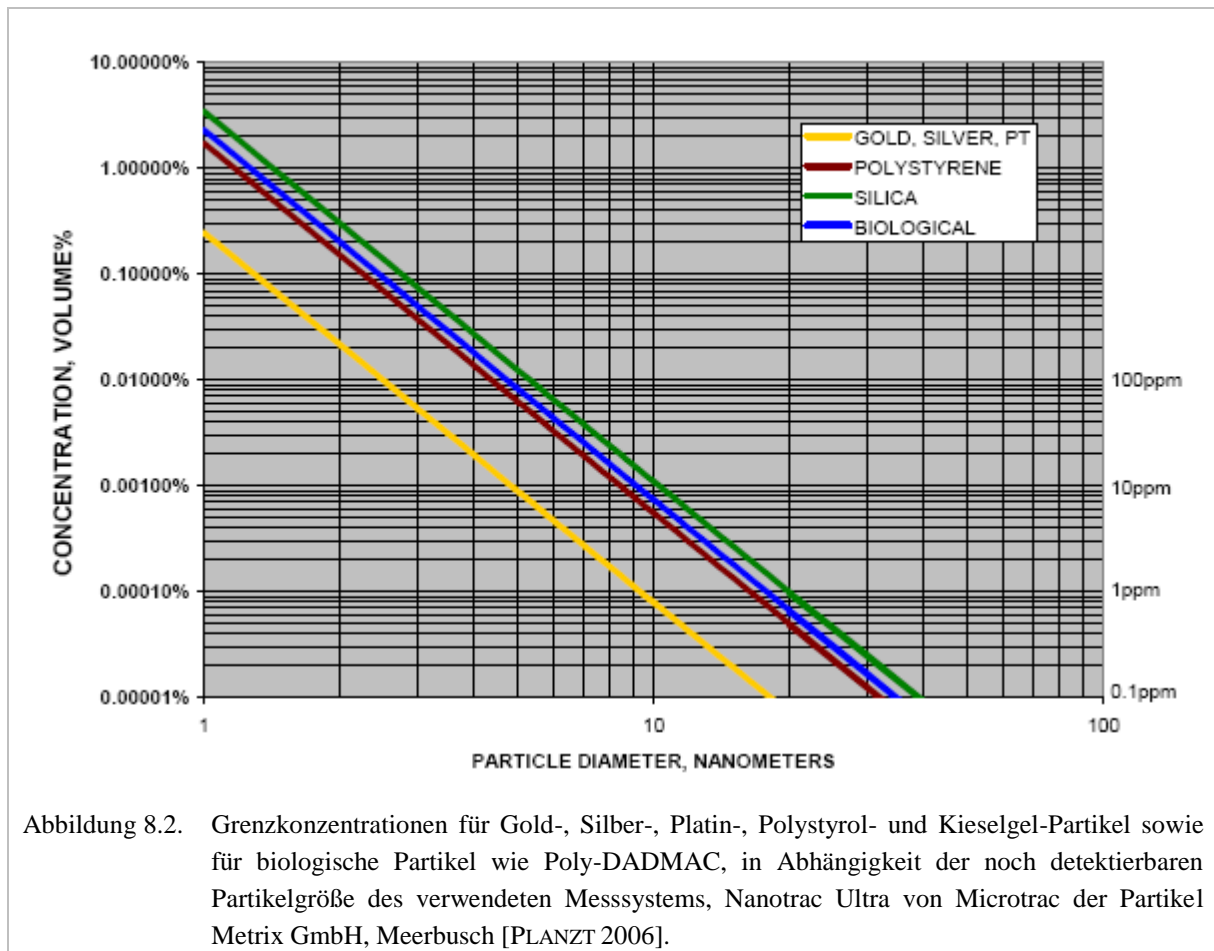


Abbildung 8.2. Grenzkonzentrationen für Gold-, Silber-, Platin-, Polystyrol- und Kieselgel-Partikel sowie für biologische Partikel wie Poly-DADMAC, in Abhängigkeit der noch detektierbaren Partikelgröße des verwendeten Messsystems, Nanotracs Ultra von Microtrac der Partikel Metrix GmbH, Meerbusch [PLANZT 2006].

