



Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

Analytische Erfassung sowie technologische und technische
Beeinflussung der Läutertrübung und des Heißtrubgehalts der Würze
und deren Auswirkungen auf Gärung und Bierqualität

Dipl.-Chem. Dipl.-Ing. Florian Kühbeck

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 (Dr.-Ing.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Karl Sommer

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. habil. Werner Back
2. Prof. Dr.-Ing. Tomas Kurz, Technische Universität Berlin
3. apl. Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. habil. Heinrich Vogelpohl

Die Dissertation wurde am 23. Mai 2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 2. August 2007 angenommen.

ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, daß ich die der Fakultät

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

der Technischen Universität München zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel:

Analytische Erfassung sowie technologische und technische Beeinflussung der Läutertrübung und des Heißtrubgehalts der Würze und deren Auswirkungen auf Gärung und Bierqualität

am

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, WZW

unter der Anleitung und Betreuung durch

Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. habil. Werner Back

ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung nur die gemäß § 6 Abs. 5 angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

- Ich habe die Dissertation in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.
- Die vollständige Dissertation wurde in veröffentlicht. Die Fakultät für hat der Vorveröffentlichung zugestimmt.
- Ich habe den angestrebten Doktorgrad **noch nicht** erworben und bin **nicht** in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.
- Ich habe bereits am bei der Fakultät fürder Hochschuleunter Vorlage einer Dissertation mit dem Thema die Zulassung zur Promotion beantragt mit dem Ergebnis:

Die Promotionsordnung der Technischen Universität München ist mir bekannt.

München, den 23. Mai 2007

Florian Kühbeck

INHALT

| | |
|--|-----------|
| DANKSAGUNG | IV |
| 1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG | 1 |
| 2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN | 3 |
| 2.1 Herkunft und Zusammensetzung der Würzetrübung | 3 |
| 2.1.1 Läutertrübung | 3 |
| 2.1.2 Heißtrub | 3 |
| 2.2 Technologische Einflußfaktoren der Würzetrübung | 4 |
| 2.2.1 Rohstoffe | 4 |
| 2.2.2 Maischen..... | 4 |
| 2.2.3 Abläutern | 5 |
| 2.2.4 Würzekochung..... | 5 |
| 2.2.5 Würzeklärung | 6 |
| 2.2.6 Weitere Aspekte der Würzetrübung in bezug auf die Würzequalität | 7 |
| 2.3 Einfluß von Läutertrübung und Heißtrub auf die Gärung..... | 7 |
| 2.4 Einfluß von Läutertrübung und Heißtrub auf die Bierqualität | 12 |
| 2.4.1 Geschmacksqualität | 12 |
| 2.4.2 Geschmacksstabilität | 13 |
| 2.4.3 Trübungsstabilität | 14 |
| 2.4.4 Schaumstabilität | 14 |
| 2.5 Partikelgrößenverteilungen bei der Bierbereitung | 15 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3 | MATERIALIEN UND METHODEN..... | 16 |
| 4 | ERGEBNISSE UND DISKUSSION | 17 |
| 4.1 | Variation der Läutertrübung und Heißtrubzugabe im Pilotmaßstab..... | 17 |
| 4.1.1 | Einfluß auf die Würzequalität..... | 17 |
| 4.1.2 | Einfluß auf die Gärung | 20 |
| 4.1.3 | Einfluß auf die Bierqualität | 21 |
| 4.1.4 | Diskussion | 23 |
| 4.2 | Variation der Läutertrübung im großtechnischen Maßstab..... | 25 |
| 4.2.1 | Online-Trübungsmessungen..... | 25 |
| 4.2.2 | Einfluß trüber Abläuterung auf die Würzequalität..... | 25 |
| 4.2.3 | Einfluß trüber Abläuterung auf die Gärung und Filtration..... | 27 |
| 4.2.4 | Einfluß auf Geschmacksqualität und –stabilität | 30 |
| 4.2.5 | Einfluß auf die Trübungs- und Schaumstabilität..... | 34 |
| 4.2.6 | Diskussion | 35 |
| 4.3 | Rücklöseverhalten von langkettigen Fettsäuren und Zink aus Heißtrub ... | 37 |
| 4.3.1 | Freie Fettsäuren im Verlauf der Würzebereitung..... | 37 |
| 4.3.2 | Rücklösung langkettiger Fettsäuren | 38 |
| 4.3.3 | Rücklösung von Zink und Magnesium..... | 39 |
| 4.3.4 | Diskussion | 40 |
| 4.4 | Untersuchungen der Partikelgrößenverteilung von Würze und Heißtrub. 41 | |
| 4.4.1 | Identifizierung wichtiger Partikelgrößen der Würze..... | 42 |
| 4.4.2 | Abläutern | 43 |
| 4.4.3 | Würzekochung..... | 45 |
| 4.4.3.1 | Sammeln und Erhitzen der Würze..... | 46 |
| 4.4.3.2 | Kochen der Würze | 47 |
| 4.4.4 | Würzeklärung | 48 |
| 4.4.5 | Technologische Parameter der Würzekochung | 48 |
| 4.4.5.1 | Koagulierbarer Stickstoff (N koag.)..... | 48 |
| 4.4.5.2 | Thiobarbitursäurezahl (TBZ)..... | 49 |
| 4.4.6 | Diskussion | 49 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.5 | Gärversuche mit Heißtrub- und Partikelzugabe im Labor- und Pilotmaßstab | 51 |
| 4.5.1 | Heißtrub | 51 |
| 4.5.1.1 | Partikelgrößenverteilungen..... | 51 |
| 4.5.1.2 | Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Herkunft des Heißtrubs und der Hefevitalität | 52 |
| 4.5.1.3 | Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Heißtrubmenge..... | 53 |
| 4.5.1.4 | Gärversuche im Pilotmaßstab | 54 |
| 4.5.2 | PVPP..... | 57 |
| 4.5.2.1 | Partikelgrößenverteilungen..... | 57 |
| 4.5.2.2 | Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Partikelgröße und der Hefevitalität | 57 |
| 4.5.2.3 | Gärversuche im Pilotmaßstab | 57 |
| 4.5.3 | Kieselgur..... | 60 |
| 4.5.3.1 | Partikelgrößenverteilungen..... | 60 |
| 4.5.3.2 | Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Partikelgröße, der Partikelmenge und der Hefevitalität | 60 |
| 4.5.3.3 | Gärversuche im Pilotmaßstab | 60 |
| 4.5.4 | Einfluß von Heißtrub- und Partikelzugabe auf die Bierqualität..... | 64 |
| 4.5.4.1 | Geschmacksqualität | 64 |
| 4.5.4.2 | Geschmacksstabilität | 65 |
| 4.5.4.3 | Trübungsstabilität | 65 |
| 4.5.4.4 | Schaumstabilität | 65 |
| 4.5.5 | Diskussion | 66 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUBFOLGERUNGEN | 68 |
| 6 | SUMMARY AND CONCLUSIONS..... | 70 |
| 7 | LITERATUR..... | 72 |
| 8 | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | 85 |
| 9 | ANHANG: VERÖFFENTLICHUNGEN ZUR DISSERTATION | 86 |

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. habil. Werner Back, danke ich für die freundliche Aufnahme in sein Lehrstuhlteam, die Überlassung des spannenden Themas, die fruchtbaren Diskussionen und die Freiheit bei der Gestaltung und Durchführung der Versuche.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn PD Dr.-Ing. Martin Krottenthaler, für die äußerst hilfreichen Diskussionen und Richtungsweisungen, seine vielfältige Unterstützung und die sehr freundschaftliche Zusammenarbeit. Insbesondere danke ich ihm für seine geduldige Unterstützung bei der Abfassung der Veröffentlichungen.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Tomas Kurz danke ich herzlich für die zahlreichen anregenden Diskussionen zur Gestaltung und Auswertung der Versuche und bei der Abfassung der Veröffentlichungen.

Den Diplomanden Herrn Clemens Schmidt und Herrn Michael Müller danke ich für ihren engagierten Beitrag für die Entstehung dieser Arbeit.

Ferner danke ich herzlich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I sowie allen Kolleginnen und Kollegen in den kooperierenden Brauereien und Zulieferbetrieben, die zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

Für seine hilfreiche Unterstützung bei der Formulierung der englischsprachigen Veröffentlichungen sei Herrn John Brauer, M.Sc. Dipl. Brew., herzlich gedankt.

Für die großzügige finanzielle Unterstützung sei der Weihenstephaner Jubiläumsstiftung 1905 und der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München e.V. bestens gedankt.

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Würzetrübung, d.h. die Klarheit der Würze bei der Läuterung und der Gehalt an Heißtrub in der Ausschlagwürze, sowie deren Auswirkung auf die Bierqualität sind seit Jahrzehnten Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion im Brauereifach [8,55,57,119,131,147,156-158,182,192,221]. Seit langem besteht die Auffassung, daß die Läuterwürze so klar wie möglich gewonnen und der Heißtrub so weit wie möglich aus der Würze entfernt werden sollten, was bis heute weithin akzeptiert ist [128,222]. Allerdings sind in den letzten Jahren Veröffentlichungen erschienen, die auf eine positive Wirkung erhöhter Würzetrübung in Form von Läutertrübung und Trub, insbesondere von in der Würze verbleibendem Kühltrub, auf den Gärverlauf oder die Bierqualität hinwiesen [16,49,50]. Andererseits ist vielfach auf die von erhöhter Trübung möglicherweise ausgehende Gefahr für die Qualität der resultierenden Biere hingewiesen worden.

Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Arbeit, im Rahmen von systematischen Versuchsreihen herauszufinden, welchen Einfluß eine Variation der Würzetrübung auf den Bierbereitungsprozeß und insbesondere auf Gärung und Bierqualität hat. Dazu soll die Intensität der Läutertrübung und des Heißtrubgehalts der Würze variiert werden und die daraus resultierenden Konsequenzen für Gärung und Bierqualität untersucht werden. Darüber hinaus sollen mögliche Ursachen für die Einflüsse der Würzetrübung, wie beispielsweise eine Änderung der stofflichen Zusammensetzung der Würze, ermittelt werden.

Da diese Arbeit als Dissertation mit integrierten Veröffentlichungen abgefaßt ist, werden die relevanten Ergebnisse nachfolgend knapp dargestellt und übergreifend diskutiert. Für eine detaillierte und umfangreiche Darstellung der Literaturdiskussion, des Material- und Methoden-Teils sowie der Ergebnisse wird auf die folgenden angehängten Veröffentlichungen zur Dissertation verwiesen:

- ◆ **Kühbeck, F.**, Schütz, M., Thiele, F., Krottenthaler, M. und Back, W., Influence of Lauter Turbidity and Hot Trub on Wort Composition, Fermentation and Beer Quality. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2006, **64(1)**, 16-28. [113]
- ◆ **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality – A Review. *Journal of the Institute of Brewing*, 2006, **112(3)**, 215-221. [108]
- ◆ **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality in Large-Scale Trials. *Journal of the Institute of Brewing*, 2006, **112(3)**, 222-231. [109]
- ◆ **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Release of Long-Chain Fatty Acids and Zinc from Hot Trub to Wort. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 2006, **59(3/4)**, 67-77. [110]

- ◆ **Kühbeck, F.**, Back, W., Kurz, T. und Krottenthaler, M., Particle Size Distribution in Wort During Mash Separation and Wort Boiling Applying Different Large Scale Techniques. *Journal of the American Institute of Chemical Engineers (AIChE Journal)*, 2007, **53(5)**, 1373-1388. [111]
- ◆ **Kühbeck, F.**, Müller, M., Back, W., Kurz, T. und Krottenthaler, M., Effects of Hot Trub and Particle Addition on Fermentation Performance. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, **41**, 711-720. [112]

Ferner wird auf weitere Veröffentlichungen verwiesen, die jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht näher diskutiert werden:

- ◆ **Kühbeck, F.**, Dickel, T., Krottenthaler, M., Back, W., Mitzscherling, M., Delgado, A. und Becker, T., Effects of Mashing Parameters on β -Glucan, FAN and Soluble Extract Levels. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, **111(33)**, 316-327.
- ◆ Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und **Kühbeck, F.**, Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren. *Brauwelt*, 2005, **145(6)**, 143-150. [101]
- ◆ Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und **Kühbeck, F.**, Tests on Infusion and Decoction Method. *Brauwelt International*, 2006, **24(I/06)**, 33-37. [102]
- ◆ Yamashita, H., **Kühbeck, F.**, Hohrein, A., Herrmann, M., Back, W. und Krottenthaler, M., Fractionated Boiling Technology: Wort Boiling of Different Lauter Fractions. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 2006, **59(7/8)**, 130-147. [217]
- ◆ Mitzscherling, M., Becker, T., Delgado, A., Back, W., Krottenthaler, M. und **Kühbeck, F.**, Online Monitoring of Gravity, FAN and β -Glucan during Mashing. *Journal of the Institute of Brewing*, 2007, in Druck.

2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN

Im Sinne einer klar strukturierten und auf das wesentliche konzentrierten Literaturdiskussion sollen die für den behandelten Themenkomplex relevanten Aussagen nachfolgend im Überblick dargestellt werden. Für eine detaillierte Diskussion sei auf die in der Kapitelüberschrift genannten Veröffentlichungen verwiesen.

2.1 Herkunft und Zusammensetzung der Würzetrübung

2.1.1 Läutertrübung [108,113]

Es ist vielfach von einer Korrelation der Läutertrübung mit dem Gehalt von Lipidsubstanzen berichtet worden [2,11,57,70,71,100,124,150,152,153,156,181,208,210]. Insbesondere verläuft der Gehalt an langkettigen Fettsäuren und speziell Linolsäure (C18:2) teilweise linear mit den EBC-Trübungseinheiten [57,181]. Diese Korrelation ist für jeden Verfahrensschritt im Sudhaus und für jede Brauerei spezifisch. Ein Zusammenhang der EBC-Läutertrübung mit dem Gehalt an kurz- und mittelkettigen Fettsäuren konnte jedoch nicht gezeigt werden [191]. Im allgemeinen spielen in bezug auf die langkettigen Fettsäuren die Palmitinsäure (C16) und die C18:2 die Hauptrolle, während die Myristinsäure (C14), die Ölsäure (C18:1), die Linolensäure (C18:3) und die Stearinsäure (C18) nur eine untergeordnete Rolle spielen [8,117,144,193].

Neben den Fettsäuren spielt das Zink (Zn) als physiologisch wichtige Komponente der Würze ebenfalls eine Rolle bei der Würzetrübung. Bei trüberen Würzen ist ein erhöhter Zn-Gehalt in den entsprechenden Pfanne-voll- und Anstellwürzen gemessen worden [60].

2.1.2 Heißtrub [112,113]

Heißtrub, oder auch Kochtrub, wird als ein in Hitze unlöslicher Feststoff definiert, der während der Würzekochung ausfällt [146]. Er stellt eine Mischung aus unlöslichen Eiweißen, komplexen Kohlenhydraten, Lipiden, Tanninen, Mineralstoffen und Hopfenbestandteilen dar [117]. Die mittlere Zusammensetzung wird mit 55 % Eiweiß, 20 % Bitterstoffen, 20 bis 30 % organischen Verbindungen (z.B. Polyphenole) und etwa 5 % Asche angegeben [136]. Heißtrub tritt in einer Partikelgröße von 30 bis 80 μm auf und fällt in einer Menge im Bereich von 40 bis 80 g/hl (= 400 bis 800 mg/l) extraktfreie Trockenmasse an [60,92,150].

Die Heißtrubbildung beruht im wesentlichen auf einer Eiweißfällungsreaktion, an der Thiolgruppen (R-SH) und Schwefel-Schwefel-Brücken (R-S-S-R) eine zentrale Rolle spielen [22,116,198]. Durch die Hitzeeinwirkung bei der Würzekochung werden intramolekulare

Disulfidbrücken unter Ausbildung freier Thiolgruppen thermisch gebrochen. Dies eröffnet die Möglichkeit, im Anschluß neue intermolekulare Disulfidbrücken auszubilden, was zu einem Molekülwachstum durch Konglomeration führt. Mit der Vergrößerung des Moleküls sinkt dessen Wasserlöslichkeit, was eine Ausfällung erleichtert [11]. Die Anwesenheit von Polyphenolen sowie eine pH-Wert-Abnahme, beispielsweise verursacht durch biologische Säuerung, fördert die Eiweißfällung, da durch letztere der pH-Wert des Mediums näher am isoelektrischen Punkt der Eiweiße liegt. Einige Autoren zweifeln jedoch die förderliche Rolle der Polyphenole an [93,184].

2.2 Technologische Einflußfaktoren der Würzetrübung

2.2.1 Rohstoffe [113]

Wie Praxisbeispiele aus der jüngsten Vergangenheit gezeigt haben, kann beispielsweise eine Variation der Gerstensorte und des Jahrgangs zu erheblichen Unterschieden in der Läutertrübung führen. Da sich die vorliegende Arbeit im wesentlichen auf die Beeinflussbarkeit der Würzetrübung durch die Sudhausarbeit beschränkt, wird diese rohstoffbedingte Würzetrübung [165] nicht weiter diskutiert. Grundsätzlich kann jedoch gesagt werden, daß bei einer besseren Malzlösung mehr Polyphenole, Anthocyanogene und Tannoide freigesetzt werden. Aufgrund der reduzierenden Eigenschaften dieser Substanzen fördern insbesondere Tannoide Fällungsreaktionen während des Maischens und der Kochung [151,154].

Im allgemeinen findet die optimale Eiweißfällung bei einem pH-Wert von 5,2 bis 5,4 statt, weshalb Brauwässer mit hoher Restalkalität eine schlechte Ausfällung in der Maische bewirken, der mit einer geeigneten Maischesäuerung entgegengewirkt werden kann [40,183]. Mit steigendem pH-Wert der Würze wird die Adsorption von Bitterstoffen und Polyphenolen an den Heißtrub schwächer, weshalb der Eiweißgehalt des Heißtrubs bei einem pH von 5,7 (isoelektrischer Punkt der meisten Würzeiweiße) maximal ist [22].

2.2.2 Maischen [101,113]

Während des Maischens werden trübungsrelevante Malzbestandteile, wie beispielsweise Lipide, freigesetzt. Der Einsatz intensiver Maischverfahren, d.h. eines Hochkurzmaisverfahrens, zeitigt die Freisetzung größerer Mengen an Fettsäuren als bei den klassischen Verfahren. So wurde bei Einmaischttemperaturen bis 65 °C nur eine geringfügige Fettsäurefreisetzung beobachtet, während es bei Einmaischttemperaturen im Bereich von 65 bis 68 °C zu verstärkter Freisetzung kam [105,144]. Aufgrund der Aktivität einiger Enzymsysteme, wie beispielsweise Lipasen und Lipoxygenasen, kommt es insbesondere während der ersten 30 Minuten (min) des Maischens zu Umwandlungsreaktionen, die vor allem C18:2 und C18:3 betreffen [72,105,155,210]. In bezug auf den Heißtrub wird beim Dekok-

tionsverfahren aufgrund der Kochung der Teilmaischen bereits während des Maischens Trub gebildet, der beim nachfolgenden Abläutern entfernt wird, so daß bei der anschließenden Würzekochung weniger Heißtrub ausfällt, als dies bei einem vergleichbaren Infusionsverfahren der Fall ist [183]. Die Intensität der Fällungsreaktionen hat auch direkte Auswirkungen auf andere Bestandteile der Würze, wie beispielsweise Lipide, wie nachfolgend beschrieben ist.

Während des Maischens wird Zn aus dem Malzschrot extrahiert, welches die einzige relevante Zn-Quelle auf der Rohstoffseite ist [84]. Am Ende des Maischens treten typischerweise Konzentrationen im Bereich von 0,37 bis 0,56 mg/l in der Maische auf [35,106].

2.2.3 Abläutern [108,111,113,217]

Das Abläutern gilt als der wichtigste verfahrenstechnische Schritt bei der Reduzierung des Gesamtgehalts an langkettigen Fettsäuren im gesamten Brauprozeß. Eine Verminderung dieser Fettsäuren um bis zu 90 % gegenüber dem Gesamtgehalt in der Maische kann, je nach eingesetztem Verfahren und Prozeßsteuerung, durch Adsorption an das Spelzenbett erreicht werden [54,67,72,99,144,148,210]. Im Detail konnte eine Korrelation zwischen der Läutertrübung und der Intensität des Aufhackens gefunden werden [144,150,157,180,181]. Insbesondere führen eine geringe Filterkuchenhöhe, ein Würzeabzug von oben, Tief-schnitte sowie ein Ausquetschen des Spelzenkuchens zu erhöhter Läutertrübung und größerem Fettsäuregehalt der Läuterwürze [91,144,210]. Daneben werden Läutertrübung und Fettsäuregehalt durch das Überschwänzen erhöht [181,209,210]. Die Dauer des Abläuterns selbst hat keinen signifikanten Einfluß auf die Läutertrübung. Im allgemeinen verursachen Läuterbottiche eine stärkere Fettsäureabnahme als Maischefilter.

Ähnlich wie bei den Fettsäuren bewirkt das Abläutern eine Abnahme der Zn-Konzentration in der Würze durch Adsorption an die Spelzen und durch Verdünnung beim Überschwänzen, so daß typischerweise 0,07 bis 0,16 mg/l in der Pfanne-voll-Würze verbleiben [35,106]. Untersuchungen zeigten, daß trüberes Abläutern zu einem Anstieg des Zn^{2+} -Gehalts in der Pfann-voll- sowie Anstellwürze verursacht. Im Gegensatz dazu wird nur von einem geringfügigen Einfluß der Läutertrübung auf die Gehalte an Calcium (Ca), Eisen (Fe) und Kupfer (Cu) in der Würze berichtet [180]. Darüber hinaus hat die eingesetzte Läutertechnik einen direkten Einfluß auf den Zn-Gehalt der Würze [29].

2.2.4 Würzekochung [109,111,113]

Die thermische Einwirkung während der Würzekochung führt in einer Reihe von komplexen biochemischen Vorgängen zur Bildung eines Mehrstoffpräzipitats (siehe 2.1.2). Dabei fördern die Kochdauer, die Intensität der Bewegung und hohe Wärmeströme die Ausfällung von Heißtrub [39,40,48,85,130,146,168,175,183]. Beispielsweise führt starkes Rühren oder Durchströmen der Würze mit Gas während des Kochens zu einer vermehrten Bildung von Heißtrub und verminderten Bildung von Kühltrub [168]. Umgekehrt ist ohne

Würzebewegung ein vollständiges Ausbleiben der Heißtrubfällung beobachtet worden (bei einer konstanten Temperatur von 95 °C) [22]. Statt dessen trat eine disperse, nicht sedimentierbare Trübung auf. Die Fällungsreaktionen bei der Würzekochung sind im wesentlichen innerhalb einer Kochzeit von 90 min abgeschlossen, wobei die Fällung innerhalb der ersten 25 bis 30 min am intensivsten ist und sich anschließend verlangsamt [22,59,146,183]. Während der Fällung steigt der Anteil der Eiweiße und Polyphenole im Trub fortlaufend an. Eine Kochzeit von 35 bis 45 min wird als geeignet angesehen, um eine zu weitgehende Eiweißfällung zu verhindern [137].

Wie bereits in 2.2.2 angedeutet wurde, hat die mit der Heißtrubbildung verbundene Eiweißfällung auch Folgen für andere technologisch wichtige Stoffklassen. Aufgrund ihrer chemischen Natur sind langkettige Fettsäuren schlecht wasser- oder würzelöslich und binden sich daher bevorzugt an hydrophobe Oberflächen denaturierter Eiweiße, die in Zusammenhang mit der Heißtrubbildung entstehen. Die gelösten oder emulgierten Fettsäuren werden während der Heißtrubbildung und damit während der Würzekochung gewissermaßen aus der flüssigen Phase adsorptiv entfernt, wobei jedoch die Gesamtmenge an Fettsäuren im System unverändert bleibt [100,105,144,181]. Etwa 75 bis 90 % der gesamten Lipidmenge werden auf diese Weise während der Würzekochung an den Heißtrub gebunden. Die Wirksamkeit der Lipidentfernung steigt mit steigendem Volumen des koagulierten Eiweißes und zunehmender Größe der Eiweißflocken [11]. Ein Vergleich von atmosphärischer Kochung (100 °C) und Hochtemperatur-Kochung (140 °C) ergab keinen Unterschied im Verhalten der Fettsäuren [153].

Neben den Fettsäuren zeigen auch Zn^{2+} -Ionen eine hohe Affinität zu dem sich bei der Würzekochung bildenden Heißtrub [197]. Die quasi-chelatisierende Wirkung des Heißtrubs auf Zn^{2+} -Ionen führt zu einer weiteren Abnahme des Zn-Gehalts auf 0,04 bis 0,10 mg/l in der Ausschlagwürze nach 30-minütiger Kochung [35]. Wurde Zn in einer hohen Konzentration 5 min vor dem Kochende zur kochenden Würze zugegeben, so daß eine Konzentration von 0,52 mg/l resultierte, wurde nach der Heißtrubentfernung ein Verlust von 36 % des gelösten Zn gemessen [35]. Wurde die Kochdauer auf 90 min verlängert, konnte keine weitere Abnahme festgestellt werden [35]. Insgesamt erfährt die Würze eine Abnahme ihres Zn-Gehalts während der Kochung um etwa 50 % durch Adsorption an den Trub [106]. In Einzelfällen wurden Zn-Konzentrationen von über 30 mg/kg im Heißtrub bei nur ca. 6 mg/kg in der korrespondierenden geklärten Würze ermittelt [178]. Andere Autoren geben noch extremere Verhältnisse an: 197 mg/l im Whirlpooltrub gegenüber 0,11 mg/l in der Würze [35].

2.2.5 Würzeklärung [109,111]

Bei einer gut funktionierenden Würzeklärung soll der Heißtrub möglichst vollständig von der Würze abgetrennt werden. Damit verbunden ist auch eine Entfernung der ihm anhaftenden Substanzen, wie beispielsweise Fettsäuren und Zn. So wird beispielsweise C18:2 im Whirlpool zu 75 bis 92 % aus der Würze entfernt [100,144]. Dagegen bewirkt eine

Heißtrub-Zentrifugation nur eine Verminderung der kurzkettigen, aber nicht der langkettigen Fettsäuren, während eine 20-minütige Sedimentation zu einer Entfernung von mehr als 90 % der langkettigen Fettsäuren führte [153]. Allerdings wurde berichtet, daß erhöhte Konzentrationen von beispielsweise Fettsäuren in der Pfanne-voll-Würze auch zu einer erhöhten Konzentration in den Kühlmittewürzen führen, wenngleich sich die absoluten Niveaus aufgrund der nivellierenden Wirkung des Läuter- und Kochschritts einander angleichen [70,91]. Andererseits wurde berichtet, daß die Gehalte in den Kühlmittewürzen trotz entsprechender Unterschiede in den Pfanne-voll-Würzen keine signifikanten Unterschiede aufweisen [60]. In der Anstellwürze werden langkettige freie Fettsäuren (C14 bis C18:3) in einer Konzentration von 0,7 bis 1,6 mg/l gemessen.

Letztlich stellt die Sudhausarbeit einen weitgehenden Abreicherungs-schritt dar, wobei nur ca. 1 bis 3 % der Malzlipide und nur ca. 4 bis 8 % der freien Fettsäuren in bezug auf das Malz die Pfanne-voll-Würze und nur 0,1 bis 3 % der Malzlipide die Anstellwürze erreichen [8,9,14,64,71,105,118,210,216].

2.2.6 Weitere Aspekte der Würzetrübung in bezug auf die Würzequalität

Neben den Lipiden und Fettsäuren wirkt sich die Würzetrübung auch auf andere Aspekte der Würzequalität aus. So weisen trübere Würzen höhere Gehalte an hochmolekularen Eiweißkomplexen auf, die eine geringere Bittersubstanz-Ausbeute während der Kochung und eine verstärkte Ausfällung von Kolloiden bewirken, die Bitterstoffe adsorbieren [180,221,222]. Extrem trübe Würzen weisen höhere Rohfaser- und Gesamtstickstoffgehalte auf, während in bezug auf den Gesamtkohlenhydrat- und α -Glucangehalt keine Unterschiede festgestellt wurden [180]. Im Gegensatz dazu wurde allerdings auch von erhöhten Polyphenol- und Kohlenhydratgehalten als Folge eines erhöhten Zellwandeintrags und weiterer disperser Partikel aus dem Gerstemalz berichtet [22].

Die Frage, ob eine trübere Abläuterung zu einem erhöhten Feststoffgehalt der Würze führt, wird kontrovers diskutiert [60,157]. Ferner wird eine Korrelation zwischen einem hohen Feststoffgehalt und einem hohen Gehalt an C18:2 in der Würze gesehen [181]. Trübe Würzen können auch mit einem unzureichenden Stärkeabbau (Iodtest) in Zusammenhang stehen [150,180].

2.3 Einfluß von Läutertrübung und Heißtrub auf die Gärung [108,112,113]

Es ist vielfach von einer Verbesserung des Hefezustands und einer Beschleunigung der Gärung durch trübe oder trubreiche Würzen im Gegensatz zu klaren Würzen berichtet worden [2,21,26,27,37,94,95,166,173,174,176,178,180,199,213,218]. Als ein möglicher

Grund hierfür werden die mit steigender Würzetrübung zunehmenden Gehalte an langkettigen Fettsäuren angesehen. Ungesättigte Fettsäuren und Sterole spielen eine wichtige Rolle beim Aufbau einer funktionierenden Zellplasmamembran [37,81,199]. Ihr Vorhandensein in der Membran erlaubt einen ungestörten Austausch von Substraten und Metaboliten zwischen dem Cytoplasma und der Umgebung. So führte die Zugabe von ungesättigten Fettsäuren, wie beispielsweise C18:2, zu mehr Biomasse als eine Folge der verbesserten Hefeaktivität und des verbesserten Wachstums [37,81,199]. Freie C18:2 wird in bezug auf die Würze- bzw. Trublipide wegen ihres vergleichsweise häufigen Vorkommens, ihrer physiologischen Wirkung und aufgrund ihrer schnellen Aufnahme in die Hefezelle als der wichtigste Wirkstoff angesehen. Da jedoch C18:2, C18:3 und andere mehrfach ungesättigte, langkettige Fettsäuren von *Saccharomyces cerevisiae* nicht synthetisiert werden können, müssen sie aus dem Medium aufgenommen werden [8,34,141,174,199]. Allerdings sind Hefen dazu in der Lage, C16 und C18:1 in Anwesenheit von Sauerstoff zu synthetisieren [117], was aber nur während des Anstellens bei Vorhandensein von gelöstem Sauerstoff der Fall ist. Für alle weiteren Zellteilungen während der Gärung sind sie auf die während der aeroben Phase synthetisierte Menge oder auf eine Aufnahme aus der Würze angewiesen. In der Literatur wird diese begrenzte Konzentration an Membranlipiden als der begrenzende Faktor bei fortschreitender Zellteilung aufgeführt [80,107,209]. Wird der Zellvorrat an ungesättigten Fettsäuren zu klein und stehen keine aus dem Medium, z.B. aus einer sehr klaren Würze, zur Verfügung bzw. findet keine erneute Belüftung statt, kann keine weitere Zellteilung mehr stattfinden und eine weitere Zellvermehrung wird somit behindert. Bei Vorhandensein einer ausreichenden Menge an ungesättigten Fettsäuren kann bei guter Gärleistung wenigstens teilweise auf eine Würzebelüftung verzichtet werden [8,12,36,37,94,173].

Darüber hinaus haben Fettsäuren einen Einfluß auf die Ester synthetisierenden membran- gebundenen Enzymsysteme [117,177,219,220]. So führen steigende Fettsäuregehalte in der Würze zu geringeren Gehalten an Estern und insbesondere an Ethylacetat im resultierenden Bier [202,203]. Andererseits wird die Aufnahme von Aminosäuren der Gruppen I bis III verbessert, was zu einer verstärkten Bildung höherer Alkohole als deren Abbauprodukte führt [28,78,181,199]. Darüber hinaus wird auch die Aufnahme von Zuckern, wie Glucose und Maltotriose, beschleunigt, was folglich zu einer signifikant beschleunigten Gärung führt [181]. Zudem sorgt eine gute Ausstattung an ungesättigten Fettsäuren für eine höhere Ethanol-Toleranz der Hefen [115,118,139,181,199,200].

In bezug auf den Heißtrub werden von einigen Autoren die Lipide als die physiologisch wichtigsten Bestandteile mit dem größten Einfluß auf Hefeaktivität und Geschmacksentwicklung angesehen [27,118,174,178,199,203]. So führt der Kontakt der Hefezelle mit Trub zu einer Anreicherung von C18:2, während klare Würzen zu einer Abreicherung derer führen [117]. Freie C18:2 wird normalerweise innerhalb weniger Stunden (h) nach Gärbeginn praktisch vollständig aus dem Medium aufgenommen. Selbst bei Hefezellen in der stationären Phase wurde eine schnelle Aufnahme beobachtet. Über eine verbesserte Gärleistung dank trubreicher Würzen ist selbst für drei aufeinanderfolgende Gärungen be-

richtet worden [117]. Neben erhöhter Gärleistungen, d.h. Abbaugeschwindigkeiten, wurde auch von höheren Zellzahlen in Schweben und einer größeren Hefeernte dank des Trubgehalts berichtet [2,166,176,178,213].

Da während der Gärung die ungesättigten, langkettigen Fettsäuren fast vollständig von der Hefe aufgenommen werden, enthalten die resultierenden Biere in der Regel weniger als 0,1 mg/l der einzelnen Fettsäuren. Im Einzelnen wurden in Bieren folgende Konzentrationen gemessen: 8 bis 15 µg/l (C14), 20 bis 50 µg/l (C16), 10 bis 30 µg/l (C18), 1 bis 2 µg/l (C18:1), 2 bis 8 µg/l (C18:2) und 0,5 bis 3 µg/l (C18:3) [100,104]. Einige Autoren berichten auch von höheren Gehalten in fertigen Bieren: 1 bis 2 mg/l (C14 bis C18:3) in untergärigen Bieren bzw. 1,3 bis 3,3 mg/l in Alebieren [8,91].

Neben den Lipiden leistet das in trüber Läuterwürze verstärkt vorkommende Zn einen wichtigen Beitrag zur Gärungsverbesserung. Zn ist ein essentielles Element für das Hefewachstum und beeinflusst als Coenzym die proteolytische Aktivität, die Eiweiß-Biosynthese und den Kohlenhydrat-Metabolismus der Hefezelle [126,127,214]. Daher steigert eine ausreichende Versorgung der Hefe mit Zn die Gärleistung und sorgt für eine gute Hefeernte [66,90,106,126]. Als optimal für eine 12 %ige (°P)-Anstellwürze wird ein Gehalt von 0,08 bis 0,15 mg/l angesehen, um eine Endkonzentration von 6 mg pro 100 g Hefetrockenmasse zu erreichen [52,53]. Aktuelle Beiträge empfehlen sogar 0,15 bis 0,30 mg/l in der Anstellwürze [185]. Bei Zn-Mangel (0,05 mg/l) führte eine Zugabe in einer Konzentration von 0,20 mg/l zu einer signifikanten Steigerung der Gärgeschwindigkeit. Wurde die Konzentration auf über 0,20 mg/l gesteigert, konnte keine weitere Verbesserung der Gärleistung erreicht werden [90]. Umgekehrt führte eine Komplexierung der Zn^{2+} -Ionen, z.B. durch Zugabe des Komplexbildners Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), zu einer mangelnden Verfügbarkeit von Zn und anderen Metallen für die Hefe, was in einer unbefriedigenden Gärleistung resultierte [90]. In Brauereiwürzen ist Zn oft in suboptimalen Konzentrationen vorhanden, was bei Absinken auf unter 0,10 mg/l zu einem Mangel an Metalloenzymen und damit zu verminderter Gärleistung führt [89,126]. Umgekehrt kann das Hefewachstum unterdrückt werden, wenn die Zn-Konzentration 0,60 mg/l übersteigt und wenn nicht Mangan-Ionen (Mn^{2+}) in ähnlicher Konzentration anwesend sind [77,82].

Die Aufnahme von Zn erfolgt sehr rasch nach Beginn der Gärung in großen Mengen. Beispielsweise wurde eine Abnahme der Zn^{2+} -Ionenkonzentration von 0,36 auf 0,08 mg/l innerhalb von 2 h nach dem Anstellen bei 12 °C beobachtet, während die Konzentrationen von Mn und Fe innerhalb desselben Zeitraums praktisch unverändert blieben [120]. Am Ende der Gärung wurde kaum noch Zn im Bier gefunden, da fast 100 % von der Hefe aufgenommen wurden [106].

Die ausgeprägte Bindungseigenschaft des Heißtrubs für Metallionen führte zu gegensätzlichen Auffassungen bei den Forschern. Einerseits bewirke die hohe Bindungsneigung, daß Ionen fest am Heißtrub gebunden bleiben und somit trubgebundene Zn^{2+} -Ionen nicht für den stimulierenden Effekt auf die Gärung verantwortlich sind. Eine direkte Zugabe von Zn^{2+} -Ionen in den Gärtank sei daher in diesem Zusammenhang effektiver [117]. Anderer-

seits wurde für an Kühltrub gebundene Zn^{2+} -Ionen eine hohe Bioverfügbarkeit berichtet [106]. Wurden Gärungen durchgeführt, bei denen mit Kühltrub gefüllte Dialysesäcke in den Gärtank getaucht wurden, konnte nicht nur ein Anstieg der Zn-Konzentration von 0,02 auf 0,17 mg/l innerhalb von sieben Tagen festgestellt werden, sondern auch, daß 84 % des gesamten im Trub enthaltenen Zn trotz der Barriere der Dialysesäcke am Ende der Gärung in der Hefe wiedergefunden wurde [106].

Obwohl einige Autoren die Rolle von Fettsäuren und Zn bei der Hefeernährung herausstellen und darin den Grund für die positive Wirkung von Heißtrub auf den Hefezustand und die Gärleistung sehen, zweifeln andere Autoren die stofflich-physiologische Wirkung des Heißtrubs und anderer „Gärzusätze“ an [43,98,186]. Letztere verweisen auf die physikalische Wirkung, welche die eingebrachten Heißtrubpartikel auf die Gärung haben.

Der Hintergrund dieser Theorie beruht auf den physikalischen Vorgängen während der Gärung. So wird vom Beginn der Gärung an CO_2 von den Hefezellen in gelöster Form an das Medium abgegeben [74]. Daher kann der CO_2 -Gehalt in der gärenden Würze bis zu einer bestimmten Sättigungskonzentration ansteigen. Deren Höhe wird von der Zusammensetzung des Mediums, der Temperatur, dem CO_2 -Partialdruck etc. bestimmt [41,43], wobei eine thermodynamisch mögliche Gasentbindung zunächst kinetisch gehemmt sein kann. Wird eine Gleichgewichtskonzentration von gelöstem CO_2 erreicht, kommt es schließlich zu einer CO_2 -Entbindung. Die Gleichgewichtskonzentration hängt dabei von den og. Parametern, die Art der Entbindung jedoch auch von der Beschaffenheit von Oberflächen, die mit der gärenden Würze in Kontakt stehen, ab. Eine Ablösung der Blasen findet typischerweise bei einem Durchmesser von 50 μm statt, wobei die Blasen beim Aufsteigen durch weitere Diffusion von gelöstem CO_2 aus dem umgebenden Medium in die Blase und durch die Abnahme des hydrostatischen Drucks wachsen [41-43,84,169,206]. Sind im Medium geeignete Oberflächenstrukturen, wie beispielsweise Heißtrub oder andere Partikel vorhanden, wird die Entbindung des unpolaren CO_2 erleichtert, was zu einem teilweisen oder vollständigen Abbau der CO_2 -Konzentration des Mediums führt [31,186]. Tatsächlich wurden bei der Vergärung trüber Würzen signifikant niedrigere CO_2 -Konzentrationen gemessen als bei klaren Würzen (2,4 gegenüber 5,0 g/l) [193].

Nach dem Anstellen sedimentieren die Hefezellen zum Boden des Gärgefäßes, da ihre Dichte während der gesamten Gärung größer als die der umgebenden Würze ist, was auch experimentell nachgewiesen wurde [41,42,114,195,196,206]. Das Aufsteigen der CO_2 -Blasen in Folge der Entbindung führt letztlich zu einem Mitreißen der Hefezellen in der Wirbelschlepe der aufsteigenden Blase bewirkt einen Rühreffekt im Gärtank. Dies bewirkt, daß mehr Hefezellen in Schwebelage kommen, was einen intensivierten Austausch von Substraten und Metaboliten zur Folge hat und damit eine Voraussetzung für einen schnelleren Substratabbau ist. Einhergehend mit einem schnelleren Substratabbau wird auch mehr CO_2 ins Medium abgegeben, was wiederum zu einer verstärkten Blasenbildung und -freisetzung führt. Dies bewirkt letztlich eine bessere Durchmischung des Mediums sowie erhöhte Zellzahlen in Schwebelage, so daß bisweilen von einer „selbstkatalysierten Reaktion“

gesprochen wird [117]. In der Tat wurde die Anzahl der Hefezellen in Schwebelage als eine Funktion der CO_2 -Entbindungsrate formuliert [206]. Ferner wurde eine gute Korrelation zwischen der Konzentration an entbundenem CO_2 und der Abnahme des Extraktgehalts und damit der Gärgeschwindigkeit nachgewiesen [33]. Vom praktischen Standpunkt aus betrachtet, erscheinen diese Erwägungen vor dem Hintergrund größer werdender Behälterabmessungen und insbesondere wachsender Behälterhöhen und des damit verbundenen höheren Sättigungsniveaus relevant [97,133].

Neben der beschriebenen mechanischen „Rührwirkung“ aufsteigender Gasblasen wirkt sich ein erhöhter CO_2 -Gehalt im Medium physiologisch nachteilig auf das Hefewachstum, die Zellvitalität und die Gärleistung aus [96,107,129,160,170,186]. Diese weithin bekannte, hemmende Wirkung hoher CO_2 -Konzentrationen liegt in einem Anstieg der Bicarbonatkonzentration in der Zelle begründet, was zu einer Hemmung enzymatischer Reaktionen führt [98,107]. Hiervon sind insbesondere diejenigen Reaktionen betroffen, die bei Zellwachstum und Zellteilung eine Rolle spielen.

Somit führt eine Herabsetzung der CO_2 -Konzentration nicht nur zu einer Verminderung der hemmenden Wirkung gelösten CO_2 , sondern hält auch mehr Hefe in Schwebelage, was letztendlich zu einer Verbesserung der Hefevitalität und der Gärleistung führt.

Werden dem gärenden Medium Partikel, beispielsweise in Gestalt von Heißtrub, zugesetzt, kann es je nach Menge, Art, Dichte, chemischen Eigenschaften und/oder Oberflächencharakteristiken des Partikelmaterials zu einer mehr oder weniger starken Entbindung und Herabsetzung der CO_2 -Konzentration kommen. So bewirkten der Zusatz von Kieselgur und Bentonit eine verstärkte Entbindung. Beim Zusatz von Kieselgel der gleichen Partikelgröße (8 bis 13 μm Äquivalentdurchmesser), aber mit unterschiedlichen spezifischen Oberflächen (295 bis 725 m^2/g), in einer Konzentration von 0,20 g/l konnten innerhalb der ersten 5 h der Gärung keine Unterschiede in den CO_2 -Konzentrationen festgestellt werden. Daraus wurde geschlossen, daß nicht die spezifische Oberfläche, sondern vielmehr die Partikelgröße das entscheidende Kriterium für die Entbindungswirkung sei [193]. Der Partikeleffekt jenseits eines Ernährungseffekts ist auch aus Untersuchungen im Wein- und Destillierbereich bekannt und konnte auch für Gärungszusätze („yeast food“) nachgewiesen werden [3,135,201]. In der Tat konnte gezeigt werden, daß die positive Wirkung, die von yeast food auf die Gärung ausgeht, ausschließlich auf die Partikelwirkung zurückzuführen ist (CO_2 -Konzentration: - 31 %), während eine Reihe von Zusätzen, wie Lipide, Vitamine, Metalle und Eiweiße, im Sinne einer Nährwirkung praktisch keinen Effekt hatten [13]. Für yeast food wird das Vorhandensein oberflächlicher Proteolipiden als besonders förderlich für die Entbindung des unpolaren CO_2 angesehen [13]. Ein ähnlicher Effekt könnte demgemäß von den an der Oberfläche der Heißtrub-Partikel anhaftenden Lipiden ausgehen.

Andererseits ist wiederholt von der negativen Auswirkung einer zu klaren Anstellwürze in bezug auf die Gärleistung und –geschwindigkeit berichtet worden [90,99,126]. Dies könnte

auf die Abwesenheit von Partikelmaterial und/oder der damit verbundenen schlechteren Nährstoffversorgung der Hefe zurückzuführen sein.

2.4 Einfluß von Läutertrübung und Heißtrub auf die Bierqualität [108,110,113]

2.4.1 Geschmacksqualität

Einerseits wird berichtet, daß sehr trübe Würzen eine abträgliche Wirkung auf den Geschmack der resultierenden Biere haben [132,161,178], andererseits scheint die Auswirkung der Läutertrübung auf die Bierqualität oft überschätzt zu werden [191]. So wird berichtet, daß eine schnelle und trübe Abläuterung zu keiner Beeinträchtigung der Geschmacksqualität des resultierenden Bieres geführt hat. In ausgedehnten großtechnischen Untersuchungen wurde der Einfluß unterschiedlicher Läuterregime (trüb/klar) und Läuterdauern (lang/kurz) auf die Geschmacksqualität untersucht. Für die frischen Biere wurde dabei folgende Reihenfolge mit abnehmender Geschmacksqualität festgestellt: „trüb/kurz“ > „trüb/lang“ > „klar/kurz“ > „klar/lang“ [180]. Wurden dieselben Biere für fünf Wochen bei 25 °C gelagert und erneut verkostet, ergab sich folgende Reihenfolge: „trüb/lang“ > „klar/kurz“ > „trüb/kurz“ > „klar/lang“ [180]. Dagegen berichten andere Autoren von einer unangenehmen Bittere, die auf die trübe Abläuterung zurückgeführt wird. Hierbei scheint der Einfluß der Trübung stärker zu sein als die oxidative Wirkung von Sauerstoff auf die heiße Würze [144]. Von anderen Autoren wird jedoch die Ansicht vertreten, daß die Sauerstoffaufnahme während des Würzebereitungsprozesses den Einfluß der Lipide bei weitem überwiegt [215].

Typisch für den Einfluß einer erhöhten Lipidfracht sind geringere Estergehalte, insbesondere Ethylacetat, und erhöhte Gehalte an höheren Alkoholen [2,28,117,163], wie bereits in 2.3 diskutiert. Feststoffmengen von < 0,5 g/l erscheinen als unkritisch in bezug auf die Geschmacksqualität des Bieres. Darüber hinaus sind in Bieren aus trüben Würzen höhere Pyruvat- und geringere Acetaldehydkonzentrationen gemessen worden [180]. Ferner wird von einem geringen Einfluß auf die Gehalte von Diacetyl, 2,3-Pentandion, Isoamylacetat, Ethylcaproat, β -Phenyl-Ethylalkohol, Glycerin, Farbe, Endvergärungsgrad bzw. Restextrakt, CO₂-Gehalt, Stickstoffverbindungen, Anthocyanogene, Phosphat, Calcium, pH-Wert und das Reduktionspotential berichtet. Biere aus sehr trüben Würzen, oder Würzen, denen lipidreiche Treberpreßsäfte vor der Gärung zugesetzt wurden, zeigten eine verminderte Schaumstabilität [26].

Bei mangelnder Heißtrubabscheidung wird von einer dunkleren Farbe, einem breiteren Geschmack und einer breiten, unangenehmen Bittere der resultierenden Biere berichtet. Auch die Bittersubstanz-Ausbeute werde in Mitleidenschaft gezogen. Aus diesen Gründen wird eine Maximalkonzentration von 0,5 g/l nach der Membranfiltrationsmethode in der

homogenen Pfanne-voll-Würze angegeben [222]. Andererseits kann sich ein teilweises Verbleiben des Heißtrubs durch Verkürzung der Whirlpoolrast auch positiv auf die Bierqualität auswirken. Die geringere thermische Belastung der Würze kann zu einer geringeren Bildung von Alterungskomponenten im gealterten Bier und damit zu einer höheren Geschmacksstabilität führen [17,124]. Abgesehen davon ist mit einer geringeren Nachbildung von Dimethylsulfid (DMS) zu rechnen [10,32].

2.4.2 Geschmacksstabilität

In einer Vielzahl von Veröffentlichungen wird darauf hingewiesen, daß trübe Würzen abträglich für die Geschmacksstabilität sind, selbst wenn eine intensive Klärung der kalten Würze stattgefunden hat [4,15,128,144,178]. In Zusammenhang mit der Trübung werden Fettsäuren als die einzigen Lipid-Bestandteile angesehen, die im fertigen Bier geschmacksaktiv sind. Hier sind insbesondere die ungesättigten, langkettigen Fettsäuren von Bedeutung, da sie die einzigen sind, die mit Sauerstoff reagieren [18,209]. Bei einer Oxidation reagiert C18:3 drei- bis viermal schneller als die C18:2, und letztere reagiert 30 mal schneller als C18:1 oder C16. Estergebundene Fettsäuren reagieren bis zu 50 % langsamer als die korrespondierenden freien Säuren [132]. Im Gegensatz dazu spielt die Oxidation der gesättigten Fettsäuren aufgrund ihrer geringen Reaktionsgeschwindigkeit praktisch keine Rolle [51]. Es wird angenommen, daß die langkettigen Fettsäuren für die Bildung von Epoxi- und Trihydroxysäuren verantwortlich sind, die Alterungsvorläufersubstanzen sind und eine gegenüber den originären Fettsäuren erhöhte Löslichkeit in Würze und Bier aufweisen [83,140,150].

Auf die Geschmacksstabilität der resultierenden Biere wirken sich die in der Läutertrübung und im Heißtrub verstärkt vorkommenden Fettsäuren wesentlich aus [1,8,38,54,55,60,131,142,149,162,192,205]. Insbesondere gilt *E*-2-Nonenal, ein Abbauprodukt der C18:2, als einer der wichtigsten Verursacher des Alterungsgeschmacks (Pappgeschmack) [2,51,55,99,134,204]. Dabei muß nicht unbedingt der Endgehalt in der Anstellwürze entscheidend sein, da erhöhte Gehalte während des Läuterns oder Kochens aufgrund von oxidativen bzw. autoxidativen Reaktionen zur verstärkten Bildung von Abbauprodukten und damit zu verminderter Geschmackstabilität führen können [1,38,54,60,149,205]. Auch liegen Untersuchungen zur Auswirkung der thermischen Belastung beim Kochen und bei der Klärung in bezug auf die Carbonylbildung vor. Neben *E*-2-Nonenal sind in trüben Würzen erhöhte Gehalte an *E*-2-Butenal, Isobutanal, Isovaleral, Hexanal und *E*-2-Octenal beobachtet worden [70]. In einer Versuchsreihe mit trüben und klaren Würzen wurden bereits in den frischen Bieren erhöhte Carbonylgehalte (162 vs. 100 %) aufgrund der erhöhten Würzetrübung festgestellt, die sich während des Alterns weiter erhöhten (193 vs. 162 %) [70]. Das Auftreten von Carbonylen aufgrund des Abbaus von Lipidsubstanzen ist von größter Wichtigkeit für die Geschmackstabilität, da ihre Geschmacksschwellenwerte teilweise im ppb-Bereich liegen [142,144]. Parallel dazu scheint eine Korrelation zwischen dem Gehalt an langkettigen Fettsäuren und der organoleptischen Alterungswahrnehmung zu existieren [124,144].

2.4.3 Trübungsstabilität

In der Literatur finden sich wenige Hinweise auf den Effekt von erhöhter Würzetrübung auf die Trübungsstabilität der resultierenden Biere. Es wird lediglich berichtet, daß eine erhöhte Würzetrübung zu einer verringerten Trübungsstabilität im Bier führt [158,180], was auf dem erhöhten Eintrag von Anthocyanogenen und damit einer höheren Neigung zur Trübungsbildung beruht [158].

2.4.4 Schaumstabilität

Die bei einer erhöhten Würzetrübung vermehrt eingebrachten Lipide sind für ihre schaumzerstörende Wirkung aufgrund ihrer Bindung an die Schaumeiweiße bekannt [8,20,75,99,192,216,223]. Insbesondere die ungesättigten Fettsäuren Palmitoleinsäure (C16:1), C18:1, C18:2 und C18:3 sind effektive Schaumzerstörer, wenn sie in Konzentrationen von > 0,6 mg/l dem Bier zugesetzt werden [105]. Andererseits wird berichtet, daß die ungesättigten C18-Fettsäuren nur dann eine schaumnegative Wirkung aufwiesen, wenn sie in der 40fachen der üblicherweise im Bier vorkommenden Konzentration vorgelegen haben [91]. Im Rahmen einer detaillierten Untersuchung wurde gefunden, daß teilweise Phospholipide und insbesondere Glycolipide die Schaumbildung signifikant unterdrückten, während die neutrale Lipidfraktion praktisch keine Wirkung auf die Schaumstabilität hatte, selbst wenn diese in einer Konzentration von 10 mg/l vorlag [118]. Es wurde auch berichtet, daß trübere Abläutern und/oder ein erhöhter Sauerstoffgehalt während des Läuterns oder eine kürzere Kochung zu einem Anstieg des koagulierbaren Stickstoffs (N koag.) und erhöhter Schaumstabilität führen [60]. Eine Verbesserung der Schaumstabilität war auch für die Zugabe von Lipiden, die aus Trebern extrahiert worden waren, zur Gärung beobachtet worden. Hier war selbst nach der dritten Gärführung keine Verschlechterung gegenüber der Kontrolle festzustellen [181]. Als Begründung wird angegeben, daß die oberflächenaktiven Eigenschaften der Lipide positiv für die Schaumstabilität des Bieres sein können, da übermäßiges Schäumen während der Gärung unterdrückt wird [118]. Im Falle eines starken Schäumens im Gärtank kommen die schaumpositiven Substanzen im Schaum konzentriert vor und können durch Ausfällen vom gärenden Medium entfernt werden, so daß sie hernach im Bier fehlen. In der Tat wurden von Maischefiltern und Strainmastern, deren Würzen höhere Lipidgehalte enthielten, schaumstabilere Biere erhalten als von Kontrollsud aus lipidärmeren Läuterbottichwürzen [58].

Insgesamt ziehen die meisten Autoren die Schlußfolgerung, daß eine klare Abläuterung sowie ein möglichst vollständiges Entfernen des Heißtrubs während der Würzklärung eine Grundvoraussetzung für hochwertige Biere mit guten Stabilitäten, insbesondere guter Geschmacksstabilität, ist [222]. Allerdings finden sich vereinzelt Hinweise, daß Biere, die aus sehr klar abgeläuterten Würzen stammen, bei der Verkostung der frischen und gealterten Proben schlechter abschneiden als solche mit moderater Würzetrübung [180].

2.5 Partikelgrößenverteilungen bei der Bierbereitung

Während die Messung der Trübung im Bierbereitungsprozeß weitverbreitet ist, wurde die Messung der Partikelgrößenverteilungen nur selten eingesetzt und fand auch keinen Eingang in die Routineanalytik. Es sind einzelne Anwendungen der Partikelgrößen-Verteilungsanalysen bei der Charakterisierung der Schrotfeinheit [86,122,172,179], der Maische [5,6,24,25,86,172], der Würze [123,189,193,210], des Treberpreßsafts [194], des Heißtrubs [56,57,61,62,79,171,207], des Kühltrubs [49,50,68,73,125,150,190], der Bierfiltrationseigenschaften [63,88,103] und der resultierenden Biere bekannt [3,23,121,193]. Darüber hinaus liegen Untersuchungen zu den Vorgängen der Heißtrub- und Kühltrubabtrennung [47,68,69,76,138,158,168,190] sowie der Partikelgrößenverteilung während der Gärung vor [13,41-43,195,196]. In bezug auf das fertige Bier waren die Trübungsstabilität von filtriertem Bier [143,187,188], die Alterungstrübung [19,30,212] und die Trübungsstabilität von Hefe-Weißbieren Gegenstand der Forschung [44-46,164]. Neben den Rohstoffen, Zwischen- und Endprodukten der Bierbereitung wurden auch Hilfsstoffe, wie beispielsweise Kieselgur und Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP), partikelanalytisch beschrieben [7,65,87,159,167,193,211].