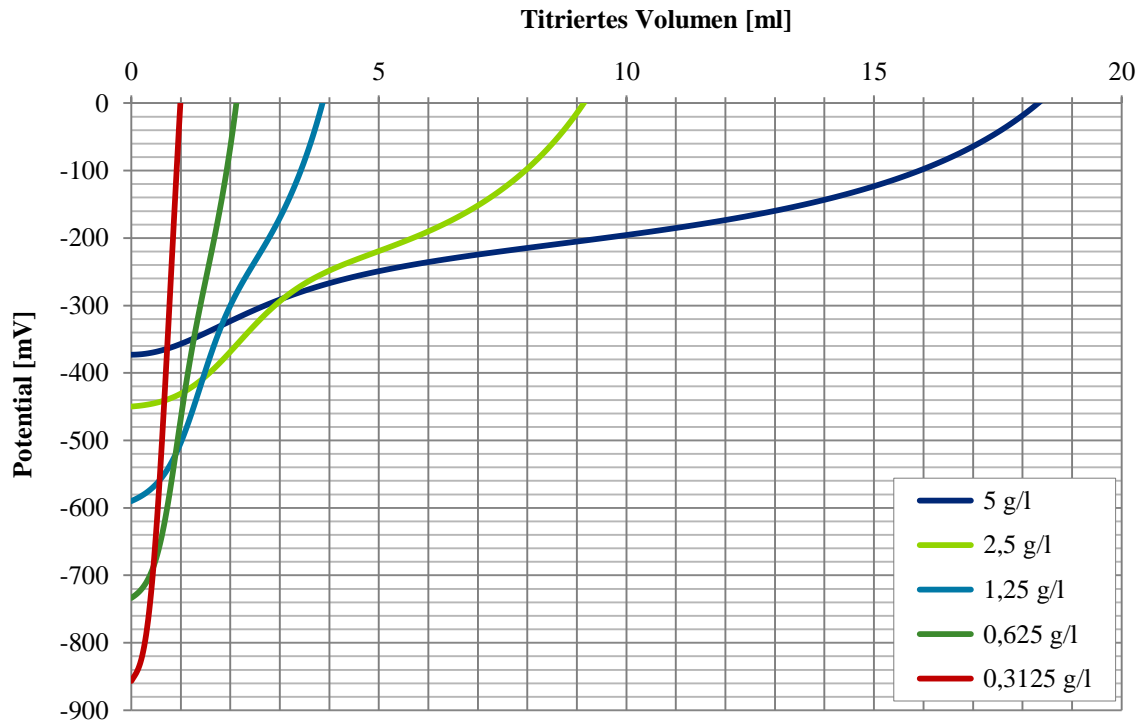


Abbildung 8.3. Ladungstitrationskurven, dargestellt als charakteristische Funktionen von Molkenprotein-Wasserlösungen in unterschiedlichen Molkenproteinkonzentrationen. Mit sinkender Molkenproteinkonzentration nimmt das titrierte Volumen ab, wogegen das Anfangspotential ansteigt [TITZE et al. 2009b, TITZE und ILBERG 2010].