Im Detail wurden bei der Untersuchung der Partikelgrößenverteilung für geschrotetes Malz vorherrschende Partikelgrößen von < 5 und ca. $20 \mu\text{m}$ gefunden [122]. Die Untersuchung einer trüben, nicht gekochten und ungehopften Allmalzwürze aus einem Pilotsudwerk ergab eine breite Partikelgrößenverteilung von $< 0,1$ bis $100 \mu\text{m}$, wobei der größte Anteil der Partikel bei etwa $7 \mu\text{m}$ lag [193]. Für Treberpreßflüssigkeit ist ein Bereich der Partikelgrößenverteilung von $0,25$ bis $100 \mu\text{m}$ beobachtet worden, wobei mehr als 50% davon kleiner als $8 \mu\text{m}$ waren. Der Ursprung dieser Partikel wird in Fragmenten von eiweißhaltigen Membranen gesehen [194]. In bezug auf den Heißtrub ist bereits sehr früh ein Bereich von 30 bis $80 \mu\text{m}$ veröffentlicht worden [61,62], der wiederholt bestätigt worden ist [79,207]. Im Bereich des Kühltrubs werden für die Partikelgrößenverteilung Medianwerte von 8 bis $9 \mu\text{m}$ angegeben [68,69].

Im Gegensatz zur herkömmlichen Trübungsmessung, die nur einer Summendarstellung der zu untersuchenden Probe entspricht, bieten Partikelgrößenverteilungen durch zusätzliche strukturelle Informationen eine weitergehende analytische Information. So ist die Messung der Partikelgrößenverteilung unabhängig von der Farbe des Mediums, was bei der Trübungsmessung nicht der Fall ist. Andererseits können mit der Partikelgrößenverteilung Partikel mit einem Durchmesser von $< 1 \mu\text{m}$ nicht oder nur schwer erfaßt werden [7].

Bislang fehlt eine systematische Beschreibung der Partikelgrößen in Würzen und deren Veränderungen von der Abläuterung über die Würzekochung bis hin zur Würzeklärung. Insbesondere fehlen Informationen, wie sich die Einführung neuer Läuter- und Kochsysteme und die damit verbundene, unterschiedliche Parametrierung auf die Partikelgrößenverteilung der Würze auswirken. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund interessant, daß die Anwesenheit von Partikeln unterschiedlicher Größe in der Anstellwürze möglicherweise einen Einfluß auf die Gärung hat (siehe 2.3).

3 MATERIALIEN UND METHODEN

In der nachfolgenden Übersicht werden die Versuchsgebiete aufgeführt, in denen Versuchsreihen durchgeführt worden sind. Für eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Methoden wird auf die entsprechenden Veröffentlichungen verwiesen:

- ◆ Würzebereitung und Gärversuche im Labormaßstab (2 l) siehe [112],
- ◆ Würzebereitung und Gärversuche im Pilotmaßstab (10 l) siehe [112,113],
- ◆ Würzebereitung und Gärversuche im Großmaßstab (100 hl) siehe [109],
- ◆ Rücklöseuntersuchungen von Fettsäuren und Zn aus Heißtrub (2 l) siehe [110],
- ◆ Partikelgrößen-Verteilungsanalysen von Würzen im Pilot- (50 l) und Großmaßstab (100 bis 400 hl) siehe [111],
- ◆ chemisch-technische Analysen der Würzen und Biere siehe [109-113],
- ◆ sensorische Analysen der Biere siehe [109,113].

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1 Variation der Läutertrübung und Heißtrubzugabe im Pilotmaßstab [113]

Da die Würzezusammensetzung einen entscheidenden Einfluß auf alle weiteren Schritte der Bierbereitung und die resultierende Bierqualität hat, werden zunächst die Auswirkungen einer extrem hohen Läutertrübung und eines vollständigen Belassens des Heißtrubs in der Würze im Pilotmaßstab untersucht werden.

4.1.1 Einfluß auf die Würzequalität

Die Art und Verfahrensweise der eingesetzten Läutertechnik hat einen wesentlichen Einfluß auf die Trübung der abgeläuterten Würze. So führte ein intensiver Einsatz des Hackwerks zu einem erheblichen Anstieg der Läutertrübung. Bei einem Abläutern ohne Tiefschnitt wurde eine arithmetisch gemittelte Trübung der Läuterwürze von ca. 20 EBC erreicht, während ein permanenter Tiefschnitt über die gesamte Läuterdauer zu einem Trübungsmittelwert von 100 bis 140 EBC führte. Die trübere Abläuterung war um ca. 40 min oder 30 % kürzer (Abbildung (Abb.) 1). Zudem waren mit der erhöhten Läutertrübung um ca. 50 bis 60 % höhere Fettsäurefrachten (C14 bis C18:3) in den Pfanne-voll-Würzen verbunden, wobei die Unterschiede bei den Kühlmittewürzen zwar noch vorhanden waren, sich aber weitgehend angleichen, so daß der Unterschied in der Summe der langkettigen Fettsäuren (C14 bis C18:3) etwa 1 mg/l betrug (Abb. 2, 3). Dies bestätigen auch frühere Untersuchungen, bei denen auch festgestellt worden war, daß der Gehalt an langkettigen Fettsäuren mit der Läutertrübung korreliert und es bei der weiteren Sudhausarbeit zu einer weitgehenden Angleichung der Gehalte kommt [57,70,91,181].

Nehmen die absoluten Fettsäurekonzentrationen im Verlauf des Abläuterns eher ab, so ergibt sich bei der Betrachtung der Extrakt-normierten, d.h. bei auf einen einheitlichen Extraktgehalt von 12 °P bezogenen Konzentrationen, eine fast exponentielle Zunahme der langkettigen Fettsäuren von der Vorderwürze bis zum Glattwasser (Abb. 2, 3). Diese Betrachtung ist für die Frage interessant, welche Fettsäurefracht pro Extraktgewinn in Kauf genommen werden muß. Nach der Würzekochung und der Whirlpoolsedimentation wurde mit einer Ausnahme eine Abnahme der freien langkettigen Fettsäuren von der Pfanne-voll-Würze bis zur Kühlmittewürze um 73 bis 77 % festgestellt, was frühere Untersuchungen mit Abnahmen um bis zu 90 % bestätigt [100,144]. Neben dem Anstieg der Fettsäuregehalte wiesen die trüben Würzen einen um 0,03 bis 0,04 mg/l höheren Zn-Gehalt auf, während bei den übrigen untersuchten, analytischen Parametern praktisch keine Unterschiede festzustellen waren. Bei den Kühlmittewürzen wiesen die heißtrub-freien Würzen aufgrund der Whirlpoolsedimentation (15 min) und der damit verbundenen höheren Wärmebe-

lastung eine um 2 bis 3 EBC höhere Farbe auf. Die Würzen mit Heißtrub hatten geringere N koag.- und Polyphenolwerte und geringere Polymerisationsindices, was vermutlich auf Adsorption am Heißtrub zurückzuführen ist. Die aufgrund der Heißtrubzugabe erhöhten Iodwerte sind vermutlich eine Folge einer α -Glucan-Ausfällung. Da jedoch trübes Abläutern nicht zu einer Erhöhung der Iodwerte führte, fand trotz des intensiven Aufhackens durch permanenten Tiefschnitt keine Auswaschung nicht abgebauter Kohlenhydrate aus den Trebern statt. Der deutlichste Unterschied war bei den Zn-Gehalten zu verzeichnen: Der Heißtrub verursachte einen Anstieg um 0,05 bis 0,06 mg/l, wobei die Spanne von 0,11 (trüb/mit Heißtrub) bis 0,02 mg/l (klar/ohne Heißtrub) reichte. Wird für eine optimale Hefferversorgung ein Bereich von 0,08 bis 0,15 mg/l zu Grunde gelegt, so kann dieser im vorliegenden Fall allein durch Belassen des Heißtrubs in der Würze erreicht werden. Für Ca^{2+} und Magnesium (Mg^{2+}) ergaben sich praktisch keine Konzentrationsunterschiede in der Würze, die auf eine Variation des Abläuterns oder eine Heißtrubzugabe zurückzuführen wären. Bei den Würzearomastoffen wurden bei den trüb abgeläuterten Würzen, und insbesondere bei den trubhaltigen Würzen, tendenziell geringere Gehalte an Streckeraldehyden festgestellt.

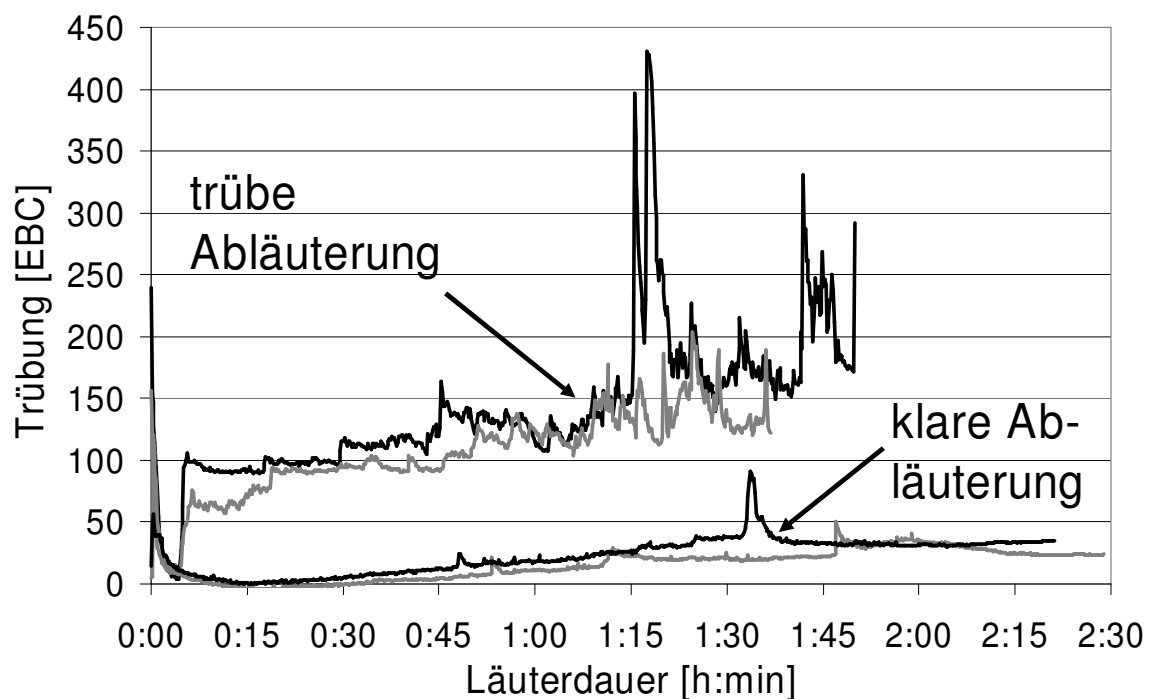


Abb. 1: Würzetrübung bei trüber und klarer Abläuterung im Pilotmaßstab [113].

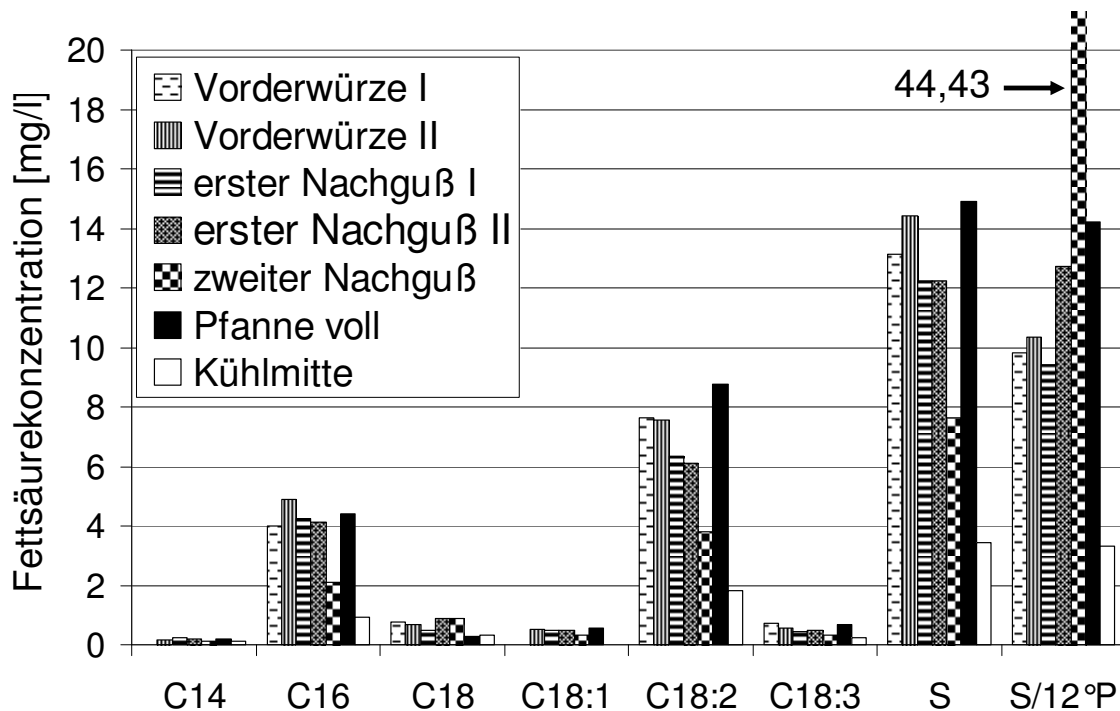


Abb. 2: Konzentration langkettiger Fettsäuren in Würze bei trüber Abläuterung (S = Summe C14 bis C18:3; S/12 °P = Summe der Fettsäuren, berechnet auf einen Einheitsextraktgehalt von 12 °P) [113].

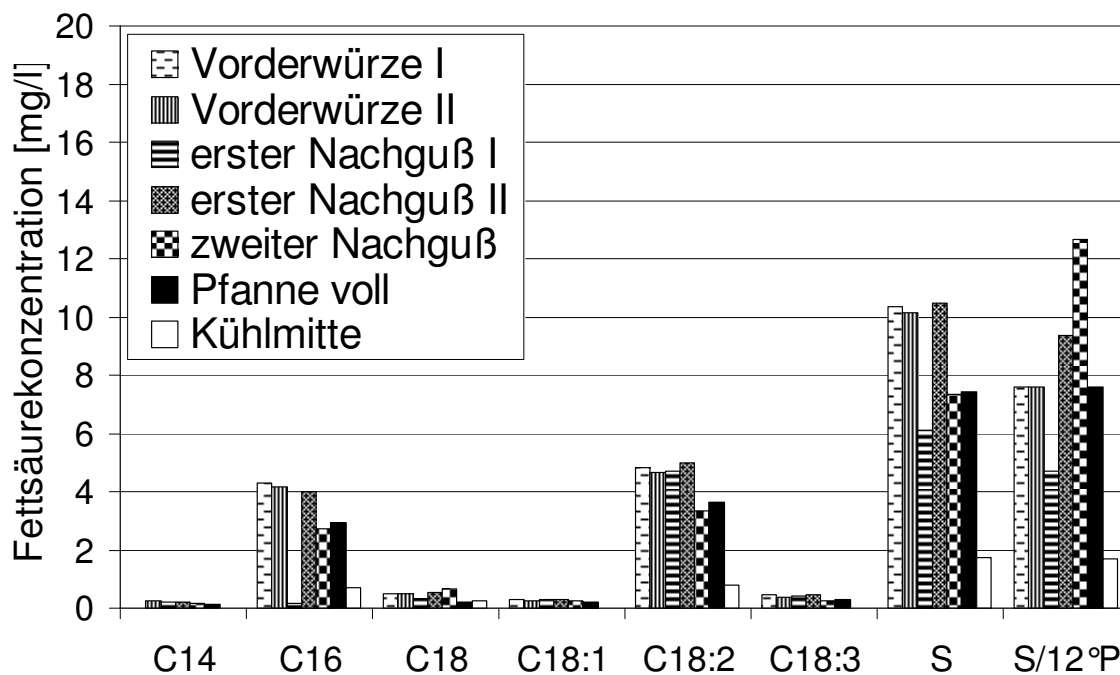


Abb. 3: Konzentration langkettiger Fettsäuren in Würze bei klarer Abläuterung (S = Summe C14 bis C18:3; S/12 °P = Summe der Fettsäuren, berechnet auf einen Einheitsextraktgehalt von 12 °P) [113].

4.1.2 Einfluß auf die Gärung

Trübere Würzen verursachten einen schnelleren und höheren Anstieg der Zellkonzentrationen. Darüber hinaus war die Gärung um etwa einen Tag schneller in bezug auf die pH-Wert- und Extraktabnahme sowie die Ethanolbildung (Abb. 4, 5). Dies deutet darauf hin, daß eine erhöhte Läutertrübung, und evtl. auch eine Heißtrubzugabe, zu einer Verbesserung der Hefeernährung, insbesondere mit langkettigen Fettsäuren und Zn, führen. Dies bestätigt auch die schnelle Gärung bei hoher Würzetrübung trotz reduzierter Würzebelüftung beim Anstellen (5 statt 8 mg O₂/l). Demgemäß führte eine intensivere Würzebelüftung (8 statt 5 mg O₂/l) nur bei klaren Würzen zu einer leichten Gärbeschleunigung. Daraus läßt sich schließen, daß die Intensität der Würzebelüftung durch trübes Abläutern, insbesondere bei gleichzeitiger Heißtrubzugabe, herabgesetzt werden könnte. Trotz einer eingeschränkten Vergleichbarkeit der beiden Gäransätze mit und ohne Heißtrub aufgrund der Verwendung zweier Hefebatches mit geringfügig unterschiedlichen Werten des intrazellulären pH-Wert (ICP; 6,36 und 6,45) ergab sich die Tendenz, daß die trubhaltigen Würzen ebenfalls schneller vergären (Abb. 4, 5).

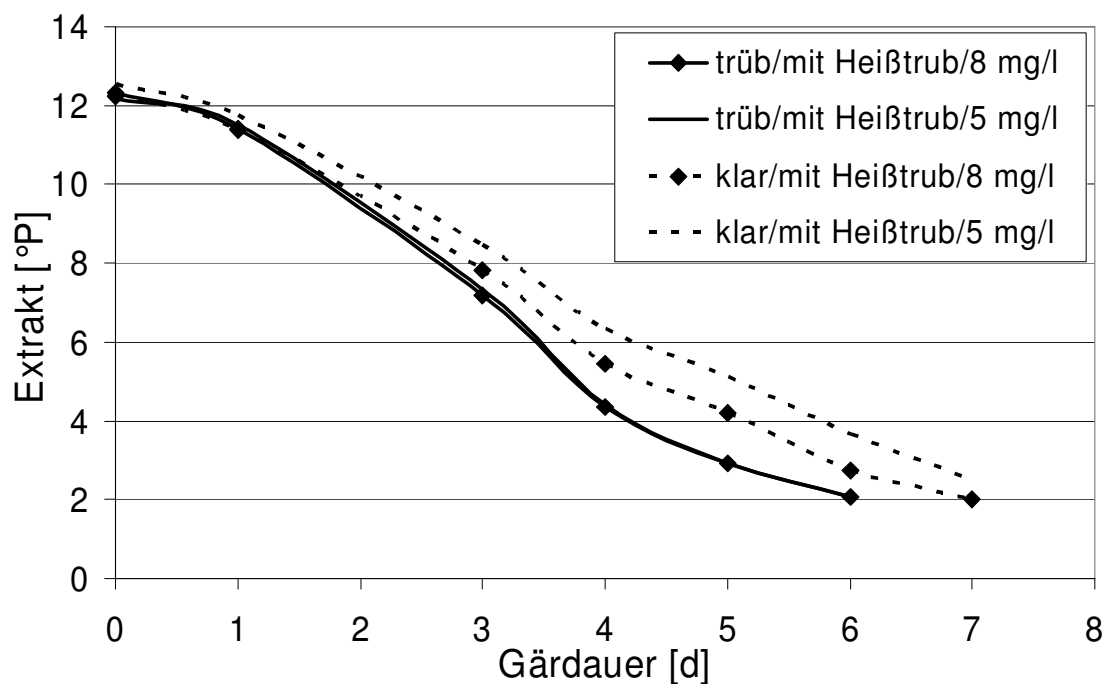


Abb. 4: Extraktverlauf während der Gärung bei vollständiger Heißtrubbelassung und Variation der Läutertrübung (ICP: 6,45; 8 mg/l: Würzebelüftung mit 8 mg O₂/l; 5 mg/l: Würzebelüftung mit 5 mg O₂/l) [113].

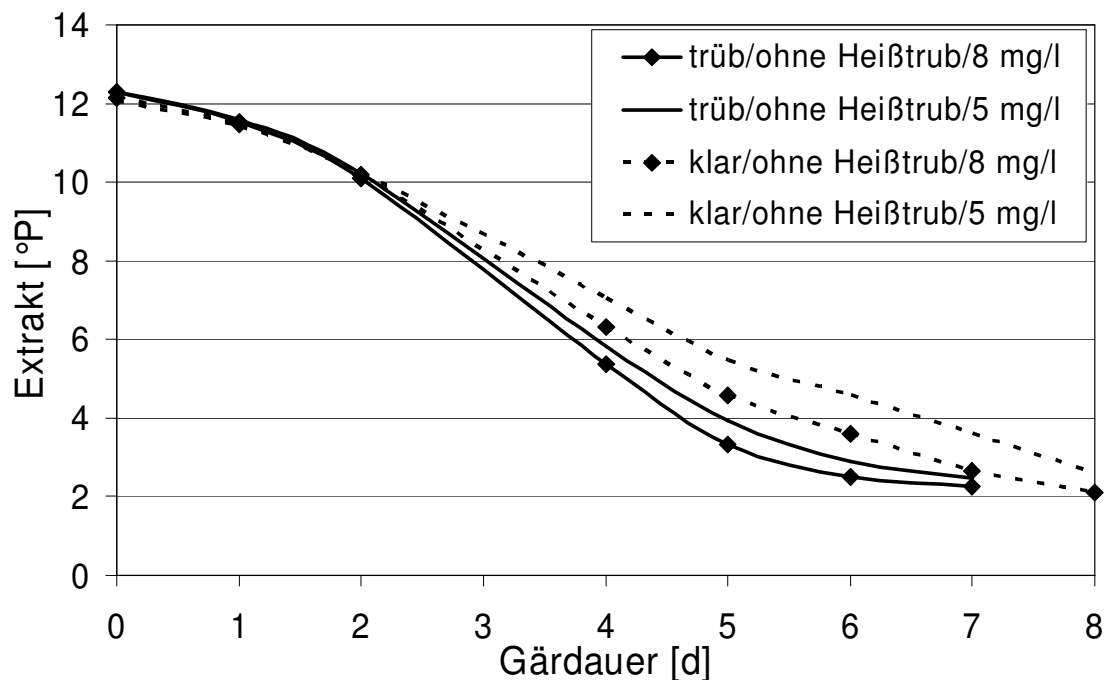


Abb. 5: Extraktverlauf während der Gärung bei Heißtrubentfernung und Variation der Läutertrübung (ICP: 6,36; 8 mg/l: Würzebelüftung mit 8 mg O₂/l; 5 mg/l: Würzebelüftung mit 5 mg O₂/l) [113].

4.1.3 Einfluß auf die Bierqualität

Biere, die aus der Vergärung von trubreichen Würzen stammten, zeigten vermutlich aufgrund des erhöhten Fettsäureeintrags geringfügig schlechtere Schaumstabilitäten (Abnahme um 10 bis 20 Nibem-Sekunden (Nibem-s)), wohingegen eine trübe Abläuterung zur gleichen oder besseren Schaumstabilität führte. Dies ist erstaunlich, wurde doch aufgrund der erhöhten Fettsäurefracht eine verminderte Schaumstabilität erwartet [8,20,75,99,192,216,223]. Die Trübungsstabilität war bei allen Bieren sehr gut bis ausgezeichnet, wobei nur ein Bier aus trüber Würze mit Heißtrub (5 mg O₂/l Würzebelüftung) mit 7,3 Wärmtagen die geringste, aber immer noch akzeptable Stabilität aufwies. Die leicht erhöhten Gesamt-Polyphenol- und Tannoidgehalte der Biere könnten der Grund für die reduzierte Trübungsstabilität sein. Das korrespondierende Bier aus der Gärung mit einer Anstellbelüftung von 8 mg O₂/l war genauso stabil wie die Kontrolle. Bei Bieren aus heißtrubhaltiger Würze wurden tendenziell etwas erhöhte photometrische Iodwerte gemessen, was bei trüber Abläuterung nicht festgestellt werden konnte. Trubreiche und trüb abgeläuterte Würzen führten zu Bieren mit erhöhtem 2-Phenylethanolgehalt und geringem Acetaldehydgehalt, was ein Hinweis für eine gute und schnelle Gärung ist und frühere Untersuchungen bestätigt [180]. Die Esterkonzentrationen waren relativ gering bei allen Bieren. Auffällig waren die erhöhten Gehalte an Acetaldehyd in Bier bei klarer Abläuterung und Heißtrubabtrennung. Bei den Wärme-, Sauerstoff- und Alterungsindikatoren konnten sowohl für die Absolutwerte als auch für die Zunahmen beim Forcieren keine Unterschiede festgestellt werden. Nach den sensorischen Tests nach der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) und

beschreibender Verkostung konnte bei den frischen Bieren keine Geschmackseinbuße durch trübe Abläuterung und/oder Heißtrubzugabe festgestellt werden (Abb. 6). Im Gegenteil, die Kontrolle (klar/ohne Heißtrub) schnitt in der Gesamtbeurteilung, wenn auch geringfügig, am schlechtesten ab. Allenfalls bei trüber Abläuterung wurde eine unangenehme Bittere bemängelt. Auch bei den forcierten Bieren konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 7). Biere aus trubhaltigen Würzen waren in bezug auf ihre Geschmacksstabilität wenigstens so gut, wenn nicht besser als die aus klarer Würze. Dies liegt vermutlich an den niedrigeren Anthocyanogehalten durch Adsorption an Heißtrub und leicht erhöhten Tannoidgehalten (siehe 2.1.2). Für trüb abgeläuterte Würzen konnte keine eindeutige Tendenz gegenüber der Kontrolle festgestellt werden.

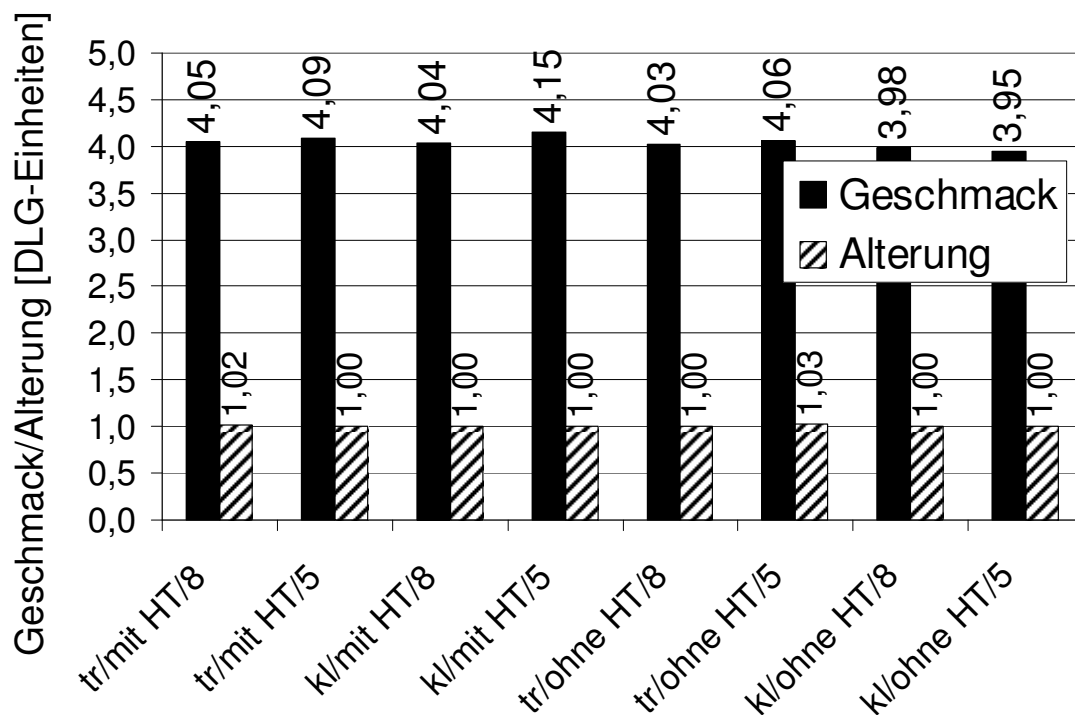


Abb. 6: Verkostungsergebnisse (Geschmacks- und Alterungsnote nach DLG) der frischen Biere (tr = trübe Abläuterung; kl = klare Abläuterung; HT = Heißtrub; 8: Würzebelüftung mit 8 mg O₂/l; 5: Würzebelüftung mit 5 mg O₂/l) [113].

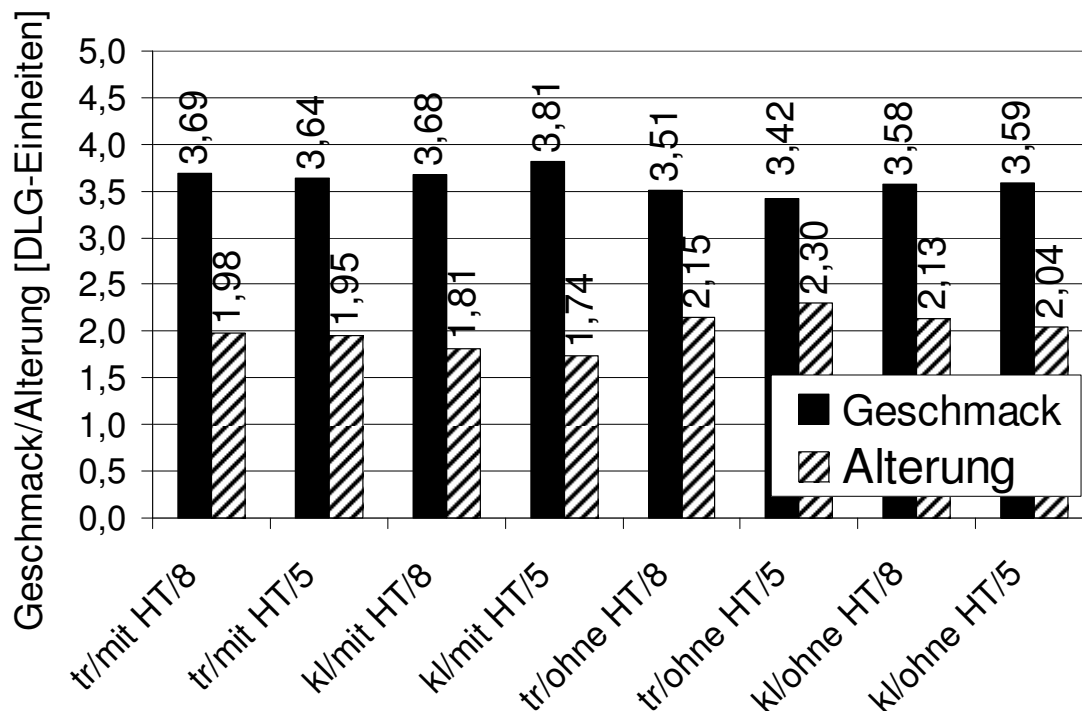


Abb. 7: Verkostungsergebnisse (Geschmacks- und Alterungsnote nach DLG) der forciert-gealterten Biere (tr = trübe Abläuterung; kl = klare Abläuterung; HT = Heißtrub; 8: Würzebelüftung mit 8 mg O₂/l; 5: Würzebelüftung mit 5 mg O₂/l) [113].

4.1.4 Diskussion

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde gezeigt, daß eine erhöhte Würzetrübung, d.h. eine erhöhte Läutertrübung und eine Heißtrubzugabe, durch Variation der technischen Verfahrensweise, wie beispielsweise intensiviertes Aufhacken, Tiefschnitte und Umgehung des Whirlpools, erzielt werden kann, was frühere Beobachtungen bestätigt [144,150,157, 180,181]. Damit verbunden läßt sich die Sudhausarbeit durch schnelleres Abläutern und evtl. Einsparung des Whirlpoolschritts vereinfachen und merklich verkürzen. Der Einsatz hoher Würzetrübung führt zu einem schnelleren Extraktabbau bzw. zu einer höheren Gärleistung, was vorausgehende Untersuchungen bestätigt [2,21,26,27,37,94,95,166,173,174, 176,178,180,199,213,218]. Dies ist vermutlich auf den bei trüber Abläuterung bzw. Heißtrubzugabe beträchtlich erhöhten Eintrag von langkettigen Fettsäuren und Zn in die Würze zurückzuführen [37,66,81,90,106,126,199]. Hierbei ist aber auch festgestellt worden, daß über die einzelnen Sudhauschritte hinweg und insbesondere bei der Würzekochung, eine starke Abreicherung und tendenzielle Nivellierung der Gehalte an freien Fettsäuren in der Würze zu beobachten ist. Besonders vorteilhaft in bezug auf die Gärleistung scheint beim vorliegenden Versuchsaufbau eine Kombination aus sehr trüber Abläuterung (mittlere Trübung: > 100 EBC) und vollständiger Heißtrubzugabe zu sein, bei der selbst eine Herabsetzung der Würzebelüftung von 8 auf 5 mg O₂/l zu keiner Beeinträchtigung der Gärleistung führt. Daraus kann geschlossen werden, daß der verstärkte Eintrag trübungsverursachender Würzeinhaltsstoffe zu einer verbesserten Hefeernährung und damit höherer Gär-

leistung führt. Ferner läßt sich bei sehr hoher Würzetrübung, wie sie aus der Kombination von stark erhöhter Läutertrübung und vollständiger Heißtrubzugabe resultiert, die Würzebelüftung ohne Beeinträchtigung der Gärleistung drosseln, was vermutlich auf eine gute Versorgung der Hefe mit langkettigen ungesättigten Fettsäuren zurückzuführen ist, die den Sauerstoffbedarf der Hefe herabsetzen und die Würzebelüftung zumindest teilweise zu ersetzen vermögen [2,26,173].

Weder die trübe Abläuterung noch die Heißtrubzugabe führen zu einer signifikanten Verschlechterung der Bierqualität, der Geschmacksstabilität, der Trübungsstabilität und der Schaumstabilität, wenn von einer geringfügigen Beeinträchtigung der Bittere bei trüber Abläuterung abgesehen wird [144]. Dieses Ergebnis steht in direktem Gegensatz zu den Erkenntnissen der meisten Autoren [4,15,124,128,132,144,158,161,178,180], geht aber mit der Ansicht von Sommer *et al.* einher, nach deren Ansicht die Wirkung auf die Bierqualität oft überschätzt wird [191]. Auch litt die Verarbeitbarkeit, wie beispielsweise die Filtrierbarkeit, unter dem Einfluß hoher Würzetrübung im Gegensatz zu früheren Berichten nicht [60,176,180]. Dies ist umso erstaunlicher, da die gewählten Versuchsbedingungen auf eine extrem trübe Abläuterung und einen vollständigen Verzicht der Heißtrubabtrennung ausgelegt waren. Darüber hinaus wurden einige der untersuchten Analyten durch die erhöhte Würzetrübung sogar verbessert, was der Erwartung vollkommen entgegenstand [128,222].

Ziel der weiteren Untersuchungen war es daher, die bei diesem Screening gefundenen Erkenntnisse zu verifizieren und möglichen Ursachen hierfür genauer nachzugehen.

4.2 Variation der Läutertrübung im großtechnischen Maßstab [108,109]

Nachdem in den vorstehenden Versuchen im Pilotmaßstab ein positiver Einfluß erhöhter Läutertrübung auf die Gärung und Einflüsse auf die Bierqualität festgestellt worden waren, werden die gewonnenen Erkenntnisse im Rahmen einer großtechnischen Untersuchung in einem Praxisbetrieb verifiziert. Dabei sollte die Wirkung erhöhter Läutertrübung nicht nur in einem größeren Maßstab (100 hl), sondern auch über sechs Gärführungen beim Wiederanstellen mit derselben Hefe untersucht werden.

4.2.1 Online-Trübungsmessungen

Die Brau- und Gärversuche wurden nach dem Standardverfahren der Brauerei durchgeführt, wobei alleine das Läuterverfahren variiert wurde. So wurde als Kontrolle das Standard-Läuterverfahren der Brauerei mit automatischer Steuerung eingesetzt, um eine normale Läutertrübung zu erzeugen (Standard). Um eine erhöhte Läutertrübung zu erreichen, wurden folgende Veränderungen vorgenommen: Verkürzung der Läuerrast von 10 auf 5 min, Verkürzung des Trübwürzepumpens von 5 auf 3 min und Absenken des Hackwerks während des permanenten Aufhackens von ca. 43 auf 6 cm über dem Senkboden (trübes Abläutern). Diese Veränderungen des Abläutervorgangs führten zu einem deutlichen Anstieg der Läutertrübung, die im arithmetischen Mittel über den gesamten Läuterprozeß und über alle untersuchten Sude ca. 82 (trüb) gegenüber ca. 43 EBC-Trübungseinheiten (Standard) erreichte. Es wurden insgesamt 24 großtechnische Sude (100 hl) untersucht, von denen jeweils zwei gemeinsam (200 hl-Gärung) in sechs Führungen vergoren wurden. Die Läutertrübung befindet sich schon beim Standardverfahren auf einem hohen Niveau, was auf die technischen Merkmale des verwendeten Läuterbottichs zurückzuführen ist. Demgemäß stellt die trübe Abläuterung mit über 80 EBC eine für die Praxis extrem hohe Trübung dar, womit der „worst case“ der Praxis abgedeckt wurde.

4.2.2 Einfluß trüber Abläuterung auf die Würzequalität

In vorangegangenen Untersuchungen ist eine Korrelation zwischen der Läutertrübung und dem Gehalt an langkettigen Fettsäuren (C14 bis C18:3) festgestellt worden (siehe 4.1.1). Aus diesem Grund wurden auch bei dieser Versuchreihe die Gehalte an freien Fettsäuren über den Sudprozeß verfolgt. Für beide Läuterregime konnte eine Abnahme von etwa 88 % beim Vergleich der Maische mit der Kühlmittewürze beobachtet werden. Werden die Fettsäuregehalte der ablaufenden Läuterwürze auf einen einheitlichen Extraktgehalt bezogen, stellt man fest, daß die relativen Fettsäurefrachten zum Ende des Läutervorgangs stark zunehmen und daß bei den zweiten Nachgüssen die Fettsäuregehalte durch trübes Abläutern

erhöht sind, jedoch nicht signifikant. In bezug auf das Fettsäureprofil herrschten C18:2 und C16 vor, die beide etwa 87 % der Gesamtfracht an langkettigen Fettsäuren in der Maische ausmachen. Dabei spielen die C14, C18, C18:1 und C18:3 nur eine untergeordnete Rolle. In der Kühlmittewürze machen C18:2 und C16 zusammen noch 70 % des Gesamtgehalts aus. Trotz unterschiedlich trüber Abläuterung bleibt das Mengenverhältnis der Fettsäuren untereinander relativ gleich. In bezug auf die einzelnen Fettsäuren verursachte trübes Abläutern bei den Vorderwürzen (Abb. 8) und Kühlmittewürzen (Abb. 9) eine leichte, aber signifikante Zunahme der C18:2-Konzentration, die allerdings viel geringer ausfiel, als aufgrund vorhergehenden Arbeiten erwartet worden war (siehe 4.1). Die Treberanalysen ergaben keinen Hinweis, daß die Aussüßung des Treberkuchens durch das intensivere Aufhacken beeinträchtigt war. Andere analytische Parameter der Kühlmittewürzen, wie Thiobarbitursäurezahl (TBZ), Zn, Mg, N koag., photometrische Iodzahl, freies DMS, DMS-Precursor, Feststoffe und Würzearomastoffe, ließen keine Unterschiede aufgrund der unterschiedlichen Abläuterung erkennen. Diese Ergebnisse bestätigen zum Teil veröffentlichte Ergebnisse, teilweise wurde aber auch von erhöhten Zn- und Proteingehalten und unzureichender Iodnormalität in trüberen Würzen berichtet [150,180]. Insgesamt wurde aufgrund der um ca. 40 EBC trübere Abläuterung eine wesentliche Veränderung der Würzezusammensetzung erwartet, die jedoch bis auf kleine Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung ausblieb.

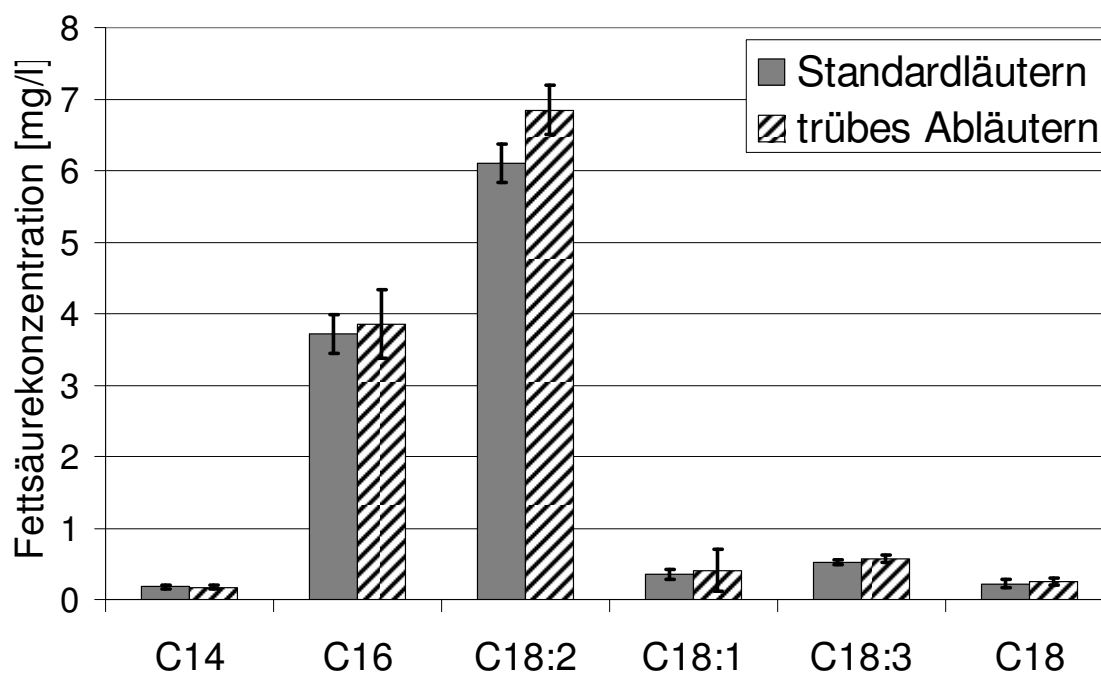


Abb. 8: Gehalte an langkettigen Fettsäuren in der Vorderwürze bei Variation der Läutertrübung (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

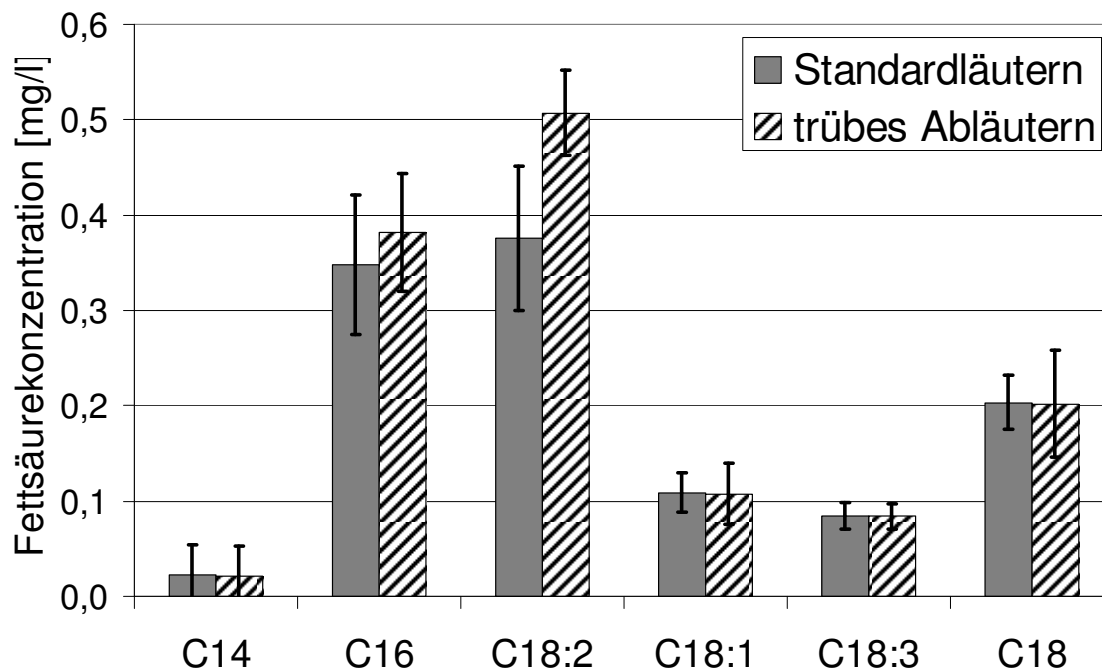


Abb. 9: Gehalte an langkettigen Fettsäuren in der Kühlmittewürze bei Variation der Läutertrübung (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

4.2.3 Einfluß trüber Abläuterung auf die Gärung und Filtration

Die Vergärung der nach den vorstehend beschriebenen Verfahren erzeugten trüben Würzen und Standardwürzen erfolgte parallel in zwei Gärtanks unter denselben Gärbedingungen. Für das erste Anstellen wurde für beide Tanks dieselbe Hefecharge verwendet und für alle darauffolgenden Gärungen wurde die Erntehefe der vorangehenden Gärung erneut mit Würze dergleichen Trübung angestellt, so daß der eine Teil der Hefe die Standardwürze und der andere die trübe Würze über je sechs Führungen vergor. Die nachfolgenden Ergebnisse beziehen sich auf die Mittelwerte über alle sechs Führungen.

Die Würzen mit erhöhter Läutertrübung zeigten im Mittel einen schnelleren und tieferen pH-Wert-Sturz (Abb. 10). Diese Unterschiede traten bereits ab dem ersten Gärtag auf und war ab dem dritten Gärtag bis zum Ende der Gärung signifikant. Der größte pH-Wert-Unterschied trat nach drei Gärtagen auf und betrug im Mittel 0,11 und ist nicht nur signifikant, sondern somit auch in einer technologisch relevanten Größenordnung. Auch in bezug auf den Extraktabbau (Abb. 11) und die Ethanolbildung (Abb. 12) vergoren die trüben Würzen im Mittel über sechs Führungen schneller, jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant. Bei der Betrachtung der einzelnen Führungen fällt auf, daß die dritte Führung annähernd gleiche Gärleistungen sowohl für trübe Würzen als auch für Standardwürzen zeigte, wofür keine Erklärung gegeben werden kann. Wird diese dritte Führung außer Betracht gelassen, ergibt sich für den Extraktabbau der übrigen fünf Führungen ein signifikanter Unterschied während des zweiten und dritten Gärtags zugunsten der trüben Würzen. Im vorliegenden Betrieb ist das Ende der Hauptgärung vom Erreichen eines Restextraktge-

halts von 2,8 °P bestimmt, um aufgrund der starken Hopfung einen ausgeglichenen Biercharakter zu erhalten. Legt man das Erreichen dieses Wertes als Gärungsende zu Grunde, waren die trüben Würzen bereits nach vier Tagen fertig vergoren, während die Standardwürzen fünf bis sechs Tage brauchten, um diesen Wert zu erreichen. Bei den Diacetyl- und Pentandionverläufen konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Die Filtrierbarkeit aller 12 erzeugten Biere lag innerhalb der üblichen Schwankungen, so daß für trübere Würzen keine Verschlechterung festzustellen war.

Aus dem beschriebenen Versuch kann geschlossen werden, daß die Erhöhung der mittleren Läutertrübung von 43 auf 82 EBC zu einer Beschleunigung der Gärung in bezug auf den pH-Wert-Sturz und Extraktabbau führt. Die Tatsache, daß die hohe Trübung der Würze bei fast allen Führungen und selbst bei der sechsten Führung zu einem deutlichen Unterschied in der Gärleistung führte, zeigt, daß eine erhöhte Läutertrübung eine positive Wirkung auf die Hefe hat, was vermutlich auf eine verbesserte Hefeernährung zurückzuführen ist. Anhand der Würzeanalysen konnte jedoch der Grund für die Verbesserung nicht ausfindig gemacht werden. Bei den trüben Würzen wurden leicht erhöhte C18:2-Konzentrationen gemessen, wobei sich die Gesamtkonzentration an gelösten langkettigen Fettsäuren oder Zn in beiden Würzetypen nicht signifikant unterschied. Was im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht wurde, ist die Zusammensetzung der Würzefeststoffmatrix, die trotz der Heißtrubabscheidung im Whirlpool in geringem Umfang in die Anstellwürze gelangt. Es könnte sein, daß unterschiedlich trübe Abläuterungen zu einer veränderten Zusammensetzung des in der Würze verbleibenden Heißtrubs, wie beispielsweise seines Lipid- oder Zn-Gehalts, führen, welche die Veränderungen der Gärleistung möglicherweise begründet.

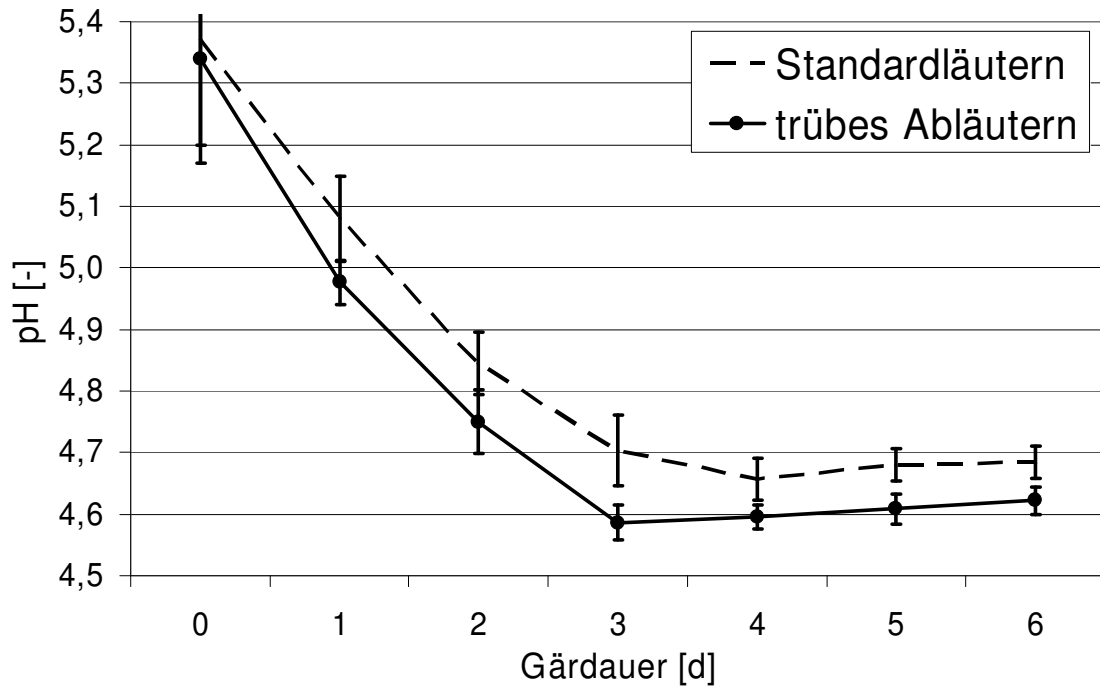


Abb. 10: pH-Wert-Verlauf während der Vergärung der trüb abgeläuterten Würzen und der Standardwürzen. Mittelwert über sechs Gärführungen (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

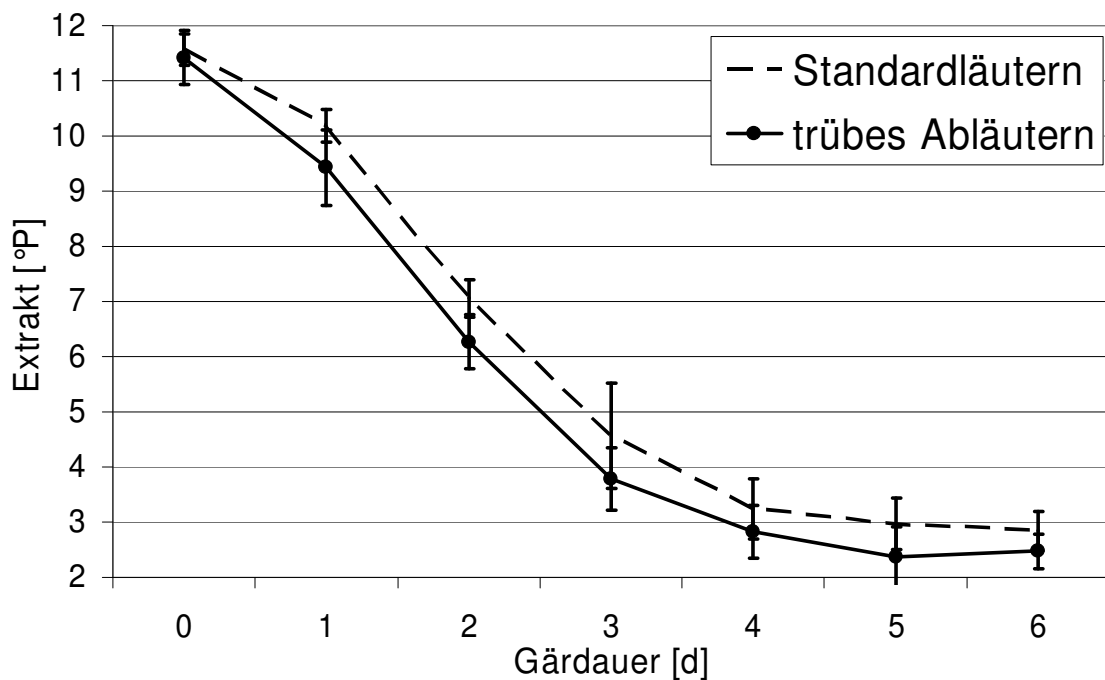


Abb. 11: Extrakt-Verlauf während der Vergärung der trüb abgeläuterten Würzen und der Standardwürzen. Mittelwert über sechs Gärführungen (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

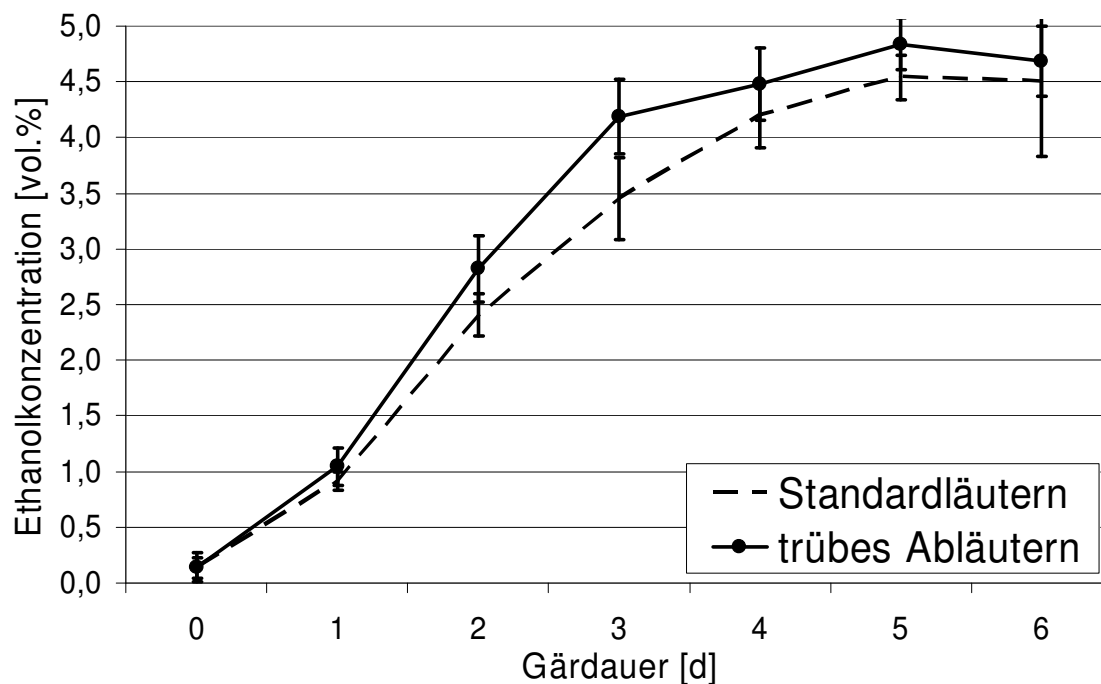


Abb. 12: Ethanol-Konzentrations-Verlauf während der Vergärung der trüb abgeläuterten Würzen und der Standardwürzen. Mittelwert über sechs Gärführungen (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

4.2.4 Einfluß auf Geschmacksqualität und –stabilität

Die Verkostung der frischen Biere ergab keine Unterschiede zwischen Bieren aus trüber und Standardläuterung in bezug auf die Geschmacksqualität und den Frischeeindruck. So wird auch in der Literatur berichtet, daß der Einfluß von Läutertrübung in bezug auf die Bierqualität oft überschätzt wird [191].

Bei den gealterten Bieren wurde eine leichte Zunahme der Alterungsindikatoren bei den Bieren aus trüber Würze festgestellt (Abb. 13). Allerdings sind die Unterschiede zum Kontrollbier nicht signifikant und kleiner als ursprünglich erwartet worden war. Diese geringfügigen Unterschiede stimmen mit den geringfügigen Unterschieden überein, die bei den Gehalten an Fettsäuren festgestellt worden waren, welche als wichtige Quelle für Alterungskomponenten angesehen werden. Sensorisch wurde eine geringfügige und nicht signifikante Verschlechterung der Geschmackstabilität gegenüber den Standardbieren ermittelt (Abb. 14), was mit der analytisch festgestellten, geringfügigen Zunahme an Alterungskomponenten übereinstimmt. Allerdings wurden auch hier die Biere als wesentlich ähnlicher eingestuft, als ursprünglich aufgrund der enormen Unterschiede in der Läutertrübung und nach Literaturaussagen erwartet worden war. Der am meisten hervortretende Unterschied ist, daß bei den frischen Bieren die Bittere der Kontrollbiere als „weich“ angegeben wurde, während sie bei trüber Läuterung als „charaktervoll“ und „intensiver“ beschrieben wurde, wobei beide als ausgewogen eingestuft worden waren. Alle gealterten Biere wur-

den als leicht oxidiert mit einem leichten bitteren Nachgeschmack eingestuft, ohne klare Bevorzugung durch das Verkosterpanel.

Nachdem die gefundenen analytischen und sensorischen Unterschiede als eher gering einzustufen waren, wurde überprüft, ob sowohl die frischen als auch die gealterten Biere im Rahmen von Dreiecksverkostungen von einem professionellen Panel mit geschulten Verkostern und einem Konsumentenpanel mit ungeschulten Verkostern unterschieden werden können. Bei den sechs frischen Bieren konnte das professionelle Panel nur das Bier der sechsten Führung signifikant unterscheiden, während die übrigen fünf nicht signifikant unterschieden werden konnten. Das Konsumentenpanel war nicht in der Lage, ein einziges Bier signifikant zu identifizieren (Abb. 15). Die Minderheit von Verkostern, welche die Biere richtig identifizierten, bevorzugte bei den frischen Bieren überwiegend die Kontrollbiere.

Bei den gealterten Bieren war nur das professionelle Panel in der Lage, eines der sechs Biere signifikant zu erkennen. Im Gegensatz dazu erkannte das Konsumentenpanel keines der Biere signifikant (Abb. 16). Tendenziell war festzustellen, daß mit steigender Zahl an Gärführungen eine Unterscheidung der Biere immer schwerer wurde. Interessanterweise bevorzugten bei den gealterten Bieren diejenigen Mitglieder des professionellen Panels, die in der Lage waren, den Unterschied festzustellen, mehrheitlich das Bier aus trüber Abläuterung, während diejenigen aus dem Konsumentenpanel zu keiner eindeutigen Bevorzugung neigten.

Die analytischen und sensorischen Untersuchungen und insbesondere die Dreiecksverkostungen zeigen, daß der Einfluß erhöhter Läutertrübung auf die Geschmacksqualität und -stabilität offenbar überschätzt wird. Hiervon ist insbesondere dann auszugehen, wenn die in der Praxis auftretenden Schwankungen der Läutertrübung wesentlich kleiner sind als sie in dieser Versuchsreihe erzeugt sind (mittlere Trübungszunahme: 39 EBC).

Weitere analytische Parameter, wie Bieraromastoffe, höhere Alkohole, Ester, freies DMS und vikinale Diketone, unterschieden sich nicht wahrnehmbar.

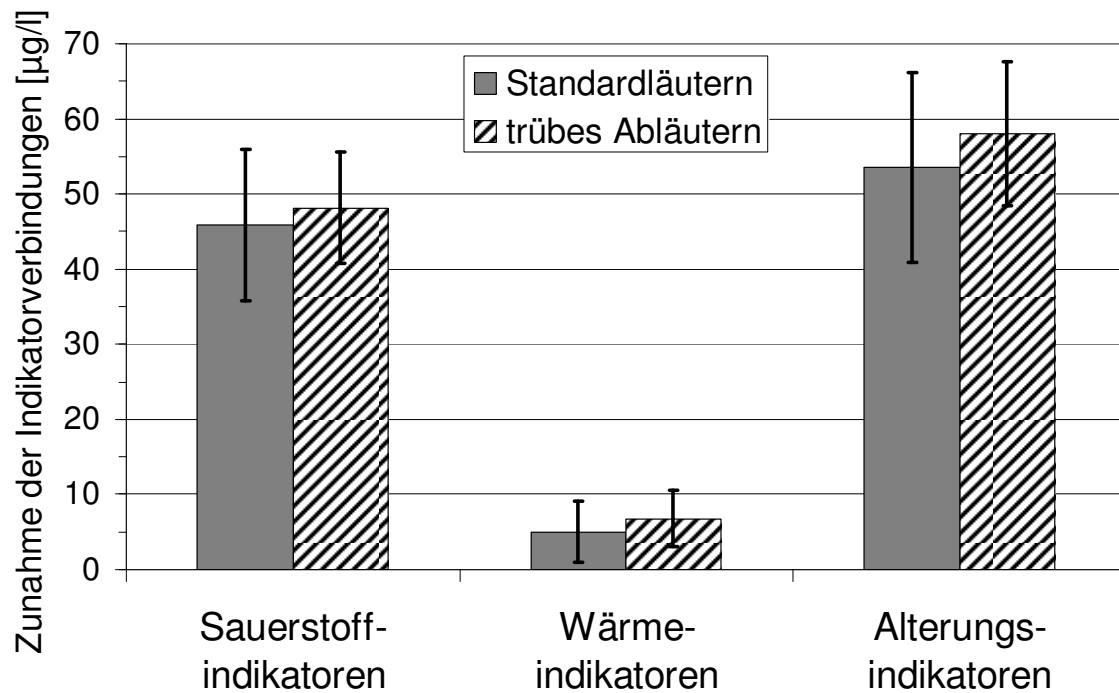


Abb. 13: Zunahme der Sauerstoff-, Wärme- und Alterungsindikatoren im Bier während der forcierten Alterung in Abhängigkeit vom Läuterregime. Mittelwert über sechs Gärführungen (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

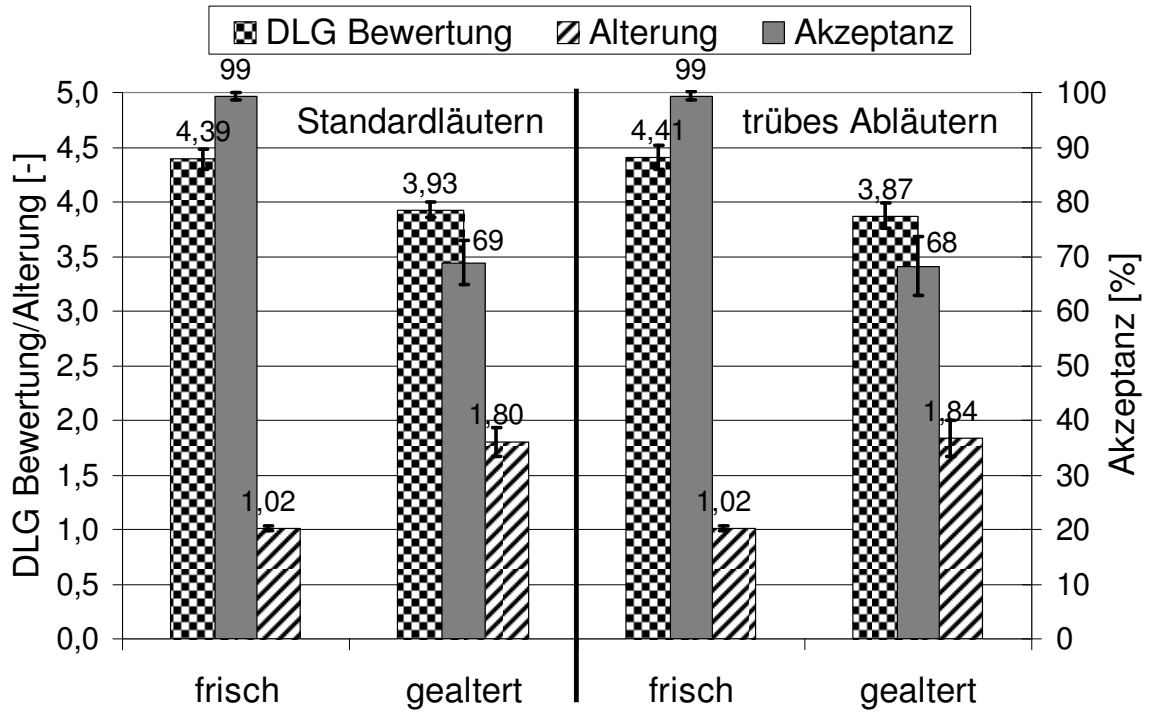


Abb. 14: Verkostungsergebnisse gemäß DLG-Schema der frischen und forciert gealterten Biere bei Variation des Läuterregimes (links: Standardläuterung; rechts: trübe Abläuterung; geschultes Verkosterpanel; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 6$) [108].

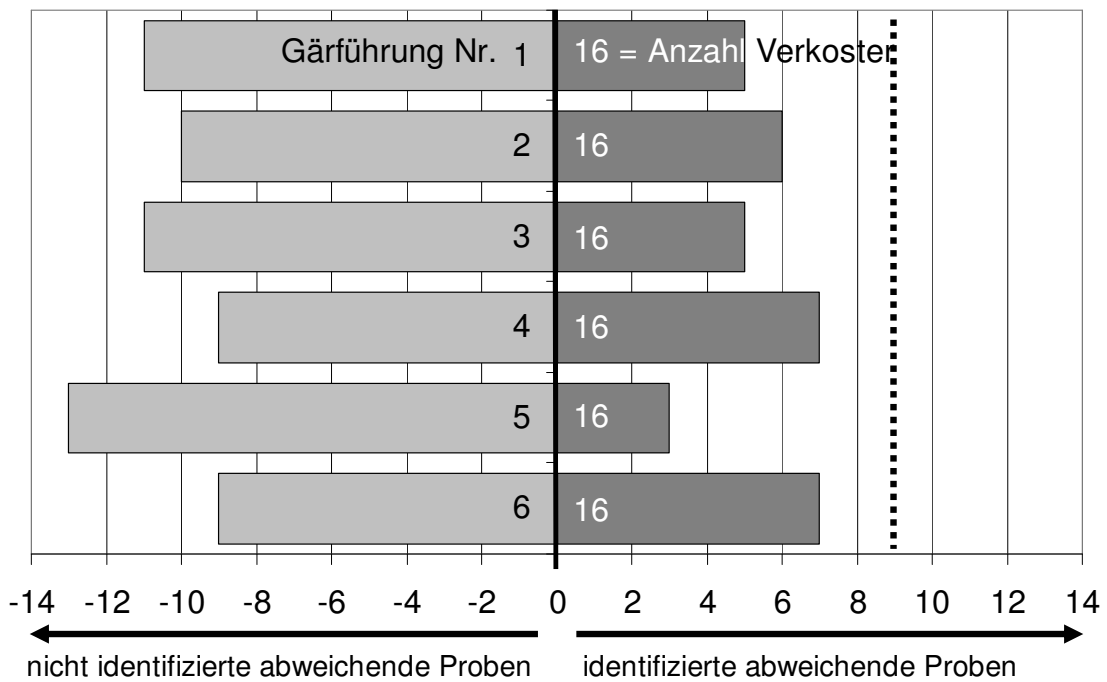


Abb. 15: Ergebnisse des Dreieckstests zur Ermittlung der Fähigkeit der Verkoster, frische Biere, die aus trüber Abläuterung und Standardläuterung stammten, zu unterscheiden. Rechte Balken: Anzahl der Verkoster, welche die abweichende Probe korrekt identifizierten; linke Balken: Anzahl der Verkoster, welche die abweichende Probe nicht korrekt identifizierten; nicht geschultes Verkosterpanel; gestrichelte Linie: minimale Anzahl der richtig zu identifizierenden Proben, um eine signifikante Unterscheidung zu begründen ($p = 0,95$; $n = 16$) [108].

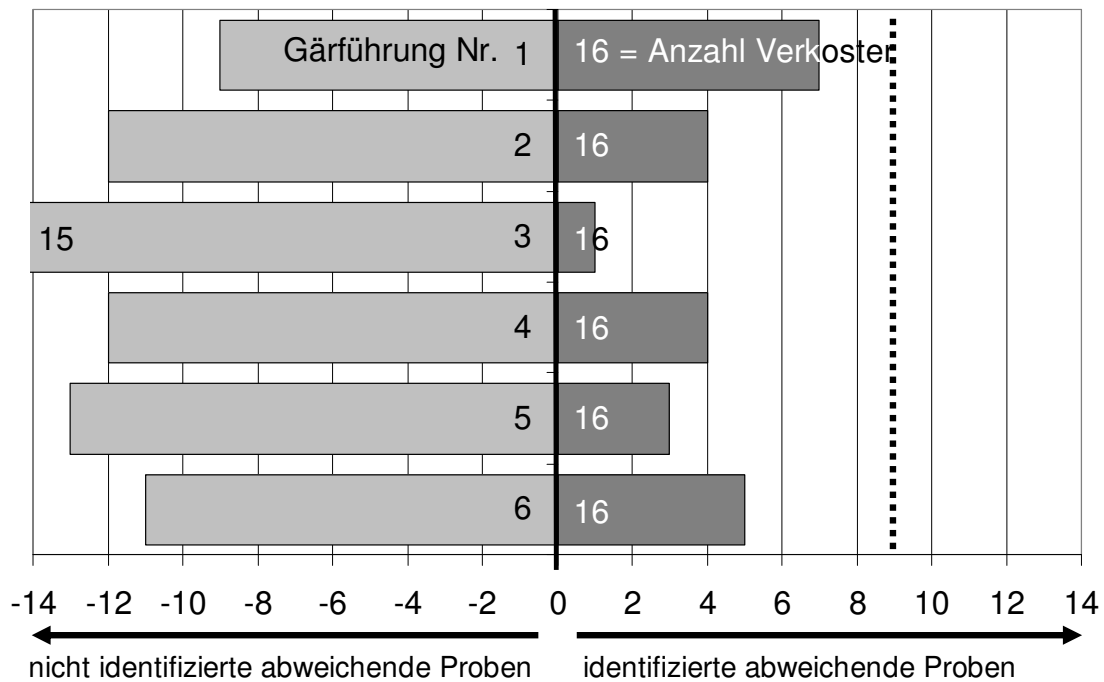


Abb. 16: Ergebnisse des Dreieckstests zur Ermittlung der Fähigkeit der Verkoster, forciert gealterte Biere, die aus trüber Abläuterung und Standardläuterung stammten, zu unterscheiden. Rechte Balken: Anzahl der Verkoster, welche die abweichende Probe korrekt identifizierten; linke Balken: Anzahl der Verkoster, welche die abweichende Probe nicht korrekt identifizierten; nicht geschultes Verkosterpanel; gestrichelte Linie: minimale Anzahl der richtig zu identifizierenden Proben, um eine signifikante Unterscheidung zu begründen ($p = 0,95$; $n = 16$) [108].

4.2.5 Einfluß auf die Trübungs- und Schaumstabilität

Die trübe Abläuterung scheint eine um etwa einen Wärmegrad verminderte Trübungsstabilität zu verursachen, wobei sich der Mittelwert über sechs Gärführungen nicht signifikant unterscheidet.

Die Biere aus trüben Abläuterungen zeigen eine signifikant höhere Schaumstabilität für alle Biere außer bei der ersten Führung (Abb. 17). Dabei waren die Nibem-Werte jeweils um 10 bis 30 s signifikant erhöht. In beiden Reihen konnte ein Anstieg der Schaumstabilität bis zur dritten bzw. vierten Gärführung mit einem anschließenden Abfall bis zur sechsten Führung beobachtet werden.

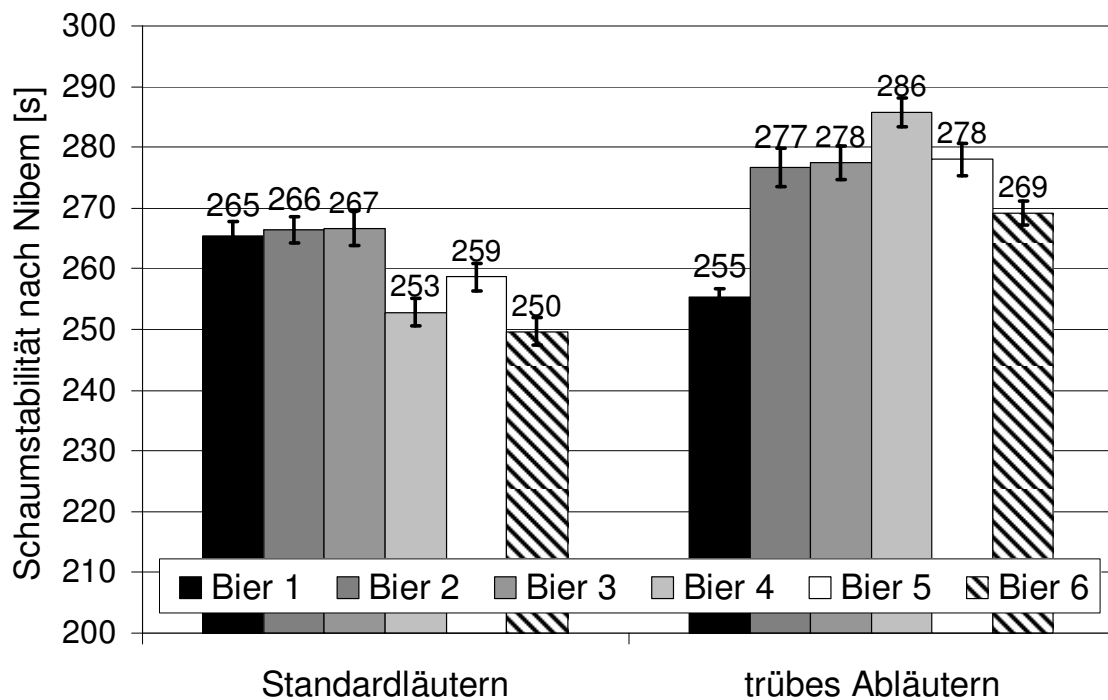


Abb. 17: Schaumstabilität nach Nibem der Biere aus sechs Gärführungen bei Variation des Läuterregimes (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 16$) [108].

4.2.6 Diskussion

Diese Versuchsreihe zeigt, daß durch eine Veränderung der Abläuter-Steuerung und insbesondere der Hackwerksführung die Läutertrübung auch im großtechnischen Maßstab gezielt erhöht werden kann, was frühere Untersuchungen bestätigt [144,150,157,180,181]. Wie im Pilotmaßstab beobachtet worden war (siehe 4.1.1), konnte auch hier eine starke Abnahme der freien Fettsäuregehalte über den Sudprozeß festgestellt werden. So nimmt der Gehalt an langkettigen freien Fettsäuren von der Maische bis zur Kühlmitte um etwa 88 % ab. Dies bestätigt, daß Läutern und Kochen im Sudhaus quasi eine stufenförmige Reinigung bzw. Filtration der Würze darstellen, wie sie vielfach in der Literatur beschrieben worden ist [11,54,67,72,99,144,148,210]. Dabei haben die Würzekochung und Heißtrubentfernung eine angleichende Wirkung auf die Konzentrationen an freien Fettsäuren in der Würze, wie bereits bei den Pilotuntersuchungen beobachtet wurde (siehe 4.1.1). In bezug auf das Fettsäureprofil konnte die bereits aus der Literatur bekannte Dominanz der C18:2 und C16 in Sudhauswürzen bestätigt werden [8,117,144,193]. Ansonsten war die Qualität der Würzen in bezug auf die untersuchten Analyten trotz des Unterschieds der mittleren Trübung von 39 EBC sehr ähnlich, was wenigstens zum Teil mit der ausgleichenden Wirkung der Würzekochung (vgl. 4.1.1) in Kombination mit einer Würzeklärung im Whirlpool zurückzuführen ist. Dies deckt sich mit Literaturaussagen, wonach der Einfluß der Läutertrübung auf die Würzequalität generell überschätzt wird [191]. Einschränkend ist jedoch

hinzuzufügen, daß die verwendete Analytik meist nur die in der Würze gelösten Stoffe erfaßt, während sich Stoffe, die möglicherweise an Trübungspartikeln anhaften, beispielsweise bedingt durch die Probenaufbereitung, der analytischen Erfassung entziehen. Aus diesem Grund kann nicht ausgeschlossen werden, daß trotz der analytischen Ähnlichkeit wenigstens der gelösten Bestandteile der Würze ein adsorptiver Transport relevanter Stoffe, wie beispielsweise langkettige Fettsäuren und Zn, durch nicht abgetrennte Heißtrubpartikeln in die Anstellwürze gelangen.

Anhand dieses Versuchs konnte die förderliche Wirkung trüberer Abläuterung auf die Gärleistung teilweise signifikant über sechs Führungen nachgewiesen werden, was die im Pilotversuch (siehe 4.1.2) beschriebenen Erkenntnisse untermauert. Auch die Beobachtung, daß sich durch die Steigerung der Läutertrübung die Hauptgärung in etwa um einen Tag verkürzt, konnte hier im großtechnischen Ansatz bestätigt werden. Die deutlichen Unterschiede selbst bei der sechsten Gärführung zeigen, daß die Hefe nicht nur in der Lage ist, eine Würze mit erhöhter Trübung zu verkraften, sondern offensichtlich erheblichen Nutzen aus der Trübungsfracht in bezug auf die Gärleistung zieht. Dabei schadet die erhöhte Läutertrübung auch nicht der weiteren Verarbeitbarkeit, wie beispielsweise der Filtrierbarkeit, wovon bisher nicht ausgegangen wurde [60,176,180].

In bezug auf die Bierqualität waren die resultierenden Biere trotz des beträchtlichen Unterschieds der Läutertrübung verhältnismäßig ähnlich. Selbst bei der Geschmacksstabilität wurde aufgrund der erhöhten Läutertrübung nur eine geringe und nicht signifikante Zunahme der Alterungsindikatoren gemessen, die vermutlich mit der leichten Zunahme an C18:2 korreliert. Dieses analytische Ergebnis wird durch die Tatsache gestützt, daß weder ein geschultes noch ein ungeschultes Verkosterpanel in der Lage ist, ein Bier aus trüber und normaler Würze weder im frischen noch im gealterten Zustand eindeutig zu unterscheiden. Diese Erkenntnis zeigt, daß die nachteiligen Wirkungen erhöhter Läutertrübung bisher wohl deutlich überschätzt worden sind. Da die Bierstabilität nicht nur von den in die Würze eingebrachten Stoffen und deren Abbauprodukten abhängt, wie es ausführlich in der Literatur diskutiert worden ist [1,8,38,54,55,60,131,142,149,162,192,205], sondern auch zu einem erheblichen Teil von der Qualität der Gärung, ist bei der Diskussion über die Trübungs- und Schaumstabilitäten eine Gesamtbetrachtung aller Einflüsse zwingend erforderlich. Die Notwendigkeit hierfür zeigt sich exemplarisch darin, daß trotz des Einbringens einer tendenziell höheren Fettsäurefracht in die Würze bei erhöhter Läutertrübung die Schaumstabilität fast aller resultierenden Biere gegenüber der Kontrolle signifikant erhöht ist. Hier scheint der Einfluß eines positiven Gärverlaufs den von sich auf die Schaumstabilität negativ wirkenden, möglicherweise in erhöhtem Maße eingebrachten Trübungsstoffen zu überwiegen, was in einer positiven Gesamtwirkung resultiert. Damit kann geschlußfolgert werden, daß eine Anhebung der Läutertrübung, wie sie im Sudhaus eingestellt werden kann, zu einer Verbesserung der Gärleistung führt, wobei entgegen der Erwartungen und Literaturaussagen [4,15,128,132,144,161,178] eine wesentliche Verschlechterung der Bierqualität und –stabilitäten ausbleibt, sondern im Gegenteil teilweise deren Verbesserung zu erwarten ist.

4.3 Rücklöseverhalten von langkettigen Fettsäuren und Zink aus Heißtrub [110]

Nachdem bei den Gärversuchen im Pilotmaßstab eine positive Wirkung von Läutertrübung und Heißtrub auf die Gärung festgestellt worden war (siehe 4.1), stellt sich die Frage, woher dieser Einfluß kommt. Sowohl in der Literatur als auch in vorangegangenen Untersuchungen ist ein erhöhter Gehalt an langkettigen Fettsäuren und Zn in sehr trüber Würze festgestellt worden. Aufgrund dessen sollte in dieser Untersuchung auf den Konzentrationsverlauf der freien, langkettigen Fettsäuren detaillierter eingegangen und das Rücklöseverhalten von freien Fettsäuren und Zn aus Heißtrub in die Würze charakterisiert werden.

4.3.1 Freie Fettsäuren im Verlauf der Würzebereitung

Die Abbau- und Lösungsprozesse des Maischens setzen eine große Menge an langkettigen Fettsäuren (C14 bis C18:3: > 25 mg/l) frei. Aufgrund der weiteren Behandlung der Maische bzw. Würze nimmt dieser Gehalt im Verlauf der Sudhausarbeit schrittweise ab. Verfahrenstechnisch ist der Läuterschritt als Filtrationsschritt anzusehen, bei dem nicht nur Feststoffe, wie Spelzen, sondern auch gelöste und dispergierte Substanzen aus der Maische entfernt werden. Dies kommt bei der Vorderwürze mit einem gegenüber der Maische reduziertem Gehalt an langkettigen freien Fettsäuren von 15 bis 20 mg/l zum Ausdruck. Die Nachgüsse und Pfanne-voll-Würzen weisen einen ähnlichen Gehalt von ca. 15 mg/l auf. Nach einer Würzekochung von 60 min Dauer, werden nur noch ca. 5 mg/l an freien Fettsäuren gefunden. Dies bedeutet eine Abnahme der freien Fettsäuren während der Kochung um ca. 72 % und läßt auf eine Anlagerung an den sich bildenden Heißtrub schließen, während die Gesamtgehalte in der Würze während des Kochens in etwa konstant bleibt. Von der Ausschlag- zur Kühlmittewürze fällt der Gehalt weiter auf etwa 3 mg/l ab. Die Tatsache, daß sich die Konzentrationen vor und nach der Whirlpoolsedimentation kaum unterscheiden, zeigt, daß der größte Teil der Fettsäuren beim Eintritt der Würze in den Whirlpool bereits am Heißtrub gebunden oder abgebaut war. Die Gesamtkonzentration von 3 mg/l stellt einen relativ hohen Wert dar, der vermutlich auf den technischen Stand des Sudwerks zurückzuführen ist. Für modernere Sudhäuser mit neuen Läuterbottichen erscheinen Konzentrationen von 1 bis 2 mg/l in der Kühlmittewürze eher als typisch und näher an Literaturwerten. Bei der Betrachtung des Fettsäureprofils der Vorderwürze fällt die bereits diskutierte Dominanz der C18:2 (6,5 mg/l) und der C16 (4 mg/l) auf, während alle übrigen Fettsäuren nur in Konzentrationen < 0,5 mg/l zu finden sind.

4.3.2 Rücklösung langkettiger Fettsäuren

Durch eine kurzzeitige Beaufschlagung einer Kühlmittewürze aus industrieller Produktion mit einer großen Hefegabe konnte der Gehalt an freien Fettsäuren im Mittel von 0,67 auf 0,50 mg/l und der Zn-Gehalt von 0,13 auf 0,05 mg/l gesenkt werden. Dieser Abreicherungsschritt sollte helfen, den Effekt der Rücklösung dieser physiologisch interessanten Stoffe aus dem Heißtrub in seinem natürlichen Medium, möglichst einer nährstoffarmen Würze, zu untersuchen. Da die Hefe, wie dieser Schritt zeigt, einen erheblichen Einfluß auf die zu untersuchenden Analyten hat, wurde auf die Untersuchung einer realen Gärung verzichtet.

Bereits 30 min nach der Zugabe von Heißtrub in einer Menge von 800 mg Trockensubstanz (Trs)/l zur Würze und dauerndem Umschwenken wurde eine Freisetzung langkettiger Fettsäuren (C14 bis C18:3) beobachtet, wobei nach 4 h das Maximum von 0,9 mg/l über der Ausgangskonzentration erreicht war (Abb. 18). Ein längerer Kontakt von Würze und Heißtrub, führte bei einem Beobachtungszeitraum von bis zu sieben Tagen zu keinem weiteren Anstieg der Konzentration.

Um die sich verändernden Bedingungen während der Gärung zu simulieren, wurden zudem Löseversuche angesetzt, bei denen entweder der Würze-pH-Wert auf 4,0 und der Ethanolgehalt auf 5 Volumenprozent (vol.%) oder beides eingestellt wurde. Diese Veränderungen der Bedingungen führten jedoch zu keinem Unterschied bei der Freisetzung von langkettigen Fettsäuren.

Wurde bei der Probenvorbereitung der Rücklöseversuche auf den Filtrationsschritt zur Entfernung der Partikelfracht verzichtet, so daß nicht nur die freien, sondern auch die an den Heißtrubpartikeln anhaftenden Fettsäuren erfaßt wurden, konnte eine maximale Konzentration von 4 mg/l erreicht werden. Dieses Maximum stellte sich 1 bis 2 Tage nach Zugabe des Heißtrubs zur Würze ein.

Dies bedeutet einerseits, daß durch die Heißtrubzugabe eine Menge an langkettigen Fettsäuren freigesetzt wird, die in der Größenordnung der natürlichen Fettsäuregehalte der Kühlmittewürzen (ca. 1 bis 2 mg/l) liegt. Andererseits beinhaltet der Heißtrub ein um etwa den Faktor vier höheres Potential für die weitere Freisetzung. Ob es bei der Aufnahme von Fettsäuren durch die Hefezellen zu einem „Nachlösen“ von Fettsäuren kommt, ist aus dem hier angewandten Versuchsansatz nicht ersichtlich, muß jedoch in Betracht gezogen werden.

Neben der absoluten Menge an Fettsäuren, wurde auch deren Profil untersucht. Dabei zeigt die Rücklösung ein ähnliches Profil wie die Vorderwürze (siehe 4.3.1) mit der C18:2 und C16 als den vorherrschenden Fettsäuren, wobei allerdings die C16 überwiegt, was vermutlich an den etwas unterschiedlichen Wasser- bzw. Würzelöslichkeiten der beiden Fettsäuren liegt.

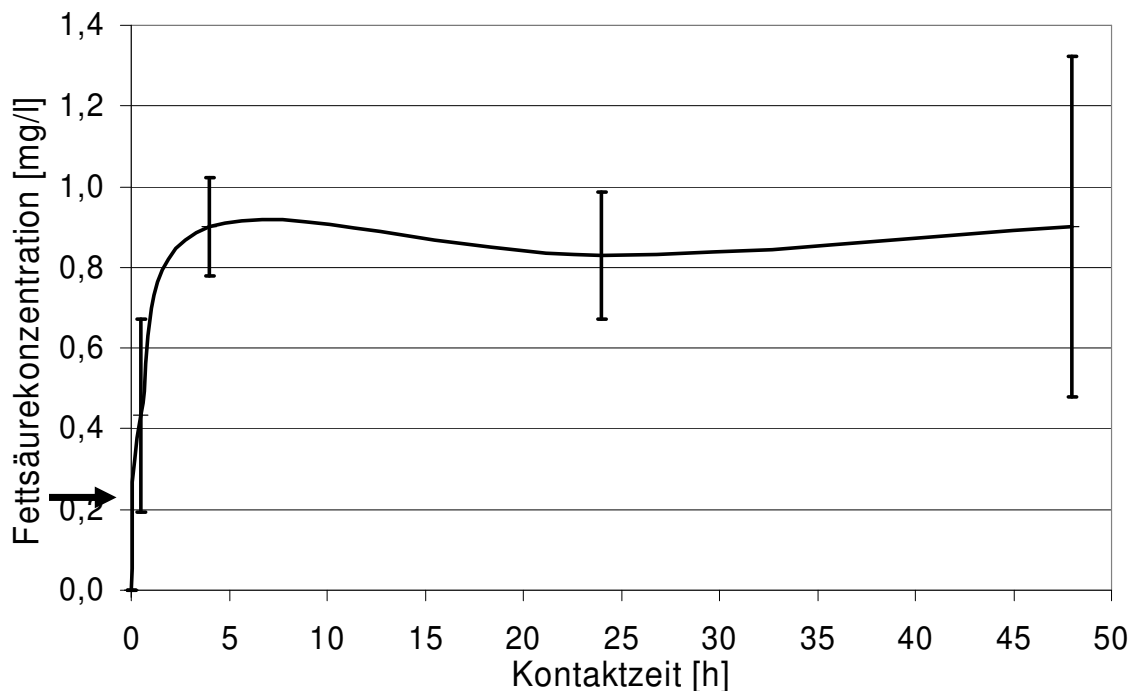


Abb. 18: Rücklösung langkettiger Fettsäuren (C14 bis C18:3) nach Zugabe von Heißtrub zur Würze (800 mg Trs/l bei $t = 0$) in Abhängigkeit von der Kontaktzeit von Trub und Würze. Der Pfeil an der Ordinate gibt den ursprünglichen Gehalt der Würze vor einer Hefebehandlung an, während der Ursprung ($t = 0$) den Gehalt nach der Hefebehandlung und unmittelbar vor der Trubzugabe angibt (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle: $p = 0,95$; $n = 6$) [110].

4.3.3 Rücklösung von Zink und Magnesium

Ähnlich wie bei den Fettsäuren wurde für Zn bereits 30 min nach Zugabe des Heißtrubs zur Würze und dauerndem Umschwenken eine Freisetzung gemessen. Nach 4 h wurde ein mittlerer Maximalwert von 0,14 mg/l erreicht (Abb. 19). Spätere Probenahmen nach einer Kontaktzeit von bis zu sieben Tagen zeigten keine höheren Werte. Die Einstellung der pH-Wert- oder Ethanol-Bedingungen oder beidem (auf pH 4,0/5 vol.%) hatte keine Auswirkung auf die Zn-Freisetzung.

Da die Ausgangsgehalte der Würze an Mg relativ hoch sind, konnte in einem Vorversuch kein Einfluß der Heißtrubzugabe festgestellt werden. Die Endkonzentrationen aller Ansätze lagen im Bereich von 108 bis 116 mg/l, ohne erkennbaren Unterschied.

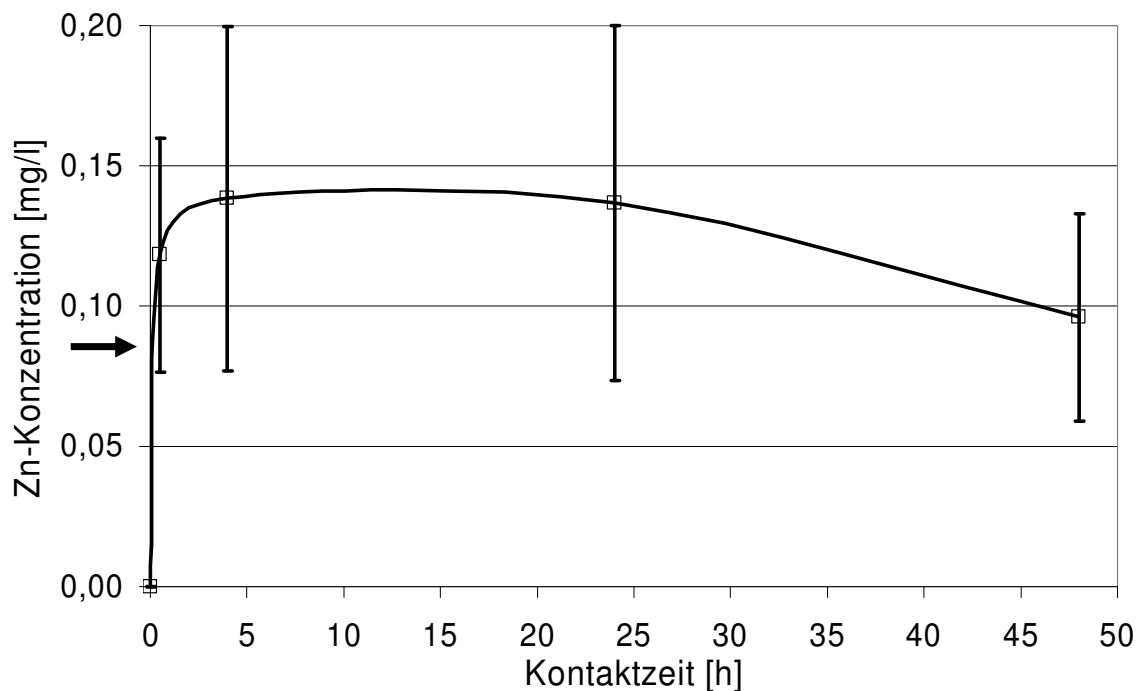


Abb. 19: Rücklösung von Zn nach Zugabe von Heißtrub zur Würze (800 mg Trs/l bei $t = 0$) in Abhängigkeit von der Kontaktzeit von Trub und Würze. Der Pfeil an der Ordinate gibt den ursprünglichen Gehalt der Würze vor einer Hefebehandlung an, während der Ursprung ($t = 0$) den Gehalt nach der Hefebehandlung und unmittelbar vor der Trubzugabe angibt (Fehlerbalken: Konfidenzintervalle: $p = 0,95$; $n = 6$) [110].

4.3.4 Diskussion

Wie bereits in den vorstehenden Untersuchungen dargestellt und innerhalb dieser Versuchsreihe bestätigt wurde, nimmt während des Würzebereitungsprozesses der Gehalt an freien, langkettigen Fettsäuren von der Maische mit den höchsten Gehalten bis zur Kühlmittewürze stufenweise ab, was frühere Beobachtungen bestätigt [11,35,54,67,72,99,100,106,144,148,153,210]. Das heißt, der Eintrag an Fettsäuren wird durch die Intensität des Maischens und des Abläuterns bestimmt, während die Abnahme insbesondere durch das Kochen bestimmt wird. Korrespondierend zu den Fettsäuren, weist Zn eine hohe Affinität zum Heißtrub auf und wird daher bevorzugt an diesen adsorbiert, vermutlich in Form von Chelatverbindungen. Schließlich wird der Heißtrub, der hohe Gehalte an beiden Stoffklassen aufweist, während der Würzeklärung z.B. im Whirlpool weitestgehend aus der Würze entfernt, so daß gewöhnlich geringe Endgehalte in den Kühlmittewürzen resultieren. Daher kommt der Heißtrubbildung und –entfernung eine entscheidende Rolle bei der Abreicherung der Würze an Fettsäuren und Zn im Sudhaus zu.

Aus dieser Untersuchung ergibt sich, daß sich sowohl langkettige Fettsäuren als auch Zn sehr schnell in Würze rüchlösen können und bei der entsprechenden mechanischen Einwirkung das Maximum der Rücklösung bereits nach 4 h erreicht ist. Wird für einen realen Gärtank eine gleiche Freisetzungskinetik angenommen, wären beide Nährstoffarten für das Hefewachstum bereits kurz nach Gärbeginn verfügbar, wo auch eine verstärkte Aufnahme

beobachtet worden ist [120]. Die Bioverfügbarkeit, wie sie von Lentini *et al.* für C18:2 aus Trub bereits angedeutet worden ist, kann somit bestätigt werden [117]. Während die freigesetzte Menge an Fettsäuren in etwa der in Kühlmittewürzen vorkommenden Konzentration entspricht, liegt in den Trubpartikeln noch eine weitaus höhere potentielle Freisetzungsmenge vor, deren mögliche Wirkung bei bisherigen Betrachtungen eher außen vor blieb. Weiterführende Untersuchungen zur Bestimmung der genauen Freisetzungskinetiken unter realen Gärbedingungen erscheinen somit sinnvoll. Die Analogie der Fettsäureprofile einer Vorderwürze und der mit einem Heißtrub beaufschlagten Würze erlaubt die Schlußfolgerung, daß die im Heißtrub vorhandenen Fettsäuren im wesentlichen bei der Würzekochung am Heißtrub abgeschieden worden sind, wodurch bisherige Beobachtungen weitergehend erhärtet werden [100,105,144,181]. Die hier untersuchte Freisetzung langkettiger Fettsäuren könnte einer der Gründe für die zuvor festgestellte, positive Wirkung einer Heißtrubzugabe auf die Gärleistung sein (siehe 4.1).

Beim Zn stellt die Freisetzung von 0,14 mg/l aus dem Heißtrub einen schnellen und signifikanten Beitrag zur Hefeernährung dar. Selbst wenn eine Kühlmittewürze frei von Zn wäre, würde eine vollständige Heißtrubzugabe in der angewandten Form für eine Vollversorgung der Hefe in bezug auf Zn genügen. Die große Menge an freigesetztem Zn gibt auch einen Hinweis auf die hohe Bioverfügbarkeit des trubgebundenen Zn. Im Gegensatz dazu konnte keine nennenswerte Freisetzung von Mg festgestellt werden. Diese Erkenntnisse ergänzen die von Kreder gemachte Feststellung der hohen Bioverfügbarkeit von Zn aus Kühltrub in analoger Weise [106], stehen aber in Widerspruch zu Lentinis These der starken Zn-Bindung an Trub [117].

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe legen den Schluß nahe, daß die im Vorversuch (siehe 4.1) festgestellte positive Wirkung des Heißtrubs auf die Gärung wenigstens teilweise auf einen Nähreffekt zurückzuführen ist. Die im Trub verstärkt vorkommenden, langkettigen Fettsäuren und Zn spielen hierbei offensichtlich eine Schlüsselrolle, was sich mit der Aussage früherer Veröffentlichungen vielfach deckt [27,118,174,178,199,203].

4.4 Untersuchungen der Partikelgrößenverteilung von Würze und Heißtrub [111]

Die Untersuchung der Partikelgrößenverteilung der Würze während der Sudhausarbeit fand bisher nur punktuell Anwendung. Insbesondere liegen keine systematischen Untersuchungen vor, welche die Gegebenheiten bei modernen Läuter- und Kochsystemen beschreiben. Aus diesem Grund wurde eine systematische Untersuchung an sieben großtechnischen Sudwerken mit unterschiedlichster technischer Ausstattung sowie einem Pilotsudwerk durchgeführt. Die Versuchsreihe sollte einerseits Grundlagenerkenntnisse über den Läutervorgang, aber auch über die Heißtrubbildung bei der Würzekochung sowie die Wirksamkeit der Feststoffabtrennung während der Würzeklärung liefern. Andererseits

steht sie in Zusammenhang mit der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe, bei der u.a. die Wirkung verschiedener Partikelarten und –größen auf die Gärleistung untersucht wird.

4.4.1 Identifizierung wichtiger Partikelgrößen der Würze

Die Darstellung der Partikelgrößen-Dichteverteilung (q_3) der Prozessschritte Abläutern, Würzekochung und Würzeklärung zeigt drei wesentliche Signale, die bei etwa $5\ \mu\text{m}$ (nachfolgend als „fein“ bezeichnet), $20\text{ bis }25\ \mu\text{m}$ („mittel“) und $235\ \mu\text{m}$ („grob“) liegen (Abb. 20, 21). Diese Klassifikation war bei allen untersuchten großtechnischen Anlagen sehr ähnlich, so daß im folgenden die Darstellung im wesentlichen auf diese drei Größenklassen beschränkt wird.

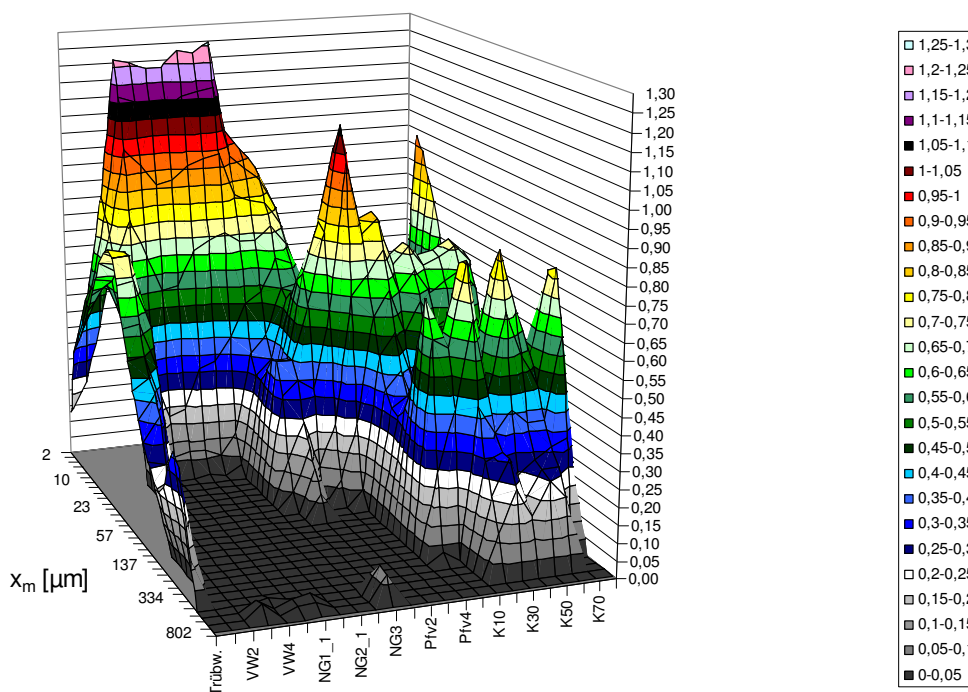


Abb. 20: Beispielhafte Partikelgrößen-Dichteverteilung q_3 der Würze während der Abläutern, Würzekochung und –klärung (Läutersystem: Läuterbottich; Kochsystem: Innenkocher mit Zwangs-anströmung; x-Achse: Äquivalentdurchmesser x_m [μm]; y-Achse: Verfahrensschritt (Trübw. = Trübwürzepumpen; VW = Vorderwürze; NG = Nachguß; Pfv = Sammeln/Aufheizen der Würze; 1, 2, 3 etc.: Proben-Numerierung; Kx = Kochung, Probenahme x min nach Kochbeginn; K70 = Aus-schlagwürze; KM = Kühlmittewürze; z-Achse: relative Signalintensität q_3 [$1/\mu\text{m}$] [111]).

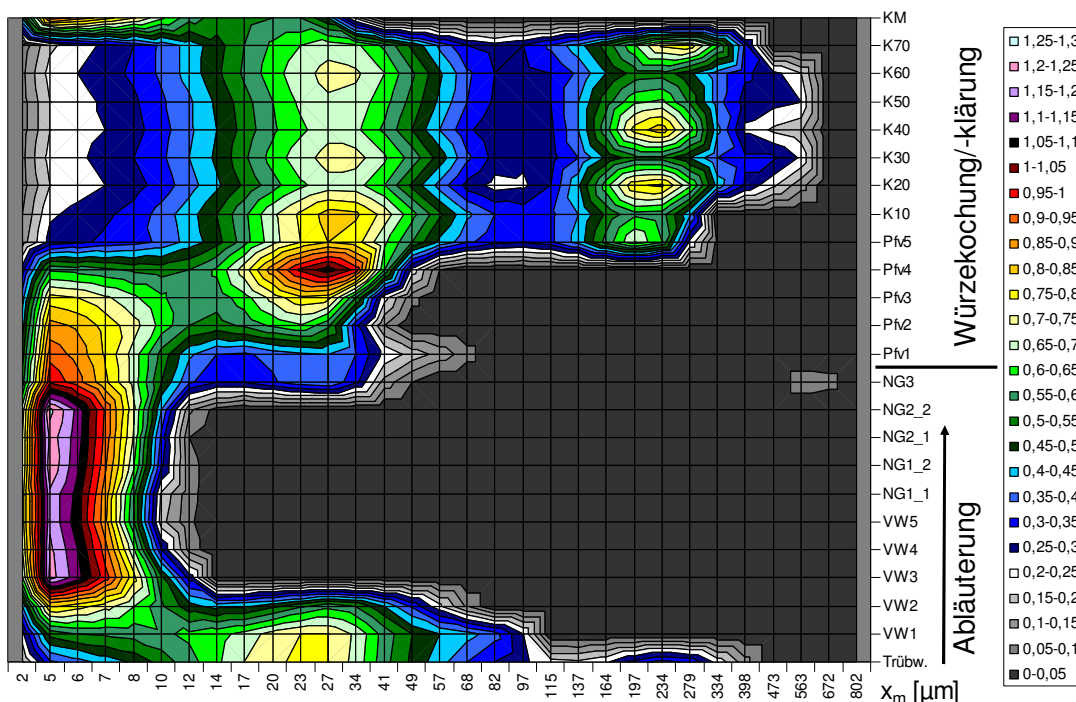


Abb. 21: Draufsicht einer beispielhaften Partikelgrößen-Dichteverteilung q_3 der Würze während der Abläuterung, Würzekochung und -klärung (Läutersystem: Läuterbottich; Kochsystem: Innenkocher mit Zwangsanströmung; x-Achse: Äquivalentdurchmesser x_m [μm]; y-Achse: Verfahrensschritt (Trübw. = Trübwürzepumpen; VW = Vorderwürze; NG = Nachguß; Pfv = Sammeln/Aufheizen der Würze; 1, 2, 3 etc.: Proben-Numerierung; Kx = Kochung, Probenahme x min nach Kochbeginn; K70 = Ausschlagwürze; KM = Kühlmittewürze; z-Achse: relative Signalintensität q_3 [1/μm]) [111].

4.4.2 Abläutern

Während des Trübwürzepumpens waren die mittleren Partikel dominant, während feine und grobe Partikel nur untergeordnet vorkamen (Abb. 22). Beim Abläutern der Vorderwürze verschwanden zuerst die groben, dann folgten innerhalb kurzer Zeit die mittleren Partikel, so daß der weitere Verlauf im wesentlichen von feinen Partikeln bestimmt war. Die Dominanz der feinen Partikel setzte sich über das Abläutern der Vorderwürze und Nachgüsse hinaus fort, bis am Ende des Abläuterns, beim Abläutern des letzten Nachgusses bzw. des Glatzwassers, die mittleren Partikel wieder erscheinen. Bei intensivem Aufhacken oder Tiefschnitten kann es ebenfalls zu einem Auftreten der mittleren Fraktion kommen. Die Partikelgrößenverteilungen der Läuterwürze korrelieren mit der Läutertrübung in EBC-Einheiten. Die EBC-Trübung nimmt während des Trübwürzepumpens schnell ab und erreicht ihren niedrigsten Wert während des Vorderwürzeabzugs, bei dem die groben und mittleren Teilchen in der Regel nicht mehr in der Würze vorhanden sind. Nimmt die Läutertrübung sehr niedrige Werte an, ist typischerweise nur Feintrübung in der Würze vorhanden, die von 5 μm-Partikeln verursacht wird. Wenn gegen Ende des Abläuterns die EBC-Läutertrübung wieder zunahm, konnten entsprechend auch wieder Partikel

von mittlerer Größe in der Würze gefunden werden. Darüber hinaus waren bei älteren Läuterbottichen oder unzureichend eingestellten Steuerungen auch grobe Partikel zu finden, in seltenen Fällen auch während des Abläuterns.

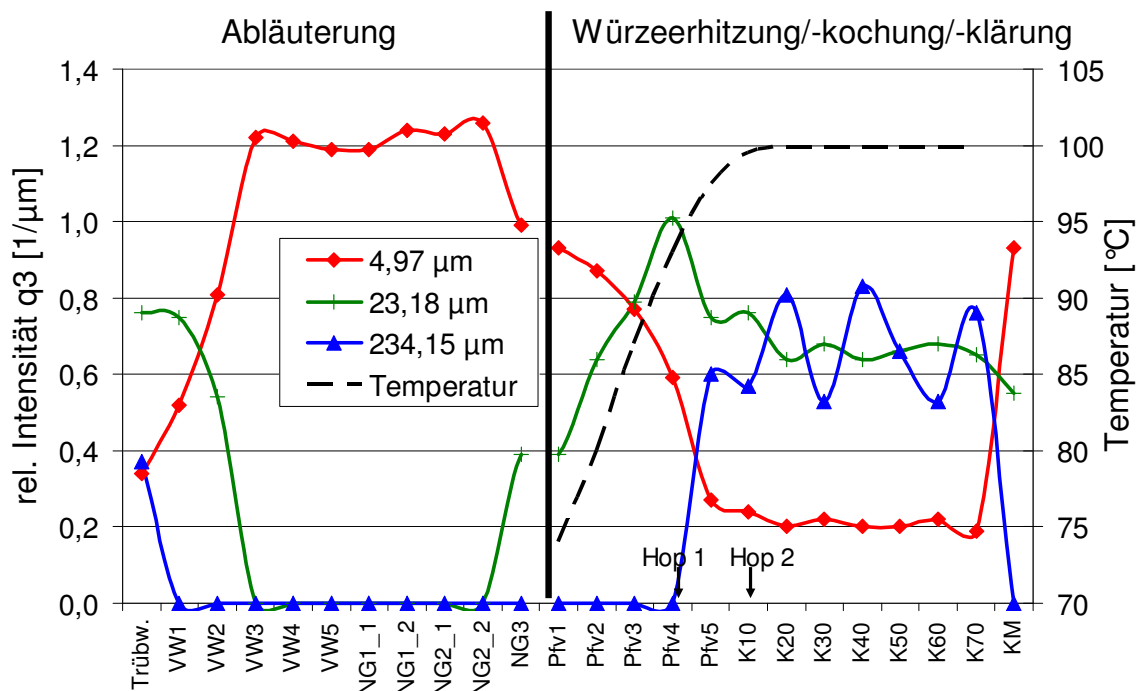


Abb. 22: Schnittverläufe der Partikelgrößen-Dichteverteilung q_3 der Würze während der Abläuterung, Würzekochung und -klärung (Läutersystem: Läuterbottich; Kochsystem: Innenkocher mit Zwangsanströmung) unter Darstellung der ausgewählten Partikelgrößenklassen mit Äquivalentdurchmessern von 4,97, 23,18 und 234,15 μm und der Temperatur während der Würzesammlung und -kochung (gestrichelte Linie); x-Achse: Verfahrensschritt (linke Seite: Abläuterung; rechte Seite: Würzekochung und -klärung); Trübw. = Trübwürzepumpen; VW = Vorderwürze; NG = Nachguß; Pfv = Sammeln/Aufheizen der Würze; 1, 2, 3 etc.: Proben-Numerierung; Kx = Kochung, Probenahme x min nach Kochbeginn; K70 = Ausschlagwürze; KM = Kühlmittewürze; y1-Achse: relative Signalintensität q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2-Achse: Temperatur der Würze während Aufheizen und Kochung; Pfeile: Zeitpunkte der Hopfengaben (Hop 1 und 2: Pellethopfung) [111].

Neben verschiedenen Läuterbottichen wurde auch ein Maischefilter modernster Bauart untersucht (Abb. 23). Hierbei traten die Grobpartikel nur beim Trübwürzepumpen auf und zwar in einem geringeren Ausmaß als bei den Läuterbottichen. Die mittleren Partikel dominierten während des Trübwürzepumpens und des Vorderwürzeabzugs und waren auch über den gesamten restlichen Abläuterprozeß präsent. Gegen Ende des Abläuterns nahmen sie, ähnlich wie bei einem Läuterbottich, wieder zu, während grobe Teilchen nicht auftraten. Dies bedeutet, daß Würzen, die von einem Maischefilter stammen, zusätzlich zum Feinanteil, der auch bei den Läuterbottichwürzen vorkommt, einen bemerkenswerten Anteil an der Mittelfraktion haben.