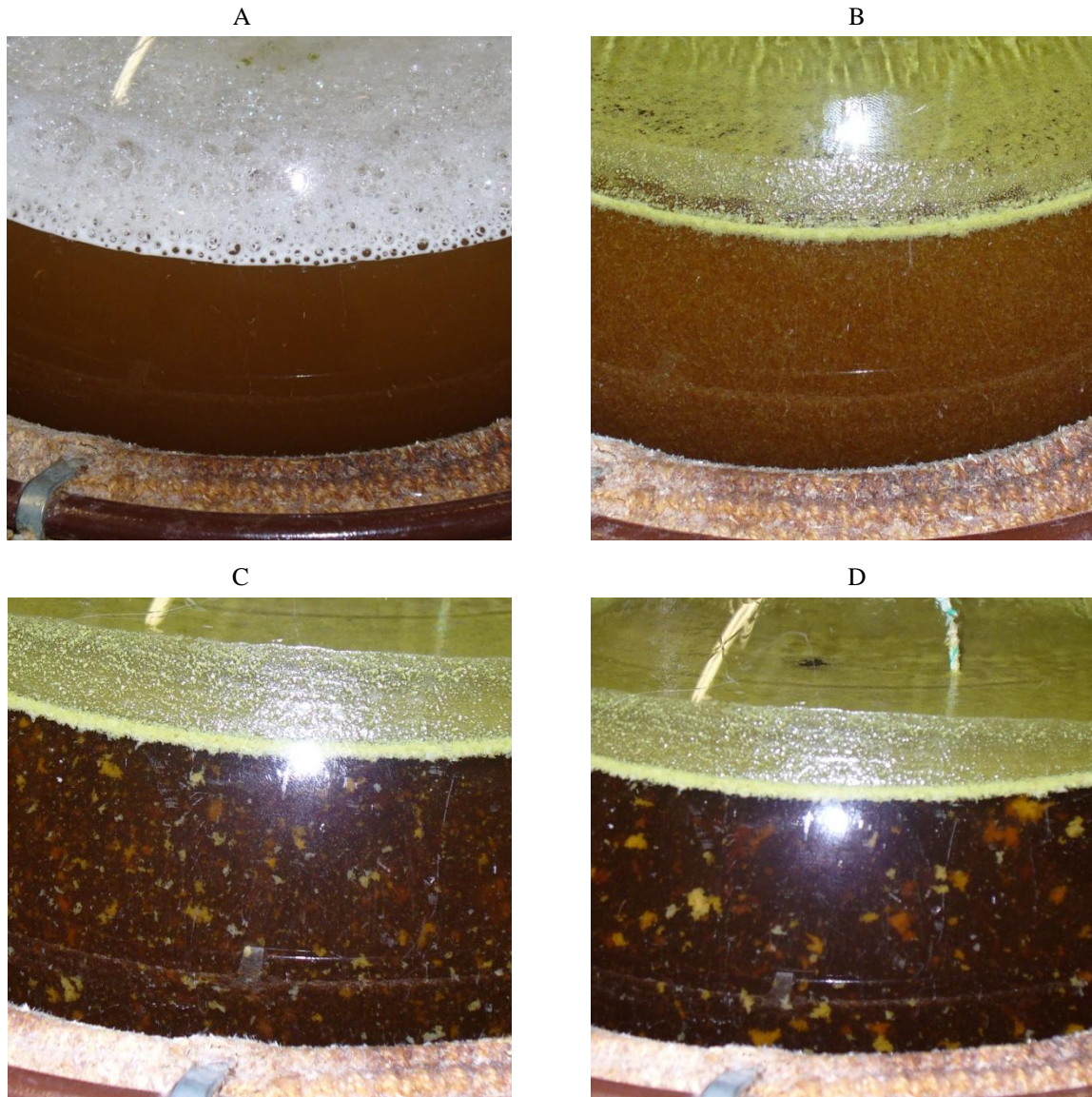


Abbildung 8.4. Ausscheidung von hitzekoagulierbarem Eiweiß während der Aufheizphase auf Kochtemperatur: Der undurchsichtigen und trüben Würze (A) wurde während des Aufheizens Hopfen zugegeben (B). Zunächst sind sehr feine Formen des Bruchs erkennbar (B), die mit der Zeit zu größeren Ausscheidungen agglomerieren (C), um schließlich als voluminöse Agglomerate auszufallen (D). Die Würze wurde mit einem Labor-Heizpilz in einem 5-Liter-Kolben erhitzt [eigene Darstellung].