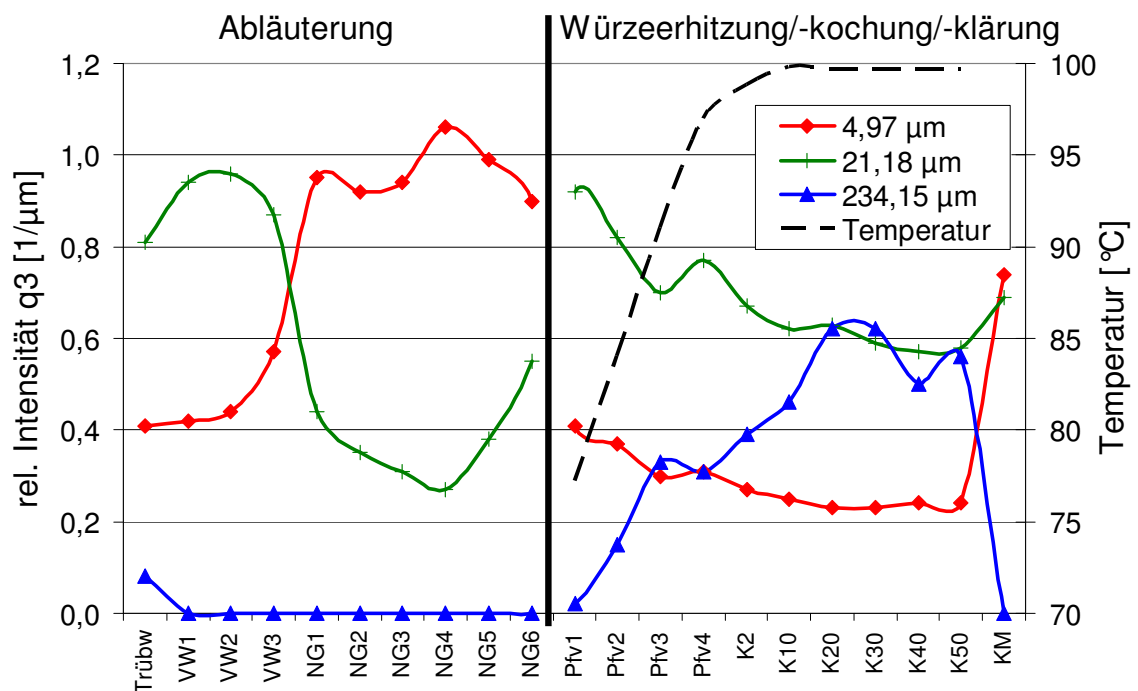


Abb. 23: Schnittverläufe der Partikelgrößen-Dichteverteilung q_3 der Würze während der Abläuterung, Würzekochung und -klärung (Läutersystem: Maischefilter; Kochsystem: Außenkocher) unter Darstellung der ausgewählten Partikelgrößenklassen mit Äquivalentdurchmessern von 4,97, 23,18 und 234,15 μm und der Temperatur während der Würzesammlung und -kochung (gestrichelte Linie); x-Achse: Verfahrensschritt (linke Seite: Abläuterung; rechte Seite: Würzekochung und -klärung); Trübw. = Trübwürzepumpen; VW = Vorderwürze; NG = Nachguß; Pfv = Sammeln/Aufheizen der Würze; 1, 2, 3 etc.: Proben-Numerierung; Kx = Kochung, Probenahme x min nach Kochbeginn; K50 = Ausschlagwürze; KM = Kühlmittewürze; y1-Achse: relative Signalintensität q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2-Achse: Temperatur der Würze während Aufheizen und Kochung [111].

4.4.3 Würzekochung

Die intensivste thermische Behandlung der Würze findet beim Würzekochen statt. Dieser Verfahrensschritt gliedert sich in Würzeerhitzung und in das eigentliche Kochen. Er wird meist mit technologischen Parametern, wie der Zunahme der TBZ, der Verdampfungsrate, der Abnahme an DMS-Konzentration und an N koag., beschrieben. Grundlegende Erkenntnisse zur Partikelgrößenverteilung und deren Veränderung während der Kochung liegen bisher noch nicht vor, insbesondere im Hinblick auf moderne Kochsysteme.

4.4.3.1 Sammeln und Erhitzen der Würze

Im praktischen Sudbetrieb wird die Würze während des Abläuterns in der Würzepfanne gesammelt und bereits vor dem Ende des Abläuterns mit dem Erhitzen begonnen. Beim Erreichen des Pfanne-voll-Zustands hat die Würze meist eine Temperatur von 90 bis 95 °C, so daß nach kurzem, weiterem Aufheizen schnell mit dem eigentlichen Kochen begonnen werden kann. Obwohl in der Literatur primär die Vorgänge während der Würzekochung diskutiert werden, scheint es interessant zu untersuchen, was vor dem Erreichen der Kochtemperatur in der Pfanne vor sich geht.

Aus Abb. 22 geht hervor, daß die gesammelte Läuterwürze vor dem Erhitzen eine ähnliche Partikelgrößenverteilung wie während des Abläuterns aufweist. Die feinen Partikel dominieren, die mittleren Partikel kommen zu einem geringeren Anteil vor, während grobe Partikel nicht vorkommen. Im Praxisversuch nimmt das relative Signal der mittleren Partikel beim Aufheizen der Würze bis zur Kochtemperatur zu, während das der feinen abnimmt. Dies bedeutet, daß bereits während des Aufheizens mittlere Partikel entstehen, während die Feintrübung relativ dazu abnimmt. Daraus kann geschlossen werden, daß die Bildung des Heißtrubs nicht erst ab dem Erreichen der Kochtemperatur der gesamten Würzmenge in der Pfanne entsteht, sondern bereits beim Aufheizen. Tatsächlich nahm das Signal der mittleren Partikel parallel zum Temperaturverlauf zu, bis die gesamte Würze auf Kochtemperatur war. Zur Bestätigung dessen wurde ein Läuter- und Kochversuch im Pilotmaßstab angesetzt, bei dem die gesamte Läuterwürze zunächst in der Pfanne gesammelt und mittels Rührwerk homogenisiert wurde, bevor mit dem Aufheizen begonnen wurde. Hierbei wurde die gesamte Pfanne-voll-Würze gleichmäßig unter Rühren aufgeheizt. Die mittleren Partikel traten erst auf, als eine Temperatur nahe der Kochtemperatur (98 °C) erreicht war. Dies bedeutet, daß zur Bildung von Heißtrub wenigstens eine Temperatur nahe der Kochtemperatur erreicht sein muß. Im Gegensatz dazu wurde bei allen großtechnischen Versuchen ein allmählicher Anstieg des mittleren Anteils bis zum Erreichen der Kochtemperatur beobachtet (Abb. 22). Dies ist damit zu erklären, daß ein Teilstrom des Pfanneninhalts beim An- bzw. Durchströmen beispielsweise eines Innen- oder Außenkochers auf Kochtemperatur gebracht wird, dabei der Heißtrub ausgebildet wird und der so behandelte Teilstrom wieder dem übrigen Pfanneninhalt zugeführt wird. Durch das kontinuierliche Aufheizen eines Würzeteilstroms und damit der fortlaufenden Bildung von Heißtrub steigt der Anteil an mittleren Teilchen in der Pfanne an, was zur beobachteten Zunahme des Signals mittlerer Partikel führt.

Die Beobachtung der Heißtrubbildung auf Basis von Partikelgrößenverteilungen bestätigt vorausgehende Untersuchungen, bei denen eine starke Abnahme der freien langkettigen Fettsäuren bereits vor Erreichen der Kochtemperatur der Würze vermutlich aufgrund von Adsorption an die hydrophoben Oberflächen des Heißtrubs beobachtet worden war. Mit steigender Temperatur stieg nicht nur das Signal bei einer Partikelgröße von 20 bis 25 µm an, sondern es trat auch eine Signalverbreiterung zu einer Partikelgröße von bis zu 80 µm

auf (Abb. 21). Dies bestätigt frühere Veröffentlichungen, die eine Partikelgröße von 30 bis 80 μm für Heißtrub angeben.

Das Vorkommen von Partikeln mittlerer Größe kann zunächst jedoch auch auf trüberes Abläutern zurückgeführt werden. Bei mindestens einem großtechnischen Versuch mit einem modernen Läuterbottich und zwei Pilotsuden wurden keine mittleren Partikel während des Abläuterns festgestellt, so daß der Läutervorgang als Quelle mittlerer Partikel ausschied. Dennoch traten in allen Fällen mittlere Partikel während der Kochung auf, woraus auf eine echte Bildung dieser Fraktion während der Kochphase geschlossen werden kann.

4.4.3.2 Kochen der Würze

Zu Beginn der Kochung, die in Abhängigkeit vom atmosphärischen Luftdruck und vom Kochsystem bei einer Temperatur von 97 bis 100 $^{\circ}\text{C}$ lag, traten plötzlich grobe Partikel auf (Abb. 22). Diese könnten von der Hopfung herrühren, deren erste Gabe meist als Pellet-hopfen zu Beginn der Kochphase gegeben wurde. Diese Signale bei einer Partikelgröße von $> 200 \mu\text{m}$ traten auch bei den Kochungen auf, bei denen die korrespondierende Läuterwürze frei von Grobpartikeln war. Daher können Einträge während des Abläuterns als Ursache ausgeschlossen werden. Darüber hinaus verhielt sich eine zweite und dritte Pellet-hopfengabe quasi additiv in bezug auf das 234 μm -Signal. Der Zeitpunkt der Hopfengabe stimmte meist sehr gut mit der Zunahme der 234 μm -Signalintensität überein. Allerdings wurde in einer Brauerei nach der ersten Hopfengabe praktisch kein Anstieg des Grobsignals beobachtet, während dies jedoch nach der zweiten Hopfengabe der Fall war. Die Erklärung hierfür liegt darin, daß für die erste Hopfengabe ein in der heißen Würze gut löslicher Hopfenextrakt aus superkritischem CO_2 verwendet wurde, während die zweite Gabe, wie üblich, aus partikelträchtigen Pellets bestand. Diese Vermutung konnte durch einen Pilotsud bestätigt werden, bei dem zunächst ohne Hopfung 30 min lang gekocht worden war, wobei kein Grobsignal auftrat. Anschließend wurde mit CO_2 -Extrakt in üblicher Dosage gehopft und weitere 30 min gekocht, wobei wiederum kein Grobsignal auftrat, weil der Extrakt ohne grobe Partikelrückstände in Lösung ging. Schließlich wurde beim selben Sud eine Typ-45-Pellet-hopfung durchgeführt und erneut für 30 min gekocht. Unmittelbar nach der letzten Hopfung war ein deutlicher Anstieg des Grobsignals zu beobachten.

Aus den gemachten Beobachtungen kann geschlossen werden, daß Grobpartikel mit einer Partikelgröße von $> 200 \mu\text{m}$, die während der Würzekochung auftreten, aus der Pellet-hopfung stammen.

Da die drei hier untersuchten Partikelklassen bei den Größenverteilungen als relative Werte dargestellt werden, beeinflußt beispielsweise die Zugabe grober Partikel durch die Hopfung die Signalintensitäten der Fein- und Mittelpartikel. Dies bedeutet, daß mit dem Auftreten der Grobpartikel zum Zeitpunkt der Pellet-hopfung das Signal der mittleren Par-

tikel schwächer wird. Diese Abnahme könnte als eine absolute Abnahme der Partikelkonzentration, z.B. durch Ausfällung oder Kongglomeration zu größeren Partikeln, gedeutet werden, oder es wird nur das relative Signal durch die Zugabe der Grobpartikel verkleinert. Um diese Frage zu klären, wurde anhand der sieben großtechnischen Kochungen der Einfluß der Grobpartikel rechnerisch eliminiert, so daß nur noch das Verhältnis von feinen zu mittleren Partikeln dargestellt war. In bezug auf die mittleren Partikel ergab sich in fünf von sieben Fällen, daß der 23 µm-Peak einen konstanten Wert bis zum Ende der Kochung hatte. Lediglich in zwei Fällen war eine leichte Zunahme bis zum Kochende zu beobachten. Dies bedeutet in der Schlußfolgerung, daß die Heißtrubbildung in der Würze in bezug auf die 23 µm-Fraktion im wesentlichen bereits beim Erreichen der Kochtemperatur abgeschlossen ist und während der eigentlichen Kochung allenfalls eine minimale weitere Bildung stattfindet.

4.4.4 Würzeklärung

Bei allen untersuchten Sudwerken fand eine Heißtrubabtrennung mit Hilfe eines Whirlpools statt. Aus dem Vergleich der Partikelgrößenverteilungen der Ausschlag- und der Kühlmittewürzen läßt sich die Funktionsfähigkeit der jeweiligen Heißtrubabtrennung ablesen. Bei einer typischen Whirlpoolsedimentation werden die Grobpartikel vollständig aus der Würze entfernt, während die mittleren etwas abnehmen (Abb. 22). Dahingegen nimmt der relative Anteil der Feintrübung wieder zu, woraus geschlossen werden kann, daß die in der Anstellwürze verbleibende Resttrübung im wesentlichen durch feine Partikel von ca. 5 µm Partikelgröße und im abgeschwächten Maße durch mittlere Partikel von 20 bis 25 µm verursacht wird. Eine vollständige Abtrennung der Grobpartikel kann als ein Kriterium für ein ordnungsgemäßes Funktionieren einer Würzeklärvorrichtung verwendet werden.

4.4.5 Technologische Parameter der Würzekochung

4.4.5.1 Koagulierbarer Stickstoff (N koag.)

Der N koag.-Gehalt der Ausschlagwürze gilt neben der TBZ und der DMS-Konzentration als einer der Schlüsselparameter der Würzekochung. Er ist sowohl für die Hefeernährung als auch für die Trübungsstabilität des resultierenden Bieres von Bedeutung. Für alle hier untersuchten Kochsysteme konnte eine Abnahme des N koag. während der Kochung beobachtet werden. Allerdings kann bereits während des Sammelns und Aufheizens der Würze vor Erreichen der Kochtemperatur im Pfanneninhalt eine Abnahme festgestellt werden, die sich während der eigentlichen Kochphase fortsetzt. Dies geht mit der oberen Feststellung einher, nach der die Heißtrubbildung bereits während des Aufheizens der Würze stattfindet. Bezogen auf die verschiedenen Kochsysteme ergaben sich teilweise erhebliche Unter-

schiede. So hatten Würzen aus Heißhaltesystemen sowie aus der Dünnschichtverdampfung hohe Werte von $> 15 \text{ mg/l}$ in der Ausschlagwürze, während Würzen aus Außenkochern mit Nachverdampfung und herkömmlichen Außenkochern Werte von ca. 12 mg/l aufwiesen. Für die Innenkocher, mit Naturumlauf oder Zwangsanströmung, sowie für einen weiteren Außenkocher wurden niedrige Werte im Bereich von 5 bis 10 mg/l gemessen.

Insgesamt kann aus dieser Betrachtung geschlossen werden, daß die herkömmlichen Kochsysteme eher zu einer starken Verarmung an N koag. neigen, während die modernen Kochsysteme schonender im Sinne einer geringeren N koag.-Abnahme zu sein scheinen.

Da die Messung der Partikelgrößenverteilung als Relativverteilung nicht erlaubt, die Anzahl der Partikel in der jeweiligen Klasse zu bestimmen, erscheint es schwer, die Abnahme der N koag.-Konzentration mit dem Auftreten bestimmter Partikel quantitativ zu korrelieren, allerdings zeichnet sich die Tendenz ab, daß die N koag.-Abnahme mit der Bildung der mittleren Partikel bereits vor Erreichen der Kochtemperatur in der Pfanne einhergeht.

4.4.5.2 Thiobarbitursäurezahl (TBZ)

Die Zunahme der TBZ (dT_{BZ}) während der Würzkochung und -klärung gilt als ein zuverlässiger Indikator für die Wärmebelastung der Würze im Sudhaus. Für einen Anstieg der TBZ während der Kochphase konnten drei Gruppen von Kochsystemen identifiziert werden: Die dT_{BZ} ist mit Werten von 5 bis 10 sehr gering für den Außenkocher mit Nachverdampfung, das Heißhaltesystem und den Dünnschichtverdampfer. Ein Außenkocher zeigte eine Zunahme von 11, während ein weiterer und die beiden Innenkocher Werte im Bereich von 17 bis 19 aufwiesen. Dies korreliert gut mit den Erkenntnissen für den koagulierbaren Stickstoff: Je schonender das Kochsystem, desto geringer die dT_{BZ} und die N koag.-Abnahme. Ähnlich wie beim N koag. wurde auch bei der TBZ eine zumindest geringfügige Veränderung bereits während des Aufheizens und vor Erreichen der Kochtemperatur beobachtet.

4.4.6 Diskussion

Bei der Betrachtung von sieben großtechnischen Läuter- und Kochsystemen, wie sie innerhalb dieser Versuchsreihe durchgeführt worden ist, fällt auf, daß sich die Partikelgrößenverteilungen der Würzen während des Abläuterns, Kochens und Klärens im wesentlichen anhand dreier markanter Partikelgrößenklassen (fein, mittel und grob, siehe 4.4.1) beschreiben läßt. Während die Grob- und Mitteltrübung typischerweise allenfalls am Beginn und am Ende der Läuterung auftrat, war die Feintrübung im $5\text{-}\mu\text{m}$ -Bereich im Verlauf des Abläuterns dominant. Dies bestätigt Literaturangaben, die Partikelgrößen im Bereich von 7 bis $8 \mu\text{m}$ für Würzen und Treberpreßsaft angeben [193,194]. Wird im Rahmen der technischen Entwicklung eine weitere Herabsetzung der Läutertrübung angestrebt, so sollte an der identifizierten Feintrübung angesetzt werden. Ferner wird eine erhöhte Läutertrübung

zu Beginn und evtl. auch am Ende des Läutervorgangs durch das Auftreten von mittleren und groben Partikeln verursacht. Hierbei führt der Einsatz unterschiedlicher Verfahrenstechniken (Läuterbottich vs. Maischefilter) zu unterschiedlichen Partikelzusammensetzungen der resultierenden Würze. Unzulänglichkeiten, wie beispielsweise eine nicht optimierte Hackwerk-Steuerung, führen ebenfalls zu Veränderungen in den Partikelzusammensetzungen, die sich insbesondere im verstärkten Auftreten von mittleren Partikeln (20 bis 25 μm) während des Abläuterns äußern.

In der Würzepfanne läßt sich die Heißtrubbildung anhand der Partikelgrößenverteilung bereits beim Aufheizen der Würze feststellen, und zwar für den Teil der Würze, der den Kocher durchströmt und somit auf die Kochtemperatur erwärmt wird. Typischerweise nimmt das Signal der mittleren Partikel zu, bis die gesamte Würzmenge auf Kochtemperatur erwärmt ist, während das Signal der Feintrübung relativ dazu abnimmt. Dies erlaubt eine partikelbasierte Darstellung der Heißtrubbildung während der thermischen Würzebehandlung. Ferner bestätigen weitere Vergrößerungen des 20 bis 30 μm -Signals bis zu 100 μm früher veröffentlichte Ergebnisse zum Heißtrub [61,62,79,207]. Die Beobachtung, daß eine Partikelbildung bereits stattfindet bevor das Gesamtvolumen der Würze die Kochtemperatur erreicht, geht einher mit einer zeitgleichen Abnahme des N koag. und einer Zunahme der TBZ. In anderem Zusammenhang wurde bereits unmittelbar am Beginn der Kochung eine starke Abnahme der freien Fettsäuren in der Würze ermittelt, die ebenfalls auf eine frühe Bildung des Heißtrubpräzipitats hindeutet [109]. Diese Feststellungen werfen die Frage auf, ob nicht wenigstens aus der Sicht der Heißtrubbildung eine weitere Verkürzung der heute üblichen Kochzeiten gerechtfertigt wäre.

Von den Signalen der Heißtrubbildung läßt sich die von einer Pelletthopfung verursachten Grobtrübung im Bereich von 200 bis 300 μm eindeutig im Rahmen der Partikelgrößenuntersuchung unterscheiden. Diese Unterscheidung kann von einer herkömmlichen Trübungsmessung nicht geleistet werden. Ebenso gibt die Verteilungsmessung einen differenzierteren Einblick in die Würzeklärung. Ein korrekt arbeitender Whirlpool scheidet die Grobfraction vollständig und die mittlere Fraction weitgehend ab, während in der abfließenden Würze die Feinpartikel dominieren. Es ist denkbar, Partikelgrößenverteilungsmessungen für eine individuelle Optimierung der Whirlpoolrast einzusetzen. Eine Gegenüberstellung dieser Ergebnisse mit Literaturwerten ist in Ermangelung vergleichbarer Erkenntnisse nicht möglich.

Die durchgeführte Versuchsreihe stellt dar, wie sich die verschiedenen im Sudhaus eingesetzten Läuter- und Kochsysteme sowie unterschiedliche Hopfungen auf die Partikelgrößenverteilung der Würze im jeweiligen Stadium auswirken. Sie beantwortet damit erste grundlegende Fragen nach der Möglichkeit, die Partikelzusammensetzung der Würze für die weiteren Verfahrensschritte der Bierbereitung, insbesondere der Gärung, gezielt zu steuern. Hierauf aufbauend soll daher der Zusammenhang zwischen den Partikeleigenschaften und ihrem Einfluß auf die Gärleistung in der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe näher beleuchtet werden.

4.5 Gärversuche mit Heißtrub- und Partikelzugabe im Labor- und Pilotmaßstab [112]

In den vorbeschriebenen Versuchen war einerseits eine Verbesserung der Gärleistung durch Zugabe von Heißtrub zur Anstellwürze festgestellt worden (siehe 4.1). Andererseits wurde das Rücklöseverhalten von langkettigen Fettsäuren und Zn aus Heißtrub in Würze untersucht (siehe 4.3), wobei deren Freisetzung eine mögliche Erklärung für den positiven Einfluß von Heißtrub auf die Gärung liefert. Die dabei gefundenen Erkenntnisse unterstreichen die Bedeutung, die diesen beiden Stoffgruppen in der Literatur beigemessen wird. Demgegenüber zweifeln einige Autoren diese Nährwirkung des Heißtrubs an und erklären die beobachteten Einflüsse mit rein physikalischen Vorgängen während der Gärung, d.h. der Partikelwirkung (siehe 2.3, [43,98,186]). Dabei könne ein gleicher oder ähnlicher Effekt auch durch den Zusatz inerter, nicht nutritiver Stoffe erreicht werden. Welchen Einfluß unterschiedliche Verfahrenstechniken und insbesondere der Läuter-, Koch- und Klärschritt auf die Partikelcharakteristik von Würze haben, ist in der vorstehenden Untersuchung beschrieben worden (siehe 4.4). Vor diesem Hintergrund werden in der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe Gärungen unter Zugabe von Heißtrub und inerter Partikel unter Variation der Hefevitalität und -viabilität sowie der Partikelart, -größe und -menge durchgeführt.

Alle Versuche dieser Reihe basieren auf der Verwendung einer feinflitrierten, partikelfreien Würze, die mit verschiedenen Partikelzusätzen unter gleichbleibenden Rahmenbedingungen vergoren wurde.

4.5.1 Heißtrub

4.5.1.1 Partikelgrößenverteilungen

Die Partikelgrößenverteilungen dreier großtechnisch erzeugter Heißtrube wiesen im wesentlichen Peaks in den Bereichen 40 bis 50 μm und 200 bis 300 μm auf. Dies bestätigt im wesentlichen die Erkenntnisse, die bei der Untersuchung von Würzen im Verlaufe der Sudhausarbeit gewonnen wurden (siehe 4.4). Dabei entspricht die 40 bis 50 μm -Fraktion in etwa der Fraktion mittlerer Partikelgröße, die das Eiweißpräzipitat repräsentiert, und die 200 bis 300 μm -Fraktion den Partikeln aus der Pellet-Hopfung.

4.5.1.2 Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Herkunft des Heißtrubs und der Hefevitalität

Wurden Heißtrube aus drei großtechnischen Sudwerken einer partikelfreien Würze in einer Menge von 2 g/l feucht (= ca. 0,5 g Trs/l) zugesetzt und mit Hilfe einer vitalen Hefe (ICP: 6,35) im Labormaßstab (2 l) vergoren, verursachten alle Heißtrubzugaben einen schnelleren Anstieg und ein signifikant höheres Maximum der Hefezellzahlen in Schwebelage (Abb. 24). Ferner verursachte die jeweilige Heißtrubzugabe einen schnelleren pH-Wert-Sturz mit einem signifikant niedrigeren pH-Wert vom zweiten Gärtag an bis zum Ende der Gärung, was die vorstehenden und früher veröffentlichten Ergebnisse bestätigt (siehe 4.1). Für eine Hefe von geringerer (ICP: 5,74) und sehr geringer Vitalität (ICP: 5,46) wurden jeweils ähnliche Beobachtungen gemacht. Die gefundenen Unterschiede zeigten sich jedoch nicht so klar beim Extraktabbau. Dies liegt vermutlich am ungewöhnlichen Höhe-Durchmesser-Verhältnis der hier verwendeten EBC-Röhren, das sich mit 32,6:1 deutlich von dem der Pilot-Gärtanks (2,4:1) und großtechnischen zylindrokonischen Gärtanks (ca. 4:1) unterscheidet.

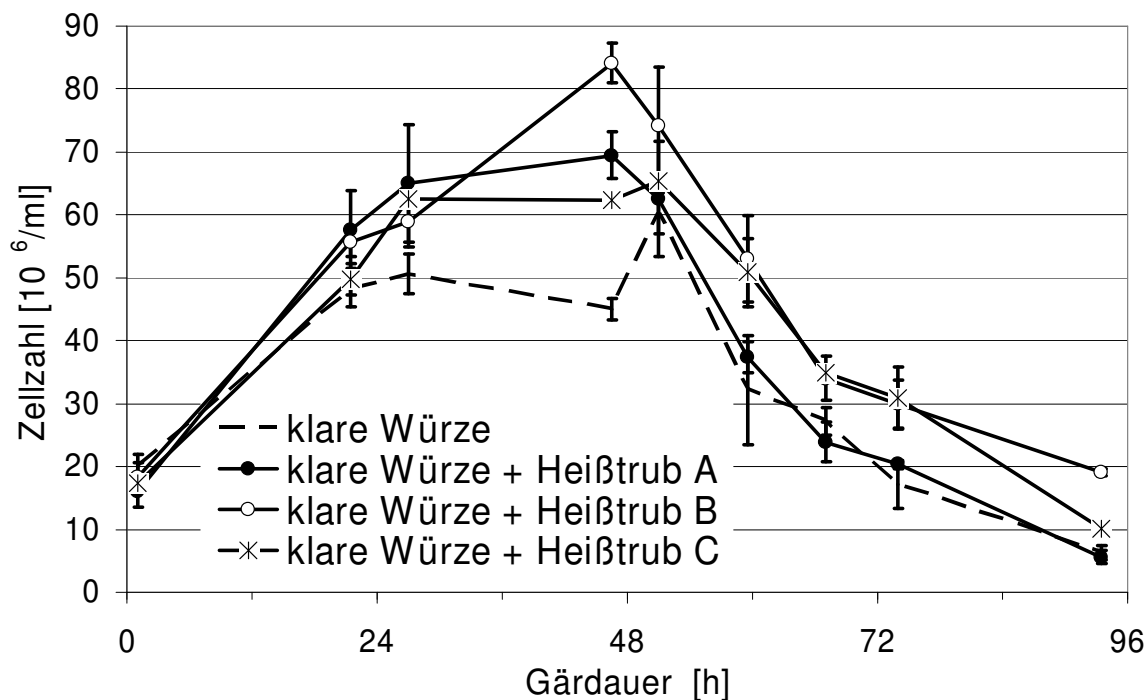


Abb. 24: Hefezellzahl in Schwebelage während der Gärung in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe von Heißtrub unterschiedlicher großtechnischer Herkunft in einer Menge von 2 g/l (feucht) und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,35; Viabilität: 86,7%; Fermentervolumen: 2,6 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

4.5.1.3 Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Heißtrubmenge

Eine Variation der Zugabemenge des Heißtrubs A sollte eine Aussage über die minimale Menge, die eine Wirkung auf die Gärung hat, ermöglichen. Hierbei wurde die Zugabemenge in einem Bereich von 0,5 bis 4 g/l (feucht) variiert, wobei die größte Dosage der Menge entsprach, die maximal an Heißtrub bei der Würzeherstellung entsteht. Die Zugabe von 0,5, 1, 2 und 4 g/l führte zu einer mittleren Steigerung des Zellzahlmaximums in Schwebelagerung um 10, 22, 38 und 54 % gegenüber der Kontrolle (Abb. 25). Dies bedeutet, je mehr Heißtrub eingesetzt wird, desto höher die Gärleistung, wobei eine relevante Wirkung erst ab einer Dosage von 1 g/l (feucht) auftrat. Es ist beachtlich, daß sich diese drastische und signifikante Zunahme der Zellen in Schwebelagerung nicht so deutlich bei der pH-Wert- und Extraktentwicklung niederschlug, wie es bei Vorgängerversuchen beobachtet worden war. Wie bereits erwähnt, könnte dies an der außergewöhnlichen Behältergeometrie liegen. Zur Bestätigung der Beobachtungen wurde der wirksamste der drei Heißtrube in Pilotgärungen näher untersucht.

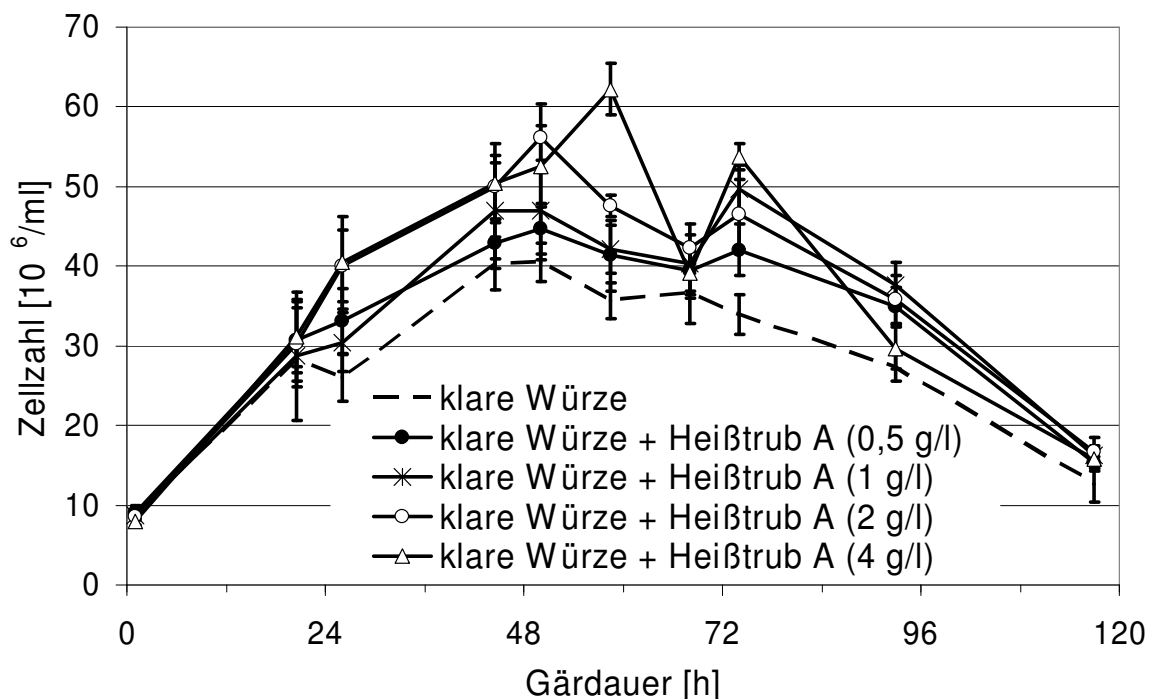


Abb. 25: Hefezellzahl in Schwebelagerung während der Gärung in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe eines Heißtrubs großtechnischer Herkunft in unterschiedlichen Mengen: 0, 0,5, 1, 2 und 4 g/l (feucht) und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,53; Viabilität: 95,4 %; Fermentervolumen: 2,6 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $10 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

4.5.1.4 Gärversuche im Pilotmaßstab

Bei diesen Gärversuchen im Pilotmaßstab (10 l) wurde eine Heißtrubdosage von 2 g/l (feucht) in einem Vierfachansatz mit der Kontrolle verglichen. Die Heißtrubdosage führte in einem Zeitraum von 30 bis 80 h nach Gärbeginn zu einer signifikant höheren Zellzahl in Schwebelage (Abb. 26). Dabei lag das mittlere Zellzahlmaximum für die Heißtrubzugabe bei $65 \cdot 10^6$ Zellen/ml gegenüber $50 \cdot 10^6$ Zellen/ml der Kontrolle, was eine Zunahme von 30 % bedeutet und mit der im Labormaßstab beobachteten Zunahme von 38 % (siehe 4.5.1.3) grob übereinstimmt. Im Pilotmaßstab führte die Heißtrubzugabe zu einem signifikant schnelleren pH-Wert-Sturz, wobei das absolute pH-Wert-Minimum bei 4,22 (mit Heißtrub) bzw. 4,39 (Kontrolle) nach einer Gärdauer von 90 h lag (Abb. 27). Ab einer Gärdauer von 40 h bis zum Gärende ist der pH-Wert der beiden Gärreihen signifikant unterschiedlich. Demgemäß war auch der Extraktabbau durch die Heißtrubzugabe beschleunigt, wobei der größte Extraktunterschied 1,3 °P nach 65 h Gärung betrug (Abb. 28). Tendenziell waren auch im Extraktverlauf nicht signifikante Unterschiede vorhanden. Legt man als Endpunkt der Gärung einen Restextraktgehalt von beispielsweise 2 °P zu Grunde, wäre diese Konzentration bei den Heißtrubgärungen bereits nach 90 h erreicht gewesen, während die Hefe in klarer Würze 115 h brauchte, um diesen Wert zu erreichen oder zu unterschreiten. Demnach führt die Zugabe von Heißtrub bei diesem Versuchsansatz zu einer Verkürzung der Gärzeit um etwa einen Tag, was die vorigen Ergebnisse bezüglich einer Heißtrubzugabe oder erhöhter Läutertrübung bestätigt (siehe 4.1, 4.2). In diesem Fall waren auch die Diacetyl- und Pentandion-Gehalte der Jungbiere bei Heißtrubzugabe geringfügig, aber signifikant geringer.

Nachdem in dieser Versuchsreihe die Wirkung der Eigenschaften von Partikeln besonders berücksichtigt werden sollte, wurde im nachfolgenden eine systematische Untersuchung bezüglich der Wirkung von Modellpartikeln mit ähnlichen Partikelgrößen wie Heißtrub, aber ohne Nährwirkung durchgeführt. Dazu wurden PVPP und grobe Kieselgur ausgewählt, die sich in einem Vorversuch als besonders gärfördernd erwiesen.

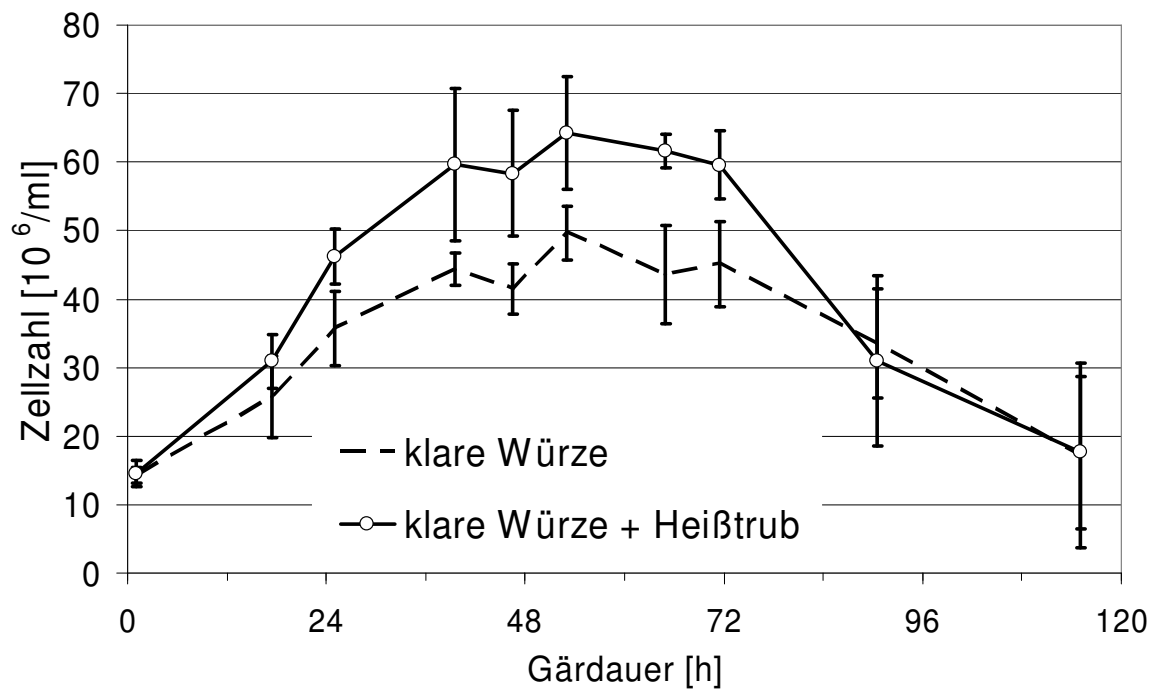


Abb. 26: Hefezellzahl in Schwebelagerung während der Gärung in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe eines Heißtrubs großtechnischer Herkunft in einer Menge von 2 g/l (feucht) und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,42; Viabilität: 89,7%; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

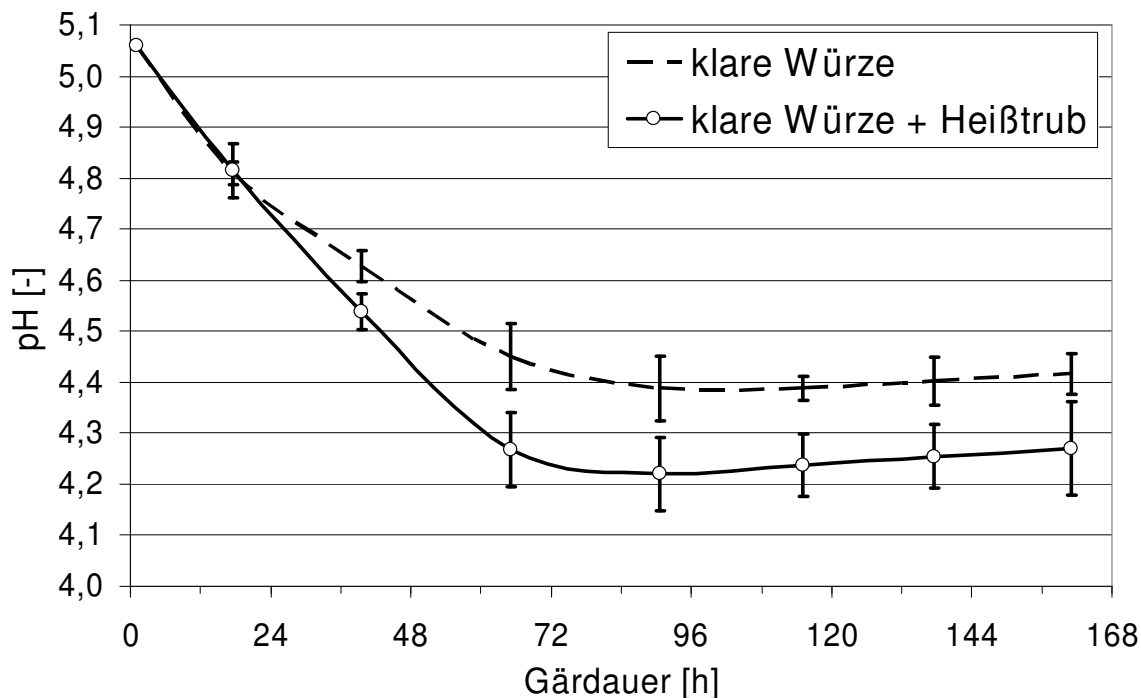


Abb. 27: pH-Wert der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe eines Heißtrubs großtechnischer Herkunft in einer Menge von 2 g/l (feucht) und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,42; Viabilität: 89,7 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

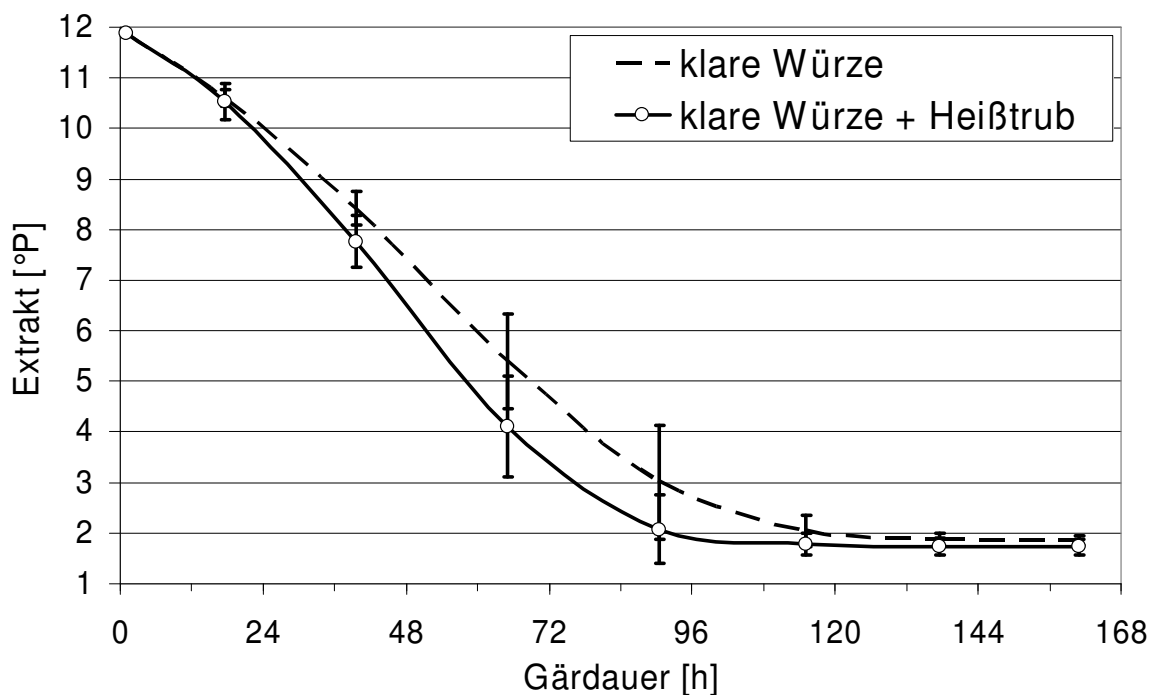


Abb. 28: Scheinbarer Extraktgehalt der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe eines Heißtrubs großtechnischer Herkunft in einer Menge von 2 g/l (feucht) und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,42; Viabilität: 89,7 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

4.5.2 PVPP

4.5.2.1 Partikelgrößenverteilungen

Unter Berücksichtigung der oben diskutierten Beobachtung für Kieselgele, daß in bezug auf die Gärleistung die Partikelgröße im Gegensatz zur Oberfläche offensichtlich das entscheidende Kriterium ist (siehe 2.5), wurde eine kommerziell verfügbare PVPP-Probe durch Sieben in drei Fraktionen zerlegt, die Partikelgrößen bei 30 bis 40 μm (fein), 80 bis 120 μm (mittel) und 200 bis 220 μm (grob) in der q_3 -Dichteverteilung aufwiesen. Dabei sollten die feine und die grobe Fraktion die jeweiligen Fraktionen des Heißtrubs (40 bis 50 und 200 bis 300 μm) in bezug auf die Partikelgröße simulieren. Neben der Partikelgröße sollten die Hefevitalität und die Partikeldosagen variiert werden.

4.5.2.2 Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Partikelgröße und der Hefevitalität

Die Vergärung der Würze mit einer Hefe von hoher Vitalität (ICP: 6,51) und Zugabe der unterschiedlichen PVPP-Fraktionen in einer Menge von 0,5 g Trs/l führte tendenziell zu erhöhten Zellzahlen gegenüber der Kontrolle, jedoch waren die Unterschiede klein und nicht signifikant. In bezug auf die Partikelgröße konnte kein klarer Trend beobachtet werden. Bei der pH-Wert- und Extraktentwicklung schienen die groben und mittleren Partikel aktiver als die feinen zu sein, aber auch hier traten keine signifikanten Unterschiede gegenüber der Kontrolle auf. Wenn allerdings eine Hefe von geringerer Vitalität (ICP: 5,69) eingesetzt wurde, waren die Zellzahlen in Schwebelösung aufgrund der PVPP-Zugabe signifikant erhöht. Bei der groben Fraktion (200 bis 220 μm) wurde eine Steigerung um 25 % gemessen. Für die pH- und Extraktwerte konnten wiederum keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden.

4.5.2.3 Gärversuche im Pilotmaßstab

Zur Verifizierung der Ergebnisse wurde eine klare Würze unter Zusatz einer nicht fraktionierten Probe kommerziell verfügbaren PVPP in einer Menge von 0,5 g Trs/l in Pilotgärtanks (10 l) vergoren. Bei hoher Hefevitalität (ICP: 6,44) wurde ein signifikanter Vorteil in bezug auf Zellkonzentration in Schwebelösung, pH-Wert und Extrakt erhalten. Die maximale Zellzahl war um etwa 32 % erhöht (Abb. 29), der minimale pH-Wert war um 0,09 (4,22 gegenüber 4,31) geringer (Abb. 30) und das Extraktniveau war nach 63 Gärstunden um 0,66 °P geringer gegenüber der Kontrolle (Abb. 31).

Im Vergleich zum Heißtrub war PVPP ebenso in der Lage, die Gärleistung zu verbessern, jedoch mit geringerer Wirkung. Da das PVPP auf Trockenmasse bezogen in derselben Dosis und ähnlichen Partikelgrößen wie der Heißtrub der Würze zugegeben wurde, aber nicht dieselbe Wirkung zeigte, könnte geschlußfolgert werden, daß im Falle vom Heißtrub neben dem Partikeleffekt auch eine Nährwirkung seiner Bestandteile eine Rolle spielt.

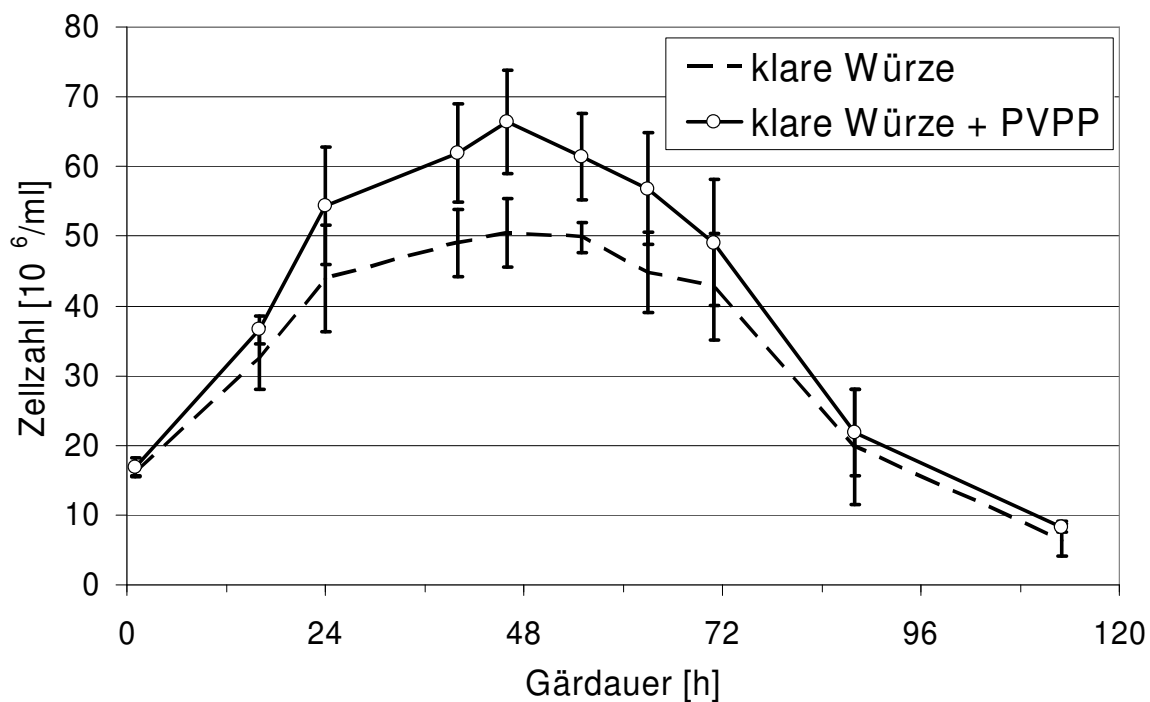


Abb. 29: Hefezellzahl in Schwebelagerung während der Gärung in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe von nicht fraktioniertem PVPP in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,44; Viabilität: 92 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

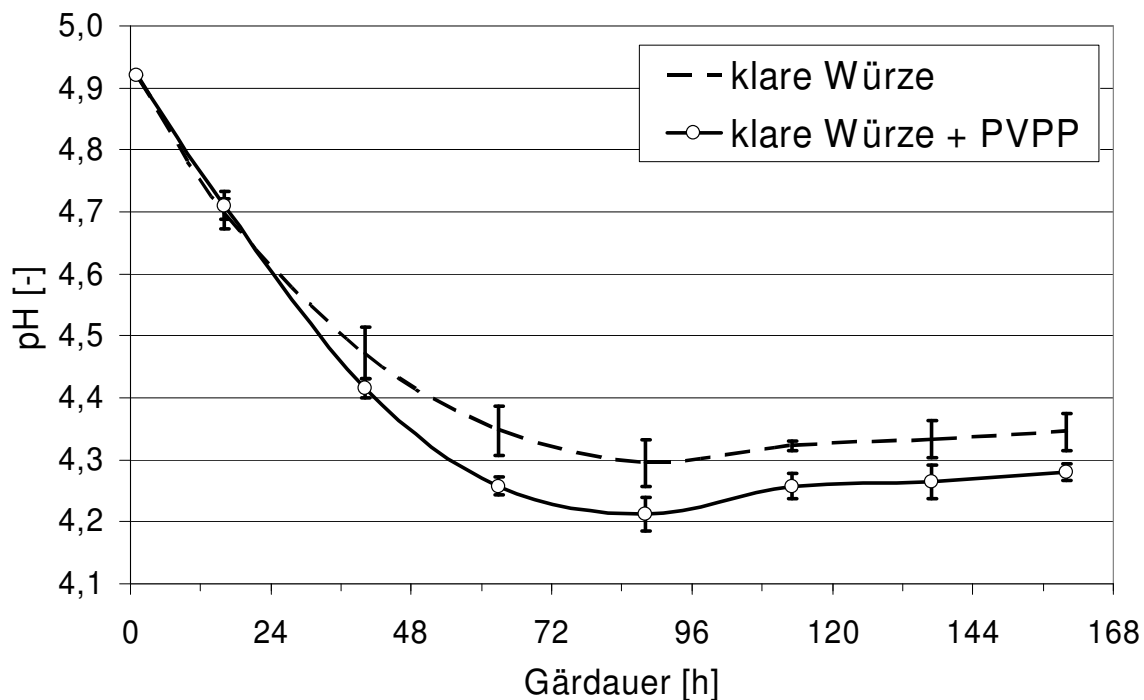


Abb. 30: pH-Wert der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe von nicht fraktioniertem PVPP in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,44; Viabilität: 92 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

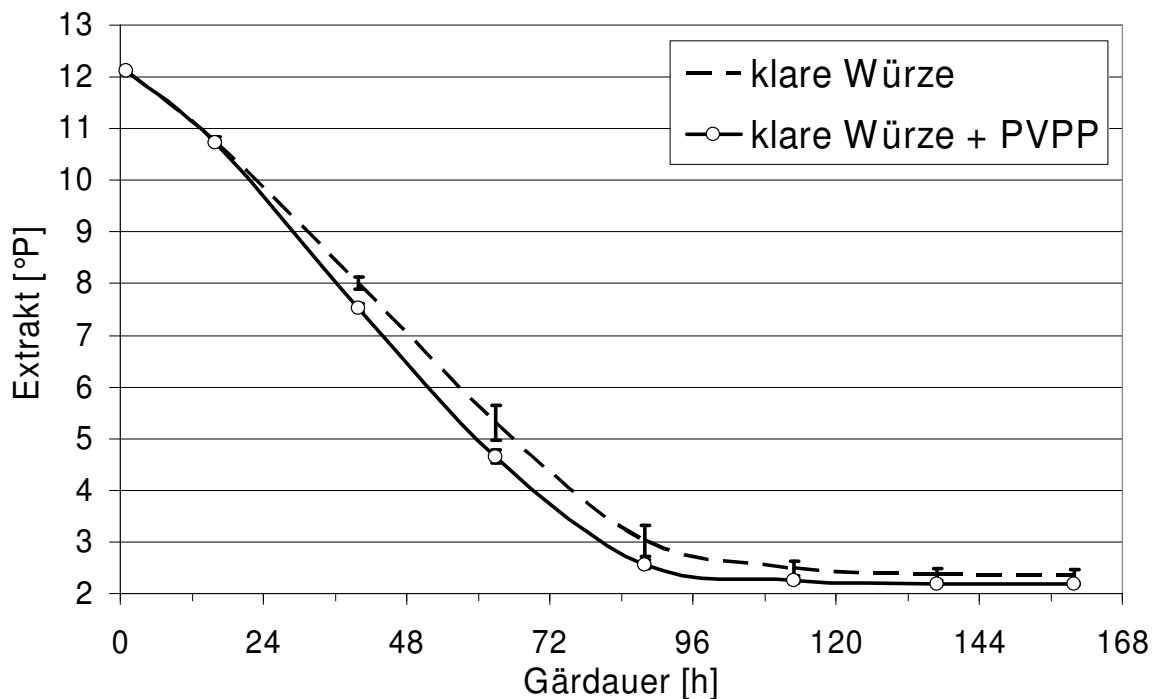


Abb. 31: Scheinbarer Extraktgehalt der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe von nicht fraktioniertem PVPP in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,44; Viabilität: 92 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

4.5.3 Kieselgur

4.5.3.1 Partikelgrößenverteilungen

Neben PVPP wurde eine kommerziell verfügbare, grobe Kieselgur als weitere, nicht nutritive Partikelart untersucht. Durch Aussieben wurden aus der groben Kieselgur drei Fraktionen mit Partikelgrößenmaxima bei 40, 120 und 200 μm in der q_3 -Dichteverteilung gewonnen.

4.5.3.2 Gärversuche im Labormaßstab unter Variation der Partikelgröße, der Partikelmenge und der Hefevitalität

Die Zugabe dieser Partikel zur klaren Würze verursachte für jede Fraktion einen signifikanten Anstieg der Zellkonzentration in Schwebelage während der gesamten Gärung mit einer vitalen Hefe (ICP: 6,28). In bezug auf den pH-Wert- und Extraktverlauf waren die mittleren und insbesondere die feinen Partikel gegenüber der Nullprobe etwas im Vorteil, wobei die Unterschiede aber gering waren. Bei Vergärung mit einer Hefe geringerer Vitalität (ICP: 5,72) tendierten die Ansätze mit Partikelzusatz zu höheren Zellzahlen, jedoch traten signifikante Unterschiede nur teilweise auf. Für den pH-Wert- und Extraktverlauf konnten keine eindeutigen Tendenzen beobachtet werden.

Schließlich wurde im Labormaßstab die Zugabemenge der feinen Kieselgurfraktion (40 μm) variiert. Hierbei konnte wiederum ein schnellerer Anstieg der Zellzahlen mit höheren Maxima aufgrund der Partikelzugabe festgestellt werden. Bei einer Zugabe von 0,125, 0,25, 0,5 und 1 g Trs/l war die Zunahme des Maximums 6, 20, 21 und 37 % gegenüber dem Zellzahlmaximum der Kontrolle. Auch die pH- und Extraktwerte bestätigten einen signifikanten Vorteil der Partikelzugabe gegenüber der Nullprobe. Tendenziell lieferten die hohen Dosagen von 0,5 und 1 g/l die besten Ergebnisse, was bedeutet, daß je mehr Partikel zudosiert werden, desto besser ist die Gärleistung. Dieses Ergebnis steht in Widerspruch zu früheren Ergebnissen, nach denen eine Zugabemenge von Kieselgur in einer Dosis von 0,05 bis 0,2 g/l eine ähnliche Wirkung auf die CO_2 -Konzentration in der gärenden Würze hatte [193].

4.5.3.3 Gärversuche im Pilotmaßstab

Zur Verifizierung der gefundenen Ergebnisse wurde eine nicht fraktionierte Probe der kommerziell verfügbaren Kieselgur in einer Dosis von 0,5 g/l mit einer vitalen Hefe (ICP: 6,19) vergoren. Hierbei konnte eine moderate, aber nicht signifikante Zunahme der

maximalen Zellkonzentration (ca. + 20 %; Abb. 32), aber praktisch kein Unterschied beim pH-Wert (Abb. 33) und Extraktverlauf (Abb. 34) festgestellt werden.

Die im Labormaßstab festgestellte, positive Wirkung der Feinfraktion mit 40 µm Partikelgröße könnte einen Hinweis auf die beobachtete, positive Partikelwirkung des Heißtrubs geben, da alle untersuchten Heißtrube eine 40 µm-Fraktion enthielten. In diesem Zusammenhang wurde für einen Eiweiß-basierten Hefe-Nahrungsergänzungszusatz (yeast food) festgestellt, daß er eine für eine Blasenbildung geeignete Partikelgrößenverteilung von 2 bis 50 µm aufwies, die in etwa auch vom Heißtrub und von der feinen Kieselgurfraktion bereitgestellt wird. Andererseits konnte die positive Wirkung in dem Ausmaß nicht für die nicht fraktionierte Kieselgurprobe festgestellt werden, was daran liegen könnte, daß die vermutlich wirksamste Fraktion, die Feinfraktion, darin unterrepräsentiert ist.

Ähnlich wie für PVPP könnte auch im Zusammenhang mit Kieselgur geschlossen werden, daß die über einen reinen Partikeleffekt hinausgehenden, zusätzlichen Nähreigenschaften bestimmter Heißtrubkomponenten in einer größeren Gesamtwirkung auf die Gärleistung resultieren. Somit werden frühere Ergebnisse bestätigt, bei denen ein Zusatz von langkettigen Fettsäuren zur Kieselgurdosage einen zusätzlichen Vorteil bei der Vergärung klarer Würzen mit sich bringt. Da Heißtrub ein komplexes Eiweiß-Polyphenol-Präzipitat mit Lipiden (C18:2) und Metallchelaten (Zn) ist, bietet er über die vermutete Nährwirkung dieser Komponenten hinaus unpolare Oberflächen, die eine CO₂-Entbindung aus dem gesättigten Medium erleichtern könnten.

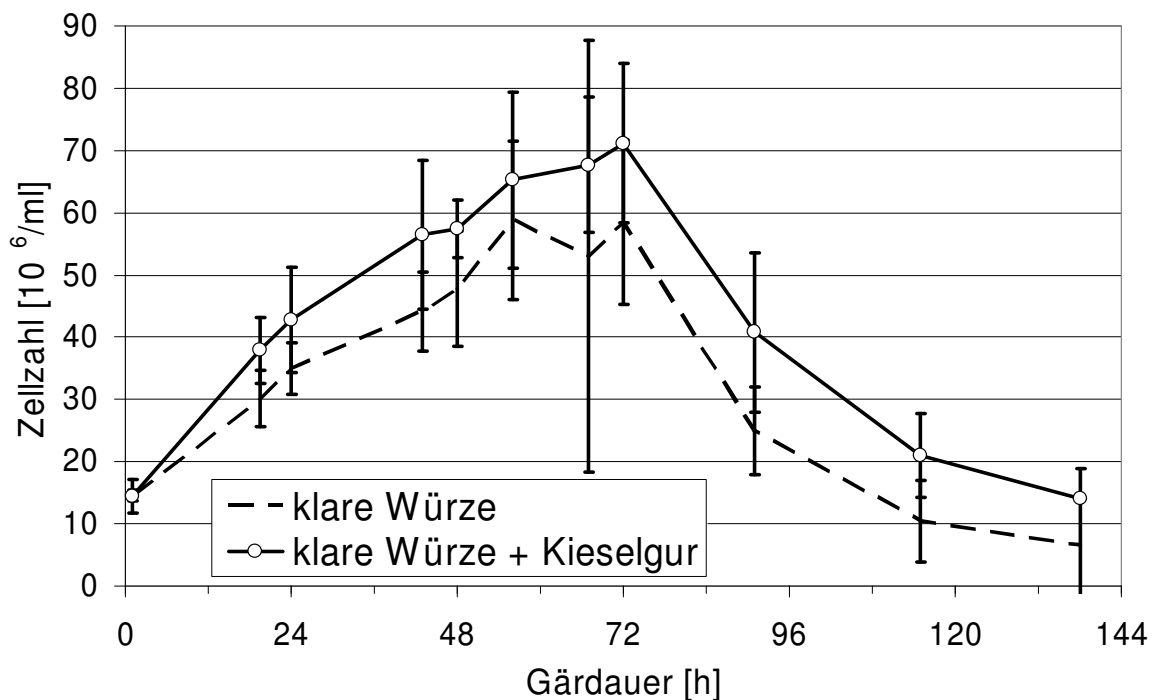


Abb. 32: Hefezellzahl in Schwebelösung während der Gärung in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe einer nicht fraktionierten, groben Kieselgur in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,19; Viabilität: 96,2 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: 15·10⁶ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; p = 0,95; n = 4) [112].

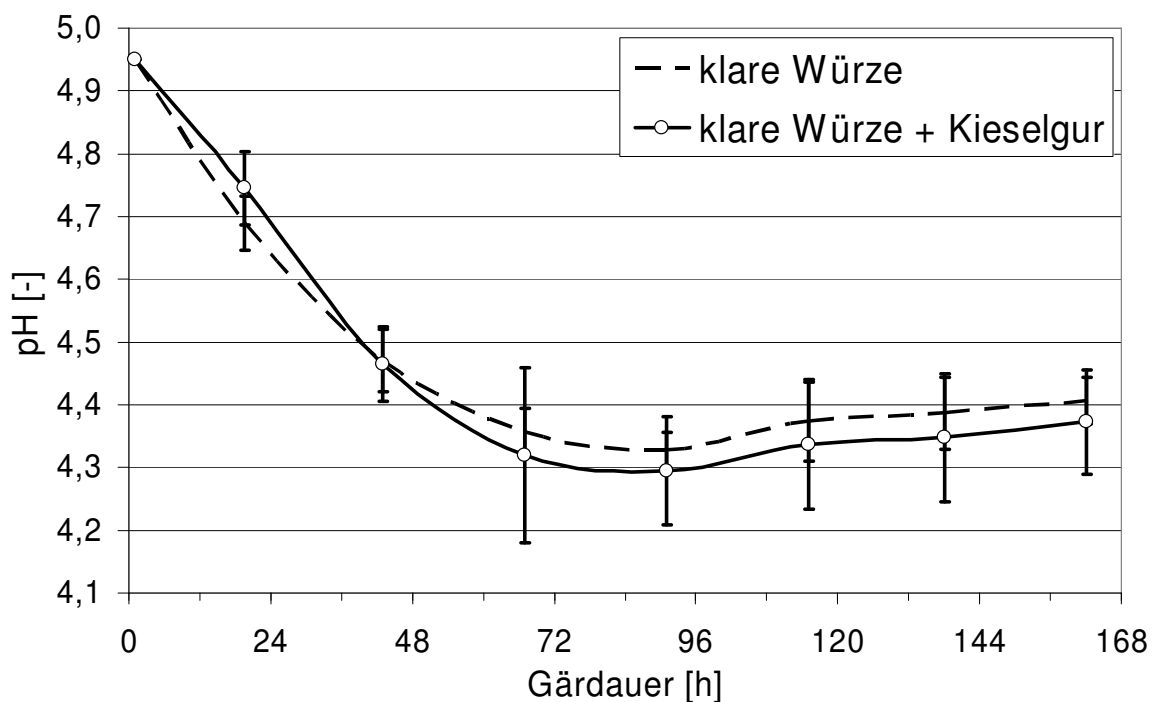


Abb. 33: pH-Wert der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe einer nicht fraktionierten, groben Kieselgur in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,19; Viabilität: 96,2 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: 15·10⁶ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; p = 0,95; n = 4) [112].

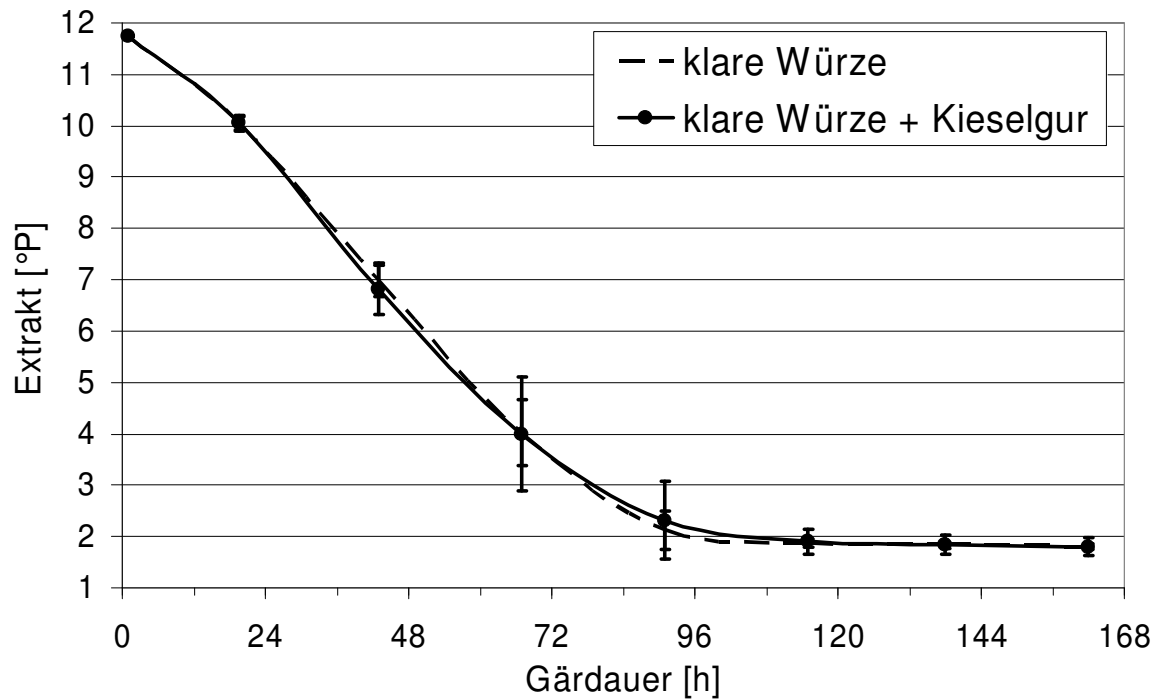


Abb. 34: Scheinbarer Extraktgehalt der gärenden Würze in Abhängigkeit von der Zeit nach Zugabe einer nicht fraktionierten, groben Kieselgur in einer Menge von 0,5 g Trs/l und Anstellen mit vitaler Hefe (ICP: 6,19; Viabilität: 96,2 %; Fermentervolumen: 10 l; Gärtemperatur: 12 °C; Anstellrate: $15 \cdot 10^6$ Zellen/ml; Fehlerbalken: Konfidenzintervalle; $p = 0,95$; $n = 4$) [112].

4.5.4 Einfluß von Heißtrub- und Partikelzugabe auf die Bierqualität [145]

4.5.4.1 Geschmacksqualität

Die Verkostung der frischen Biere, die aus Gärversuchen unter Zugabe unterschiedlicher Partikelarten, wie Heißtrub, PVPP, grobe und feine Kieselgur und Aktivkohle, stammten, ergab, daß alle Biere von hoher geschmacklicher Qualität waren, wobei sich nur tendenzielle Unterschiede ergaben. Während bei keiner der mit unterschiedlichen Zugaben hergestellten Biere ein ausgesprochener Fehlgeschmack festgestellt werden konnte, ergaben sich selbst bei hohen Heißtrubdosagen (2 g/l (feucht)) allenfalls geschmackliche Nuancen, wobei die Bittere durch den Heißtrubzusatz zu einer weniger weichen, sondern eher intensiven, charaktervollen Bittere neigt, die aber nicht als nachhängend beurteilt wurde. Auch in bezug auf die DLG-Verkostung der frischen Biere ergaben sich praktisch keine Unterschiede: Die Biere mit Heißtrubzugabe (DLG-Note: $4,09 \pm 0,31$ (Konfidenzbereich bei $p = 0,95$)) schnitten wenigstens so gut wie die Kontrolle ($4,03 \pm 0,33$) ab, während die PVPP-Biere tendenziell sogar etwas besser waren ($4,32 \pm 0,09$; Kontrolle: $4,23 \pm 0,23$). Auch die Kieselgurzugabe wirkte sich nicht auf die Geschmacksqualität der frischen Biere aus ($4,17 \pm 0,22$; Kontrolle: $4,13 \pm 0,20$).

Auf analytischer Seite wurden die Bieraromastoffe sowie höhere Alkohole und Ester untersucht. Bei Heißtrubzugabe konnte wiederholt eine Tendenz zu erhöhten Gehalten an 2-Phenylethanol gegenüber der Kontrolle beobachtet werden, was vorangehende Versuche bestätigt (siehe 4.1). Die Ester kamen im wesentlichen in gleicher Konzentration vor, tendierten vereinzelt zu niedrigeren Konzentrationen, während die höheren Alkohole zu gleichen bis leicht erhöhten Werten tendierten. In einem Gäransatz wurden signifikant erhöhte Gehalte an 2-Methylpropanol und 2-Methylbutanol bei Heißtrubzugabe gemessen.

Auch bei der Zugabe von PVPP wurde tendenziell eine Zunahme der 2-Phenylethanol-Konzentration und der höheren Alkohole gegenüber der Kontrolle festgestellt, während die Kontrolle signifikant erhöhte Konzentrationen an Acetaldehyd aufwies. Durch PVPP-Zugabe waren im Bier die Esterkonzentrationen tendenziell erhöht. Insbesondere waren die Konzentrationen von Essigsäure-Isobutylester und Essigsäure-2-Phenylethylester signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Bei den mittelkettigen Fettsäuren (C6 bis C12) ergab sich keine einheitliche Tendenz.

Die Zugabe grober Kieselgur führte zu gleichen Gehalten an Bieraromastoffen, einschließlich 2-Phenylethanol, und an Alkoholen. Die mittelkettigen Fettsäure- sowie die Estergehalte waren tendenziell erhöht, wobei Essigsäure-Isobutylester, Essigsäure-Hexylester und Essigsäure-2-Phenylethylester signifikant erhöht waren. Auch bei diesem Ansatz zeigte die Kontrolle tendenziell höhere Konzentrationen an Acetaldehyd gegenüber der Partikelzugabe.

Die Analyse der Bittereinheiten ergab keine feststellbare Veränderung der Bittere durch die Heißtrub- und Kieselgurzugabe, während die Zugabe von PVPP zu einer signifikant geringeren Bittere führte, die auch sensorisch wahrnehmbar war ($14,4 \pm 1,5$ Bittereinheiten (BE); Kontrolle: $18,5 \pm 2,1$ BE). Diese Ergebnisse bestätigten sich auch bei der Analyse der Bitterstoffe mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie, wobei die Heißtrubzugabe keine Abweichung gegenüber der Kontrolle zeigte, während PVPP zu signifikant weniger Iso- α -Säure, tendenziell weniger α -Säure und einem signifikant erhöhtem Co-Humulonanteil gegenüber der Kontrolle führte.

4.5.4.2 Geschmacksstabilität

Die Verkostung der forcierten Biere, die unter dem Einfluß von Heißtrub hergestellt wurden, erbrachte bei zwei verschiedenen Gäransätzen keine sensorische Verschlechterung der Geschmacksstabilität gegenüber der Kontrolle. Allerdings fehlt hierbei ein Vergleich von Mehrfachansätzen. Dieses sensorische Ergebnis wurde von analytischer Seite durch die Bestimmung der Alterungskomponenten bestätigt. Hierbei konnte durch die Heißtrubzugabe eine Zunahme der Gehalte an Alterungskomponenten von maximal 10 bis 15 % ermittelt werden. Die mit PVPP und Kieselgur hergestellten Biere zeigten hier vergleichbare Werte, wobei auch hier Mehrfachansätze fehlten.

4.5.4.3 Trübungsstabilität

Bei der Beurteilung der Trübungsstabilität zeigten die mit Heißtrub hergestellten Biere praktisch dieselben Werte wie die Kontrolle ($1,8 \pm 1,1$ gegenüber $2,1 \pm 0,9$ Warmtage (Kontrolle)). Dagegen wirkte sich die Zugabe von PVPP bereits bei der Gärung als signifikant trübungsstabilisierend aus ($15,0 \pm 0$ gegenüber $8,3 \pm 3,7$ Warmtagen (Kontrolle)). Wie der Heißtrub hatte auch die Kieselgur keinen Einfluß auf die Trübungsstabilität ($0,81 \pm 0,55$ gegenüber $0,82 \pm 0,39$ Warmtage (Kontrolle)). Es fällt die starke Schwankung der Absolutwerte auf, allerdings ist im vorliegenden Fall nur ein Vergleich innerhalb eines Ansatzes zulässig und sinnvoll.

4.5.4.4 Schaumstabilität

Ein weiteres wichtiges Qualitätskriterium ist die Schaumstabilität der resultierenden Biere. Hier führte die Zugabe des Heißtrubs zu einer mittleren Schaumstabilität von 217 ± 33 Nibem-s, womit sie praktisch dieselbe Stabilität wie die Kontrollbiere mit 220 ± 21 Nibem-s aufwiesen. Dagegen führte die Anwendung von PVPP zu einer deutlichen, wenn auch nicht signifikanten Abnahme der Schaumstabilität (227 ± 19 gegenüber

242 ± 24 Nibem-s (Kontrolle)). Die Zugabe von Kieselgur führte zu einer geringfügigen, ebenfalls nicht signifikanten Abnahme der Schaumstabilität (253 ± 20 gegenüber 258 ± 8 Nibem-s (Kontrolle)).

4.5.5 Diskussion

Die durchgeführte Versuchsreihe zeigt den abträglichen Effekt einer partikelfreien Würze auf die Gärleistung der Hefe und bestätigt damit bereits diskutierte Erkenntnisse bezüglich klarer Würzen [2,21,26,27,37,94,95,166,173,174,176,178,180,199,213,218]. Dies ist auf den CO₂-Sättigungsgrad in der gärenden Würze zurückzuführen, was zu einer Stoffwechselhemmung der Hefe führt [96,107,129,160,170,186]. Umgekehrt führt der Zusatz von Partikeln zu einer Abnahme der CO₂-Konzentration, die auf einer verstärkten CO₂-Entbindung an den Partikeloberflächen beruht. Der mit der Entbindung verbundene Aufstieg der CO₂-Blasen in der gärenden Würze führt zu einer besseren Durchmischung des gärenden Mediums und damit zu einer erhöhten Hefezellzahl in Schwebelage, wie es bei Partikel- und insbesondere bei Heißtrubzugabe zu beobachten war und frühere Erkenntnisse bestätigt [206]. Gegenüber den polaren Oberflächen, beispielsweise der Kieselgur, weist der Heißtrub hydrophobe Oberflächenstrukturen auf, die z.B. auf adsorbierte langkettige Fettsäuren zurückzuführen sind, welche für die Entbindung des unpolaren CO₂ zusätzlich förderlich sein könnten, wie dies in der Literatur diskutiert wird [100,105,144,181]. In der Tat konnte durch die Zugabe von Heißtrub nicht nur die größte Zunahme der Zellkonzentration in Schwebelage gegenüber der Kontrolle beobachtet werden, was laut Vorarbeiten auf eine verstärkte CO₂-Entbindung und Stoffwechselaktivität zurückzuführen ist, sondern darüber hinaus war die Heißtrubzugabe auch bei allen untersuchten Hefevitalitäten für die Zellzahlen förderlich. Andererseits ist eine hohe Zellkonzentration in Schwebelage und damit die Nähe des Substrats zur Zelle eine Voraussetzung, daß die Hefezelle das zu verstoffwechselnde Substrat aufnehmen und entsprechende Stoffwechselprodukte an das Medium abgeben kann. Somit bewirkt eine erhöhte Zellzahl auch einen schnelleren Extraktabbau und pH-Wert-Sturz, wie er bei Heißtrubzugabe und teilweise auch bei den Modellpartikeln tatsächlich beobachtet worden war. Mit dem schnelleren Extraktabbau ist wiederum eine verstärkte Freisetzung von CO₂ ins Medium verbunden, was bei beschleunigter Entbindungsrate dank der Anwesenheit von Partikeln mehr Hefezellen in Schwebelage bringt und somit den Kreislauf weiter anregt, so daß letztlich günstigere Reaktionsbedingungen entstehen. In der Tat sind in der Literatur Korrelationen zwischen Hefezellzahl in Schwebelage, CO₂-Entbindungsrate und Extraktabbaurate beschrieben und quantifiziert worden [33,206].

In bezug auf die Partikelzugabemenge konnte festgestellt werden, daß erst ab einer Heißtrubzugabemenge von etwa 1 g/l (feucht) (≈ ca. 0,20 bis 0,25 g Trs/l) eine relevante Wirkung in EBC-Gärröhren auftritt, was in etwa der Hälfte der bei der Würzekochung entstehenden Heißtrubmenge entspricht. Tendenziell gilt: Je größer die Zugabemenge, desto positiver ist Wirkung auf die Gärung. Wie schon im Vorversuch (siehe 4.1) vermutet und bei erhöhter Läutertrübung beobachtet (siehe 4.2), führte im Rahmen des vorliegenden Ver-

suchsdesigns eine vollständige Heißtrubzugabe zu einer Verkürzung der Hauptgärung um etwa einen Tag.

Die Zugabe von Partikeln mit ähnlichen charakteristischen Partikelgrößen führt ebenfalls zu einer Verbesserung der Gärleistung, die sich insbesondere in erhöhten Zellzahlen ausdrückt. Auch hier zeigte im Fall der Kieselgur eine größere Gabe eine stärkere Wirkung. Wie bereits erwähnt, ist dies sehr wahrscheinlich auf eine verbesserte CO₂-Entbindungsrate zurückzuführen [33,206]. Allerdings fällt auf, daß eine Verbesserung gegenüber der partikelfreien Kontrolle nicht bei allen Hefevitalitäten auftrat. Zudem erscheint die Steigerung der Gärleistung trotz vergleichbarer Partikelgrößen und -mengen quantitativ nicht derart ausgeprägt, wie dies beim Heißtrub der Fall ist. Diese These ist allerdings noch im direkten Vergleich auf Signifikanz zu belegen. Sollte diese These zutreffen, erscheint es in Zusammenschau mit den bisher gewonnenen Kenntnissen bezüglich physiologisch wichtiger Bestandteile des Heißtrubs und ihrer Bioverfügbarkeit (siehe 4.1 und insbesondere 4.3) naheliegend, daß neben dem Partikelcharakter des Heißtrubs auch dessen nutritiven Eigenschaften bei der Begründung seiner förderlichen Wirkung auf die Hefe in Betracht zu ziehen sind. Diese „Additiv-Theorie“ spannt den Bogen zwischen den sich bisher scheinbar zu widersprechenden Aussagen in der Literatur (siehe 2) und stellt diese in einen sinnvollen Zusammenhang.

Beachtlich ist, daß selbst eine vollständige Heißtrubzugabe nicht zu einer sensorisch oder analytisch nachweisbaren Qualitätsverschlechterung des frischen Biers führt, was die Ergebnisse aus den Vorversuchen bestätigt (siehe 4.1). Allenfalls führt sie zu Veränderungen des Geschmacksprofils und insbesondere des Bitterprofils in Nuancen, ohne daß die gemessenen Bittereinheiten zunahmten. Die tendenzielle Zunahme des 2-Phenylethanol-Gehalts bei tendenzieller Abnahme des Acetaldehyd-Gehalts gegenüber der Kontrolle ist aus der Sicht der analytisch erfaßten Bieraromastoffe ein weiteres Indiz für die Gärungsverbesserung durch den Heißtrub. Letzteres bestätigt ebenfalls die bereits in vorangegangenen Versuchen gewonnenen, analogen Erkenntnisse (siehe 4.1).

Ähnlich wie beim Vorversuch litt auch hier die sensorische wie auch analytische Geschmacksstabilität praktisch nicht unter der Heißtrubzugabe. Vorbehaltlich einer Verifizierung durch Mehrfachansätze können somit die in der Vergangenheit geäußerten Bedenken hinsichtlich einer wesentlichen Verschlechterung der Geschmacksstabilität durch Einsatz von Heißtrub nicht bestätigt werden. Analog konnten praktisch keine Unterschiede in bezug auf die Trübungs- und Schaumstabilität bei Heißtrubzugabe beobachtet werden. Somit konnten die Erkenntnisse der Vorversuche bestätigt und untermauert werden (siehe 4.1).

5 ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUBFOLGERUNGEN

Eine erhöhte Läutertrübung und das Einbringen von Heißtrub in die Würze sind seit langem Gegenstand der wissenschaftlichen und praktischen Diskussion im Braugewerbe. Da in der Vergangenheit wiederholt von negativen Auswirkungen erhöhter Würzetrübung auf die Bierqualität und insbesondere auf die Geschmacksstabilität berichtet worden war, wird die läuter- und whirlpoolseitige Gewinnung einer möglichst klaren Würze weitverbreitet angestrebt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Auswirkungen einer stark erhöhten Läutertrübung und/oder hoher Heißtrubdosagen auf die Gärung und die Qualität der resultierenden Biere untersucht. Anhand von systematischen Versuchsreihen im Labor-, Pilot- und großtechnischen Maßstab konnte festgestellt werden, daß eine Variation der Würzetrübung einen signifikanten Einfluß auf die Gärleistung hat, wobei durch trübes Abläutern und/oder Heißtrubdosage erhöhte Zellzahlen in Schwebelage, ein schnellerer pH-Wert-Sturz und Extraktabbau gegenüber sehr klaren Würzen erzielt werden. Die beobachtete Verbesserung der Gärleistung ist je nach Parameter tendenziell bis signifikant. Die Würzetrübung kann dabei in Abhängigkeit von der verwendeten Verfahrenstechnik und Steuerung im Sudhaus eingestellt werden. Für die Steigerung der Gärleistung scheinen physiologisch wichtige Bestandteile des Heißtrubs, wie langkettige Fettsäuren (insbesondere Linol- und Palmitinsäure) und Zink, eine Schlüsselrolle zu spielen, wobei letzteres im Verlauf des Sudprozesses stufenweise aus der Maische bzw. Würze abgereichert wird und sich in erhöhter Konzentration im Heißtrub wiederfinden. Neben dem Eintrag langkettiger Fettsäuren und Zink in die Würze wurde ihre schnelle Rücklösung aus Heißtrub in Würze im Modellversuch bestätigt. Diese Bestandteile sorgen für eine verbesserte Hefeernährung und fördern somit den Hefestoffwechsel. Ferner scheint der Partikelcharakter der Würzetrübung und insbesondere des Heißtrubs während der Gärung von Bedeutung zu sein. Eine Zugabe von Heißtrub sowie anderen Modellpartikeln zur gärenden Würze bewirkt eine verstärkte CO₂-Freisetzung durch Vorhandensein von entbindungsfördernden Partikeloberflächen. Dadurch wird einerseits die hemmende Wirkung hoher CO₂-Konzentrationen abgebaut oder wenigstens vermindert. Andererseits durchmischen verstärkt aufsteigende CO₂-Blasen den Inhalt des Gär tanks intensiver und bringen so mehr Hefezellen in Schwebelage, was eine Voraussetzung für eine schnelle und vollständige Gärung ist. Der Vergleich der Gäransätze mit Heißtrub- und Modellpartikelzusatz legt nahe, daß beim Heißtrub über die reinen Partikeleigenschaften hinaus dessen physiologisch relevanten Bestandteile, insbesondere langkettige Fettsäuren und Zink, wirksam sind.

In diesem Zusammenhang wurde anhand von Partikelgrößenverteilungsmessungen festgestellt, daß beim Läuter-, Koch- und Klärungsschritt der Würze im Sudhaus im wesentlichen drei Partikelgrößenklassen auftreten: eine feine Fraktion von ca. 5 µm, welche die Resttrübung einer klar ablaufenden Läuterwürze verursacht; eine mittlere Fraktion im Bereich von 20 bis 25 µm, deren Auftreten mit der Ausbildung von Heißtrub durch ther-

mische Einwirkung korrespondiert; und eine Grobfraktion mit Partikelgrößen von ca. 235 µm, welche aus der Pellethopfung beim Würzekochen stammt. Die mittlere und grobe Fraktion konnten analog im Heißtrub identifiziert werden.

In bezug auf die Bierqualität wurde festgestellt, daß weder eine erhöhte Läutertrübung noch eine Heißtrubzugabe zur Würze zu einer signifikanten Verschlechterung der Bierqualität, der Geschmacksstabilität, der Trübungsstabilität und der Schaumstabilität führen. Selbst bei sehr trüber Abläuterung (mittlere EBC-Trübung: > 100) und vollständiger Heißtrubbelassung in der Würze konnten keine wesentliche Einbußen in der Bierqualität festgestellt werden. Die in der Literatur wiederholt berichtete, starke Beeinträchtigung der Bierqualität und insbesondere der Geschmacksstabilität der resultierenden Biere aufgrund erhöhter Würzetrübung konnte trotz der extremen Versuchsbedingungen nicht nachvollzogen werden. Im Gegenteil waren vereinzelt auch Qualitätsparameter, wie beispielsweise die Schaumstabilität bei erhöhter Läutertrübung, verbessert. Dies liegt vermutlich daran, daß zwar einerseits durch die erhöhte Läutertrübung Substanzen in die Würze eingebracht werden, die für die Bierqualität abträglich sind, z.B. Fettsäuren bzw. deren Abbauprodukte, andererseits diese Substanzen aber die Gärung fördern, was die abträgliche Wirkung auch in bezug auf die Geschmackstabilität anscheinend kompensiert oder sogar überkompensiert.

Daraus ergibt sich, daß absolut klare und partikelfreie Würzen, wie sie im praktischen Betrieb oftmals angestrebt werden, zu einer Beeinträchtigung der Gärung führen und dadurch auch Qualitätseinbußen des resultierenden Bieres verursachen können. Somit stellt sich die Frage, ob die Empfehlung einer derartigen Würzequalität aus heutiger Sicht noch gerechtfertigt ist. Vielmehr erscheint eine moderate Würzetrübung in Verbindung mit einer optimalen Hefebehandlung nicht nur aus technologischer Sicht empfehlenswert, sondern kann auch zu einer vereinfachten und beschleunigten Sudhausarbeit, beispielsweise beim Abläutern und bei der Whirlpoolsedimentation, und zu einer Verkürzung der Hauptgärung und somit zu wirtschaftlichen Vorteilen in der Praxis führen.

6 SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the field of brewing, an increased lauter turbidity and the input of hot trub/break into wort are matter of scientific and practical discussion for a long time. Since the deterioration of the beer quality and particularly of the flavor stability due to increased wort turbidity was repeatedly reported in the past the generation of clear wort is preferred, particularly with respect to mash separation and whirlpool operation.

Within this thesis, the effects of a highly increased lauter turbidity and/or of quantitative additions of hot trub on fermentation and resulting beer quality were subject of investigation. From systematic trials in the lab, pilot and large scale it was observed that a variation of wort turbidity has a significant influence on fermentation performance expressed in a higher concentration of suspended yeast cells, faster and deeper decrease of pH value and extract content of the fermenting wort compared to very bright worts. The observed improvement of the fermentation performance is by tendency or even significant, depending on the analytical parameter. Hereby, wort turbidity can be set according to the applied process technology/technique and the control method in the brewhouse. In hot trub some components are of physiological importance such as long-chain fatty acids (in particular linoleic and palmitic acid) and zinc seem to play a key role in the improvement of fermentation performance. It was also observed that the latter components are stepwise reduced in their concentration from mash/wort during the brewhouse procedure and re-appear in high concentrations in hot trub. Beside the contribution of long-chain fatty acids and zinc, their fast release from hot trub into wort was shown in a model trial. These components cause an improved yeast nutrition and therefore, favor its metabolism. Further, the particulate feature of wort turbidity and particularly of hot trub seems to be important for fermentation. The addition of hot trub and other particulate material to the fermenting wort causes an increased release of CO₂ due to the presence of particulate surfaces favoring bubble formation, whereby high CO₂ concentrations in wort which hinder the yeast metabolism are reduced or eliminated. On the other hand, the ascending CO₂ bubbles cause a better mixing of the fermenter content, thus more yeast cells are taken and kept in suspension, which is a condition for a fast and complete fermentation. The comparison of the fermentation trials with hot trub and model particulate material addition suggests that hot trub offers some more physiological advantages beside the pure particulate feature, such as long-chain fatty acids and zinc, in particular.

In this context, particle size distribution measurements were undertaken, showing that during mash separation, wort boiling and wort clarification substantially three classes of particle sizes occur: a fine fraction of approx. 5 µm causing the remaining turbidity of wort during mash separation; a medium fraction of 20 to 25 µm, which represents the formation of hot trub due to thermal treatment of wort in the brewhouse; and a coarse fraction with particle sizes of ca. 235 µm which originates from pellet hopping during wort boiling.

In terms of the final beer quality, neither an increased lauter turbidity of wort nor a hot trub addition to wort leads to a significant deterioration of flavor quality, flavor stability, haze stability, and foam stability. Even when a very turbid lauter draw-off (average EBC turbidity > 100) and quantitative addition of hot trub into wort was achieved, no major deterioration of beer quality was observed. A great adverse effect on quality and particularly on flavor stability of beer produced with increased wort turbidity as repeatedly reported in the literature could not be confirmed, although rather extreme conditions were chosen for experimental design. In contrast, some of the quality criteria such as foam stability were even improved due to the increase in wort turbidity. Since some of the components originating from increased wort turbidity improve fermentation performance to a significant extent other potential adverse side-effects that could be connected to increased wort turbidity, e.g. fatty acid and degradation products thereof, may be compensated or even over-compensated.

According to this investigation very bright worts that are free of any particulate material which is often aimed in practical operations, may lead to complications in terms of fermentation performance. This could eventually cause a deterioration in the quality of the resulting beer. Therefore, the question rises whether a very bright wort quality is still to be recommended nowadays. Moreover, it might be concluded, that connected with an optimum yeast management a moderate rather than a minimum wort turbidity is desirable not only from a technological point of view, but also in terms of a simplified and an accelerated brewhouse procedure (i.e. the steps of mash separation and whirlpooling) as well as a shortening of main fermentation. Additionally, these measures may also include economic advantages in practical operations.

7 LITERATUR

1. Ahvenainen, J. und Mäkinen, V., The Effect of Pitching Yeast Aeration on Fermentation and Beer Flavour. *Proc. EBC Congr.*, Copenhagen, 1981, **18**, pp. 285-291.
2. Ahvenainen, J., Vehviläinen, H. und Mäkinen, V., Einfluß der Trubentfernung auf die Gärung und Bierqualität. *M Schr. Brauwiss.*, 1979, **32(6)**, 141-144.
3. Ancin, C., Ayestaran, B., Corroza, M., Garrido, J. und Gonzalez, A., Influence of Prefermentation Clarification on the Higher Alcohol Contents of Wines. *Food Chem.*, 1996, **55(3)**, 241-249.
4. Anderson, R.G. und Kirsop, B.H., The Control of Volatile Ester Synthesis During the Fermentation of Wort of High Specific Gravity. *J. Inst. Brew.*, 1974, **80**, 48-55.
5. Andrews, J., A Review of Progress in Mash Separation Technology. *MBAA Techn. Quart.*, 2004, **41(1)**, 45-49.
6. Anite, N.G. und Westermann, D.H., Effect of Particle Size Distribution on Mashing and Lautering Performance. *Proc. Inst. Brew. of the Third Convention, Australia and New Zealand Sect.*, Queensland, Australia, 1974, **3**, pp. 133-149.
7. Annemüller, G., Marx, R. und Gottkehaskamp, L., Überprüfung der Filtrationsqualität mit einem Partikelmeßgerät. *Brauwelt*, 2000, **140(39/40)**, 1573-1578.
8. Anness, B.J. und Reed, R.J.R., Lipids in the Brewery - A Material Balance. *J. Inst. Brew.*, 1985, **91(3/4)**, 82-87.
9. Anness, B.J. und Reed, R.J.R., Lipids in Wort. *J. Inst. Brew.*, 1985, **91(9/10)**, 313-317.
10. Anonymous, Würzekochen und Würzekühlen - ein immer noch kritischer Punkt in etlichen Brauereien. *Brauwelt*, 1998, **138(31/32)**, 1432-1433.
11. Anonymous, Wort Boiling and Clarification. In: *Manual of Good Practice*, European Brewery Convention, Hrsg., Nürnberg: Fachverlag Hans Carl. 2000; pp. 24-25.
12. Aries, V., Kirsop, B.H. und Taylor, G.T., Yeast Lipids. *Proc. EBC Congr.*, Amsterdam, 1977, **16**, pp. 255-266.
13. Axcell, B., Kruger, L. und Allan, G., Some Investigative Studies with Yeast Foods. *Proc. Inst. Brew., Australia and New Zealand Sect.*, 1988, **29**, 201-209.
14. Äyräpää, T., Lipids in Wort Brewed with Adjuncts for Bottom Brewing. *EBC Monograph*, 1974, **1(16)**, 278-284.
15. Äyräpää, T. und Lindström, I., Influence of Long-Chain Fatty Acids on the Fermentation of Esters by Brewer's Yeast. *Proc. EBC Congr.*, Salzburg, 1973, **14**, pp. 272-282.
16. Back, W. und Forster, C., Hefemanagement und Anstelltechnologie mit ihren Auswirkungen auf Geschmack und Geschmacksstabilität. *Proc. EBC Congr.*, Cannes, 1999, **27**, pp. 627-636.
17. Back, W., Forster, C., Krottenthaler, M., Lehmann, J., Sacher, B. und Thum, B., Neue Forschungserkenntnisse zur Verbesserung der Geschmacksstabilität. *Brauwelt*, 1997, **137(38)**, 1677-1692.

18. Badings, H.T., Cold-Storage Defects in Butter and Their Relation to the Autoxidation of Unsaturated Fatty Acids. *Nederlands Melk- en Zuiveltijdschrift*, 1970, **24(3-4)**, 147-256.
19. Bamforth, C.W., Beer Haze. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1999, **57(3)**, 81-90.
20. Bamforth, C.W. und Jackson, G., Aspects of Foam Lacing. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 331-338.
21. Bertuccioli, M. und Rosi, I., Progress in Flavour Research. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. 1984, Band 10, p. 387.
22. Biermann, U.K., Über Menge und Zusammensetzung des Kochtrubes in Abhängigkeit von technologischen Verfahren. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1984, pp. 9, 91.
23. Buckee, G.K., Morris, T.M. und Bailey, T.P., Calibration and Evaluation of Haze Meters. *J. Inst. Brew.*, 1986, **92(5)**, 475-482.
24. Bühler, T.M., Matzner, G. und McKenchie, M.T., Agitation in Mashing. *Proc. EBC Congr.*, Brussels, 1995, **25**, pp. 293-300.
25. Bühler, T.M., McKechnie, M.T. und Wakeman, R.J., A Model Describing the Lautering Process. *M Schr. Brauwiss.*, 1996, **49(7-8)**, 226-233.
26. Byrne, H., Loughrey, M. und Letters, R., A Novel Technique for Investigating of Role of Lipids in Brewing. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 659-666.
27. Cantrell, I.C. und Anderson, R.G., Yeast Performance in Production Fermentations. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 481-488.
28. Carpentier, B., van Haecht, J.L. und Dufour, J.P., Influence of the Trub Content of the Pitching Wort on Yeast By-Products Synthesis. *Proc. Inst. Brew., Centr. & South African Sect.*, 1991, **3**, 144-149.
29. Chandrasena, G., Staines, H.J. und Walker, G.M., Use of Response Surfaces to Investigate Metal Ion Interaction in Yeast Fermentations. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1997, **55**, 24-29.
30. Claesson, S. und Sandegren, E., Studies on Haze by Doppler-Light-Scattering. *Proc. EBC Congr.*, Salzburg, 1973, **14**, pp. 343-348.
31. O'Connor-Cox, E.S.C., Lodolo, E.J., Steyn, G.J. und Axcell, B.C., High Gravity Wort Clarity and its Effect on Brewing Yeast Performance. *MBAA Techn. Quart.*, 1996, **33(1)**, 20-29.
32. Coors, G., Krottenthaler, M. und Back, W., Wort Pre-cooling and its Influence on Casting. *Brauwelt Int.*, 2003, **21(1/03)**, 40-41.
33. Daoud, I.S. und Searle, B.A., On-Line Monitoring of Brewery Fermentation by Measurement of CO₂ Evolution Rate. *J. Inst. Brew.*, 1990, **96(9/10)**, 297-302.
34. Daum, G., Tuller, G., Nemeč, T., Hrastnik, C., Balliano, G., Cattell, L., Milla, P., Rocco, F., Conzelmann, A., Vionnet, C., Kelly, D.E., Kelly, S., Schweizer, E., Schuller, H.J., Hojad, U., Greiner, E. und Finger, K., Systematic Analysis of Yeast Strains With Possible Defects in Lipid Metabolism. *Yeast*, 1999, **15(7)**, 601-614.
35. Daveloose, M., An Investigation of Zinc Concentrations in Brewhouse Worts. *MBAA Techn. Quart.*, 1987, **24(3)**, 109-112.
36. David, M.H. und Kirsop, B.H., The Varied Response of Brewing Yeasts to Oxygen and Sterol Treatment. *ASBC Proc.*, 1972, **30(1)**, 14-16.

37. David, M.H. und Kirsop, B.H., Yeast Growth in Relation to the Dissolved Oxygen and Sterol Content of Wort. *J. Inst. Brew.*, 1973, **79(1)**, 20-25.
38. van de Meerssche, J., Devreux, A. und Masschelein, C.A., Formation de *trans*-2-nonenal par photo-oxydation des acides octadecenoïques hydroxyles. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 525-532.
39. DeClerck, J., Lehrbuch der Bierbrauerei. Berlin, Germany: Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin. 1964, Band I, pp. 446-460.
40. DeClerck, J., The Process of Wort Boiling. *Brewers Digest*, 1967, **42(3)**, 96-99.
41. Delente, J., Akin, C., Krabbe, E. und Ladenburg, K., Carbon Dioxide in Fermenting Beer. Part II. *MBAA Techn. Quart.*, 1968, **5(4)**, 228-234.
42. Delente, J., Akin, C., Krabbe, E. und Ladenburg, K., Fluid Dynamics of Anaerobic Fermentation. *Biotechn. Bioeng.*, 1969, **11(4)**, 631-646.
43. Delente, J. und Gurley, J., Carbon Dioxide in Fermenting Beer. Part I. *MBAA Techn. Quart.*, 1968, **5(3)**, 187-192.
44. Delvaux, F., Combes, F.J. und Delvaux, F.R., The Effect of Wheat Malting on the Colloidal Haze of White Beers. *MBAA Techn. Quart.*, 2004, **41(1)**, 27-32.
45. Delvaux, F., Depraetere, S.A., Delvaux, F.R. und Delcour, J.A., Ambiguous Impact of Wheat Gluten Proteins on the Colloidal Haze of Wheat Beers. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2003, **61(2)**, 63-68.
46. Delvaux, F., Gys, W., Michiels, J., Delvaux, F.R. und Delcour, J.A., Contribution of Wheat and Wheat Protein Fractions to the Colloidal Haze of Beers. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2001, **59(3)**, 135-140.
47. Denk, V., Weitere Ergebnisse und Erfahrungen beim industriellen Einsatz des neuen Whirlpoolkonzeptes. *Brauwelt*, 1991, **131(28)**, 1219-1225.
48. Devreux, A., Le'bullition des mouts alheure des extraits de houblon pre'isomerises. *Bios*, 1973, **4(4)**, 205-209.
49. Dickel, T., Krottenthaler, M. und Back, W., Untersuchungen zum Einfluß des Kühltrubeintrages auf die Bierqualität. *M Schr. Brauwiss.*, 2000, **53(5/6)**, 95-100.
50. Dickel, T., Krottenthaler, M. und Back, W., Investigations Into the Influence of Residual Cold Break on Beer Quality. *Brauwelt Int.*, 2002, **20(1/02)**, 23-25.
51. Dominguez, X.A. und Canales, A.M., Oxidation of Beer. A Rational Mechanism for the Degradation of Unsaturated Fatty Acids and the Formation of Unsaturated Aldehydes. *Brewers Digest*, 1974, **49(7)**, 40-47.
52. Donhauser, S. und Wagner, D., Möglichkeiten der Beeinflussung des Zinkgehaltes der Würze. *M Schr. Brauwiss.*, 1986, **39(6)**, 223-230.
53. Donhauser, S., Wagner, D. und Linsenmann, O., Hefezink bei konventionellen und Druckgärverfahren. *Brauwelt*, 1982, **122(34)**, 1464-1472.
54. Drost, B.W., van der Berg, R., Freijee, F.J.M., van der Velde, E.G. und Hollemans, M., Flavor Stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1990, **48(4)**, 124-131.
55. Drost, B.W., van Eerde, P., Hockstra, S.F. und Strating, J., Fatty Acids and Staling of Beer. *Proc. EBC Congr.*, Estoril, Portugal, 1971, **13**, pp. 451-458.
56. Dufour, H.P., Hernandez, R.M., Loreti, L.F. und Meyer, A.M., Lipids in Relation to Wort Boiling. *EBC Monograph*, 1991, **18(2)**, 12-24.

57. Dufour, J.P., Alvarez, P., Devreux, A. und Gerardi, W., Influence of the Filtration Procedure on the Relationship between Wort Turbidity and its Lipid Content. *Mschr. Brauwiss.*, 1986, **39(3)**, 115-121.
58. Edwards, R. und Thompson, C.C., Observations on the Effect of Lipids on Head Retention. *J. Inst. Brew.*, 1968, **74**, 257-261.
59. Eiber, P., Würzekochung und Eiweißkoagulation unter besonderer Berücksichtigung von Druck und Temperatur sowie der Heizflächenverhältnisse. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1958, pp. 8-14.
60. Eils, H.-G., Über den Einfluß der Sudhauseinrichtung auf die Beschaffenheit von Würze und Bier. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994, pp. 40-125.
61. Enders, S. und Spiegl, A., Über Trübungen in Würze und Bier. Teil I. *Wo. Br.*, 1937, **54(13)**, 97-100.
62. Enders, S. und Spiegl, A., Über Trübungen in Würze und Bier. Teil II. *Wo. Br.*, 1937, **54(14)**, 105-110.
63. Fischer, S., Schäfer, W. und Sommer, K., Abscheideverhalten einer Zentrifuge bei der Weizenbierseparation. *Brauwelt*, 2000, **140(20)**, 849-852.
64. Forch, M. und Runkel, U.-D., Die Bedeutung der Würzelipide für die Bierqualität und Möglichkeiten zu ihrer quantitativen Beeinflussung. *EBC Monograph*, 1974, **1(15)**, 258-265.
65. Freeman, G.J., Rapid Estimation of Effective Bed Voidage for Kieselguhrs. *J. Inst. Brew.*, 1993, **99(3)**, 219-221.
66. Frey, S.W., DeWitt, W.G. und Bellomy, B.R., The Effect of Several Trace Metals on Fermentation. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1967, **25**, 199-205.
67. van Gheluwe, G.E.A., Jamieson, A.M. und Valyi, Z., Factors Affecting the Formation of Fusel Alcohols During Fermentation. *MBAA Techn. Quart.*, 1975, **12(3)**, 169-175.
68. Ghosh, A. und Sommer, K., Flotative Entfernung von Eiweißpartikeln. *Mschr. Brauwiss.*, 1984, **37(8)**, 359-363.
69. Ghosh, A. und Sommer, K., Partikelgröße von Kühltrub und Luftblasen zur Optimierung der Flotation. *Mschr. Brauwesen*, 1986, **39(11)**, 384-390.
70. Graf, H., Carbonyle und Alterung des Bieres. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, Germany, 1984, pp. 76-96.
71. Greffin, W. und Krauß, G., Schrotten und Läutern. II. Arbeit mit konventioneller Trockenschrotmühle und Läuterbottich - eine Literaturübersicht. *Mschr. Brauerei*, 1978, **31(6)**, 192-212.
72. Grill, W. und Püspök, J., Die freien höheren Fettsäuren bei der Verarbeitung von Rohfrucht. *Proc. EBC Congr.*, Amsterdam, 1977, **16**, pp. 195-209.
73. Grill, W. und Püspök, J., Der Einfluß des Kühltrubgehaltes auf die Geschmacksstabilität von Flaschenbier. *Proc. EBC Congr.*, Berlin, 1979, **17**, pp. 61-77.
74. Groat, M. und Ough, C.S., Effects of Insoluble Solids Added to Clarified Musts on Fermentation Rate, Wine Composition and Wine Quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1978, **29**, 112-119.

75. Haboucha, J., Devreux, A. und Masschelein, C.A., Les lipides de mout et leur influence sur la stabilité de la mousse de la bière. *Proc. EBC Congr.*, Copenhagen, 1981, **18**, pp. 451-459.
76. van Haecht, J.L., van Brackeleire, C., de Dufour, J.-P. und Devreux, A., An Alternative to the Whirlpool, The Wort Decanter. *EBC Monograph*, 1990, **16**, 96-111.
77. Hammond, J., Yeast Growth and Nutrition. In: *Brewing Yeast Fermentation Performance*, 1. Auflage; Katherine A. Smart, Hrsg., Oxford: Blackwell Science Ltd. 2000; Band 1, pp. 77-85.
78. Hammond, J.R.M., Brewer's Yeast. In: *The Yeasts*, H. A. Rose und J. S. Harrison, Hrsg., London: Academic Press. 1993; pp. 7-67.
79. Handley, M.F. und Hough, J.S., Investigation into the Design and Performance of Model Whirlpool Separators. *Brewer's Journal London*, 1969, **105(1245)**, 49-55.
80. Haukeli, A.D. und Lie, S., Yeast Growth and Metabolic Changes During Brewery Fermentations. *Proc. EBC Congr.*, 1979, **17(35)**, 461-473.
81. Hawthorne, D.B., Kavanagh, T.E. und Clarke, B.J., Determination of Low Molecular Weight Organic Compounds in Beer Using Capillary Gas Chromatography. *ASBC Proc.*, 1987, **45(1)**, 23-27.
82. Helin, T.R.M. und Slaughter, J.C., Minimum Requirements for Zinc and Manganese in Brewer's Wort. *J. Inst. Brew.*, 1977, **83**, 17-19.
83. Hoekstra, S.F., Wort Composition, a Review of Known and Unknown Facts. *Proc. EBC Congr.*, Nice, 1975, **15**, pp. 465-477.
84. Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R. und Young, T.W., Factors Affecting Fermentations. In: *Malting and Brewing Science*, 2. Auflage; London: Chapman and Hall. 1982; Band 2, pp. 645-648.
85. Hudson, J.R. und Birtwistle, S.E., Wort Boiling in Relation to Beer Quality. *J. Inst. Brew.*, 1966, **72**, 46-50.
86. Huige, N.J. und Westermann, D.H., Effect of Malt Particle Size Distribution on Mashing and Lautering Performance. *MBAA Techn. Quart.*, 1975, **12(1)**, 31-40.
87. Husemann, K., Hebmüller, F. und Eßlinger, M., Die Bedeutung der Tiefenfiltration bei der Kieselgurfiltration von Bier (Teil 2). *M Schr. Brauwiss.*, 2003, **56(9/10)**, 152-160.
88. Ilberg, V., Machauer, P. und Sommer, K., Partikelgrößenmessung zur Filtrierbarkeitsbeurteilung von Bieren. *Brauwelt*, 1993, **133(35)**, 1502-1505.
89. Jacobsen, T., Lie, S. und Hage, T., Wort Quality and Zinc Content of Malt. *Proc. EBC Congr.*, Copenhagen, 1981, **18**, pp. 97-104.
90. Jacobsen, T.H., Hage, T. und Lie, S.A., A Fermentation Assay for Wort Element Availability. *J. Inst. Brew.*, 1982, **88**, 387-389.
91. Jones, M.O., Cope, R. und Rainbow, C., Changes in the Free Fatty Acids and Other Lipids of Worts During Boiling and Fermentation. *Proc. EBC Congr.*, Nice, 1975, **15**, pp. 669-681.
92. Just, F., Bogs, B. und Drews, B., Neuere Untersuchungen über den Trüb. *Proc. EBC Congr.*, 1959, 358-363.
93. Kirby, K., Williams, P.M., Wheeler, R.E. und Jones, M., The Importance of the Polyphenols of Barleys and Malts in Beer Sediment and Haze Formation. *Proc. EBC Congr.*, Amsterdam, 1977, **16**, pp. 415-427.

94. Kirsop, B.H., Fermentation: From Beer to Wort. *EBC Monograph*, 1978, **5**, 3-16.
95. Kirsop, B.H., Pitching Rate. *Brewers Digest*, 1978, **53(7)**, 28-32.
96. Kirsop, B.H., Hughes, S.P. und Aries, V.C., Effects of Carbon Dioxide on Yeast Growth. *Fourth International Specialized Symposium on Yeasts "Yeasts for Industrial Use"*, Berlin, 1976, **4(Y.26)**, p. 492.
97. Kirsop, B.H., Rennie, H. und Wilson, R.J.H., Controlled Oxygenation and Decarbonation During Beer Fermentation. *Fifth International Fermentation Symposium*, Berlin, 1976, **5(20.08)**, p. 380.
98. Kleynhans, S.A., Jackson, A.P. und Pickerell, A.T.W., Practical Control of Fermentation to Assist in Ensuring Consistent High Quality Beers. *MBAA Techn. Quart.*, 1992, **29(2)**, 69-72.
99. Klopper, W.J., Wort Composition, a Survey. *EBC Monograph*, 1974, **1(1)**, 8-24.
100. Klopper, W.J., Tuning, B. und Vermeire, H.A., Free Fatty Acids in Wort and Beer. *Proc. EBC Congr.*, Nice, 1975, **15**, pp. 659-667.
101. Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und Kühbeck, F., Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren. *Brauwelt*, 2005, **145(6)**, 143-150.
102. Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und Kühbeck, F., Tests on Infusion and Decoction Method. *Brauwelt Int.*, 2006, **24(I/06)**, 33-37.
103. Kolczyk, M. und Oechsle, D., Ein neues Partikelmeßsystem zur Beurteilung von Filtraten und zur Qualitätssicherung. *Brauwelt*, 1998, **138(28/29)**, 1288-1292.
104. Krauß, G., Forch, M. und Holstein, H., Über das Schicksal einiger Malzlipide während der Gärung. *M Schr. Brauerei*, 1975, **28(10)**, 229-237.
105. Krauß, G., Zürcher, C. und Holstein, H., Die schaumzerstörende Wirkung einiger Malzlipide und ihr Schicksal im Verlauf des Mälzungs- und Brauprozesses. *M Schr. Brauwiss.*, 1972, **25(5)**, 113-123.
106. Kreder, G.C., Yeast Assimilation of Trub-Bound Zinc. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1999, **57(4)**, 129-132.
107. Kruger, L., Pickerell, A.T.W. und Axcell, B.C., The Sensitivity of Different Brewing Yeast Strains to Carbon Dioxide Inhibition - Fermentation and Production of Flavour-Active Volatile Compounds. *J. Inst. Brew.*, 1992, **98(2)**, 133-138.
108. Kühbeck, F., Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality - A Review. *J. Inst. Brew.*, 2006, **112(3)**, 215-221.
109. Kühbeck, F., Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality in Large-Scale Trials. *J. Inst. Brew.*, 2006, **112(3)**, 222-231.
110. Kühbeck, F., Back, W. und Krottenthaler, M., Release of Long-Chain Fatty Acids and Zinc from Hot Trub to Wort. *M Schr. Brauwiss.*, 2006, **59(03/04)**, 67-77.
111. Kühbeck, F., Kurz, T., Back, W. und Krottenthaler, M., Particle Size Distribution and Technological Parameters in Wort During Lautering and Boiling Applying a Variation of Large Scale Lauter and Boiling Techniques. *AIChE J*, 2007, **53(5)**, 1373-1388.

112. Kühbeck, F., Müller, M., Kurz, T., Back, W. und Krottenthaler, M., Effect of Hot Trub and Particle Addition on Fermentation Performance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2007, **41**, 711-720.
113. Kühbeck, F., Schütz, M., Krottenthaler, M. und Back, W., Influence of Lauter Turbidity and Hot Trub on Wort Composition, Fermentation, and Beer Quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2006, **64(1)**, 16-28.
114. Kumada, J., Takahashi, T., Nakatani, K. und Nagami, K., Endoskopische Untersuchungen des Verhaltens der biologischen und nichtbiologischen Partikel während der Gärung und Lagerung des Bieres. *Proc. EBC Congr.*, Copenhagen, 1981, **18**, pp. 293-301.
115. Lafon-Lafourcade, S., Larue, F. und Ribereau-Gayon, P., Evidence for the Existence of "Survival Factors" as an Explanation for Some Peculiarities of Yeast Growth, Especially in Grape Must of High Sugar Concentration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, **38(6)**, 1069-1073.
116. Ledward, D.A., Proteins. In: *Effects of Heating on Foodstuffs*, R. J. Priestley, Hrsg., London: Applied Science Publishers Ltd. 1979; pp. 1-34.
117. Lentini, A., Takis, S., Hawthorne, D.B. und Kavanagh, T.E., The Influence of Trub on Fermentation and Flavour Development. *Proc. Inst. Brew., Asia Pacific Sect.*, 1994, **23**, 89-95.
118. Letters, R., Lipids in Brewing, Friend or Foe? *Ferment*, 1992, **5**, 268-274.
119. Leyser-Heiß, Die Bierbrauerei. Stuttgart: Max Waag Verlag. 1887, p. 293.
120. Lie, S. und T., J., The Absorption of Zinc by Brewer's Yeast. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 145-151.
121. Lim, Y.-H., Pecar, M., Sudarmana, D., Pell, R., Freeman, R. und Hawthorne, D., Effect of Storage Conditions on the Filterability of Beer. *MBAA Techn. Quart.*, 1992, **29(2)**, 37-41.
122. Lotz, M., Schneider, J., Weisser, H., Krottenthaler, M. und Back, W., New Mash Filtration Technique for Processing of Powder Grist. *Proc. EBC Congr.*, Maastricht, 1997, **26**, pp. 299-305.
123. Lukes, B.K. und O'Brien, T.J., Improved Methods for the Determination of Wort Colour and Turbidity. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1983, **41(4)**, 152-157.
124. Lustig, S., Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994.
125. Lutz, M., Brück, D., Denk, V. und Delgado, A., Untersuchungen zur Partikelgrößenverteilung von Heißtrub. *Der Weihenstephaner*, 1997, **65(3)**, 154-157.
126. Maddox, I.S. und Hough, J.S., Effect of Zinc and Cobalt on Yeast Growth and Fermentation. *J. Inst. Brew.*, 1970, **76(3)**, 262-264.
127. Mändl, B., Wullinger, F., Rühllein, M. und Heyse, K.-U., Der Einfluß von Zink auf das Verhalten untergäriger Brauereihefen. *Der Weihenstephaner*, 1979, **47**, 84-96.
128. Marx, G., Scopel, S. und Wackerbauer, K., Kochtrubabscheidung, Entfernung und Rückgewinnung der enthaltenen Würze. *Brauwelt*, 1985, **125(33)**, 1697-1702.
129. Masschelein, C.A. und Helbert, J.R., Flavour Development in Large-Capacity Vessels. *Brew. Dist. Intern.*, 1981, **11(5)**, 37-42.

130. McMurrough, I., Hennigan, G.P. und Loughrey, M.J., Contents of Simple, Polymeric and Complexed Flavanols in Worts and Beers and Their Relationship to Haze Formation. *J. Inst. Brew.*, 1983, **89(1)**, 15-23.
131. Meilgaard, M. und Moya, E.A., A Study of Carbonyl Compounds in Beer. 1. Background and Literature Research. *MBAA Techn. Quart.*, 1970, **7(3)**, 135-142.
132. Meilgaard, M.C., Stale Flavor Carbonyls in Brewing. *Brewers Digest*, 1972, **47(4)**, 48-62.
133. Meilgaard, M.C., Effects on Flavour of Innovations in Brewery Equipment and Processing: A Review. *J. Inst. Brew.*, 2001, **107(5)**, 271-286.
134. Meilgaard, M.C. und Ayma, M., A Study of Carbonyl Compounds in Beer. IV. Carbonyl Compounds Identified in Heat-treated Wort and Beer. *ASBC Proc.*, 1971, **29**, 219-229.
135. Merritt, N.R., The Effect of Suspended Solids on the Fermentation of Distiller's Malt Wort. *J. Inst. Brew.*, 1967, **73**, 484-488.
136. Meyer, L., Über den Einfluß der Trubseparierung auf die Organoleptik des Bieres. *Diploma thesis*, TU München, Freising-Weihenstephan, Germany, 1978, p. 4.
137. Mezger, R., Krottenthaler, M. und Back, W., Moderne Kochsysteme - ein Überblick. *Brauwelt*, 2003, **143(4/5)**, 93-99.
138. Michel, R., Krüs, H.W., Schöffel, S., Schreiner, R. und Sommer, K., Calculation and Description of Particle Trajectories in a Rotational Flow Near the Ground With and Without a Sidewall. *M Schr. Brauwiss.*, 1986, **39(12)**, 428-433.
139. Mishra, P. und Prasad, R., Relationship between Ethanol Tolerance and Fatty Acid Composition of *Saccharomyces-Cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1989, **30(3)**, 294-298.
140. Möller-Hergt, G., Wackerbauer, K., Tressl, R., Garbe, L.-A. und Zufall, C., Die Bedeutung der Hydroxyfettsäuren in Würze und Bier. *Proc. EBC Congr.*, Cannes, 1999, **27**, pp. 123-132.
141. Moonjai, N., Verstrepen, K.J., Delvaux, F.R., Derdelinckx, G. und Verachert, H., The Effects of Linoleic Acid Supplementation of Cropped Yeast on its Subsequent Fermentation Performance and Acetate Synthesis. *J. Inst. Brew.*, 2002, **108(2)**, 227-235.
142. Morikawa, M., Yasui, T., Ogawa, Y. und Ohkochi, M., Influence of Wort Boiling and Wort Clarification Conditions on Cardboard Flavour in Beer. *Proc. EBC Congr.*, Dublin, 2003, **29**, pp. 775-782.
143. Morris, T.M., The Relationship between Haze and the Size of Particles in Beer. *J. Inst. Brew.*, 1987, **93(1)**, 13-17.
144. Mück, E.A., Über das Verhalten der Fettsäuren beim Brauprozeß. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1985, pp. 35-132.
145. Müller, M.P., Der Einfluß von Heißtrub und Modellpartikeln auf Gärung und Bierqualität. *Diplomarbeit*, TU München, Freising-Weihenstephan, 2007, pp. 34-75.
146. Narziß, L., Abriß der Bierbrauerei. 3. Auflage; Stuttgart: Ferdinand Enke. 1972, pp. 145, 154, 161.
147. Narziß, L., Abriß der Bierbrauerei. 4. Auflage; Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 1980, p. 158.

148. Narziß, L., Probleme der Geschmacksstabilität in kleinen und mittleren Brauereien. *Brauwelt*, 1982, **122(49)**, 2292-2301.
149. Narziß, L., Technological Factors of Flavor Stability. *J. Inst. Brew.*, 1986, **92(4)**, 346-353.
150. Narziß, L., Die Technologie der Würzebereitung. 7. Auflage; Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 1992, Band II, pp. 319-322.
151. Narziß, L. und Gromus, J., Stabilisierungsversuche mit polyphenolreichen Bieren. *Brauwiss.*, 1982, **35(8)**, 198-204.
152. Narziß, L., Krüger, R. und Krauß, T., Technologie und wirtschaftlicher Vergleich von Abläutersystemen. *Proc. EBC Congr.*, Copenhagen, 1981, **18**, pp. 137-152.
153. Narziß, L. und Mück, E., Das Verhalten der langkettigen freien Fettsäuren beim Würzekochen und bei der Würzebehandlung. *Mschr. Brauwiss.*, 1986, **39(7)**, 252-257.
154. Narziß, L., Reicheneder, E. und Pichelmaier, K., Über den Einfluß verschieden hoher Abdarrtemperaturen auf die Ausscheidungsvorgänge beim Würzekochen und die Beschaffenheit der Biere. *Brauwelt*, 1971, **111**, 1544-1552.
155. Narziß, L. und Sekin, Y., Über die Entwicklung der Peroxidase während des Mälzungs- und Brauprozesses. *Brauwiss.*, 1974, **27(6)**, 155-164.
156. Narziß, L. und Weigt, K., Über Trübung und Trubstoffgehalt der Würze. *Brauwelt*, 1980, **120(14)**, 481-484.
157. Narziß, L. und Weigt, K., Über Trübung und Trubstoffgehalt der Würze beim Abläutern mit verschiedenen Systemen. *Brauwelt*, 1980, **120(12)**, 409-416.
158. Nielsen, H., The Importance of Running Clear Lauter Wort. *MBAA Techn. Quart.*, 1973, **10(1)**, 11-16.
159. Niemsch, K., Bierstabilisierung. Der Schritt in das neue Jahrtausend mit der Erfahrung von gestern. *Brauwelt*, 2001, **141(11)**, 399.
160. Nordstedt, C., Bengtsson, A., Bennet, P., Lindström, I. und Äyräpää, T., Technical Measures to Control the Formation of Esters During Beer Fermentation. *Proc. EBC Congr.*, Nice, 1975, **15**, pp. 581-600.
161. Olsen, A., The Role of Wort Turbidity in Flavour and Flavour Stability. *EBC Monograph*, 1981, **7(19)**, 223-236.
162. Osamu, O., Imai, T., Ogawa, Y. und Ohkochi, M., Influence of Wort Boiling and Wort Clarification Conditions on Aging-Relevant Carbonyl Compounds in Beer. *MBAA Techn. Quart.*, 2006, **43(2)**, 121-126.
163. Otoguro, K., Awaya, J., Tanaka, H. und Omura, S., Saturated Fatty Acid-Starved Cells of *Saccharomyces cerevisiae* Grown in the Presence of Cerulenin and Oleic Acid. *J. Biochem.*, 1981, **89(2)**, 523-529.
164. Peinert, J.-C., Partikelgröße - Indikator für die Trübungsstabilität von Bier. *Brauwelt*, 2006, **146(17)**, 478-481.
165. Prokes, J. und Hartmann, J., Auswertung der Trübung von Würze bei Malz tschechischen Ursprungs. *Mschr. Brauwiss.*, 2001, **54(11/12)**, 237-241.
166. Reed, R.J.R., The Influence of Hot and Cold Break Formation on Whirlpool Operation and Fermentation. *Ferment*, 1988, **1(6)**, 39-42.

167. Reed, R.J.R., Freeman, G.J. und Eggars, H.U., Selection of Filter-Aids Appropriate to Beer Particle Size. *Proc. EBC Congr.*, Lisbon, 1991, **23**, pp. 641-648.
168. Reed, R.J.R. und Jordan, G., Factors Affecting Trub Formation During Wort Boiling. *Proc. EBC Congr.*, Lisbon, 1991, **23**, pp. 673-680.
169. Rice, J.F., Chicoye, E., Helbert, J.R. und Garver, J.C., Inhibition of Beer Volatiles Formation by Carbon Dioxide. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1977, **35(3)**, 35-40.
170. Rice, J.F., Helbert, J.R. und Garver, J.C., The Quantitative Influence of Agitation on Yeast Growth during Fermentation. *Am. Soc. Brew. Chem. Proc.*, 1974, **32(2)**, 94-96.
171. Richter, K., Sedimentationsanalyse mit der Sedimentationswaage. *Diploma thesis*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1987, p. 77.
172. Richter, K. und Sommer, K., Pulverschrot - Reaktionsgeschwindigkeiten beim Maischen. *M Schr. Brauwiss.*, 1994, **47(1/2)**, 4-7.
173. Rose, A.H., The Role of Oxygen in Lipid Metabolism and Yeast Activity During Fermentation. *EBC Monograph*, 1978, **5**, 96.
174. Rosi, I. und Bertuccioli, M., Influences of Lipid Addition on Fatty Acid Composition of *Saccharomyces cerevisiae* and Aroma Characteristics of Experimental Wines. *J. Inst. Brew.*, 1992, **98(7/8)**, 305-314.
175. O'Rourke, T., Die moderne Anpassung der Würzekochung. *The Brewer*, 1984, **70(1)**, 12-18.
176. Royston, M.G., Wort Boiling and Cooling. In: *Modern Brewing Technology*, W. P. K. Findlay, Hrsg., London: MacMillan Press. 1971; pp. 77-79.
177. Sandermann, H.J., Regulation of Membrane Enzymes by Lipids. *Biochim. Biophys. Acta*, 1978, **515(3)**, 209-237.
178. Schisler, D.O., Ruocco, J.J. und Mabee, M.S., Wort Trub Content and Its Effects on Fermentation and Beer Flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1982, **40(2)**, 57-61.
179. Schneider, J. und Weisser, H., Diafiltration of Mash. *J. Inst. Brew.*, 2004, **110(4)**, 326-334.
180. Schur, F. und Pfenninger, H.B., Einfluß von Läuterzeit und Würzetrübung auf Herstellung und Qualität des Bieres. *Proc. EBC Congr.*, Berlin, 1979, **17**, pp. 105-116.
181. Schuster, I., Die höheren freien Fettsäuren bei der Würzereitung und ihr Einfluß auf die Gärung und die Bierbereitung. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, Germany, 1985, p. 101.
182. Schuster, K., Die Technologie der Würzereitung. 4. Auflage; Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 1963, pp. 230-240.
183. Schuster, K., Die Technologie der Würzereitung. 5. Auflage; Stuttgart: Ferdinand Enke. 1968, pp. 262, 320.
184. Schuster, K. und Raab, H., Über die Bedeutung von Polyphenolderivaten der Gerste bzw. des Malzes. *Brauwiss.*, 1961, **14(5/6)**, 246-252.
185. Schütz, M., Hartmann, K., Herrmann, M., Keßler, M., Kreis, S., Krottenthaler, M., Mezger, R., Schneeberger, M., Thiele, F., Zarnkow, M. und Back, W., Analytische Kontrollmöglichkeiten zur Optimierung technologischer Prozesse. Teil I. *Brauwelt*, 2006, **146(8/9)**, 216-220.

186. Siebert, K.J., Blum, P.H., Wisk, T.J., Stenroos, L.E. und Anklam, W.J., The Effect of Trub on Fermentation. *MBAA Tech. Quart.*, 1986, **23**, 37-43.
187. Siebert, K.J. und Lynn, P.Y., Effect of Protein-Polyphenol Ratio on the Size of Haze Particles. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2000, **58(3)**, 117-123.
188. Siebert, K.J. und Lynn, P.Y., Effects of Alcohol and pH on Protein-Polyphenol Haze Intensity and Particle Size. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2003, **61(2)**, 88-98.
189. Siebert, K.J., Stenross, L.E. und Reid, D.S., Characterization of Amorphous-Particle Haze. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1981, **39(1)**, 1-11.
190. Solfrank, B. und Sommer, K., Effektivität der flotativen Abscheidung von Kühltrub aus Bierwürze bei verschiedenen Belüftungsorganen. *Mschr. Brauwiss.*, 1989, **42(9)**, 364-368.
191. Sommer, G., Moderne Sudhaustechnologie. *Mschr. Brauerei*, 1979, **32(5)**, 228-239.
192. Steiner, K., Abläutern in einer Fruchtresse. *Schweiz. Br.-Rdsch.*, 1972, **83(1)**, 24-25.
193. Stewart, G.G. und Martin, S.A., Wort Clarity: Effects on Fermentation. *MBAA Techn. Quart.*, 2004, **41(1)**, 18-26.
194. Stiles, S.R. und Henry S. Herbert, J., Centrifugal Separation, Isolation and Characteristics of Brewery Spent Grains and Press Liquor. *MBAA Techn. Quart.*, 1977, **14(1)**, 21-34.
195. Takahashi, T., Suga, S., Nagami, K. und Kumada, J., Endoscopic Investigations on the Behaviour of Biological and Non-biological Particles During Fermentation and Storage of Beer (II). *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 169-176.
196. Takahashi, T., Suga, S., Nagami, K. und Kumada, J., Endoscopic Investigations on the Behaviour of Biological and Non-biological Particles During Fermentation and Storage of Beer (III). *Proc. EBC Congr.*, Helsinki, 1985, **20**, pp. 483-490.
197. Takahashi, Y., Pilotversuche über den Einfluß verschiedener Maischparameter auf die Eigenschaften der Würze und des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1996, p. 177.
198. Tanford, C., Protein Denaturation. *Advanced Protein Chemistry*, 1968, **23**, 121-282.
199. Taylor, G.T., Thurston, P.A. und Kirsop, B.H., The Influence of Lipids Derived from Malt Spent Grains on Yeast Metabolism and Fermentation. *J. Inst. Brew.*, 1979, **85(4)**, 219-227.
200. Thomas, D.S., Hossack, J.A. und Rose, A.H., Plasma-Membrane Lipid-Composition and Ethanol Tolerance in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Arch. Microbiol.*, 1978, **117(3)**, 239-245.
201. Thomas, K.C., Hynes, S.M. und Ingledew, W.M., Effects of Particulate Materials and Osmoprotectants on Very-High-Gravity Ethanolic Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**, 1519-1524.
202. Thurston, P.A., Quain, D.E. und Tubb, R.S., Lipid Metabolism and the Regulation of Volatile Ester Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.*, 1982, **88(2)**, 90-94.

203. Thurston, P.A., Taylor, R. und Ahvenainen, J., Effects of Linoleic Acid and Supplements on the Synthesis by Yeast of Lipids and Acetate Esters. *J. Inst. Brew.*, 1981, **87(2)**, 92-95.
204. Tressl, R., Bahri, L. und Silwar, R., Bildung von Aldehyden durch Lipidoxidation und deren Bedeutung als "off-flavor"-Komponenten in Bier. *Proc. EBC Congr.*, Berlin, 1979, **17**, pp. 27-41.
205. Tressl, R., Kossa, T., Renner, R. und Köppler, H., Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen flüchtiger Inhaltsstoffe von Hopfen, Würze und Bier und deren Genese. *Mschr. Brauerei*, 1975, **28(35)**, 109-118.
206. Trolle, B., Experiments on Bottom Fermentation. III. The Quantity of Suspended Yeast During Primary Fermentation as a Function of Carbon Dioxide Formation under Different Conditions. *J. Inst. Brew.*, 1950, **56(11/12)**, 364-372.
207. Vacano, N.L., Practical Experience with Centrifugal Clarification of Wort and Beer. *Wallerstein Laboratories Communication*, 1955, **18(3)**, 13-25.
208. Verstrepen, K.J., Derdelinckx, G., Dufour, J.-P., Winderickx, J., Thevelein, J.M., Pretorius, I.S. und Delvaux, F.R., Flavour-Active Esters: Adding Fruitiness to Beer. *J. Biosc. Bioeng.*, 2003, **96(2)**, 110-118.
209. Wackerbauer, K. und Bender, G., Die Bedeutung der freien Fettsäuren und Fettsäure-Äthylester während der Gärung und Lagerung. *Mschr. Brauerei*, 1983, **36(4)**, 152-158.
210. Wackerbauer, K., Bender, G. und Poloczek, K., Die Beeinflussung der freien Fettsäuren durch die technologischen Parameter bei der Sudhausarbeit. *Mschr. Brauwiss.*, 1983, **36(1)**, 18-25.
211. Wackerbauer, K., Evers, H. und Kaufmann, B., Improvement of Measurement of Haze During Final Beer Filtration. *MBAA Techn. Quart.*, 1992, **29(3)**, 73-77.
212. Wainwright, T., Non-Biological Hazes and Precipitates in Beer. *Brewers Digest*, 1974, **49(5)**, 38-48.
213. Wainwright, T., Effect of Barley and Malt Lipids on Beer Properties. *EBC Monograph*, 1980, **6**, 118-128.
214. Walker, G., Role of Metal Ions in Brewing Yeast Fermentation Performance. In: *Brewing Yeast Fermentation Performance*, 1. Auflage; Katherine Smart, Hrsg., Oxford: Blackwell Science Ltd. 2000; Band 1, pp. 86-91.
215. Whitear, A.L., Maule, D.R. und Sharpe, F.R., Methods of Mash Separation and Their Influence on Wort Composition and Beer Quality. *Proc. EBC Congr.*, London, 1983, **19**, pp. 81-88.
216. Witt, P.R. und Burdick, A., Lipids in Brewing and Brewing Materials. *ASBC Proc.*, 1963, **21**, 104-110.
217. Yamashita, H., Kühbeck, F., Hohrein, A., Herrmann, M., Back, W. und Krottenthaler, M., Fractionated Boiling Technology: Wort Boiling of Different Lauter Fractions. *Mschr. Brauwiss.*, 2006, **59(7/8)**, 130-147.
218. Yonigins, A. und Rose, A.H., Sterol Uptake by Anaerobically Grown *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1989, **5**, 459-463.
219. Yoshioka, K. und Hashimoto, N., Cellular Fatty Acid and Ester Formation by Brewers' Yeast. *Agric. Biol. Chem.*, 1983, **47**, 2287-2294.

220. Yoshioka, K. und Hashimoto, N., Ester Formation by Alcohol Acetyltransferase from Brewers' Yeast. III. Acetyl-CoA of Brewers' Yeast and Formation of Acetate Esters. *Rep. Res. Lab. Kirin Brew.*, 1984, **27**, 17-22.
221. Zangrando, T., Klarheit der Läuterbottichwürze und Bierqualität. *Brauwelt*, 1976, **116(41)**, 1315-1316.
222. Zangrando, T., Über den Einfluß der Klarheit der Läuterwürze auf die Bierqualität. *Mitt. Versuchsanst. Gärungsgew. Wien*, 1978, **32(9/10)**, 101-105.
223. Zürcher, C., Isolierung einiger Lipide aus dem Malz und ihre quantitative Bestimmung in Würze und Bier. *Mschr. Brauerei*, 1971, **24(10)**, 276-284.

8 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|---------|---|
| °P | Grad Plato bzw. g/100 g |
| Abb. | Abbildung |
| BE | Bittereinheit |
| C14 | Myristinsäure |
| C16 | Palmitinsäure |
| C16:1 | Palmitoleinsäure |
| C18 | Stearinsäure |
| C18:1 | Ölsäure |
| C18:2 | Linolsäure |
| C18:3 | Linolensäure |
| Ca | Calcium |
| d | Tag |
| DLG | Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft |
| DMS | Dimethylsulfid |
| dTBZ | Zunahme der Thiobarbitursäurezahl |
| EBC | European Brewery Convention |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| Fe | Eisen |
| h | Stunde |
| hl | Hektoliter |
| ICP | intrazellulärer pH-Wert |
| koag. | koagulierbar |
| min | Minute |
| Mg | Magnesium |
| Mn | Mangan |
| n | Anzahl der Versuche (= Stichprobenumfang) |
| N koag. | koagulierbarer Stickstoff |
| p | Irrtumswahrscheinlichkeit |
| ppb | parts per billion |
| PVPP | Polyvinylpolypyrrolidon |
| q3 | Partikelgrößen-Dichteverteilung |
| Q3 | Partikelgrößen-Summenverteilung |
| R-SH | Thiol (allgemein) |
| R-S-S-R | Disulfidbrücke (allgemein) |
| s | Sekunde |
| S | Summe |
| t | Zeit |
| TBZ | Thiobarbitursäurezahl |
| Trs | Trockensubstanz |
| vol.% | Volumenprozent |
| vs. | versus |
| Zn | Zink |

9 ANHANG: VERÖFFENTLICHUNGEN ZUR DISSERTATION

Im Anhang sind die im Rahmen der Dissertation verfaßten Veröffentlichungen in nachfolgender Reihenfolge angefügt:

1. **Kühbeck, F.**, Schütz, M., Thiele, F., Krottenthaler, M. und Back, W., Influence of Lauter Turbidity and Hot Trub on Wort Composition, Fermentation and Beer Quality. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2006, **64(1)**, 16-28.
2. **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality – A Review. *Journal of the Institute of Brewing*, 2006, **112(3)**, 215-221.
3. **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality in Large-Scale Trials. *Journal of the Institute of Brewing*, 2006, **112(3)**, 222-231.
4. **Kühbeck, F.**, Back, W. und Krottenthaler, M., Release of Long-Chain Fatty Acids and Zinc from Hot Trub to Wort. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 2006, **59(3/4)**, 67-77.
5. **Kühbeck, F.**, Back, W., Kurz, T. und Krottenthaler, M., Particle Size Distribution in Wort During Mash Separation and Wort Boiling Applying Different Large Scale Techniques. *Journal of the American Institute of Chemical Engineers (AIChE Journal)*, 2007, **53(5)**, 1373-1388.
6. **Kühbeck, F.**, Müller, M., Back, W., Kurz, T. und Krottenthaler, M., Effects of Hot Trub and Particle Addition on Fermentation Performance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, **41**, 711-720.
7. Yamashita, H., **Kühbeck, F.**, Hohrein, A., Herrmann, M., Back, W. und Krottenthaler, M., Fractionated Boiling Technology: Wort Boiling of Different Lauter Fractions. *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 2006, **59(7/8)**, 130-147.
8. Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und **Kühbeck, F.**, Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren. *Brauwelt*, 2005, **145(6)**, 143-150.
9. Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. und **Kühbeck, F.**, Tests on Infusion and Decoction Method. *Brauwelt International*, 2006, **24(I/06)**, 33-37.

Influence of Lauter Turbidity and Hot Trub on Wort Composition, Fermentation, and Beer Quality

F. Kühbeck,¹ M. Schütz, F. Thiele, M. Krottenthaler, and W. Back, *Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Technische Universität München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising-Weihenstephan, Germany*

ABSTRACT

J. Am. Soc. Brew. Chem. 64(1):16-28, 2006

Wort turbidity, such as lauter turbidity, hot trub and cold break, and its components, particularly long-chain fatty acids and Zn, has been the subject of many discussions dealing with brewhouse procedure, fermentation performance, and resulting beer quality. In terms of these parameters, a variation of lauter turbidity and hot trub dosage was subject of this investigation. Turbid lautering and hot trub addition, respectively, cause an acceleration of brewhouse procedure and an increased fermentation speed and do not seem to lead to a deterioration of beer quality if carefully dosed.

Keywords: Beer quality, Lipids, Long-chain fatty acids, Zn

RESUMEN

Influencia de Turbiedad de Lauter y Trub Caliente en la Composición de Mosto, Fermentación, y Calidad de Cerveza

La turbiedad de mosto, tal como turbiedad de lauter, el trub caliente y precipitación fría, y sus componentes, particularmente los ácidos grasos de cadena larga y Zn, ha sido un tema que ha ocupado muchas de las discusiones de procedimiento de elaboración en la cervecería, funcionamiento de fermentación, y calidad resultante de la cerveza. En términos de estos parámetros, una variación de turbiedad de lauter y dosificación caliente de trub fue el tema de esta investigación. El proceso de lauter turbio y adición caliente de trub, respectivamente, causan una aceleración en el procedimiento de elaboración en la cervecería y incrementan la velocidad de fermentación y no parecen conducir a una deterioración en la calidad de la cerveza si se dosifican cuidadosamente.

Palabras claves: Ácidos grasos de larga cadena, Calidad de cerveza, Lípidos, Zn

Wort turbidity and trub content of wort have been subject of many discussions and publications during the last decades. A widely accepted opinion among brewers, for a long time and still is, has been to preferably lauter wort as clear as possible and remove hot and cold trub as much as possible. However, during the last couple of years, investigations have been carried out that indicated the positive influence of wort turbidity, and especially of cold trub being left in the wort, on fermentation and beer quality. The disagreement in opinions is the motivation for this investigation. Within this paper, wort turbidity comprises lauter turbidity on one hand and hot/cold trub on the other.

Lauter Turbidity

Lauter turbidity shows a good correlation to the lipid content of wort (determined as fatty acid methyl esters [FAME]) (2), although this turbidity/lipid correlation is specific for each brewing step and each brewery. The lipids derived from malt basically

consist of long-chain fatty acids like palmitic acid (C16) and linoleic acid (C18:2), while oleic acid (C18:1) and others play only a minor role (31). The lipid content of kettle-full worts (as fatty acid methyl esters) is usually in the range of 10 to 25 mg/L for modern lauter tuns or mash filters and 80 to 140 mg/L for the older ones (2). Zn²⁺ also seems to be a physiologically important component of lauter turbidity. According to Eils, more turbid worts lead to higher Zn²⁺ concentrations in kettle-full and pitching worts (22).

Lauter turbidity depends on the composition of raw materials, milling, mashing, and lauter process (7,57). While the lauter duration does not have a significant influence on lauter turbidity (57), deep raking or squeezing of the spent grain cake causes high lipid concentrations in wort. The lipid content that finally occurs in the pitching wort is determined by its affinity to hot trub, the hopping rate, the chemical degradation of fatty acids, and the design and operation mode of the lauter system (2).

Hot Trub

The other component causing wort turbidity is trub, especially hot trub. Hot trub is defined by Narziß as the heat insoluble extract free precipitate originating during wort boiling (40). According to Biermann, hot trub is the precipitate from boiling that is insoluble after separation of wort by water at 90°C (8). Lentini et al describe hot trub as a mixture of insoluble proteins, complex carbohydrates, lipids, tannins, minerals, and hop components (31). Its composition is protein 55% (40–70%), bitter substances 20% (7–32%), organic substances (e.g., polyphenols) 20–30%, and ash 5% (37). The size of hot trub particles is in the range of 30 to 80 µm and it occurs in an amount of 40–80 g/hL (= 400–800 mg/L) extract free dry matter (41).

Hot trub formation is basically a protein precipitation reaction and is mainly influenced by reactions where thiol (SH) groups and sulfur-sulfur (SS) bonds are involved (30,62). This could be proved by blocking the SH groups (8). Through the influence of heat during boiling, intra-molecular disulfide bridges are released in a reduction reaction and free thiol groups result. The latter can form new inter-molecular disulfide bonds causing a growth of the molecule by conglomeration. Small particles grow bigger as their water solubility decreases simultaneously. Movement of the boiling wort favors the conjunction of particles and is an important condition for particle growth.

Raw Materials. The better the malt modification the more polyphenols, anthocyanogens, and tannoids are released. Because of their reducing properties, especially tannoids, support precipitation reactions during mashing and boiling (42,43). Brewing liquors with high residual alkalinity causes a worse precipitation in mash and wort due to higher pH values. This might be compensated by mash or wort acidification. Best precipitation takes place at a pH value of 5.2–5.4 (15,59). With an increasing pH value, the adsorption of bitter substances and polyphenols to trub becomes weaker. Therefore, the relative protein content of trub is highest at pH 5.7, which is equal to the isoelectric point of most wort proteins (8).

¹ Corresponding author. Phone: +49.8161.715271; Fax: +49.8161.713883; E-mail: Florian.Kuehbeck@wzw.tum.de

Mashing. Applying infusion mashing allows more trub to precipitate during the following wort boiling step than with decoction mashing (59). The precipitate of decoction mashing remains in the lauter tun, and therefore, the trub amount found in the whirlpool is smaller.

Wort Boiling. According to Reed and Jordan, the longer the boiling step the more hot trub is formed and will sediment. High heat transfer numbers favor trub formation (52). As often described, an intensive movement of the wort is of great importance for trub formation (14–16,26,36,40,45,59). The break is not smashed by intensive movement; however, its amount depends on the stirrer speed. The higher the speed, more hot trub and less cold trub occurs (52), and vice versa, the complete absence of turbulence during boiling leads to a total lack of hot break formation. Biermann observed this by heating wort to 95°C and keeping it at that temperature. Here, no hot break formation occurred at all, but an intensive formation of a dispersive turbidity that did not sediment after boiling. In contrast, when nitrogen gas was blown through the hot wort (95°C) to cause turbulence by ascending bubbles, flocculent hot break was formed (8). The majority of proteins is precipitated after 90 min of atmospheric boiling (8,40,59), while most intensive precipitation takes place within 30 min after the beginning of boiling. Then, precipitation slows down and protein, polyphenol, and total polyphenol contents in trub increase simultaneously. A boiling time of 35–45 min should be adequate to avoid a too extensive protein coagulation and precipitation. Thanks to a low thermal load, the resulting beers show increased foam stabilities because the foam-positive substances are neither destroyed nor precipitated (38). Accordingly, the wort shows higher values of coagulable nitrogen.

Since lipids are sparingly soluble in aqueous systems, they bind preferentially to hydrophobic regions of denatured protein. The efficiency of lipid removal increases with higher volumes of coagulated proteins and larger flocs; as much as 80% of the lipids will be bound to fast settling particles during the heating stage (2).

The classic internal and external boilers offer sufficient wort movement combined with high evaporation rates and an extensive precipitation of proteins, so that boiling durations of 60–70 min are supposed to be sufficient. By applying additional pressure during boiling, and therefore higher temperatures, the precipitation is increased and lower nitrogen (N) values in wort are gained (59). During the last couple years, a number of new boiling technologies has been introduced: dynamic low pressure boiling, soft boiling (SchoKo), wort stripping, vacuum evaporation, tension release evaporation, post boiling evaporation method, thin film evaporation, phase optimized aroma boiling, and wort precooling. Many of these are optimized in terms of evaporation of unwanted aroma components. The improved evaporation allows a decoupling from the classic boiling process causing lower thermal load (reduced boiling time and temperature). The consequences are less intensive coagulation and an improved flavor stability (12,38).

Effects of Wort Turbidity on Wort Quality, Fermentation, and Beer Quality

Lauter Turbidity. Long-chain unsaturated fatty acids present in turbid worts have a significant influence on fermentation. Yeast is not able to synthesize linoleic and linolenic acid but is able to obtain them from wort. However, yeast may synthesize palmitic and oleic acid in the presence of oxygen (31). Moreover, fatty acids have an influence on the ester synthesizing membrane-bound enzyme systems (31,69). Increasing contents of unsaturated fatty acids in wort seem to be responsible for decreasing ester contents, particularly ethyl acetate, in resulting beers (65,66). The presence of unsaturated fatty acids causes an in-

crease in the uptake of group I–III amino acids, and therefore, the increased formation of higher alcohols (11). Lipids supplement the oxygen demand of yeast cells and favor the sterol biosynthesis. Finally, this leads to a more intensive and significantly faster fermentation. In accordance, an increase of yeast biomass due to the presence of unsaturated fatty acids and sterol was observed (13,24,63).

According to Schur and Pfenninger, higher pyruvate and lower acetaldehyde concentrations occur in beers resulting from turbid worts (57). Lauter turbidity has only minor influence on diacetyl, 2,3-pentandione, ethyl acetate, isoamyl acetate, ethyl caproate, β -phenyl ethyl alcohol, glycerine, color, attenuation degree, pH value, gushing properties, viscosity, reduction potential, CO₂, N compounds, anthocyanogens, phosphate, and calcium (57). A high or very low lipid concentration causes an increased maximum of vicinal diketones during fermentation (11).

As mentioned above, linoleic acid is an important component of wort turbidity and is a precursor of *E*-2-nonenal at the same time, thus being detrimental to flavor stability (1,20). Zangrando seems to prove that clear lautering is obligatory to provide high flavor stability (70). With this point, Schur and Pfenninger partly disagree; they found that beer resulting from extendedly lautered and very clear worts were worst in taste tests of fresh and aged beers (57). Moreover, wort turbidity has been shown to have a slight but significant negative influence on foam stability of the resulting beers (57). Byrne et al found a deterioration of foam stability after the addition of spent grain liquids with high lipid concentrations to fermenting wort because of high glyco-protein concentrations in beer (9).

Hot Trub. Considering all trub components, the lipid fraction seems to have the biggest positive influence on yeast activity and flavor development (10,32,53,56,63,66). Lentini et al assume an increasing accumulation of linoleic acid (C18:2) in the cell membrane caused by continued contact of yeast cells with trub, while the contact with clarified wort causes a depletion of linoleic acid concentration in the membrane and increased ester formation (31). According to several researchers, trub addition improves yeast constitution (55) and fermentation performance (51,55,56,68). Trials with turbid wort (3.5–4% [v/v] trub solids; determined by centrifuging on a volume to volume basis) and clarified wort (0.1% [v/v]) showed that yeast fermented much faster with trub containing wort compared with clear wort in three subsequent fermentations (31). Beside fermentation speed, the yield of yeast was much higher when worts with trub are fermented because of higher fatty acid contents (1). Ahvenainen et al therefore, recommend an optimal concentration of 10–20 mg/L long-chain fatty acids (C16–18:3) in wort. This amount causes an intensive fermentation, wherein unwanted aroma compounds are not formed excessively (1).

The effects of lipids contained in trub on fermentation by-products, such as higher alcohols and esters, are similar to those of lipids in lauter turbidity discussed above (1,11,31,46).

A special physiological function seems to have the Zn content of trub. Because of their high affinity toward trub, Zn²⁺ ions tend to bind to trub (31). According to Lentini et al, the bio-availability of Zn for yeast is reduced, first since the trub mainly remains in the whirlpool. Therefore, when bound to trub, the Zn content is not available any more but already lost prior to pitching. Second, the strong binding ability of trub for ions further reduces the bio-availability so that Zn may not be made easily available to the yeast during fermentation. Their conclusion is that trub-bound Zn is not directly responsible for the stimulation of fermentation performance due to its lower bio-availability, and direct addition of Zn to the fermenting wort is more effective (31). Here Kreder disagrees. He observed a positive effect of Zn bound to cold trub on yeast. When placing dialysis bags filled with cold trub into Zn-

deficient wort for seven days, the Zn content in wort increased from 0.02 to a content of 0.17 mg/L. According to Kreder, this illustrates that Zn is only loosely bound to trub and should be bio-available to yeast during fermentation. In fermentation trials, he showed that Zn bound to trub or alternatively added as Zn salt can be assimilated by yeast, and therefore, stimulate fermentation directly. Indeed, 84% of the Zn in the dialysis sac trub was utilized by yeast during fermentation, supporting his thesis of a good bio-availability of Zn bound to cold trub (28). Besides Zn, other nutrients like vitamins etc., which may not be known yet, may also contribute to the positive influence of trub on yeast growth. Here again, the bio-availability may play an important role also.

In addition to the physiological effects of trub substances, there is also a physical effect on fermentation performance, trub particles seem to act as a site of nucleation and CO₂ bubbles are evolved and released from the fermenting liquid (31). This leads to a higher turbulence in the fermentation tank, keeping the yeast longer in suspension and improving the exchange of metabolites. Besides, the release of CO₂ in wort reduces its repressive effect on yeast cells (31).

Along with positive effects, some authors report negative effects of hot trub addition. It's insufficient separation causes higher colors, broad taste, and a broad unpleasant bitterness of the resulting beer. Therefore, Marx et al claimed that the complete separation of hot trub held a key role in the later beer and flavor stability (35). According to Zangrando, trub particles have a negative influence on flavor, flavor stability, and bitter substance yield, thus clear wort is essential for a good beer quality. The trub content should not exceed 0.5 g/L (membrane filtration method) in homogenous kettle-full wort (70). As mentioned above, Schur and Pfenninger came to partly disagreeing results.

A side effect of partly or completely remaining of the hot trub in wort may be a shortening of the whirlpool step. This means a lower thermal load to the wort could cause lower concentrations

of staling components in the aged beer, and therefore, increased flavor stability (5,33). Besides, a lower formation of dimethyl sulfide (DMS) from its precursor can be expected (3,12).

According to Back and Forster (4), beer produced by activated yeast that was pitched with the addition of cold trub has a characteristic flavor profile and is judged to be better in taste tests than were the controls. In addition, its SO₂ content was higher, resulting in increased flavor stability. The filtration characteristics of beer deteriorate after trub addition (55). Dickel et al investigated the influence of partial or total lack of cold trub separation on the beer quality and found a significant influence on smell, bitterness, and palate fullness when cold trub is left in the wort. The resulting beers (without cold trub separation) are basically preferred in staling taste tests. Cold trub leads to an increase of the reductive potential of beer as well as of nonbiological stability, while the foam stability does not change. Dickel et al conclude that a cold trub separation can be set aside if the yeast management and the brewhouse equipment is state of the art (17).

In this study we investigated the variation of lauter turbidity, e.g., clear and extreme turbid lautering as well as the variation of hot trub addition (complete and no addition) and their effects on fermentation and final beer quality.

EXPERIMENTAL

Raw Materials

Malt. For these trials, a Pilsen type malt "Pilsner Premium Malz, extra hell" (Weyermann, Bamberg, Germany) was used. The malt analyses have been carried out according to Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK) I 4.1.3 and 4.1.4 (48). The results of the malt analysis are presented in Table I.

Water. The water used for brewing trials was obtained from the reservoir of "Bayerische Versuchs- und Lehrbrauerei", Weihenstephan, Germany. Water analyses have been carried out according to MEBAK I 1.1.10, 1.1.11, 1.1.13, and 1.1.14 (48) and the results are presented in Table II. This water quality relates to conventional brewing water for pale lager beers (25).

Brewing

Milling and Mashing. For milling purposes, a two-roller mill (Künzel, Kulmbach, Germany) with a milling gap of 0.8 mm was applied. The pilot brewhouse consists of brew water reservoir, mash kettle, lauter tun, brew kettle, whirlpool, and plate heat exchanger (Kamm, Ottershausen, Germany). It is designed for a knock-out volume of 60 L of wort. All mashing and boiling vessels are steam heated with an automatic temperature control that controls temperature rests and allows temperature increases of 1°C per min. The technical design of the system is presented in Table III. A 10-kg portion of malt was milled and mashed-in with a volume of brew water of 40 L that was previously heated to mashing-in temperature. Mashing-in took place at 62°C with a rest of 45 min. The temperature was increased to 72°C within 10 min. At 72°C, a rest for 30 min was held and after heating to 78°C within 5 min, the mash was transferred to the lauter tun.

TABLE I
Malt Analysis of "Pilsner Premium Malz, Extra Hell"

| Analyte | Unit | Value |
|---|------------------------------------|-------|
| Extract, d.m. | % | 82.9 |
| Viscosity (calc. to 8.6°P) ^a | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.481 |
| Friability | % | 93.1 |
| Saccharification time | min | <10 |
| Final attenuation | % | 80.3 |
| Run-off | - | opal |
| Color | EBC | 3.3 |
| pH value | - | 5.83 |
| Soluble nitrogen, d.m. ^b | mg/100 g d.m. | 687 |
| Kolbach index | % | 42.1 |
| Free amino nitrogen, d.m. | mg/100 g d.m. | 146 |
| β-glucan | mg/L | 146 |

^a Calc. to 8.6°P = corresponding value when calculated to a standard extract value of 8.6°P for comparison reasons.

^b d.m. = Dry matter.

TABLE II
Water Analysis of Brewing Water

| Analyte | Unit | Value |
|-----------------------------------|--------|-------|
| Calcium hardness | mmol/L | 1.29 |
| Magnesium hardness | mmol/L | 1.25 |
| Total hardness | mmol/L | 2.54 |
| Carbonate hardness | mmol/L | 1.54 |
| Noncarbonate hardness | mmol/L | 1.00 |
| m Value (acid capacity to pH 4.3) | mL | 1.55 |
| p Value (acid capacity to pH 8.2) | mL | 0.00 |
| Residual alkalinity | mmol/L | 1.00 |

TABLE III
Technical Design of Pilot Plant Brewhouse

| | |
|------------------------|--|
| Lauter speed | Approximately 0.65–0.75 L/min |
| False bottom load | 110 kg/m ² or 529 L mash/m ² |
| Brewhouse yield | Approximately 72%, depending on malt and beer type |
| Bitter substance yield | 30–33% |
| Total evaporation rate | Approximately 11% |

Lautering

The lauter procedure was carried out according to the goal of the trial. Turbid lautering was achieved by constant raking at the lowest possible position (deep cut) in low speed throughout the entire lauter process. Clear lautering was achieved by no raking during lautering except after sparging for a short time (no deep cut; raking 3 cm above lowest position for 1–2 min). In all trials, turbid wort pumping was achieved. Sparging volumes were approximately 20 L for first sparging and approximately 15 L for second sparging. Samples of lauter wort have been taken from first wort, after the first and second sparging in intervals of 15–20 min. The kettle-full wort had a volume of 57–63 L and contained between 11.4 and 12.15°Plato (°P). Samples of homogenized kettle-full wort have been taken for analyses.

Measurement of Lauter Turbidity

During lautering, an inline photometer/product monitor called RAMS (Sigrist, Ennetbürgen, Switzerland) for detection of transmission and reflection of four different wavelengths (near-infrared (NIR) [$\lambda = 880$ nm], red [660 nm], green [560 nm], blue [430 nm]) has been applied, of which the NIR transmission signal was used for turbidity measurements. Readings were taken every 10 sec. The lauter flow was let through a measuring cell that is a modified Varivent valve with borosilicate glasses forming the measuring cell. Calibration was carried out by measuring wort and water samples in which different turbidity values were adjusted by spiking with an aqueous 1,000 EBC (European Brewery Convention) formazin suspension (Forschungszentrum für Brau- und Lebensmittelqualität, Weihenstephan, Germany). The homogeneous calibration samples were measured by a precalibrated LabScat dual-angle lab turbidimeter (Sigrist) and immediately thereafter by the RAMS photometer. A linear calibration function was obtained by relating the transmission (RAMS) with the EBC turbidity values (LabScat) for all wavelengths in certain validity ranges. Only the NIR transmission signal was used for measurement of wort turbidity since other wavelengths might interact with the color of the medium (wort).

Boiling/Whirlpool/Cooling

The homogenized wort was boiled for 70 min at atmospheric pressure. At the beginning of boiling, 22.1 g of Hallertauer Taurus (HTU) pellets (15% α) were added to the kettle. Wort was knocked out after adjusting to 12°P. If the hot trub was supposed to be separated in the whirlpool procedure, the wort was allowed to undergo a whirlpool rest for 15 min. Thereafter, it was transferred to stainless steel containers (Cornelius, Langenfeld, Germany) and cooled to pitching temperature in a cold-water bath. If the hot trub was allowed to stay in the wort, knocking-out wort was directly transferred from the brew kettle to stainless steel containers bypassing the whirlpool and then cooled in a cold-water bath. While transferring the wort to the containers, homogeneous samples have been taken again. In all trials, the cold trub was left in the wort.

TABLE IV
Scheme of Brewing Trials^a

| Hot Trub Dosage | Turbid Lautering | | Clear Lautering | |
|------------------------------------|------------------|---------------|-----------------|---------------|
| | Full Aeration | Part Aeration | Full Aeration | Part Aeration |
| Hot trub completely left in wort | Brew 1 | Brew 2 | Brew 3 | Brew 4 |
| Hot trub separated by whirlpooling | Brew 5 | Brew 6 | Brew 7 | Brew 8 |

^a Full wort aeration = 8 mg of O₂/L; part wort aeration = 5 mg of O₂/L.

Wort Aeration and Fermentation

The pilot fermentation plant consists of closed cylindroconical fermentation tanks with a net volume of 25 L each (Pantolsky, Neuried, Germany) and automated temperature control (Siemens, Munich, Germany). Aeration of wort is performed by Venturi nozzles using sterile air to saturation (8 mg of O₂/L) (“fully aerated”). In other trials, only a part of the wort was aerated and blended with the nonaerated part to result in a final O₂ content of 5 mg/L (“partly aerated”). For maturation and storage, stainless steel containers (Cornelius, Langenfeld, Germany) with a net volume of 18 L were used. Thereby, the CO₂ pressure was maintained at approximately 1 bar at 8–10°C.

For pitching, vital assimilated yeasts (yeast strain W34, intracellular pH [ICP] values of 6.45 [brews 1–4] and 6.36 [brews 5–8]) were used in a concentration of 10⁷ cells/mL. The fermentation temperature of 10°C was maintained until the extract content was as low as 2% apparent attenuation. Maturation was performed for five days at 16°C and storage for 10 days at 0°C. During fermentation, the cell number, pH value, extract, ethanol concentration, and final attenuation were observed.

Filtration and Bottling

The matured beers underwent sheet filtration by applying filter sheets SEITZ KS-80 (Pall-Seitz, Bad Kreuznach, Germany) in a sheet frame filter (Pall-Seitz). For sterilization, the filter including the filter sheets were rinsed with hot water (80°C) for 20 min. After cooling, by rinsing with cold water, the filter was rinsed with cold deaerated and carbonated water to remove residuals of

Table V
Descriptions of Brews and Abbreviations

| Brew | Description | Abbreviation |
|------|---|----------------|
| 1 | Turbid lautering/hot trub completely left in wort/fully aerated (8 mg O ₂ /L) | Turbid/HT/8 |
| 2 | Turbid lautering/hot trub completely left in wort/partly aerated (5 mg O ₂ /L) | Turbid/HT/5 |
| 3 | Clear lautering/hot trub completely left in wort/fully aerated (8 mg O ₂ /L) | Clear/HT/8 |
| 4 | Clear lautering/hot trub completely left in wort/partly aerated (5 mg O ₂ /L) | Clear/HT/5 |
| 5 | Turbid lautering/hot trub separated by whirlpooling/fully aerated (8 mg O ₂ /L) | Turbid/no HT/8 |
| 6 | Turbid lautering/hot trub separated by whirlpooling/partly aerated (5 mg O ₂ /L) | Turbid/no HT/5 |
| 7 | Clear lautering/hot trub separated by whirlpooling/fully aerated (8 mg O ₂ /L) | Clear/no HT/8 |
| 8 | Clear lautering/hot trub separated by whirlpooling/partly aerated (5 mg O ₂ /L) | Clear/no HT/5 |

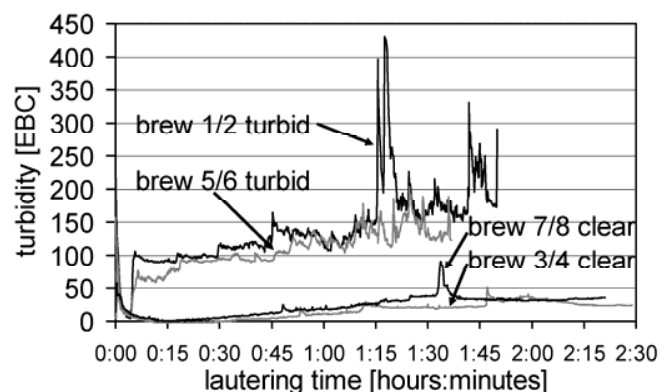


Fig. 1. Wort turbidity for turbid and clear lautering in EBC units.

oxygen. The maximum pressure difference throughout filtration was 1.0 bar. Bottling of filtered beers was carried out isobarometrically applying a “long tube filler” after three times of pre-evacuation and counter pressurizing with CO₂ (2.0 bar). Clean bottles were obtained from Staatsbrauerei Weihenstephan, Freising-Weihenstephan, Germany. Prior to sealing, gas volume in the neck of all bottles was sufficiently removed by fobbing.

Forced Aging of Beer

For aging, beer samples were pretreated with shaking for 24 hr and storage for four days at 40°C according to Eichhorn’s guidelines (21).

Analyses

Wort analyses were carried out according to MEBAK II 2.3 to 2.22 (39) and MEBAK I 4.1.4 (48). The content of long-chain fatty acids (C14-C18:3) in wort and beer samples was detected by solid-phase extraction, diazomethane methylation, and gas chromatography mass spectroscopy (GC/MS) analysis according to a method published earlier (60). Beer analyses were carried out according to MEBAK II 2.3-2.23 (39) and MEBAK I 4.1.4 (48). Beer aroma analyses have been carried out according to MEBAK III 1.1.3 (47), higher alcohols and esters were measured according to MEBAK III 1.1.2 (47), vicinal dicetons according to MEBAK III 1.2.1 (47), and staling compounds according to the gas chromatographic method applied at Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Freising-Weihenstephan, Germany, published by Lustig et al (34). Wort aroma compounds and aroma compounds, higher alcohols, esters, and staling compounds in beer were carried out by slightly modified methods published by Eichhorn (21), Krottenthaler (29), and Lustig (33). Oxygen measurements of pitching wort were carried out by applying an Orbisphere Analyzer 26072 with sensor 21152 (Orbisphere Laboratories, Geneva, Switzerland). Pitching rate and yeast growth were moni-

tored by counting the cells with a haemocytometer, and the cell viability was assessed using the methylene blue staining technique according to the MEBAK III 10.11.4.4 and 10.11.3.3 (47), but in alteration of the mentioned method, citrated methylene blue was used. Vitality measurements of the yeast were carried out prior to pitching by measuring the ICP value according to methods published earlier (6,27). Basic principles and importance of ICP are lined out in a variety of research (44,49,50,61,64). Sensory analyses were carried out according to the guidelines of “Deutsche-Landwirtschafts-Gesellschaft” (DLG), Frankfurt/Main, Germany. The flavor quality of fresh and aged beers was evaluated this way by a panel of 10 professional testers at Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I. The foam stability of produced beers was observed by the methods according to Ross and Clark and MEBAK II 2.19.1 (39,54) and NIBEM MEBAK II 2.19.2 (39).

Trial Design

In this investigation, a variation of wort turbidity is obtained by the variation of lauter turbidity and hot trub separation while all other conditions were kept the same. Since the objective of this investigation is to cover a wide operation range by applying extreme conditions, a scheme of brewing trials was developed to cover all possible variations of extreme conditions (Table IV). An explanation for “turbid lautering”, “clear lautering”, “hot trub completely left in wort”, “hot trub separated by whirlpooling”, “fully aerated”, and “partly aerated” mentioned in this scheme is given in the description above. For practical reasons, the abbreviations according to Table V are used below.

RESULTS

Online Turbidity Measurements

During lautering, online measurements of the run-off wort were carried out using a RAMS inline photometer in the way described above. Figure 1 and Table VI show that the lauter worts of brews 1/2 and 5/6 had much higher turbidities at all stages of lautering. The average turbidity was more than 100 EBC and the lautering durations were a maximum of 110 min, which is approximately 39–44 min or 26–32% shorter than were the clear lautering durations (brews 3/4 and 7/8). The latter showed average turbidities of approximately 20 EBC with lauter durations in the range of 140 to 150 min. Generally, all turbidity curves showed a minimum after the first 5–15 min followed by a slight increase of turbidity toward the end of lautering. For the turbid brews, this increase was even stronger and variation of turbidity was higher.

Table VI
Lauter Characteristics of Brews 1–8

| Brew No. | Lautering | Average Over All Lautering Turbidity [EBC] | Lautering Duration [min] | Comparison Lauter Time Turbid vs. Clear | |
|----------|-----------|--|--------------------------|---|-------|
| | | | | (min) | (%) |
| 1/2 | Turbid | 140 | 110 | -39 | -26.2 |
| 3/4 | Clear | 16 | 149 | | |
| 5/6 | Turbid | 106 | 97 | -44 | -31.2 |
| 7/8 | Clear | 23 | 141 | | |

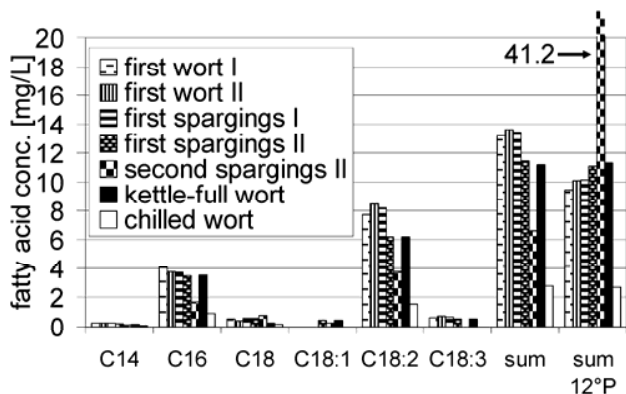


Fig. 2. Fatty acid concentration in wort at turbid lautering (brew 1/2; sum 12°P = corresponding sum of fatty acids when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons).

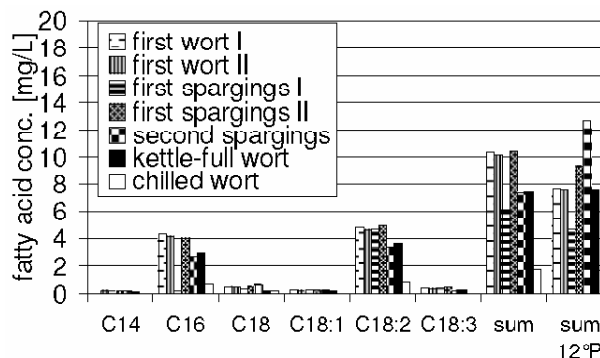


Fig. 3. Fatty acid concentration in wort at clear lautering (brew 3/4; sum 12°P = corresponding sum of fatty acids when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons).

Wort Analyses

According to Figures 2–5, the main long-chain fatty acids by quantity occurring in lauter wort during turbid and clear lautering were linoleic acid (C18:2) and palmitic acid (C16), while myristic acid (C14), stearic acid (C18), oleic acid (C18:1), and linolenic acid (C18:3) played only a minor role. The ratios did not change whether the lautering was turbid or clear. During lautering, a clear decrease in basically all absolute fatty acids concentrations from first wort via two spargings toward the end of lautering could be observed. For better comparison, the total fatty acid concentrations have been calculated to their corresponding values at a standard extract content of 12°P, which is displayed at the far right in each of the Figures 2–5. Observing all lauterings, a nearly exponential increase of total fatty acid concentrations (calculated to 12°P) from the first wort to the last running could be found. Since the kettle-full wort is the collected and homogenized lauter

wort, its fatty acid concentration was somewhere in between the concentrations of the different lauter wort fractions. After boiling, the absolute total concentrations of fatty acids in chilled worts were in the range of 23 to 34% related to the kettle-full worts (if the C18 value that increases within brews 7/8 is neglected and instead a constant value is assumed, this range was in between 23 and 26% for all trials).

Comparing the variation in lautering, turbid lautering caused 50–61% higher total fatty acid concentrations in kettle-full worts (calculated to 12°P). The same comparison for chilled worts still gave higher values for the turbidly lautured worts, however, here the absolute differences were maximal 1 mg/L for total fatty acids. The kettle-full worts did not show any differences in their analytical values (Table VII). By tendency, the turbid lautured worts showed higher Zn²⁺ contents by 0.03 mg/L.

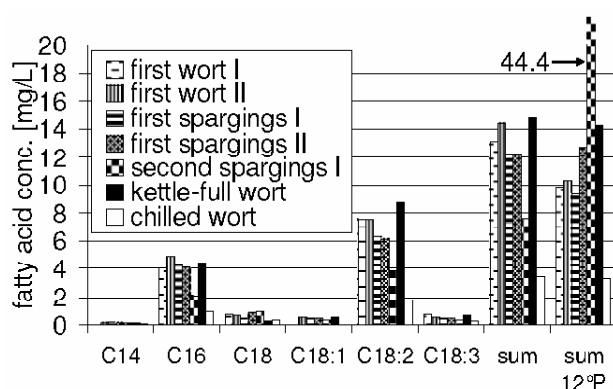


Fig. 4. Fatty acid concentration in wort at turbid lautering (brew 5/6; sum 12°P = corresponding sum of fatty acids when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons).

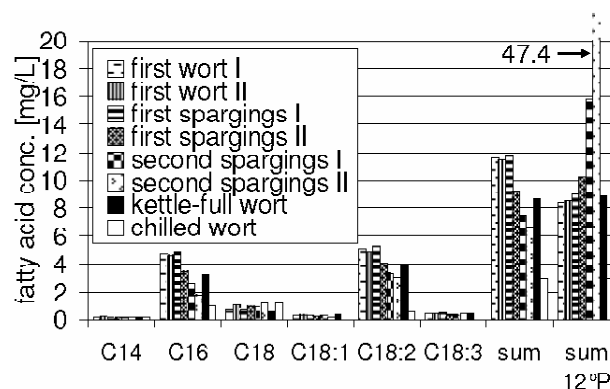


Fig. 5. Fatty acid concentration in wort at clear lautering (brew 7/8; sum 12°P = corresponding sum of fatty acids, when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons).

TABLE VII
Analyses of Kettle-Full Wort^a

| Analyte | Unit | Turbid/HT | Clear/HT | Turbid/No HT | Clear/No HT |
|---|------------------------------------|-----------|----------|--------------|-------------|
| Original extract | °P | 11.74 | 11.65 | 12.39 | 12.39 |
| Original extract | % m/v | 12.27 | 12.17 | 13.01 | 13.01 |
| Final attenuation | % | 84.2 | 84.7 | 84.5 | 85.9 |
| Color | EBC | 3.8 | 3.8 | 4.9 | 4.7 |
| pH Value | – | 5.85 | 5.80 | 6.04 | 5.73 |
| Total N | mg/100 mL | 91.8 | 89.9 | 100 | 96.2 |
| Total N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 93.8 | 92.6 | 96.9 | 93.2 |
| MgSO ₄ soluble N | mg/100 mL | 27.6 | 27.4 | 30.1 | 25.6 |
| MgSO ₄ soluble N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 28.2 | 28.2 | 29.2 | 24.8 |
| Coagulable N | mg/100 mL | 3.6 | 2.9 | 4.8 | 5.1 |
| Coagulable N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 3.7 | 3.0 | 4.6 | 4.9 |
| Total polyphenols | mg/L | 196 | 201 | 181 | 203 |
| Total polyphenols (calc. to 12°P) | mg/L | 200 | 207 | 175 | 197 |
| Anthocyanogens | mg/L | 101 | 108 | 107 | 117 |
| Anthocyanogens (calc. to 12°P) | mg/L | 103 | 111 | 104 | 113 |
| Polymerization index | – | 1.94 | 1.86 | 1.68 | 1.74 |
| Tannoids | mg PVP/L | 115 | 129 | 119 | 129 |
| Reducing power | % | 23 | 21 | 22 | 19 |
| Thio barbituric acid number | – | 14 | 15 | 14 | 14 |
| Photometric iodine number | – | 0.696 | 0.600 | 0.471 | 0.436 |
| Viscosity | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.782 | 1.775 | 1.846 | 1.782 |
| Viscosity (calc. to 12°P) | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.809 | 1.812 | 1.804 | 1.805 |
| Fe | mg/L | 0.03 | 0 | 0 | 0 |
| Ca | mg/L | 28.8 | 27.0 | 29.8 | 27.0 |
| Mg | mg/L | 102 | 96 | 102 | 97 |
| Zn | mg/L | 0.10 | 0.07 | 0.08 | 0.05 |
| Oxalic acid | mg/L | 25.3 | 24.4 | 25.4 | 24.6 |
| Solids (according to cold trub) | mg/100 mL | 457 | 350 | 390 | 342 |

^a HT = hot trub; calc. to 12°P = corresponding value when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons.

Chilled Worts

The worts that underwent the whirlpool step for hot trub separation showed 2–3 EBC units of darker colors (Table VIII). Hot trub containing worts had lower N coagulable and lower polyphenols values and lower polymerization indices compared with those without hot trub. Worts without hot trub showed lower iodine numbers. Hot trub containing worts had a higher content of solids. The Zn²⁺ content in worts was in a wide range (0.02 to 0.11 mg/L). While turbid lautering with the addition of hot trub showed the highest Zn²⁺ values, clear lautering without hot trub showed the lowest values. In terms of Ca²⁺ and Mg²⁺, hardly any differences could be observed (Table VIII). As can be seen from Table IX, the sum of Strecker aldehydes was lower in worts with the addition of hot trub. On the other hand, clear worts showed higher concentrations in 2-furfural compared with turbid worts.

Fermentation

Brews 1–4 have been pitched with the same yeast batch while brews 5–8 have been pitched with a very similar but not the same yeast batch for technical reasons. Therefore, brews 1–4 were fermented under the same conditions and are directly comparable, which is valid within the group of brews 5–8 also. However, due to the application of yeast batches in slightly different conditions, the comparability between brew groups 1–4 and 5–8 is limited.

Turbid compared with clear worts performed a faster reduction of extract by approximately one day (Fig. 6), faster ethanol formation with higher concentrations after six fermentation days, and faster pH decrease with final pH values of 4.2 (not shown). In addition, the cell number increased faster with turbid worts and its maximum was higher (not shown). The different wort aerations (8 versus 5 mg of O₂/L) did not make a difference in extract degradation, ethanol formation, and pH degradation when observing turbid worts. However, clear worts that were aerated with 8 mg

of O₂/L showed slightly faster extract reduction, ethanol formation, and pH degradation compared with wort aerated with 5 mg/L. In Figure 7, the fermentation performances of the non-hot trub worts are shown. The results are basically the same as observed for worts with hot trub. However, in both cases, turbid and clear worts seemed to perform better when full aeration was applied.

TABLE IX
Analyses of Chilled Wort Aroma Compounds (µg/L)^a

| Compound | Turbid/ HT | Clear/ HT | Turbid/ No HT | Clear/ No HT |
|------------------------|---------------|--------------|------------------|-----------------|
| 3-Methyl butanal | 28 | 31 | 52 | 40 |
| 2-Methyl butanal | 8.7 | 10 | 16 | 12 |
| Methional | 63 | 75 | 81 | 90 |
| Benzaldehyde | 0.8 | 1.0 | 0.8 | 0.9 |
| 2-Phenylethanal | 94 | 109 | 123 | 124 |
| Sum Strecker aldehydes | 195 | 226 | 273 | 268 |
| Pentanal | 4.7 | 4.5 | 4.9 | 4.7 |
| 2-Pentanone | 0.9 | 0.8 | tr. | 0.9 |
| Hexanal | 5.3 | 4.8 | 6.1 | 5.2 |
| Heptanal | 1.0 | 0.7 | 0.9 | 0.8 |
| E,2-Z,6-nonadienal | 0.9 | 0.7 | 0.8 | 0.7 |
| 2-Furfural | 93 | 115 | 82 | 136 |
| 2-Acetyl furan | 1.9 | 2.0 | 2.5 | 1.9 |
| γ-Nonalacton | 1.8 | 1.6 | 1.4 | 1.5 |
| 3-Methyl butanol | 6.8 | 6.0 | 4.5 | 5.5 |
| 2-Methyl butanol | 2.3 | 2.0 | 2.0 | 1.9 |
| 1-Pentanol | 5.0 | 6.0 | 6.0 | 5.7 |
| 1-Hexanol | 2.0 | 2.4 | 2.2 | 2.2 |
| 1-Octanol | n.a. | 3.8 | n.a. | n.a. |
| 1-Octen-3-ol | 0.4 | 0.2 | 0.4 | 0.2 |
| Phenyl ethanol | 82 | 107 | 77 | 83 |

^a HT = hot trub; tr. = traces; and n.a. = not available.

TABLE VIII
Analyses of Chilled Wort^a

| Analyte | Unit | Turbid/HT | Clear/HT | Turbid/No HT | Clear/No HT |
|---|------------------------------------|-----------|----------|--------------|-------------|
| Original extract | °P | 12.21 | 12.37 | 12.31 | 12.14 |
| Original extract | % m/v | 12.79 | 12.97 | 12.92 | 12.74 |
| Final attenuation | % | 84.0 | 84.3 | 84.6 | 84.9 |
| Color | EBC | 5.3 | 5.8 | 8.8 | 7.0 |
| pH Value | – | 5.77 | 5.71 | 5.88 | 5.61 |
| Total N | mg/100 mL | 90.0 | 94.2 | 95.0 | 98.6 |
| Total N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 88.5 | 91.4 | 92.6 | 97.5 |
| MgSO ₄ soluble N | mg/100 mL | 27.4 | 27.4 | 26.5 | 27.0 |
| MgSO ₄ soluble N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 26.9 | 26.6 | 25.8 | 26.7 |
| Coagulable N | mg/100 mL | 1.3 | 1.4 | 4.5 | 4.8 |
| Coagulable N (calc. to 12°P) | mg/100 mL | 1.3 | 1.4 | 4.4 | 4.7 |
| Total polyphenols | mg/L | 191 | 209 | 240 | 276 |
| Total polyphenols (calc. to 12°P) | mg/L | 188 | 203 | 234 | 273 |
| Anthocyanogens | mg/L | 96 | 105 | 97 | 117 |
| Anthocyanogens (calc. to 12°P) | mg/L | 94 | 102 | 95 | 116 |
| Polymerization index | – | 2.00 | 1.99 | 2.46 | 2.35 |
| Tannoids | mg PVP/L | 88 | 101 | 96 | 107 |
| Reducing power | % | 29 | 30 | 32 | 27 |
| Thio barbituric acid number | – | 25 | 26 | 25 | 28 |
| Photometric iodine number | – | 0.627 | 0.596 | 0.387 | 0.446 |
| Viscosity | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.828 | 1.843 | 1.851 | 1.817 |
| Viscosity (calc. to 12°P) | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.808 | 1.806 | 1.818 | 1.802 |
| Fe | mg/L | 0.01 | 0 | 0 | 0 |
| Ca | mg/L | 35.8 | 31.2 | 30.6 | 28.6 |
| Mg | mg/L | 118 | 122 | 116 | 114 |
| Zn | mg/L | 0.11 | 0.08 | 0.06 | 0.02 |
| Oxalic acid | mg/L | 25.0 | 27.0 | 24.4 | 26.1 |
| Solids (according to cold trub) | mg/100 mL | 586 | 426 | 335 | 337 |
| Phosphate | mg/L | 570 | 630 | 619 | 606 |
| Citrate | mg/L | 225 | 282 | 270 | 258 |

^a HT = hot trub; and calc. to 12°P = corresponding value when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons.

Bottled Beer

Beers resulting from worts aerated with 8 mg O₂/L are shown in Table X. The pH values of all beers were in a range of 4.54 to 4.74. Similar to the wort analyses, the beers fermented with hot trub showed lower anthocyanogen concentrations that resulted in higher polymerization indices for beers originating from turbid lautered worts. In addition to this point, the addition of hot trub did not lead to a difference. The photometric iodine number was slightly increased for all beers, wherein the beers produced from trub containing worts showed higher values. However, turbid lautering did not result in higher iodine numbers.

Worts with hot trub addition showed weaker foam stabilities in the resulting beer. The forcing test showed numbers of warm days in the range of 11.7 to >15. While clear wort with hot trub had the lowest value, the turbid wort with or without hot trub were at least as stable as the control in terms of the resulting beers. The SO₂ contents of all beers were at a low level (range of 0.3 to 0.7 mg/L), showing the tendency that clear lautered worts cause higher

values in the resulting beers (0.6–0.7 mg of SO₂/L) than did the turbid worts (0.3 mg of SO₂/L in resulting beers).

Beers resulting from worts aerated with 5 mg of O₂/L are shown in Table XI. The pH values of all beers were in a range of 4.40 to 4.74. Beers resulting from turbidly lautered worts have lower anthocyanogen concentrations, while the tannoids did not show a tendency. This resulted in higher polymerization indices for beers from turbid lautered worts. Beers produced from trub worts had higher photometric iodine numbers compared with those without trub addition. However, turbid lautering did not result in higher iodine numbers. The clearly lautered wort with hot trub again brought the weakest beer foam stability, while all other beers had comparable foam stabilities.

The forcing test showed numbers of warm days in the range of 13.4 to >15, which are similar to those of beers aerated with 8 mg/L, except the turbid lautered wort with hot trub having a lower value of 7.3. The SO₂ contents of all beers were in the range of 0.2 to 0.7, showing no tendency. No analytical difference could be ob-

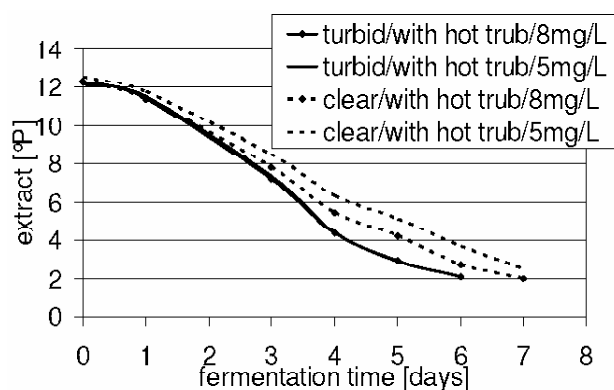


Fig. 6. Extract concentration in wort during fermentation of brews 1-4.

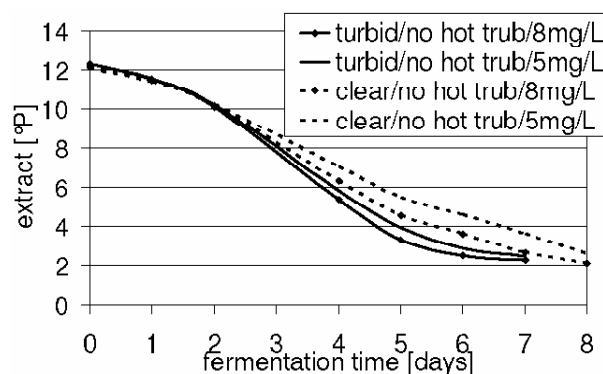


Fig. 7. Extract concentration in wort during fermentation of brews 5-8.

TABLE X
Analyses of Fresh Bottled Beer (Aerated with 8 mg of O₂/L)^a

| Analyte | Unit | Turbid/HT/8 | Clear/HT/8 | Turbid/No HT/8 | Clear/No HT/8 |
|-----------------------------------|------------------------------------|-------------|------------|----------------|---------------|
| Original extract | °P | 12.12 | 11.91 | 12.25 | 12.14 |
| Original extract | % m/v | 12.69 | 12.46 | 12.83 | 12.71 |
| Ethanol | % m/m | 4.23 | 4.18 | 4.30 | 4.27 |
| Ethanol | % v/m | 5.39 | 5.32 | 5.48 | 5.44 |
| Apparent extract | °P | 1.98 | 1.88 | 1.95 | 1.90 |
| Real extract | °P | 3.93 | 3.81 | 3.93 | 3.87 |
| Apparent attenuation | % | 84.3 | 84.8 | 84.7 | 85.0 |
| Real attenuation | % | 69.0 | 69.4 | 69.4 | 69.5 |
| Final attenuation (apparent) | % | 84.8 | 85.3 | 85.2 | 85.6 |
| Color | EBC | 4.2 | 4.3 | 4.6 | 4.1 |
| pH value | – | 4.54 | 4.62 | 4.74 | 4.58 |
| Total polyphenols | mg/L | 134 | 133 | 144 | 148 |
| Total polyphenols (calc. to 12°P) | mg/L | 133 | 134 | 141 | 146 |
| Anthocyanogens | mg/L | 44 | 50 | 48 | 56 |
| Anthocyanogens (calc. to 12°P) | mg/L | 44 | 50 | 47 | 55 |
| Polymerization index | – | 3.02 | 2.68 | 3.00 | 2.65 |
| Tannoids | mg PVP/L | 18 | 17 | n.a. | n.a. |
| Reducing power | % | 19 | 19 | 22 | 16 |
| Foam (NIBEM) | sec | 278 | 275 | 296 | 284 |
| Foam (Ross and Clark) | – | 130 | 128 | 132 | 132 |
| Photometric iodine number | – | 0.263 | 0.328 | 0.222 | 0.229 |
| Viscosity | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.624 | 1.647 | 1.665 | 1.629 |
| Viscosity (calc. to 12°P) | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.616 | 1.623 | 1.637 | 1.620 |
| Forcing test (warm days) 0/40/0°C | days | 13.5 | 11.7 | >15 | 13.4 |
| Sulfur dioxide | mg/L | 0.3 | 0.7 | 0.3 | 0.6 |
| Alcohol cold test (Chapon) | formazin units | n.m. | n.m. | n.m. | n.m. |

^a HT = hot trub; n.m. = not measurable; and n.a. = not available; and calc. to 12°P = corresponding value when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons.

served by comparing the beers produced with different aeration rates.

Beer Aroma, Volatiles, and Staling Compounds

In Tables XII and XIII, the aroma and volatile compounds contents in the resulting beers are presented. The 2-phenyl ethanol was clearly increased in beers resulting from trub worts. Within the “trub beers”, the beer originating from turbid wort seemed to have even higher values. The ester concentrations were basically

very low compared with normal values for bottom fermented beers, even that of the control beer. The only exception is acetic acid 2-phenyl ester, which occurred in high values in all beers. The acetaldehyde concentration was higher in beers from clear worts compared with turbid ones and even higher in beers brewed without hot trub compared with those with hot trub.

The staling indicators of fresh and aged beers are presented in Tables XIV and XV. The heat, oxygen, and staling indicators had no clear differences or tendencies that could be observed for

Table XI
Analyses of Fresh Bottled Beer (Aerated with 5 mg of O₂/L)^a

| Analyte | Unit | Turbid/HT/5 | Clear/HT/5 | Turbid/No HT/5 | Clear/No HT/5 |
|-----------------------------------|------------------------------------|-------------|------------|----------------|---------------|
| Original extract | °P | 12.12 | 12.33 | 12.33 | 12.06 |
| Original extract | % m/v | 12.71 | 12.92 | 12.92 | 12.63 |
| Ethanol | % m/m | 4.22 | 4.32 | 4.30 | 4.23 |
| Ethanol | % v/v | 5.38 | 5.50 | 5.48 | 5.39 |
| Apparent extract | °P | 2.02 | 2.00 | 2.03 | 1.92 |
| Real extract | °P | 3.97 | 3.98 | 4.01 | 3.87 |
| Apparent attenuation | % | 84.0 | 84.5 | 84.2 | 84.7 |
| Real attenuation | % | 68.7 | 69.1 | 68.9 | 69.3 |
| Final attenuation (apparent) | % | 84.7 | 85.4 | 85.4 | 85.7 |
| Color | EBC | 4.5 | 4.2 | 4.6 | 3.8 |
| pH value | – | 4.40 | 4.62 | 4.72 | 4.74 |
| Total polyphenols | mg/L | 158 | 147 | 148 | 149 |
| Total polyphenols (calc. to 12°P) | mg/L | 156 | 143 | 144 | 148 |
| Anthocyanogens | mg/L | 44 | 52 | 39 | 53 |
| Anthocyanogens (calc. to 12°P) | mg/L | 44 | 51 | 38 | 53 |
| Polymerization index | – | 3.62 | 2.80 | 3.79 | 2.79 |
| Tannoids | mg PVP/L | 21 | 15 | n.a. | 17 |
| Reducing power | % | 19 | 20 | 21 | 22 |
| Foam (NIBEM) | sec | 269 | 228 | 303 | 258 |
| Foam (Ross and Clark) | | 131 | 121 | 132 | 136 |
| Photometric iodine number | – | 0.296 | 0.292 | 0.198 | 0.223 |
| Viscosity | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.647 | 1.647 | 1.657 | 1.628 |
| Viscosity (calc. to 12°P) | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.638 | 1.625 | 1.634 | 1.624 |
| Forcing test (warm days) 0/40/0°C | days | 7.3 | 13.4 | >15 | 14.9 |
| Sulphur dioxide | mg/L | 0.2 | 0.7 | 0.7 | 0.3 |
| Alcohol cold test (Chapon) | formazin units | 140 | n. m. | n. m. | 45 |

^a HT = hot trub; n.m. = not measurable; n.a. = not available; and calc. to 12°P = corresponding value when calculated to a standard extract value of 12°P for comparison reasons.

Table XII
Analyses of Beer Aroma Compounds and Volatiles (8 mg of O₂/L)^a

| Compound | Turbid/HT | Clear/HT | Turbid/No HT | Clear/No HT | Normal Values |
|----------------------------|-----------|----------|--------------|-------------|---------------|
| 2-Phenyl ethanol | 41,969 | 37,283 | n.a. | 31,271 | 10,000–30,000 |
| Acetic acid-isobutyl ester | 54 | 64 | n.a. | 36 | 50–100 |
| Acetic acid-hexyl ester | 1.9 | 2.6 | n.a. | 1.6 | 3–15 |
| Acetic acid-heptyl ester | 0.8 | 2.1 | n.a. | 1.5 | 2–6 |
| Acetic acid-octyl ester | 1.6 | 1.2 | n.a. | 2.0 | 4–10 |
| Acetic acid-furfuryl ester | 1.3 | 1.6 | n.a. | 1.8 | 10–30 |
| Acetic acid-2-phenyl ester | 584 | 778 | n.a. | 527 | 100–300 |
| Acetaldehyde (mg/L) | 1.5 | 1.9 | 3.7 | 6.1 | n.a. |

^a Values in µg/L; HT = hot trub; and n.a. = not available.

Table XIII
Analyses of Beer Aroma Compounds and Volatiles (5 mg of O₂/L)^a

| Compound | Turbid/HT | Clear/HT | Turbid/No HT | Clear/No HT | Normal Values |
|----------------------------|-----------|----------|--------------|-------------|---------------|
| 2-Phenyl ethanol | 40,854 | 27,596 | 35,963 | 24,749 | 10,000–30,000 |
| Acetic acid-isobutyl ester | 55 | 59 | 44 | 18 | 50–100 |
| Acetic acid-hexyl ester | 1.8 | 2.9 | 1.5 | 1.2 | 3–15 |
| Acetic acid-heptyl ester | 1.1 | 1.1 | 1.1 | 0.6 | 2–6 |
| Acetic acid-octyl ester | 1.2 | 1.3 | 1.6 | 1.0 | 4–10 |
| Acetic acid-furfuryl ester | 1.3 | 1.9 | 1.6 | 1.7 | 10–30 |
| Acetic acid-2-phenyl ester | 557 | 670 | 534 | 282 | 100–300 |
| Acetaldehyde (mg/L) | 1.3 | 3.1 | 4.9 | 11 | n.a. |

^a Values in µg/L; HT = hot trub; and n.a. = not available.

2-furfural. Absolute values of all beers as well as gains due to aging did not exceed those of the control (clear lautering/no hot trub).

According to Figure 8, the fresh beers did not show clear differences in flavor quality, meaning the beers resulting from turbid worts and/or trub containing worts did not show worse flavor quality. Indeed, the control beers (clear lautering/no hot trub) gave worst results that were confirmed in terms of descriptive evaluation by testers (not shown). The turbid lautered beers were described as being not as pleasant in bitterness than the clearly lautered. The aged beers (Fig. 9) did not show significant differences either. The beers originating from trub containing worts seemed to be slightly better in terms of flavor stability than those without, or were at least the same. Comparing the DLG marks for flavor quality of fresh and aged beers give a hint for the flavor deterioration. The “trub beers”, resulting from either turbid or clear worts, did not show a higher deterioration of flavor quality than did the control beer. Indeed, the beer resulting from turbid wort without trub had the worst flavor deterioration. Very similar to this are the acceptance results (Fig. 10). Here again, aged beers produced from worts that contained hot trub showed better acceptances compared with those without hot trub. Relating to lautering, there seemed to be no difference whether the wort was lautered clearly or turbidly.

DISCUSSION

Online Turbidity Measurements and Wort Analyses. As expected, permanent deep raking caused a tremendous increase of lauter turbidity throughout the entire lauter process compared with no raking (except spargings). Turbid lautering was also connected to an enormous saving in lautering time (39–44 min shorter corresponding with 26–31% within this trial design).

The differences in lautering, and therefore, the differences in wort turbidity, found direct expression in the composition of the resulting wort, e.g., in terms of long-chain fatty acid contents. While turbid lautering ($\bar{\phi} \geq 100$ EBC) caused a total long-chain fatty acid content of 11.4–14.2 mg/L in kettle-full wort, clear lautering ($\bar{\phi} \approx 20$ EBC) caused only a content of 7.6–8.9 mg/L (all values calculated to 12°P). This confirms the observation made by Schuster that lauter turbidity correlates in a certain way to the long-chain fatty acid content in wort (58). Surprisingly, the loss of dissolved long-chain fatty acids during wort boiling was in a

range as narrow as 73 to 77% with one exception. This confirms the findings of Wackerbauer et al and Forch and Runkel (23,67) who observed a reduction of fatty acids as much as 90% during wort boiling. This relative reduction seems to be independent of the original content in kettle-full wort. Generally speaking, high fatty acids contents in kettle-full wort causes high contents in chilled worts, however the values in chilled worts differ not as much in terms of absolute numbers as described above. In this matter, intensive wort boiling seems to be an equalizing process step.

Discussing fatty acid contents of wort, one should, however, consider that all wort samples have been centrifuged due to sample processability causing a separation of coarse solids that might have had lipids attached. Thus, it is possible that the lipid content that was actually transferred to the fermentation tank, and therefore might eventually be available for yeast, could be much higher than observed by the practiced analyses.

Observing the Zn content of chilled wort, the different lauter methods and optional hot trub addition seemed to have an influence. According to wort analyses, turbid lautering seemed to allow more Zn to reach the wort by 0.03–0.04 mg/L. Leaving the hot trub completely within the wort, increased the Zn content additionally by 0.05–0.06 mg/L. This confirms, in principle, the findings of Eils (22) mentioned above. Within these trials, only the content of Zn^{2+} ions dissolved in wort has been detected due to the applied analytical method. However, relevant amounts of Zn may be bound to trub, which seem to have a high bio-availability according to Kreder (28). Thus, even if not detected, these Zn amounts might also improve yeast activity and stimulate fermentation performance. According to Donhauser et al, the optimal Zn^{2+} concentration in pitching wort (12°P) is 0.08–0.15 mg/L (18,19), which was only reached when hot trub completely remained in wort.

The fact that turbid lautering did not cause an increase in iodine numbers indicates that despite turbid lautering and deep raking, no extraction of nondegraded carbohydrates from the spent grains occurred during lautering. This shows that turbid lautering is not necessarily connected with a washout of unwanted solid particles.

The reason for the darker colors of those worts without hot trub might be the higher heat load caused by whirlpooling (15 min). The lower N coagulable and polyphenols values and polymerization indices in worts containing hot trub could be caused by adsorption phenomena. The higher iodine numbers of trub contain-

Table XIV
Staling Indicators of Fresh and Aged Beers (8 mg of O₂/L)^a

| Compound | Turbid/HT | | | Clear/HT | | | Turbid/No HT | | | Clear/No HT | | |
|------------------------|-----------|------|----|----------|------|----|--------------|------|----|-------------|------|----|
| | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ |
| 2-Furfural | tr. | 59 | 59 | 11 | 46 | 35 | tr. | 47 | 47 | tr. | 67 | 67 |
| Sum heat indicators | 10 | 72 | 62 | 20 | 59 | 39 | 3.9 | 53 | 49 | 4.7 | 74 | 74 |
| Sum oxygen indicators | 7.9 | 17 | 9 | 8 | 15 | 7 | 10 | 16 | 6 | 13 | 18 | 5 |
| Sum staling indicators | 29 | 111 | 82 | 34 | 80 | 46 | 23 | 85 | 62 | 23 | 102 | 79 |

^a Values in µg/L; HT = hot trub; tr. = traces; and Δ = difference of fresh and aged values.

Table XV
Staling Indicators of Fresh and Aged Beers (5 mg of O₂/L)^a

| Compound | Turbid/HT | | | Clear/HT | | | Turbid/No HT | | | Clear/No HT | | |
|------------------------|-----------|------|----|----------|------|----|--------------|------|----|-------------|------|------|
| | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ | Fresh | Aged | Δ |
| 2-Furfural | tr. | 59 | 59 | tr. | 45 | 45 | tr. | 40 | 40 | n.a. | n.a. | n.a. |
| Sum heat indicators | 9.4 | 72 | 62 | 10 | 58 | 48 | 7.8 | 51 | 43 | n.a. | n.a. | n.a. |
| Sum oxygen indicators | 8.3 | 13 | 7 | 6.8 | 15 | 8 | 10 | 20 | 10 | 26 | 27 | 1 |
| Sum staling indicators | 25 | 104 | 79 | 26 | 84 | 58 | 29 | 79 | 50 | n.a. | n.a. | n.a. |

^a Values in µg/L; HT = hot trub; tr. = traces; n.a. = not available; and Δ = difference of fresh and aged values.

ing worts eventually might be a consequence of α -glucan precipitation. The presence of hot trub in wort appeared in higher solid contents. In terms of wort aroma compounds, no difference could be observed by comparing the four worts, except the Strecker aldehydes. The sum of the latter was by tendency, lower in turbid worts and particularly lower in worts with hot trub addition, basically confirming the findings of Schur and Pfenninger (57).

Fermentation

The fermentation indicators show that turbid lautering seems to cause a premium yeast nutrition that manifests in a significant faster extract degradation (Figs. 6 and 7), ethanol formation, and pH degradation, confirming the observations of Schur and Pfenninger (57). Cell numbers increased faster and reached a higher maximum due to turbid lautering. When turbid lautering was applied, full aeration with 8 mg of O₂/L did not seem to be additionally favorable compared with partial aeration, which might be due to the oxygen supplementation by higher amounts of long-chain fatty acids described by Schur and Pfenninger (57). This was different with clear worts. Here, higher aeration rates caused faster fermentation. Within the limits of these trials (only the first yeast cycle was observed), turbid lautering, particularly in connection with hot trub addition, seems to partly substitute wort aeration.

The fermentation results of worts without hot trub basically confirm the prior results that turbid lautering is favorable for yeast nutrition expressed in fermentation performance. However, yeast

nutrition does not seem to be as rich when hot trub is separated, which is indicated by the fact that increased aeration leads to increased fermentation performance.

Bottled Beer

The pH values of the resulting beers were all in the range of 4.40 to 4.74, without giving a hint for differences in wort composition. In accordance with wort analyses, beers produced with hot trub showed lower anthocyanogen, but slightly higher tannoid concentrations, which might have a positive effect on the flavor stability. A reason for this could be adsorption of anthocyanogens to hot trub and the fact that hot trub partly consists of tannins as described above (31). In terms of foam stability, the turbid lautered worts resulted in beers in which foam stabilities are acceptable and at least as good as the control (clearly lautered, no hot trub). This is surprising since a slightly decreased foam stability due to turbid lautering was expected (9,57). Fatty acids are considered to be responsible for their detrimental effect on foam stability as stated above. However, lipids transferred to the wort in higher quantities did not seem to have a negative influence on the final beer in terms of foam stability in this trial. Just clearly lautered wort with hot trub showed weaker foam stability, which could be an indication for the detrimental effect of fatty acids bound to trub on foam. But if hot trub would be responsible for weaker foam, the beers brewed with hot trub after turbid lautering should have deteriorated foam stabilities also, which they did not.

The low SO₂ content of all beers probably indicates a good nutrition of yeast during fermentation or may be linked to the yeast strain. The observation of lower SO₂ contents in beers resulting from turbidly lautered worts at an aeration rate of 8 mg of O₂/L could be due to a better yeast nutrition caused by wort turbidity. However, this observation could not be confirmed by beers resulting from clear worts when an aeration of 5 mg of O₂/L was applied. The nonbiological stability expressed in warm days was excellent for all beers (11.7 to >15), except for turbid lautering with trub and aeration of 5 mg of O₂/L still reaching an acceptable value of 7.3. The same beer showed slightly increased total polyphenol and tannoid contents, which might be the reason for the reduced stability. The increased 2-phenyl ethanol content in beers resulting from trub worts is a hint for a fast fermentation and confirms the results gained by the above mentioned fermentation indicators. The low ester contents of the beers were only expected for the worts rich in long-chain fatty acids for the above mentioned reasons; the control beer, however, was low in esters, which typically might be for the applied yeast strain. The lower acetaldehyde concentrations found in beers resulting from turbid worts are in agreement with findings of other authors (57).

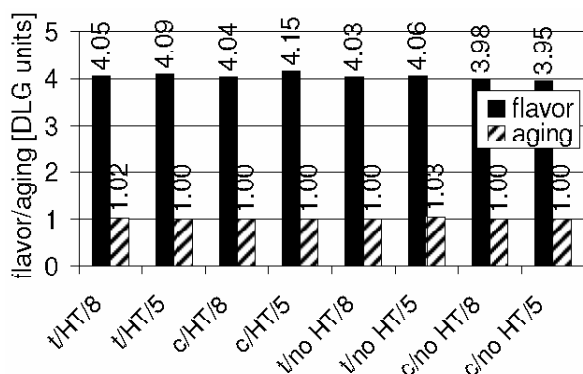


Fig. 8. Sensory analyses (flavor and aging) of fresh beers (t = turbid lautering; c = clear lautering; HT = hot trub; 8 = 8 mg of O₂/L; and 5 = 5 mg of O₂/L).

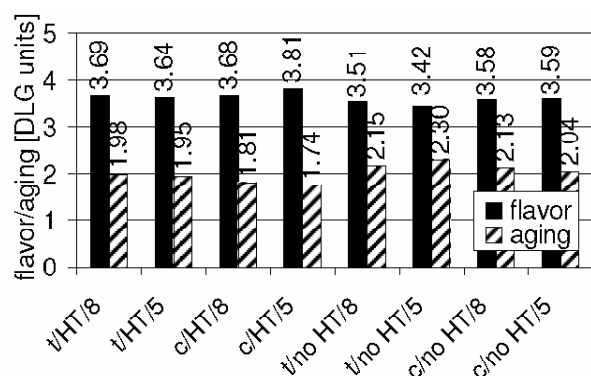


Fig. 9. Sensory analyses (flavor and aging) of aged beers (t = turbid lautering; c = clear lautering; HT = hot trub; 8 = 8 mg of O₂/L; and 5 = 5 mg of O₂/L).

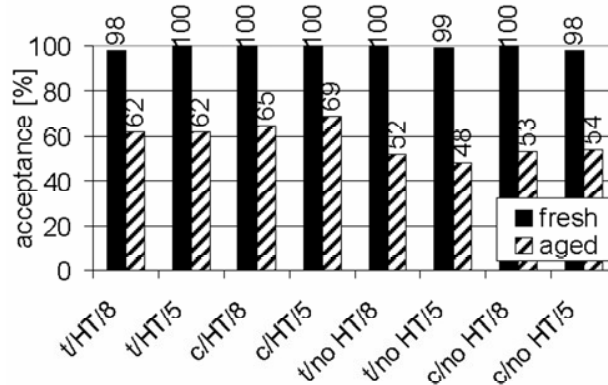


Fig. 10. Acceptance analyses of fresh and aged beers in terms of staling.

Surprisingly, the produced beers that originated from turbidly lautered worts or hot trub containing worts did not exceed the control in terms of staling indicators, particularly when considering that these trials were designed to realize extreme conditions in terms of lautering and hot trub dosage. Distinctive differences in staling indicators were expected according to the observations of other authors (1,20,70), but did not occur.

In terms of flavor quality, neither turbid lautering nor hot trub addition had a negative influence, except a slightly unpleasant bitterness caused by turbid lautering, which, however, did not occur when turbid lautering was combined with hot trub addition. On the other hand, the clearly lautered wort without hot trub gave the worst beer by tendency (DLG and descriptive tasting). The above mentioned results in terms of staling indicators were confirmed by tasting evaluations of the aged beers. Here, too, no indication was found that staling is intensified by turbid lautering or hot trub addition.

As the overall result of these investigations, increased wort turbidity due to higher lauter turbidity and hot trub addition may simplify brewhouse operation (faster lautering process and whirlpool operation), may increase fermentation performance, do not significantly lead to deterioration of flavor quality, flavor stability, or nonbiological stability and foam stability. Indeed, some of the observed indicators were even improved by increased turbidity, not confirming our expectations. Finally, these investigations seem to support the statement that a certain quantity of lauter turbidity and/or hot trub may increase fermentation performance and does not lead to decreased processability nor quality losses of the resulting beer. This amount can not be quantified yet and may vary from brewery to brewery because of differences in raw materials, applied technologies/techniques in brewhouse and cellar, and yeast characteristics. It is the objective of further investigations to identify the compound or group of compounds contained in wort turbidity that are responsible for the improved yeast nutrition and to quantify the optimum wort turbidity in terms of lauter turbidity as well as hot trub amount. In practical application, e.g., when fermentation problems or slow fermentation occur, it seems worthwhile to check if wort turbidity is sufficient and should be increased if necessary.

CONCLUSIONS

Pilot plant brewing trials have been carried out to provide worts that were turbidly (≥ 100 EBC) and clearly lautered (≈ 20 EBC). The content of free long-chain fatty acids (C14-C18:3) in kettle-fully worts was increased by 50–60% due to turbid lautering. In one part of each wort, hot trub was allowed to remain completely in the wort, in the other it was separated by whirlpooling. Turbid lautering and hot trub increased Zn content in chilled wort by 0.03 and 0.05 mg/L, respectively. The resulting four worts were fully and partly aerated (8 and 5 mg of O₂/L) and pitched with vital, bottom-fermenting yeast. Turbid worts, particularly those containing hot trub, showed increased fermentation performance, indicated as extract and pH decrease as well as ethanol concentration and cell number increase. Full wort aeration seemed to be substitutable by part aeration if turbid lautering is applied and hot trub is allowed to remain in the wort.

The resulting beers generally showed excellent nonbiological stabilities and no differences in foam stability were observed. Turbid lautering or hot trub addition did not lead to an increase in staling indicators of aged beers compared with the control (clearly lautered, hot trub removed). The latter was confirmed by taste tests. Here, turbid lautering and hot trub addition lead to good flavor quality, at least as good as the flavor quality of the control.

Considering the fact that within these trials, extreme conditions such as turbidly lautering and complete hot trub addition were

applied, it might be concluded that a certain quantity of lauter turbidity as well as hot trub may increase fermentation performance and does not lead to decreased processability nor quality losses of the resulting beer.

ACKNOWLEDGMENTS

The malt was gratefully supplied by Weyermann, Bamberg, Germany. We thank Sigrist, Ennetbürgen, Switzerland for providing the online photometer RAMS. We are also grateful to Jubiläumstiftung Weihenstephan 1905 for the great support.

LITERATURE CITED

- Ahvenainen, J., Vehviläinen, H., and Mäkinen, V. Einfluß der Trubentfernung auf die gärung und bierqualität. *Monatsschr. Brau.* 32(6):141-144, 1979.
- Anonymous. Wort boiling and clarification. In: *Manual of Good Practice*. European Brewery Convention. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany. Pp. 24-25, 2000.
- Anonymous. Würzekochen und würzekühlen - ein immer noch kritischer punkt in etlichen brauereien. *Brauwelt* 138(31/32):1432-1433, 1998.
- Back, W., and Forster, C. Hefemanagement und anstelltechnologie mit ihren auswirkungen auf geschmack und geschmacksstabilität. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 27:627-636, 1999.
- Back, W., Forster, C., Krottenthaler, M., Lehmann, J., Sacher, B., and Thum, B. Neue forschungserkenntnisse zur verbesserung der geschmacksstabilität. *Brauwelt* 137:1677-1692, 1997.
- Back, W., Imai, T., Forster, C., and Narziß, L. Hefevitalität und bierqualität. *Monatsschr. Brauwiss.* 51(11/12):189-195, 1998.
- Back, W., and Krottenthaler, M. Neue regelung für den abläutervorgang im läuterbottich. *Brauwelt* 139:1666-1668, 1999.
- Biermann, U. K. Über menge und zusammensetzung des kochtrubes in abhängigkeit von technologischen verfahren. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 9, 91, 1984.
- Byrne, H., Loughrey, M., and Letters, R. A novel technique for investigating of role of lipids in brewing. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 19:659-666, 1983.
- Cantrell, I. C., and Anderson, R. G. Yeast performance in production fermentations. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 19:481-488, 1983.
- Carpentier, B., van Haecht, J. L., and Dufour, J. P. Influence of the trub content of the pitching wort on yeast by-products synthesis. *Proc. Conv. Inst. Brew. Cent. South Afr. Sect.* 3:144-149, 1991.
- Coors, G., Krottenthaler, M., and Back, W. Wort pre-cooling and its influence on casting. *Brauwelt Int.* 21:40-41, 2003.
- David, M. H., and Kirsop, B. H. Yeast growth in relation to the dissolved oxygen and sterol content of wort. *J. Inst. Brew.* 79:20-25, 1973.
- DeClerck, J. *Lehrbuch der Bierbrauerei*. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin, Ed. Berlin. Vol. I, pp. 446-460, 1964.
- DeClerck, J. The process of wort boiling. *Brew. Dig.* 42:96-99, 1967.
- Devreux, A. Le'bullition des mouts a l'heure des extraits de houblon pre'isomerises. *Bios* 4(4):205-209, 1973.
- Dickel, T., Krottenthaler, M., and Back, W. Untersuchungen zum einfluß des kühltrubeintrages auf die bierqualität. *Monatsschr. Brauwiss.* 53(5/6):95-100, 2000.
- Donhauser, S., and Wagner, D. Möglichkeiten der beeinflussung des zinkgehaltes der wärze. *Monatsschr. Brauwiss.* 39(6):223-230, 1986.
- Donhauser, S., Wagner, D., and Linsenmann, O. Hefezink bei konventionellen und druckgärverfahren. *Brauwelt* 122:1464-1472, 1982.
- Drost, B. W., van Eerde, P., Hockstra, S. F., and Strating, J. Fatty acids and staling of beer. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 13:451-458, 1971.
- Eichhorn, P. Untersuchungen zur geschmacksstabilität des bieres. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 50-55, 1991.
- Eils, H.-G. Über den einfluß der sudhauseinrichtung auf die beschaffenheit von wärze und bier. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 120-124, 1994.
- Forch, M., and Runkel, U.-D. Die bedeutung der würzelipide für die bierqualität und möglichkeiten zu ihrer quantitativen beeinflussung. *Eur. Brew. Conv. Monogr.* 1:258-265, 1974.

24. Hawthorne, D. B., Kavanagh, T. E., and Clarke, B. J. Determination of low molecular weight organic compounds in beer using capillary gas chromatography. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 45:23-27, 1987.
25. Heyse, K.-U. *Handbuch der Brauerei-Praxis*. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany. Pp. 58, 75, 1995.
26. Hudson, J. R., and Birtwistle, S. E. Wort boiling in relation to beer quality. *J. Inst. Brew.* 72:46-50, 1966.
27. Imai, T., Nakajima, I., and Ohno, T. Development of a new method for evaluation of yeast vitality by measuring intracellular pH. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 52:5-8, 1994.
28. Kreder, G. C. Yeast assimilation of trub-bound zinc. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 57:129-132, 1999.
29. Krottenthaler, M. Entwicklung einer selektionsmethode mit serieneignung zur anhebung der bierqualität und der den biergeschmack beeinflussenden qualitätsparameter der gerste. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 10-30, 1992.
30. Ledward, D. A. *Effects of Heating on Foodstuff*. R. J. Prestley, Ed. Applied Science Publishers Ltd, London. Pp. 1-34, 1979.
31. Lentini, A., Takis, S., Hawthorne, D. B., and Kavanagh, T. E. The influence of trub on fermentation and flavour development. *Proc. Congr. Inst. Brew., Asia Pacific Sect.* 23:89-95, 1994.
32. Letters, R. Lipids in brewing, Friend or foe? *Ferment* 5:268-274, 1992.
33. Lustig, S. Das verhalten flüchtiger aromastoffe bei der lagerung von flaschenbier und deren technologische beeinflussung beim brauprozeß. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 41-55, 1994.
34. Lustig, S., Miedaner, H., Narziß, L., and Back, W. Beeinflussung alterungsrelevanter aromastoffe durch technologische maßnahmen bei der malz-, würze- und bierbereitung. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 25:499-506, 1995.
35. Marx, G., Scopel, S., and Wackerbauer, K. Kochtrubabscheidung, entfernung und rückgewinnung der enthaltenen würze. *Brauwelt* 125:1697-1702, 1985.
36. McMurrough, I., Hennigan, G. P., and Loughrey, M. J. Contents of simple, polymeric and complexed flavanols in worts and beers and their relationship to haze formation. *J. Inst. Brew.* 89:15-23, 1983.
37. Meyer, L. Über den einfluß der trubseparierung auf die organoleptik des bieres. Diploma Thesis. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 4, 1978.
38. Mezger, R., Krottenthaler, M., and Back, W. Moderne kochsysteme - ein überblick. *Brauwelt* 143:93-99, 2003.
39. Miedaner, H. *Brautechnische Analysemethoden*. MEBAK, Ed. Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan. Vol. II, pp. 33-134, 2002.
40. Narziß, L. *Abriß der Bierbrauerei*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. Pp. 145, 154, 161, 1972.
41. Narziß, L. *Die Technologie der Würzbereitung*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. Vol. II, pp. 319-320, 1992.
42. Narziß, L., and Gromus, J. Stabilisierungsversuche mit polyphenolreichen bieren. *Brauwiss.* 35(8):198-204, 1982.
43. Narziß, L., Reicheneder, E., and Pichelmaier, K. Über den einfluß verschieden hoher abdarrrtemperaturen auf die ausscheidungsvorgänge beim wärzekochen und die beschaffenheit der biere. *Brauwelt* 111:1544-1552, 1971.
44. Noshiro, A., Purwin, C., Laux, M., Nicolay, K., Scheffers, W. A., and Holzer, H. Mechanism of stimulation of endogenous fermentation in yeast by carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone. *J. Biol. Chem.* 262:14154-14157, 1987.
45. O'Rourke, T. Die moderne anpassung der wärzekochung. *The Brewer* 70:12-18, 1984.
46. Otoguro, K., Awaya, J., Tanaka, H., and Omura, S. Saturated fatty acid-starved cells of *Saccharomyces cerevisiae* grown in the presence of cerulenin and oleic acid. *J. Biochem.* 89:523-529, 1981.
47. Pfenninger, H. *Brautechnische Analysemethoden*. MEBAK, Ed. Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan. Vol. III, pp. 5-14, 18-21, 1996.
48. Pfenninger, H. *Brautechnische Analysemethoden*. MEBAK, Ed. Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan. Vol. I, pp. 35-43, 46-48, 216-285, 1997.
49. Portillo, F., and Serrano, R. Growth control strength and active site of plasma membrane ATPase studies by site-directed mutagenesis. *Eur. J. Biochem.* 186:501-507, 1989.
50. Purwin, C., Nicolay, K., Scheffers, W. A., and Holzer, H. Mechanism of control of adenylate cyclase activity in yeast by fermentable sugars and carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone. *J. Biol. Chem.* 261:8744-8749, 1986.
51. Reed, R. J. R. The influence of hot and cold break formation on whirlpool operation and fermentation. *Ferment* 1(6):39-42, 1988.
52. Reed, R. J. R., and Jordan, G. Factors affecting trub formation during wort boiling. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 23:673-680, 1991.
53. Rosi, I., and Bertuccioli, M. Influences of lipid addition on fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and aroma characteristics of experimental wines. *J. Inst. Brew.* 98:305-314, 1992.
54. Ross, S., and Clark, G. L. On the measurement of foam stability with special reference to beer. *Wallerstein Lab. Commun.* 2:46-54, 1939.
55. Royston, M. G. Wort boiling and cooling. In: *Modern Brewing Technology*. W. P. K. Findlay, Ed. MacMillan Press, London. Pp. 77-79, 1971.
56. Schisler, D. O., Ruocco, J. J., and Mabee, M. S. Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 40:57-61, 1982.
57. Schur, F., and Pfenninger, H. B. Einfluß von Läuterzeit und wärzetrübung auf herstellung und qualität des bieres. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 17:105-116, 1979.
58. Schuster, I. Die höherern freien fettsäuren bei der wärzereitung und ihr einfluß auf die gärung und die bierbereitung. Ph.D. Diss. TU München, Freising-Weihenstephan. Pp. 101, 1985.
59. Schuster, K. *Die Technologie der Würzbereitung*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany. Vol. 5, pp. 262, 320, 1968.
60. Schütz, M., and Back, W. The influence of mash acidification on long chain fatty acid content in wort determined by a new developed method. *Monatsschr. Brauwiss.* 58(2):6-10, 2005.
61. Serrano, R., Kielland-Brandt, M.-C., and Fink, G. R. Yeast plasma membrane ATPase is essential for growth and has homology with (Na⁺ + K⁺), K⁺- and Ca²⁺-ATPase. *Nature* 319:689-693, 1986.
62. Tanford, C. Protein denaturation. *Adv. Protein Chem.* 23:121-282, 1968.
63. Taylor, G. T., Thurston, P. A., and Kirsop, B. H. The influence of lipids derived from malt spent grains on yeast metabolism and fermentation. *J. Inst. Brew.* 85:219-227, 1979.
64. Thevelein, J. M., Beullens, M., Honshoven, F., Hoebeek, G., Detremere, K., Hollander, J. A. D., and Jans, A. W. R. Regulation of the cyclic AMP level in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* intracellular pH and the effect of membrane depolarizing compounds. *J. Gen. Microbiol.* 133:2191-2196, 1987.
65. Thurston, P. A., Quain, D. E., and Tubb, R. S. Lipid metabolism and the regulation of volatile ester synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.* 88:90-94, 1982.
66. Thurston, P. A., Taylor, R., and Ahvenainen, J. Effects of linoleic acid and supplements on the synthesis by yeast of lipids and acetate esters. *J. Inst. Brew.* 87:92-95, 1981.
67. Wackerbauer, K., Bender, G., and Poloczek, K. Die beeinflussung der freien fettsäuren durch die technologischen parameter bei der Sudhausarbeit. *Monatsschr. Brauwiss.* 36(1):18-25, 1983.
68. Wainwright, T. Effect of barley and malt lipids on beer properties. *Eur. Brew. Conv. Monogr.* VI:118-128, 1980.
69. Yoshioka, K., and Hashimoto, N. Ester Formation by alcohol acetyltransferase from brewers' yeast. III. Acetyl-CoA of brewers' yeast and formation of acetate esters. *Rep. Res. Lab. Kirin Brew. Co.* 27:17-22, 1984.
70. Zangrando, T. Über den einfluß der klarheit der läuterwürze auf die bierqualität. *Mitteilungen der Versuchsanstalt für das Gärungsgewerbe in Wien* 32(9/10):101-105, 1978.

Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality – A Review

Florian Kühbeck^{1,2}, Werner Back¹ and Martin Krottenthaler¹

ABSTRACT

J. Inst. Brew. 112(3), 215–221, 2006

This review paper covers a variety of aspects concerning lauter turbidity and wort clarity that have been published in the past decades. The components of wort which are connected to an increased lauter turbidity, such as lipids and long-chain fatty acids, are presented as well as how the further steps of wort production, i.e. wort boiling and clarification, have an impact thereon. Besides the influence of lauter turbidity on wort quality, technical aspects affecting lauter turbidity are discussed by comparing different lauter systems such as lauter tun, mash filter and strainmaster. It is further highlighted, how lauter turbidity and its components influence fermentation performance and yeast vitality. Finally, the consequences of increased wort turbidity for the resulting beers in terms of flavour quality, flavour stability, non-biological stability and foam stability are described.

Key words: Fermentation, lipids, long-chain fatty acids, mash separation, wort clarity, zinc.

Introduction

Beside other process steps in wort production such as malting⁹¹, milling^{14,54,83} and mashing^{13,68,91}, mash separation is most important in determining wort composition. It is generally considered as being the major bottleneck in practical brewhouse operations.^{29,40} Wort turbidity is a well known indicator associated with the quality of the resulting wort and therefore is of outstanding importance.^{29,59,70,78,79,92,111}

Lauter turbidity is mainly influenced by raw materials, lauter equipment and lauter procedure, in particular the height of filter bed, turbid wort pumping, raking, sparging and speed of lautering. The subject of this paper is limited to wort turbidity which is influenced by the technical aspects of the lautering procedure, while raw material derived turbidity⁸³ is not considered herein.

Lauter turbidity and lipids

Many authors have reported a correlation of wort turbidity to an increase of lipid substances in wort, particularly of long-chain fatty acids.^{2,29,35,36,51,56,60,74,76–78,91,101,104}

The content of long-chain fatty acids, and more particularly of linoleic acid in wort, is assumed to correlate in a partly linear fashion with EBC turbidity units.^{29,91} However, this correlation could not be proven for small- and middle-chain fatty acids.⁹³ In general, in terms of long-chain fatty acids of wort, palmitic acid (C16) and linoleic acid (C18:2) are of major importance, while oleic acid (C18:1), linolenic acid (C 18:3), stearic acid (C 18), and others play only a minor role.^{6,57,68,95}

The lauter step is assumed to be the most important step in the reduction of total long-chain fatty acids throughout the brewing process, whereby a reduction of more than 90% related to the total content in mash can be achieved.^{27,34,37,50,68,72} Within the lauter process there is a correlation between intensity of raking (and therefore lauter speed) and wort turbidity.^{68,74,79,90,91} Thus, according to Wackerbauer et al.¹⁰⁴ only 11% of the fatty acid content of mash could be found in the kettle-up (kettle-full) wort, while intensive raking caused 21% to remain. Similar to raking, sparging is assumed to increase turbidity as well as the content of unsaturated fatty acids, which might be adsorbed to particles.^{91,103,104}

Wort boiling

During wort boiling⁵, which causes hot trub formation and whirlpool operation leading to hot trub separation, a major reduction of free fatty acids takes place due to adsorption to the coagulum with the total amount of fatty acids remaining unchanged.^{51,52,68,91} More specifically, the reduction of free long-chain fatty acids is in the range of 70–90% during boiling depending on their chemical properties, e.g., the number of double bonds.¹⁰⁴ In fact the major part of lipids (75–85%) already precipitate during heating of wort²⁹ since a coagulation seems to already take place in hot wort prior to boiling. To a minor extent fatty acid reduction during boiling is also caused by evaporation⁵⁸ and oxidation to degradation products⁶⁸.

Wort clarification

Although the majority of the lipids are removed during boiling, higher levels in sweet wort (kettle-up) also caused higher concentrations in cast wort. However, the levels did not differ that much afterwards.⁴⁷ Similarly, Eils reported that fatty acid contents in worts after whirlpool were comparable, due to an efficient hot trub separation, even if the lauter worts contained variable concentrations.³² According to Graf³⁵, an efficient removal of hot trub and cold

¹ Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Germany.

² Corresponding author. E-mail: Florian.Kuehbeck@wzw.tum.de

trub seems to decrease the difference between turbid and clear lautering in long-chain fatty acid concentration without eliminating it completely. Further effects of cold trub removal on beer quality are highlighted in more detail by Dickel et al.^{23,24} For turbid kettle-up worts, separation problems in terms of precipitation and sedimentation of hot trub occurred during whirlpool operation.^{80,90,91,111} The more turbid the kettle-up wort, the higher the trub content of wort and the worse the separation in whirlpool, leading to higher extract losses.^{12,22,111,112} Even if the same fatty acid content was obtained after the whirlpool operation, different fatty acid contents combined with oxidative/auto-oxidative reactions during lautering (e.g. oxygen in sparging water) or wort boiling might lead to an increased formation of degradation products and therefore lower flavour stability.^{1,21,27,32,73,100} The influence of the thermal load during wort boiling (boiling time, evaporation rate etc.) and clarification in terms of carbonyl formation were recently highlighted by Morikawa et al.⁶⁷ and Osamu et al.⁸²

Finally, due to the extensive depletion during the brew-house procedure only 1.0–2.6% of total lipids and only 4.1–7.6% of free fatty acids related to malt reach the kettle-up wort,⁵² while only 0.1–3.0% of malt lipids reach the pitching wort.³³

Further aspects of wort quality

Besides lipids and fatty acids, turbid worts contain more high molecular protein complexes, or protein-polyphenol complexes, which cause a lower bitter substance yield during wort boiling and an intensified precipitation of colloids which adsorb bitter substances.^{90,111,112} Extremely turbid worts were observed to have a higher raw fiber and total nitrogen content while no significant influence on total carbohydrate and α -glucan content could be detected.⁹⁰ In contrast to this, Biermann¹² observed increased polyphenol and carbohydrate contents of wort as a consequence of an increased input of malted barley cell wall components and other disperse particles.

In terms of the content of solid particles in wort the opinions differ. While Narziß and Weigt⁷⁹ found no correlation between wort turbidity and solid particle content, Eils³² could observe an increased solid content in kettle-up worts due to turbid lautering. It was shown that a high solid content in kettle-up wort was an indicator of high linoleic acid content in wort.⁹¹ Moreover, insufficient starch conversion (iodine test) was observed in turbid worts.^{74,90} According to Schur and Pfenninger⁹⁰ lauter turbidity had only minor influence on wort composition in terms of metals such as calcium, iron, copper and zinc. In contrast to this, Eils³² observed increased zinc concentrations in more turbid kettle-up and pitching worts. Indeed, most of the zinc originally derived from malt⁴⁵ was removed during lautering or precipitates with trub during wort boiling and cooling later on.^{53,55} In particular, zinc was found in mash at mashing-in in a concentration of 1.2–1.5 ppm, after mashing-in at a concentration of 0.37–0.56 ppm, while after lautering only 0.07–0.16 ppm was found in kettle-up wort, due to absorption to spent grains as well as dilution due to sparging.^{19,53}

From an economic point of view, fast lautering due to intensive raking with low extract content in the post runs

and in spent grains causes a high brewhouse yield.^{43,90} Cost comparisons of different lauter systems were provided by Narziß et al.⁷⁶ and more recently by Andrews⁴.

Technical aspects and lauter systems

In 1986, Dufour et al.²⁹ published a comparison of different mash separation techniques showing the following differences. While the filtration times increased in the order: mash filter (75 min), strainmaster (110 min) and lauter tun (180 min), the wort turbidity decreased in the same order (mash filter: 300 nephelometric turbidity units (NTU); strainmaster: 160 NTU; lauter tun: 30 NTU). The ability to separate fatty acids from mash and therefore lower wort turbidity also depends on the lauter technique applied and in this case the lauter tun was a bit ahead of the strainmaster, with both being much more efficient than a mash filter.^{51,91} Accordingly, Wackerbauer et al.¹⁰² could not detect a significant difference between lauter tun and strainmaster. The differences observed might be because of the application of finer grist with modern mash filters causing higher fatty acid content in the resulting wort compared to older mash filters with coarser grist.³² Moreover, Dufour et al.²⁹ found 2.5-fold increased fatty acid content in mash filter worts compared to lauter tun worts. However, with all systems a reduction in total fatty acids by more than 90% (related to mash) can be achieved.⁶⁸ According to Eils³² the amount of hot trub varies due to the lauter technique and while around 600–900 mg/L were found for a lauter tun, the amount for a conventional mash filter was in the range of 1,400–1,650 mg/L. The amount of solid particles influences the amount of hot trub, fatty acids, coagulable nitrogen compounds, and hop utilization.³² Further, the particle content of kettle-up wort depends on the grist composition and the lauter method and while a modern lauter tun can reach a value of approximately 35 mg/L, mash filters reach a solid particle content of below 80 mg/L.³² According to Schlecht⁸⁹ a solid particle content of up to 120 mg/L is acceptable, while Stippler et al.⁹⁶ recommended a limit of 100 mg/L. More recent investigations say that modern lauter tuns and latest mash filters produce bright worts with a content of solids of below 50 ppm.⁷

Lauter tuns

For lauter tuns the duration and efficiency of turbid wort pumping as well as the construction of the raking machine are important. In order to obtain bright lauter wort a maximum raking speed of 3 m/min (tip velocity) and a raking height of not lower than 5–8 cm above the false bottom were recommended.⁷¹ The raking machine should contain a sufficient number of knives and should be lowered gently when in operation.⁷¹ Besides raking, if a false bottom with gaps of greater than 0.8 mm and a larger free flow area was applied, worts of higher turbidity were obtained.⁷⁴ According to Jones et al.⁴⁷ the height of the filter bed makes a difference and deep-bed lautering was more effective in lipid removal than shallow-bed lautering. A drawing-off of wort from the top layer of the pre-run, or compressing the spent grain bed, caused an increase in fatty acids in the kettle-up worts.^{15,36,80,104}

Mash filters and strainmasters

According to Schuster⁵⁸ and Letters⁹¹ mash filters exhibit very turbid lautering in the beginning (>3,000 NTU)²⁹ with a fast decrease in fatty acids, while when using a strainmaster their concentration decreases only after sparging. However, the total volume of wort contained 50% less fatty acids compared to mash filter lautering.⁹¹ Accordingly, the mash filter worts contain 2.9 times more solids than strainmaster worts.⁹¹ The increased turbidity of mash filter worts is due to the application of a polypropylene filter and turbulence caused by sparging.⁷¹ Moreover, the compression during wort extraction causes an increased release of mash components.^{15,58} Despite high solid particle amounts, higher iodine numbers were also observed during wort boiling due to thermal degradation thereof.⁷¹ These phenomena may be lowered by an extended recycling of first wort at the beginning of lautering.⁷¹ When comparing a mash filter with a lauter tun, Dufour et al.²⁹ found lower overall lipid amounts in the mash filter wort. This was due to the higher lipid contents in sparging draw-offs (in 1°P sparging draw-off: 10 (mash filter) vs. 43 ppm of lipids (lauter tun)) despite the higher initial lipid content in mash filter separation (272 ppm) vs. lauter tun wort (11 ppm).

Fermentation

Schur and Pfenninger⁹⁰ investigated 24 large-scale brews and concluded that turbid lauter wort caused a significantly faster fermentation than clear worts, and this was also observed for trub rich worts.^{84,87,88,105} The reason for this might be that with increased turbidity more fatty acids are introduced to pitching wort which favours the fermentation.^{48,49} On the other hand, a high wort turbidity might make yeast stay in suspension longer. Lipids such as unsaturated long-chain fatty acids and ergosterol present in turbid worts have a significant influence on the growth and metabolism of yeast.^{2,11,15,16,20,48,85,86,97,108} Particularly, unsaturated fatty acids and sterols are important due to their involvement in building up a functional yeast plasma membrane. Their presence in the membrane allows a correct cellular exchange between the cytoplasm and the external environment.²⁹ When supplementing yeast with unsaturated fatty acids such as linoleic acid, a greater yeast biomass resulted as a consequence of greater yeast activity and growth.^{20,42,97} Linoleic and linolenic acid, as well as other polyunsaturated fatty acids, cannot be synthesized by *Saccharomyces cerevisiae* itself, but can be taken up from the medium.^{6,18,66,86,97} However, yeast can synthesize palmitic and oleic acid in the presence of oxygen.⁵⁷ The unsaturated fatty acids appear to partially supplement the oxygen requirements of yeast and support the biosynthesis of sterols.^{2,15,85} A high or very low lipid concentration causes an increased peak concentration of vicinal diketones during fermentation.¹⁷ On the other hand, it was reported that lipid rich worts reached the diacetyl maximum earlier and degradation was faster.⁹¹ Moreover, fatty acids have an influence on the ester synthesizing membrane-bound enzyme systems.^{57,109,110} Increasing the content of unsaturated fatty acids in wort appears to be responsible for decreasing ester content,

particularly of ethyl acetate in the resulting beers.^{98,99} The presence of unsaturated fatty acids causes an increase in the uptake of group I–III amino acids and therefore an intensified formation of higher alcohols.^{17,39,91,97} Similarly, according to Schuster⁹¹ amino acids and glucose are taken up more quickly by yeast if wort contains a high fatty acid concentration. Finally, the described effects lead to a more intensive and significantly faster fermentation.

On the other hand, it was observed that bright worts have detrimental effects on fermentation.^{46,62} The reason for this might be that the little or no trub carry-over to the fermentation tank minimizes the physical and nutritional benefits of trub needed for proper yeast growth and adequate fermentation performance.⁵³ According to Klopper et al.⁵⁰ the adsorption of fatty acids to hot trub during wort boiling and its removal in whirlpool operation is probably the explanation of fermentation problems of too brilliant wort filtration.

Beer quality

It is generally accepted that lauter turbidity is of outstanding importance in terms of beer quality.^{78,79,111} Particularly, the importance of a clear lauter wort has often been emphasized.^{59,70,92} Nielsen⁸⁰ summarizes the undesired components of turbid worts as follows: lipids which are believed to contribute to beer staling^{6,28,63,94} and foam deterioration^{6,94,107}; anthocyanogens derived from malt which cause a decrease in the non-biological stability of the finished beer⁶¹, with the content of anthocyanogens in wort depending on the contact time of wort with grit; flavour compounds which directly affect the flavour quality; and starch since it affects both the biological and non-biological stability adversely.

Filterability

It was reported that more turbid worts led to a decrease in filterability as well as to centrifugation issues with the resulting beers.^{32,87,90}

Flavour quality

According to Sommer⁹³ the influence of wort turbidity on beer quality is often overestimated. For example in his investigations fast and turbid lautering did not lead to a deterioration of flavour quality of the resulting beer.¹¹¹ In the extensive large-scale trials mentioned previously, Schur and Pfenninger⁹⁰ evaluated the influence of different lauter regimes (turbid, clear) and lauter durations (long, short) on the flavour quality of the resulting beers. Related to lauter turbidity and duration they found the following order with decreasing sensory quality of the fresh beers: “turbid/short”, “turbid/long”, “clear/short”, “clear/long”. When the same beers were aged for 5 weeks at 25°C the order was as follows: “turbid/long”, “clear/short”, “turbid/short”, “clear/long”.⁹⁰ In contrast, Mück⁶⁸ reported a negative influence of turbid lauter worts connected with high fatty acid amounts prior to wort boiling and high oxygen content on beer flavour and observed an unpleasant bitterness which most probably did not depend on fatty acids. Here, the influence of turbidity seemed to

be bigger than that of oxygen. In contrast, Whitear et al.¹⁰⁶ explained that the effect of lipids was overestimated and weighs much less than the oxygen pick-up during wort production. When adding spent grain press liquor to wort, to reach a final value of 190 mg/L of lipids, they observed a marginally better flavor stability in the resulting beers than in the controls. A detrimental effect of very turbid worts on flavour development was also reported by others.^{64,81,88} Moreover, beers resulting from fermentation of turbid worts showed a decreased ester content, particularly of ethyl acetate,^{98,99} and an increased formation of higher alcohols¹⁷ as discussed above. Some authors indicate a lower bitter substance yield due to high wort turbidity^{32,90,111} due to a higher presence of protein or protein-polyphenol complexes¹¹¹ rather than due to an increased lipid content in wort.⁹¹ On the other hand, Havenainen et al.² noted an onion-like flavour in beer originating from low-fatty acid worts. Considering solids, it should be mentioned that a solid particle content of 500 mg/L or below is assumed not to be critical in terms of flavour quality and bitter substance yield.¹¹² According to Schur and Pfenninger⁹⁰, higher pyruvate and lower acetaldehyde concentrations may occur in beers resulting from turbid worts, but lauter turbidity has only a minor influence on the following: diacetyl, 2,3-pentanedione, ethyl acetate, isoamyl acetate, ethyl caproate, β -phenyl ethyl alcohol, glycerol, colour, attenuation degree, pH value, gushing properties, viscosity, reduction potential, CO₂, nitrogen compounds, anthocyanogens, phosphate and calcium.⁹⁰

Flavour stability

Turbid worts cause problems in terms of flavour stability,^{3,8,68,88} even when there was an intensive treatment of cold wort (filtration) afterwards.¹¹¹ In connection with turbidity, fatty acids, which are estimated to be the only part of lipids being flavour-active in bottled beer, and particularly, unsaturated long-chain fatty acids, are of importance since they are the only ones reacting with oxygen.^{9,103} More specifically, linolenic acid reacts 3–4 times faster than linoleic acid and the latter 30 times faster than oleic and palmitoleic acid and fatty acids bound as esters react up to 50% slower than the corresponding free acids.⁶⁴ In contrast, the oxidation of saturated fatty acids is meaningless due to the low reaction rate.²⁶ More specifically, fatty acids are assumed to be responsible mainly for the formation of epoxy and trihydroxy-acids, which are staling precursors, and have an increased solubility in wort and reach the final beer.^{44,65,74} Linoleic acid is an important component of wort turbidity and is assumed to be a precursor of *E*-2-nonenal at the same time, thus being detrimental to flavour stability.^{2,26,28,50} Besides *E*-2-nonenal, in turbid worts the content of other carbonyls such as *E*-2-butenal, iso butanal, iso valeral, hexanal, and *E*-2-octenal, was increased, with *E*-2-butenal being an excellent indicator for beer ageing according to Graf.³⁵ He concludes that turbid lautering has negative consequences for flavour stability, since fresh beers were already higher in carbonyls (162 vs. 100%) which further increased during ageing (193 vs. 162%).³⁵ The occurrence of carbonyls, due to the degradation of lipid substances, is of great importance in staling since they have a very low threshold in beer, partly in the

sub-ppb range.^{67,68} Additionally, there seems to be a correlation between the content of long-chain fatty acids and the organoleptic sense of staling.^{60,68} Even though quantities are very small, the remaining lipids provide a considerable reservoir of precursors of stale flavour due to lipid degradation products.⁶ In conclusion, many authors support that the removal of fatty acids from wort, as far as possible, is favourable for flavour stability.^{31,41,72} According to Zangrando¹¹² clear lautering is obligatory to providing good flavour stability. On this point Schur and Pfenninger⁹⁰ partly disagree as they found that beers produced from extended lautering and very clear worts performed the worst in taste testings of fresh and aged beers.⁹⁰

Non-biological stability

There are only few papers dealing with the effect of turbid lautering on the non-biological stability of the resulting beer. Turbid lautering is assumed to cause a lower non-biological stability^{80,90} and the reason for this might be that turbid worts sweep along more anthocyanogens resulting in a higher affinity for the formation of haze in bottled beer.⁸⁰

Foam stability

Lipids are known to adversely influence the foaming properties of beer by binding to foaming proteins.^{10,38} Furthermore, it was observed that unsaturated fatty acids such as C16:1, C18:1, C18:2, and C18:3 are efficient foam destroyers, when added to beer in concentrations of higher than 0.6 mg/L.⁵² In combination, they may be present in a concentration to cause an adverse influence on foam stability.^{50,113} On the other hand, it is reported that the unsaturated C18-fatty acids showed only an effect with a 40-fold increase compared to their usual concentration in beer.⁴⁷ Further, a more detailed observation allowed the conclusion that partly phospholipids and particularly glycolipids depressed foam formation significantly, while the neutral lipid fraction had almost no effect on foam stability, even when added to beer at a concentration of 10 mg/L.⁵⁸ Byrne et al.¹⁵ found a deterioration of foam stability after addition of spent grain liquids to fermenting wort due to high glycolipid concentrations. According to Schur and Pfenninger⁹⁰ and Anness and Reed⁶, turbid lautering or lipids cause a slightly lower foam stability in the resulting beers. In contrast to this, Eils³² reported that turbid lautering and/or higher contents of oxygen during lautering or lower intensity of wort boiling caused an increase of coagulable nitrogen in wort and of foam stability of beer. According to Schuster⁹¹, when lipids extracted from spent grains were added to a fermentation the resulting beer foam was not negatively affected but rather was stabilized. Even after the third fermentation cycle no deterioration was detectable compared to the control. Thus, Schuster⁹¹ concludes that lipids derived from turbid lautering do not have a negative influence on foam stability. Letters⁵⁸ offers an explanation for this: “the surface-active properties of lipids may be beneficial for head retention since they can suppress excessive fobbing during fermentation. Head positive substances, mainly protein derived, are concentrated in the fob and can be removed from the fob by pre-

cipitation. This may explain why worts with high lipid content, e.g. from a mash filter, can give a beer with better head retention than that produced from a low lipid content wort". Indeed, mash filters and strainmasters releasing relatively high levels of lipids in wort resulted in beers with better foam stability compared to controls produced with lauter tuns.³⁰ Greffin and Krauß³⁶ could not detect an influence of turbid worts drawn-off from the surface during lautering on foam stability. It has also been observed that beers resulting from hazy worts tend to gush,⁵¹ which is in contrast to the findings of Schur and Pfenninger.⁹⁰

Conclusions

As described in this review paper, mash separation and lauter turbidity have been studied by many research colleagues for decades and the topic is still being investigated. The ongoing interest in this field underlines the great impact that wort clarity appears to have on the further process steps of beer manufacturing and on the final product quality.

During the 1970s and through the early 1990s, many authors described the components of increased lauter turbidity, mainly lipids and fatty acids, and to what extent they originate from different lauter techniques. In this context most of the authors pointed out the positive influence of cloudy wort in terms of yeast metabolism and fermentation performance. At the same time, however, the adverse consequences of high lauter turbidity for the final beer quality, particularly for flavour and foam stability, were thoroughly discussed. Since the negative consequences seemed to outweigh, this led to the preference of high wort clarity, and this has been generally accepted among brewers until today.^{25,69,75} On the other hand, some authors described fermentation problems and even an adverse final beer quality when worts were very bright.^{2,46,50,62,90} This may be particularly important when adjuncts (e.g. rice) are used for brewing. Unfortunately, in many papers a reliable definition is missing regarding the terms "turbid" and "bright" wort, making a quantitative evaluation difficult.

Great efforts have been undertaken by the brewhouse suppliers over the last decades to technically improve the lauter equipment. Thus, the average lauter turbidity dropped tremendously, now reaching a value of roughly 10 EBC units when applying state-of-the-art technologies. Secondly, it has to be considered that yeast performance has been continuously improving in practical operations, thanks to intensified research and implementation of modern yeast management technologies. With these two aspects in mind, the question arises whether the threat of a quality loss, possibly originating from lauter turbidity, is nowadays overestimated. Since a proper fermentation is a premise for a high beer quality, it has to be questioned whether the today's lauter turbidity may be too low to provide a proper yeast nutrition. Therefore, it seems to be worthwhile to discuss a new statement of preferring a moderate lauter turbidity, within the range of lauter turbidities currently observed, instead of the minimum turbidity that is technically realizable today in order to provide proper yeast nutrition and to minimise adverse quality effects at the same time.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the "Wissenschaftliche Station für Brauerei in München e.V." for financial support and would like to thank Mr. John Brauer of Brewing Research International for proofreading the English manuscript. The help of the reviewers in improving this paper is also gratefully acknowledged.

REFERENCES

- Ahvenainen, J. and Mäkinen, V., The effect of pitching yeast aeration on fermentation and beer flavour. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Copenhagen, IRL Press: Oxford, 1981, pp. 285–291.
- Ahvenainen, J., Vehviläinen, H. and Mäkinen, V., Einfluß der Trubentfernung auf die Gärung und Bierqualität. *Mtschr. Brauwiss.*, 1979, **32**(6), 141–144.
- Anderson, R.G. and Kirsop, B.H., The control of volatile ester synthesis during the fermentation of wort of high specific gravity. *J. Inst. Brew.*, 1974, **80**, 48–55.
- Andrews, J., A review of progress in mash separation technology. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 2004, **41**(1), 45–49.
- Andrews, J. and Axcell, B.B. Wort boiling – Evaporating the myths of the past. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 2003, **40**(4), 249–254.
- Anness, B.J. and Reed, R.J.R., Lipids in the brewery – a material balance. *J. Inst. Brew.*, 1985, **91**(3/4), 82–87.
- Anon., Wort boiling and clarification. In: Manual of Good Practice, European Brewery Convention, Fachverlag Hans Carl: Nurnberg, 2000, p. 12.
- Äyräpää, T. and Lindström, I., Influence of long-chain fatty acids on the fermentation of esters by brewer's yeast. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Salzburg, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1973, pp. 272–282.
- Badings, H.T., Cold-storage defects in butter and their relation to the autoxidation of unsaturated fatty acids. *Nederlands Melken Zuiveltijdschrift*, 1970, **24**(3–4), 147–256.
- Bamforth, C.W. and Jackson, G., Aspects of foam lacing. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, London, IRL Press: Oxford, 1983, pp. 331–338.
- Bertuccioli, M. and Rosi, I., Progress in Flavour Research. Vol. 10, Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1984, p. 387.
- Biermann, U.K., Über Menge und Zusammensetzung des Kochtrubes in Abhängigkeit von technologischen Verfahren. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1984, p. 121.
- Bühler, T.M., Matzner, G. and McKechnie, M.T., Agitation in Mashing. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Brussels, IRL Press: Oxford, 1995, pp. 293–300.
- Bühler, T.M., McKechnie, M.T. and Wakeman, R.J., A model describing the lautering process. *Mtschr. Brauwiss.*, 1996, **49**(7–8), 226–233.
- Byrne, H., Loughrey, M. and Letters, R., A novel technique for investigating of role of lipids in brewing. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, London, 1983, IRL Press: Oxford, pp. 659–666.
- Cantrell, I.C. and Anderson, R.G., Yeast performance in production fermentations. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, London, IRL Press: Oxford 1983, pp. 481–488.
- Carpentier, B., van Haecht, J.L. and Dufour, J.P., Influence of the trub content of the pitching wort on yeast by-products synthesis. *Proceedings of the Inst. Brew., Centr. & South African Sect.*, 1991, **3**, 144–149.
- Daum, G., Tuller, G., Nemeč, T., Hrastnik, C., Balliano, G., Cattel, L., Milla, P., Rocco, F., Conzelmann, A., Vionnet, C., Kelly, D.E., Kelly, S., Schweizer, E., Schuller, H.J., Hojad, U., Greiner, E. and Finger, K., Systematic analysis of yeast strains with possible defects in lipid metabolism. *Yeast*, 1999, **15**(7), 601–614.

19. Daveloose, M., An investigation of zinc concentrations in brew-house worts. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1987, **24**(3), 109–112.
20. David, M.H. and Kirsop, B.H., Yeast growth in relation to the dissolved oxygen and sterol content of wort. *J. Inst. Brew.*, 1973, **79**(1), 20–25.
21. van de Meerssche, J., Devreux, A. and Masschelein, C.A., Formation de *trans*-2-nonenal par photo-oxydation des acides octadecenoïques hydroxyles. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, London, 1983, IRL Press: Oxford, pp. 525–532.
22. Denk, V., Weitere Ergebnisse und Erfahrungen beim industriellen Einsatz des neuen Whirlpoolkonzeptes. *Brauwelt*, 1991, **131**(28), 1219–1225.
23. Dickel, T., Krottenthaler, M. and Back, W., Untersuchungen zum Einfluß des Kühltrubeintrages auf die Bierqualität. *Msch. Brauwiss.*, 2000, **53**(5/6), 95–100.
24. Dickel, T., Krottenthaler, M. and Back, W., Investigations into the influence of residual cold break on beer quality. *Brauwelt Int.*, 2002, **20**(1/2), 23–25.
25. Dingeldein, A., Optimierung der Würzekochung und -behandlung in einer Brauerei. Diploma thesis, TU München, Freising-Weihenstephan, 1999, p. 4.
26. Dominguez, X.A. and Canales, A.M., Oxidation of beer. A rational mechanism for the degradation of unsaturated fatty acids and the formation of unsaturated aldehydes. *Brewers Digest*, 1974, **49**(7), 40–47.
27. Drost, B.W., van der Berg, R., Freijee, F.J.M., van der Velde, E.G. and Hollemans, M., Flavor stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1990, **48**(4), 124–131.
28. Drost, B.W., van Eerde, P., Hockstra, S.F. and Strating, J., Fatty acids and staling of beer. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Estoril, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1971, pp. 451–458.
29. Dufour, J.P., Alvarez, P., Devreux, A. and Gerardi, W., Influence of the filtration procedure on the relationship between wort turbidity and its lipid content. *Msch. Brauwiss.*, 1986, **39**(3), 115–121.
30. Edwards, R. and Thompson, C.C., Observations on the effect of lipids on head retention. *J. Inst. Brew.*, 1968, **74**, 257–261.
31. Eichhorn, P., Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1991, pp. 50–55.
32. Eils, H.-G., Über den Einfluß der Sudhauseinrichtung auf die Beschaffenheit von Würze und Bier. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994, pp. 40–125.
33. Forch, M. and Runkel, U.-D., Die Bedeutung der Würzelipide für die Bierqualität und Möglichkeiten zu ihrer quantitativen Beeinflussung. EBC Monograph, 1974, **1**(15), pp. 258–265.
34. van Gheluwe, G.E.A., Jamieson, A.M. and Valyi, Z., Factors Affecting the Formation of Fusel Alcohols During Fermentation. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1975, **12**(3), 169–175.
35. Graf, H., Carbonyl und Alterung des Bieres. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1984, pp. 76–96.
36. Greffin, W. and Krauß, G., Schrotten und Läutern. II. Arbeit mit konventioneller Trockenschrotmühle und Läuterbottich – eine Literaturübersicht. *Msch. Brauerei*, 1978, **31**(6), 192–212.
37. Grill, W. and Püspök, J., Die freien höheren Fettsäuren bei der Verarbeitung von Rohfrucht. Proceedings of the European Brewery Convention Congress Amsterdam, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1977, pp. 195–209.
38. Haboucha, J., Devreux, A. and Masschelein, C.A., Les lipides de mout et leur influence sur la stabilité de la mousse de la bière. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Copenhagen, IRL Press: Oxford, 1981, pp. 451–459.
39. Hammond, J.R.M., Brewer's Yeast. In: The Yeasts. A.H. Rose and J.S. Harrison, Eds., Academic Press: London, 1993, pp. 7–67.
40. Harmegnies, F., Marle, L. and Tigel, R., Mash filtration: Influence of sparging parameters on wort quality and sparging efficiency. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 2006, **43**(1), 58–62.
41. Hashimoto, N., Melanoidin-mediated oxidation: A greater involvement in flavor staling. *Rep. Res. Lab. Kirin Brew.*, 1988, **31**, 19–32.
42. Hawthorne, D.B., Kavanagh, T.E. and Clarke, B.J., Determination of low molecular weight organic compounds in beer using capillary gas chromatography. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1987, **45**(1), 23–27.
43. Herrmann, H., Läuterbottich für 10 Sude in 24 Stunden. *Brauwelt*, 1991, **131**(28), 1227–1229.
44. Hoekstra, S.F., Wort composition, a review of known and unknown facts. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Nice, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1975, pp. 465–477.
45. Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R. and Young, T.W., Factors affecting fermentations. In: Malting and Brewing Science, 2nd ed. Vol. 2, Chapman and Hall: London, 1982, pp. 645–648.
46. Jacobsen, T.H., Hage, T. and Lie, S.A., A fermentation assay for wort element availability. *J. Inst. Brew.*, 1982, **88**, 387–389.
47. Jones, M.O., Cope, R. and Rainbow, C., Changes in the free fatty acids and other lipids of worts during boiling and fermentation. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Nice, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1975, pp. 669–681.
48. Kirsop, B.H., Fermentation: from beer to wort. EBC Monograph, 1978, **5**, pp. 3–16.
49. Kirsop, B.H., Pitching rate. *Brewers Digest*, 1978, **53**(7), 28–32.
50. Klopper, W.J., Wort composition, a survey. *EBC Monograph*, 1974, **1**(1), pp. 8–24.
51. Klopper, W.J., Tuning, B. and Vermeire, H.A., Free fatty acids in wort and beer. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Nice, 1975, Elsevier Scientific: Amsterdam, pp. 659–667.
52. Krauß, G., Zürcher, C. and Holstein, H., Die schaumzerstörende Wirkung einiger Malzlipide und ihr Schicksal im Verlauf des Mälzungs- und Brauprozesses. *Msch. Brauwiss.*, 1972, **25**(5), 113–123.
53. Kreder, G.C., Yeast assimilation of trub-bound zinc. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1999, **57**(4), 129–132.
54. Kribbe, J., Innovatives Vermahlungssystem für Läuterbottich-Sudwerke. *Brauwelt*, 1993, **133**(12), 524–526.
55. Kühbeck, F., Back, W. and Krottenthaler, M., Release of long-chain fatty acids and zinc from hot trub to wort. *Msch. Brauwiss.*, 2006, **59**(3/4), 67–77.
56. Kühbeck, F., Schütz, M., Krottenthaler, M. and Back, W., Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2006, **64**(1), 16–28.
57. Lentini, A., Takis, S., Hawthorne, D.B. and Kavanagh, T.E., The influence of trub on fermentation and flavour development. Proc. 23rd Inst. Brew., Asia Pacific Sect., 1994, pp. 89–95.
58. Letters, R., Lipids in brewing, friend or foe? *Ferment*, 1992, **5**, 268–274.
59. Leyser-Heiß, Die Bierbrauerei. Max Waag Verlag: Stuttgart, 1887, p. 293.
60. Lustig, S., Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994, p. 18, p. 38, pp. 41–55.
61. Macey, A., Stowell, K.C. and White, H.B., Use of formaldehyde for the reduction of the anthocyanogen content of wort. *J. Inst. Brew.*, 1966, **72**, 29–35.
62. Maddox, I.S. and Hough, J.S., Effect of zinc and cobalt on yeast growth and fermentation. *J. Inst. Brew.*, 1970, **76**(3), 262–264.
63. Meilgaard, M. and Moya, E.A., A Study of carbonyl compounds in beer. 1. background and literature research. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1970, **7**(3), 135–142.
64. Meilgaard, M.C., Stale flavor carbonyls in brewing. *Brewers Digest*, 1972, **47**(4), 48–62.
65. Möller-Hergt, G., Wackerbauer, K., Tressl, R., Garbe, L.-A. and Zufall, C., Die Bedeutung der Hydroxyfettsäuren in Würze und Bier. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Cannes, 1999, IRL Press: Oxford, pp. 123–132.

66. Moonjai, N., Verstrepn, K.J., Delvaux, F.R., Derdelinckx, G. and Verachert, H., The effects of linoleic acid supplementation of cropped yeast on its subsequent fermentation performance and acetate synthesis. *J. Inst. Brew.*, 2002, **108**(2), 227–235.
67. Morikawa, M., Yasui, T., Ogawa, Y. and Ohkochi, M., Influence of wort boiling and wort clarification conditions on cardboard flavour in beer. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Dublin, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, 2003, pp. 775–782.
68. Mück, E.A., Über das Verhalten der Fettsäuren beim Brauprozess. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1985, pages 35–43, 67, 83, 116, 119, 129–132.
69. Narziß, L., Der Stand der Technologie der Würzebereitung. *Brauwelt*, 1977, **117**(37), 1420–1428.
70. Narziß, L., Abriß der Bierbrauerei. 4th ed, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1980, p. 158.
71. Narziß, L., Läuterbottich und Maischefilter. Optimierung der Arbeitsweise. *Brauwelt*, 1982, **122**(23/24), 1030–1057.
72. Narziß, L., Probleme der Geschmacksstabilität in kleinen und mittleren Brauereien. *Brauwelt*, 1982, **122**(49), 2292–2301.
73. Narziß, L., Technological factors of flavor stability. *J. Inst. Brew.*, 1986, **92**(4), 346–353.
74. Narziß, L., Die Technologie der Würzebereitung. 7th ed, Vol. II, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1992, pages 221–223, 262.
75. Narziß, L., Abriß der Bierbrauerei. 6th ed, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1995, p. 185.
76. Narziß, L., Krüger, R. and Krauß, T., Technologie und wirtschaftlicher Vergleich von Abläutersystemen. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Copenhagen, IRL Press: Oxford, 1981, pp. 137–152.
77. Narziß, L. and Mück, E., Das Verhalten der langkettigen freien Fettsäuren beim Würzekochen und bei der Würzebehandlung. *M Schr. Brauwiss.*, 1986, **39**(7), 252–257.
78. Narziß, L. and Weigt, K., Über Trübung und Trubstoffgehalt der Würze. *Brauwelt*, 1980, **120**(14), 481–484.
79. Narziß, L. and Weigt, K., Über Trübung und Trubstoffgehalt der Würze beim Abläutern mit verschiedenen Systeme. *Brauwelt*, 1980, **120**(12), 409–416.
80. Nielsen, H., The importance of running clear lauter wort. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1973, **10**(1), 11–16.
81. Olsen, A., The role of wort turbidity in flavour and flavour stability. EBC Monograph, 1981, **7**(19), pp. 223–236.
82. Osamu, O., Imai, T., Ogawa, Y. and Ohkochi, M., Influence of wort boiling and wort clarification conditions on aging-relevant carbonyl compounds in beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 2006, **43**(2), 121–126.
83. Prokes, J. and Hartmann, J., Auswertung der Trübung von Würze bei Malz tschechischen Ursprungs. *M Schr. Brauwiss.*, 2001, **54**(11/12), 237–241.
84. Reed, R.J.R., The influence of hot and cold break formation on whirlpool operation and fermentation. *Ferment*, 1988, **1**(6), 39–42.
85. Rose, A.H., The role of oxygen in lipid metabolism and yeast activity during fermentation. EBC Monograph, 1978, **5**, p. 96.
86. Rosi, I. and Bertuccioli, M., Influences of lipid addition on fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and aroma characteristics of experimental wines. *J. Inst. Brew.*, 1992, **98**(7/8), 305–314.
87. Royston, M.G., Wort boiling and cooling. In: Modern Brewing Technology, W.P.K Findlay, Ed, MacMillan Press: London, 1971, pp. 77–79.
88. Schisler, D.O., Ruocco, J.J. and Mabee, M.S., Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1982, **40**(2), 57–61.
89. Schlecht, E., Die Überwachung und Kontrolle der Würzeherstellung. *Brauwelt*, 1987, **127**(17), 737–744.
90. Schur, F. and Pfenninger, H.B., Einfluß von Läuterzeit und Würzetrübung auf Herstellung und Qualität des Bieres. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Berlin, DSW: Dordrecht, 1979, pp. 105–116.
91. Schuster, I., Die höheren freien Fettsäuren bei der Würzebereitung und ihr Einfluß auf die Gärung und die Bierbereitung. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1985, pages 14, 29–49, 62, 83, 101, 142–144, 160, 191, 243, 251.
92. Schuster, K., Die Technologie der Würzebereitung. 4th ed, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1963, pp. 230–240.
93. Sommer, G., Moderne Sudhaustechnologie. *M Schr. Brauerei*, 1979, **32**(5), 228–239.
94. Steiner, K., Abläutern in einer Fruchtpresse. *Schweizer Brauereirundschau*, 1972, **83**(1), 24–25.
95. Stewart, G.G. and Martin, S.A., Wort clarity: effects on fermentation. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 2004, **41**(1), 18–26.
96. Stippler, K., Wasmuth, K. and Maitner, W., Moderne Läutertechnik in Hochleistungssudwerken. *Brauwelt*, 1988, **128**(46), 2201–2204.
97. Taylor, G.T., Thurston, P.A. and Kirsop, B.H., The influence of lipids derived from malt spent grains on yeast metabolism and fermentation. *J. Inst. Brew.*, 1979, **85**(4), 219–227.
98. Thurston, P.A., Quain, D.E. and Tubb, R.S., Lipid metabolism and the regulation of volatile ester synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.*, 1982, **88**(2), 90–94.
99. Thurston, P.A., Taylor, R. and Ahvenainen, J., Effects of linoleic acid and supplements on the synthesis by yeast of lipids and acetate esters. *J. Inst. Brew.*, 1981, **87**(2), 92–95.
100. Tressl, R., Kossa, T., Renner, R. and Köppler, H., Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen flüchtiger Inhaltsstoffe von Hopfen, Würze und Bier und deren Genese. *M Schr. Brauerei*, 1975, **28**(35), 109–118.
101. Verstrepn, K.J., Derdelinckx, G., Dufour, J.-P., Winderickx, J., Thevelein, J.M., Pretorius, I.S. and Delvaux, F.R., Flavour-active esters: adding fruitiness to beer. *J. Biosc. Bioeng.*, 2003, **96**(2), 110–118.
102. Wackerbauer, K., Der Strainmaster. *M Schr. Brauerei*, 1970, **23**(10), 279–284.
103. Wackerbauer, K. and Bender, G., Die Bedeutung der freien Fettsäuren und Fettsäure-Äthylester während der Gärung und Lagerung. *M Schr. Brauerei*, 1983, **36**(4), 152–158.
104. Wackerbauer, K., Bender, G. and Poloczek, K., Die Beeinflussung der freien Fettsäuren durch die technologischen Parameter bei der Sudhausarbeit. *M Schr. Brauwiss.*, 1983, **36**(1), 18–25.
105. Wainwright, T., Effect of barley and malt lipids on beer properties. EBC Monograph, 1980, **6**, pp. 118–128.
106. Whitear, A.L., Maule, D.R. and Sharpe, F.R., Methods of mash separation and their influence on wort composition and beer quality. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, London, IRL Press: Oxford, 1983, pp. 81–88.
107. Witt, P.R. and Burdick, A., Lipids in brewing and brewing materials. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1963, **21**, 104–110.
108. Yonigins, A. and Rose, A.H., Sterol uptake by anaerobically grown *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1989, **5**, 459–463.
109. Yoshioka, K. and Hashimoto, N., Cellular fatty acid and ester formation by brewers' yeast. *Agric. Biol. Chem.*, 1983, **47**, 2287–2294.
110. Yoshioka, K. and Hashimoto, N., Ester formation by alcohol acetyltransferase from brewers' yeast. iii. acetyl-CoA of brewers' yeast and formation of acetate esters. *Rep. Res. Lab. Kirin Brew.*, 1984, **27**, 17–22.
111. Zangrando, T., Klarheit der Läuterbottichwürze und Bierqualität. *Brauwelt*, 1976, **116**(41), 1315–1316.
112. Zangrando, T., Über den Einfluß der Klarheit der Läuterwürze auf die Bierqualität. *Mitt. Versuchsanst. Gärungsgew. Wien*, 1978, **32**(9/10), 101–105.
113. Zürcher, C., Isolierung eingier Lipide aus dem Malz und ihre quantitative Bestimmung in Würze und Bier. *M Schr. Brauerei*, 1971, **24**(10), 276–284.

(Manuscript accepted for publication July 2006)

Influence of Lauter Turbidity on Wort Composition, Fermentation Performance and Beer Quality in Large-Scale Trials

Florian Kühbeck^{1,2}, Werner Back¹ and Martin Krottenthaler¹

ABSTRACT

J. Inst. Brew. 112(3), 222–231, 2006

Different lauter turbidities (standard 43 EBC vs. turbid 82 EBC on average) were obtained by variation of the lauter procedure, particularly deep raking, in this study. The resulting worts were used for repitching the respective yeast into six subsequent fermentation cycles. The resulting beers were investigated in terms of flavour quality, flavour stability, non-biological stability and foam stability. Worts gained from turbid lautering showed very similar analytical data compared to the controls (except for a slight but significant increase in linoleic acid). There was an improvement in fermentation performance in terms of a pH decrease and a decrease in extract. The resulting beers were quite similar, and the staling indicators increased slightly, but not significantly, due to turbid lautering. Both types of beer were evaluated on tasting as being of a high flavour quality and neither a professional panel nor a non-professional (customer) panel was able to distinguish the difference, between standard and turbid lautering, in terms of fresh and forced aged beers. Due to turbid lautering the non-biological stability appeared to be slightly, but not significantly, decreased while on the other hand the foam stability was significantly improved due to turbid lautering. In conclusion, fermentation performance may be improved by more turbid lautering, and the negative consequences often reported for the resulting beers appear to be overestimated, since the quality parameters of the final beers had not deteriorated significantly.

Key words: Fermentation, lipids, long-chain fatty acids, mash separation, wort clarity, zinc.

INTRODUCTION

A variety of technological and technical aspects of lauter turbidity, as well as its influence on wort composition, fermentation performance and wort quality have been thoroughly discussed in the previous review paper in this issue.²¹

In previously reported pilot scale trials (60 L per brew), turbid (>100 EBC) and clear worts (approximately 20 EBC) were produced by variation of the lauter procedure which caused increased long-chain fatty acid concentra-

tions, a slight increase of zinc concentrations (+ 0.03–0.04 mg/L), but no increase in iodine numbers in kettle-up (kettle-full) worts²³ (kettle-up being defined as approximately 5 min after the beginning of the boil). Further, a faster fermentation, no deterioration of foam stability, an excellent non-biological stability, and a tendency towards higher 2-phenyl ethanol and lower acetaldehyde concentrations in beer were the results of extremely turbid lautering coupled to a high yeast vitality.²³ The flavour quality of beers resulting from turbid wort was evaluated to be at least as good as the control except for a slight unpleasant bitterness. An increase of staling indicators due to turbid lautering was not observed.^{4,23}

In addition to the foregoing pilot scale trials, this investigation highlights a variation of lauter parameters using a classic lauter tun, particularly raking intensity, in order to produce different wort qualities and aimed at gaining further experience in regard to the impact on fermentation and beer quality in large-scale trials (100 hL per brew).

When discussing lauter turbidity or wort turbidity in general, it should be considered that the expressions “turbid” and “clear” are often not defined precisely in the literature and the opinion as to what constitutes turbid and clear may have changed over decades, particularly when considering the ongoing improvement of lauter techniques. Additionally, in most publications the details concerning the vitality or treatment of the applied yeast prior to fermentation are missing.

EXPERIMENTAL

Raw materials

For this investigation the normal raw materials and standard procedures of the brewery for the production of a pale lager were applied. Thus, a malt mixture of 50% Pilsen type barley malt and 50% lager type barley malt was used (Table I). Brewing liquor was gained from the communal water system and had a water quality suited for pale lager beer. For hopping, two additions of aroma hops (Spalter Spalt, pellets type 45) were added at the beginning of the boil (14 kg per brew) and 5 min before the end of the boil (4 kg per brew).

Brewing procedure

For each brew, 1,600 kg of malt was dry-milled by a five-roller mill and mashed in with brewing liquor at 45°C to give a total mash volume of approximately 70 hL. A

¹Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Germany.

²Corresponding author. E-mail: Florian.Kuehbeck@wzw.tum.de

decoction one-mash method with stands at 45, 62, 68 and 72°C was used as shown in Fig. 1. Lautering was carried out in a conventional lauter tun built around 1980. Technical data of the lauter tun are provided in Table II. The lauter procedure was controlled by time controlled steps and is described in Table III. Standard lautering in this context means lautering according to the standard procedure usually applied. In contrast, turbid lautering means a shortening of the lauter stand by 5 min and of turbid wort cycling by 2 min, as well as applying a basic raking height of 5% (approximately 6 cm above false bottom) compared to 36% (approximately 43 cm above the lauter tun false bottom) applied in the standard lautering procedure. In both cases raking was carried out continuously and at a speed of 2 rpm. Beside the variation of lautering all other parameters were kept the same throughout the trials. Wort boiling was carried out using a modern dynamic low pressure boiling system with temperature peaks at approximately 103°C (details in Table IV). After casting 100 hL of hot wort, hot trub was separated in a conventional flat bottom whirlpool with a 10-min stand. Thereafter, the wort was cooled to 10°C, by a plate heat exchanger, for pitching. The cold wort gravity was 11.5–12° Plato. Cold trub was not removed.

Pitching and fermentation

Pitching was carried out (yeast strain: W34, bottom fermenting, 1.5 kg/hL (approximately 50% (w/w)) after aeration with sterile air (8 mg/L). The yeast, obtained from another brewery, was an assimilated second generation yeast. To ensure similar fermentation conditions, the initial yeast batch was homogenized and divided into two portions, and these were used for pitching either the standard wort or the turbid wort. In total four brews were produced per day, two of which (no. 1 and 3) were lautered according to the standard procedure, while the other two (no. 2 and 4) were lautered turbidly. After pitching the first brew, the second brew produced under corresponding conditions was added around 6 hours later to the fermenting wort, resulting in a total volume of approximately 200

hL per fermentation tank. Primary fermentation took place for approximately 7 days at 10–11°C (using automatic temperature control) and under slight overpressure (0.4 bar). The green beer was chilled to 5°C and transferred to the lager tank, where it was further chilled to 0–1°C and stored for around four weeks prior to filtration. For the subsequent main fermentations, cropped yeast from the preceding fermentation was used for repitching in which the yeast originating from a standard brew fermentation was used again for repitching standard wort, while yeast originating from a turbid wort fermentation was used again for repitching turbid wort. For pitching and repitching, the same amounts of yeast were used to ensure comparable conditions in subsequent fermentations.

Filtration and bottling

Filtration and stabilization were carried out using kieselguhr BK 3900 (SeitzSchenk, Bad Kreuznach/Germany) and Becosorb 1000 xerogel (Begerow, Langenlonsheim/Germany). For bottling into 0.5-L glass bottles, the conventional bottle filler was used ensuring low oxygen levels (<0.05 mg O₂/L). Sample bottles for analyses and tasting were taken from the middle of the bottling batch.

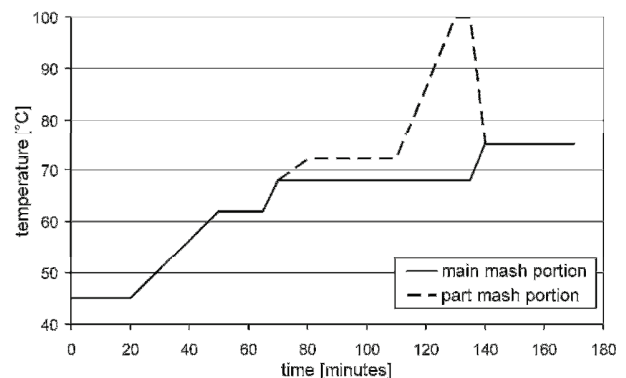


Fig. 1. Decoction mashing method with one mash boiling.

Table I. Malt analysis of Pilsen type and lager type barley malts.

| Analyte | Unit | Pilsen malt | Lager malt |
|---------------------------------|------------------------------------|-------------|------------|
| Moisture | % | 4.5 | 4.0 |
| Extract, d.m. | % | 82.1 | 81.7 |
| Extract, as is | % | 78.4 | 78.4 |
| Viscosity (calc. to 8.6° Plato) | 10 ⁻³ Ns/m ² | 1.51 | n.a. |
| Friability | % | 83.6 | 86.2 |
| Glassiness | % | 1.4 | 1.0 |
| Saccharification time | min | 5–10 | 10–15 |
| Draw-off | — | clear | clear |
| Colour | EBC | 2.8 | 3.7 |
| pH value | — | 5.88 | n.a. |
| Soluble nitrogen, d.m. | mg/100 g d.m. | 692 | 700 |
| Kolbach index | % | 40.8 | 39.1 |
| Protein, d.m. | % | 10.6 | 11.2 |
| VZ 45°C | % | 38.8 | 39.2 |
| Grading > 2.8 mm | % | 85.2 | 85.5 |
| Grading 2.5–2.8 mm | % | 11.7 | 10.9 |
| Grading 2.2–2.5 mm | % | 2.5 | 3.0 |
| Grading < 2.2 mm | % | 0.6 | 0.6 |

n.a. = not available.

Table II. Technical data of lautering and lauter system.

| Parameter | Unit | Value |
|----------------------------------|-------------------|--------------|
| Lauter system | — | Lauter tun |
| Year of manufacture | — | Approx. 1980 |
| Inner diameter | mm | 3,400 |
| Total volume | hL | 127.11 |
| Specific load | kg/m ² | 176.23 |
| Number of wort draw-off openings | 1/m ² | 1.65 |
| Number of wort draw-off openings | — | 15 |
| Number of mash inlets | — | 1 |
| Slot width of false bottom | mm | Approx. 2.5 |
| Geometry of false bottom slot | — | Milled |
| Number of knives | 1/m ² | 1.65 |
| Number of knives | — | 15 |
| Duration of mash transfer | min | 8–10 |
| Duration of spent grains removal | min | 15 |
| Temperature loss | K/hr | 13.8 |
| Volume of weak wort | hL | 3 |
| Occupancy time | min | 135 |
| Total load | kg | 1,600 |
| Effective lautering area | m ² | 9.08 |
| Volume of lauter wort | hL | 110 |

Table III. Lauter procedure for standard and turbid lautering.

| Process step | Standard lautering | Turbid lautering | Criteria |
|-----------------------------|--------------------|------------------|----------------------------------|
| Lauter stand | 10 min | 5 min | |
| Open lauter valve | | | 90% opening degree |
| Pre-run | 3 min | 3 min | Approx. 11% |
| Lauter valve opening degree | | | Set to 60% |
| Turbid wort circulation | 5 min | 3 min | |
| Lautering first wort I | 10 min | 10 min | |
| Open lauter valve | | | 100% opening degree |
| Lautering first wort II | 10 min | 10 min | |
| Lautering first wort III | 10 min | 10 min | Filling level lauter tun < 30 cm |
| First sparging & draw-off | 15 min | 15 min | 25 hL |
| Deep cut | 4 min | 4 min | 0% |
| Raising raking machine to | 36%/43 cm | 5%/6 cm | Continuous raking: 2 rpm |
| Turbid wort pumping | 2 min | 2 min | |
| Lautering first sparging | 36% | 5% | Filling level lauter tun < 30 cm |
| Second sparging | 36% | 5% | 10 hL |
| Lautering second sparging | 36% | 5% | Filling level lauter tun < 30 cm |
| Third sparging | 36% | 5% | 10 hL |
| Lautering third sparging | 36% | 5% | Volume pre-run tank > 200 cm |
| Drying of spent grains | | | |
| Removal of spent grains | | | |

Table IV. Technical data of the boil and the boiling system.

| Parameter | Unit | Value |
|-------------------------------------|----------------|-------------------------------------|
| Boiling system | — | Dynamic low pressure boiling |
| Year of manufacture | — | Approx. 2003 |
| Inner diameter | mm | 2,800 |
| Total volume | hL | 177 |
| Ratio wort level height to diameter | — | 1.005 |
| Maximum operating gauge pressure | bar | 10 (boiler) |
| Boiling temperature boiler outlet | °C | 103 |
| Boiling time | min | 50 |
| Total evaporation | % | 6 |
| Evaporation rate | %/hr | 7.2 |
| Duration of casting | min | 8 |
| Occupancy time w/o boiling time | min | 76 |
| Boiling temperature | °C | 102.2–103 (dyn. peaks) 100 (atm) |
| Volume of cast wort (chilled) | hL | 96–97 |
| Heating area | m ² | 9.0 |

Sampling and analyses

Wort samples of approximately 1 L were taken at the following steps: end of mashing (right after transfer into lauter tun), lautering first wort (15 min after beginning of lautering), lautering second sparging draw-off (5 min after second sparging was completed), kettle-up wort (approximately 5 min after the beginning of the boil), cast wort (during transfer from wort kettle to whirlpool) and hot wort during wort cooling (30 min after beginning of cooling). All samples were taken hot, sealed and immediately cooled to below 10°C and kept at approximately 0°C until analysis. Lauter turbidity was detected by a pre-calibrated online turbidimeter DualScat (Sigrist, Ennetbürgen/Switzerland) for detection of 25° scattered light at 650 nm. Readings were taken every 5 sec throughout the entire lautering process. For this purpose a lauter bypass flow was let through a modified Varivent® valve with borosilicate glasses forming the measuring cell. An average lauter turbidity was calculated by arithmetically averaging all turbidity values throughout the lautering process, except during turbid wort cycling. Due to the lack of a lauter wort flow meter, the draw-off flow rates could not be con-

sidered in this calculation. Samples of the fermenting wort were taken on daily basis. To remove yeast, fine kiesguhr (Becogur® 100, Begerow, Langenlonsheim/Germany) was added before filtering the sample through paper filter (order no. 522 032, Machery-Nagel MN 514 1/4, Düren/Germany). Thereafter, samples were frozen immediately and kept frozen until analysis was conducted. Wort and fermenting wort analyses were carried out according to MEBAK II 2.3 to 2.14²⁸ and MEBAK III 1.3.1.1, 1.3.2, 4.6 and 4.8.³⁷ The content of long-chain fatty acids (C14–C18:3) in wort and beer samples was detected by solid-phase extraction, diazomethane methylation and GC/MS analysis according to a previously published method.⁴³ Spent grains were analyzed according to MEBAK II 1.4.3 and 1.4.4.²⁸ Beer analyses were carried out according to MEBAK II 2.10 to 2.19.²⁸ Beer aroma analyses were carried out according to MEBAK III 1.1.3,³⁷ higher alcohols and esters were measured according to MEBAK III 1.1.2,³⁷ vicinal diketones according to MEBAK III 1.2.1,³⁷ and staling compounds according to the gas chromatographic method applied at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Freising-Weihenstephan/Germany, and published by Lustig et al.²⁷ Wort and beer aroma compounds as well as higher alcohols, esters and staling compounds in beer were analysed using the slightly modified methods published by Eichhorn⁸, Krottenthaler²⁰ and Lustig²⁶. Sensory analyses were carried out according to the guidelines of the “Deutsche-Landwirtschafts-Gesellschaft” (DLG), Frankfurt/Main/Germany. The flavour quality of fresh and aged beers, as well as triangle tests, were evaluated by a panel of 10–11 professional tasters at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Freising-Weihenstephan/Germany. Additionally, a panel of 16 non-professional tasters/ordinary customers was engaged for the triangle tests. For ageing, bottled beer samples were shaken for 24 h at room temperature and stored at 40°C for 4 days, according to Eichhorn’s guidelines.⁸ Confidence intervals were calculated based on the number of trials (= n; see figure legends) and a confidence level of p = 95% was used.

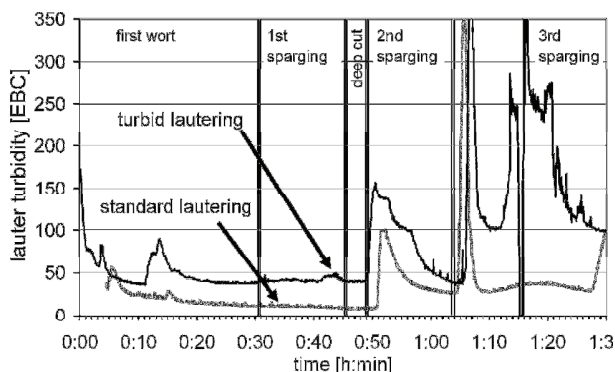


Fig. 2. Comparison of lauter turbidity of standard and turbid lautering vs. lauter time in different stages of the lauter process, measured by DualScat turbidimeter in a lauter draw-off bypass (reading interval: every 5 sec). Average turbidity value across all standard brews: 43 EBC vs. turbid brews: 82 EBC.

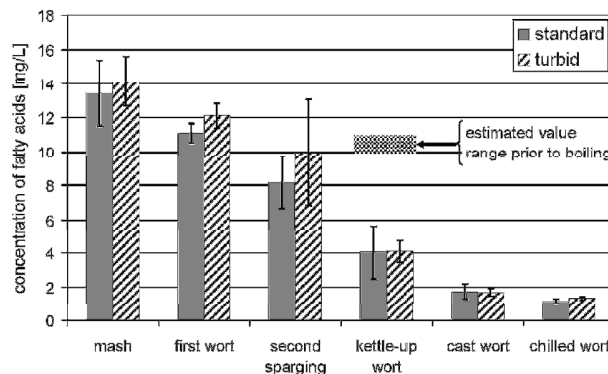


Fig. 3. Absolute concentrations of free long-chain fatty acids (sum of C14–C18:3) in wort at different stages of the brewing process. Kettle-up wort was taken 5 min after the start of boil with the grey area indicating the range estimated for the concentration without the influence of boiling (see text). Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

RESULTS AND DISCUSSION

Online turbidity measurements

Different lautering procedures were applied in this investigation: a shorter lauter rest, a shorter turbid wort pumping/cycling and particularly a lowering of the raking machine from approximately 43 to 6 cm above the false bottom with continuous raking (Table III). These variations resulted in an increased lauter turbidity throughout the entire lauter process, compared to the standard procedure (Fig. 2), confirming earlier observations.^{29,31,33,35,40,41} In particular, after turbid wort pumping the turbidity decreased to a low level during first wort and first sparging draw-offs. When a deep cut and second sparging were performed the lauter turbidity increased, despite a short period of turbid wort pumping, confirming former findings.^{41,46,47} With the draw-off of the second sparging, the turbidity decreased, until the level of wort dropped below the surface of the spent grain layer. When the surface of the filter bed was not covered with wort and the third sparging was added, the turbidity increased sharply to its overall maximum and was in the range of units between 350 EBC (standard lautering) and 450 EBC (turbid lautering). Thereafter, it decreased to values of <50 EBC (standard) or >100 EBC (turbid). During the third sparging draw-off, the turbid draw-off remained at a high level with several peaks around 250 EBC, until the lauter process was completed. Finally, while standard lautering caused an average turbidity of approximately 43 EBC, turbid lautering resulted in an average turbidity of approximately 82 EBC in all observed brews. The standard wort turbidity was quite high, indicating the age of the lauter equipment (approximately 25 years). Corresponding measurements, with a state-of-the-art lauter tun in a different brewery, showed values of 11–12 EBC on average for the standard lauter procedure (data not included). Thus, in this case the standard lauter procedure generated lauter turbidities which are estimated as being representative of a high level within the range of lauter turbidities that are common in practical brewing operations today. Starting with a turbidity of 40 EBC, and increasing it to 80 EBC, covered the

worst case of a practical operation and should readily allow one to detect any negative consequences of high lauter turbidity on beer quality. Since many breweries still use comparable equipment, it was reasonable to choose the conditions applied here.

In addition to lauter turbidity, in practical operations, the duration of lautering is important for economic reasons. As can be seen from Fig. 2, the lauter durations were similar for both lauter procedures (standard and turbid), since the lauter pump ran at its performance limit in both lauter regimes. Because the lauter pump performance was the bottleneck for wort draw-off in these experiments, a higher lauter speed due to more turbid lautering could not be obtained, although this would be expected according to the foregoing publications.^{29,33,35,40,41} Where a lauter pump of higher performance would be available, the draw-off of wort would probably be faster for turbid compared to standard lautering, as was observed in the earlier pilot scale investigations.²³

Wort analyses

Since lauter turbidity is thought to correlate well with long-chain fatty acids,^{6,11,12,16,26,33,34,41,45,47} fatty acid analyses were undertaken throughout the brewhouse procedure. As seen in Fig. 3, for either lautering regime, a depletion of free long-chain fatty acids (C14–C18:3) by approximately 88% in total was observed throughout the brewhouse procedure (chilled wort vs. mash). This confirmed the lauter process as being a filtration step for fatty acids, and particularly the boiling step as being reductive due to hot trub formation.^{5,10,13,15,29,32,47} When comparing the sum of the fatty acid values of the first wort and the second sparging draw-off, there appeared to be a slight increase in the turbid worts, however, the differences were not significant. From the kettle-up worts through to the chilled worts, there were no differences detectable in the sum. The values of kettle-up worts appeared too low, indeed, with values similar to the concentration of first wort and sparging draw-off being expected to occur (e.g. approximately 10–11 mg/L; see marked area in Fig. 3). For technical reasons, the kettle-up worts could only be sampled at the

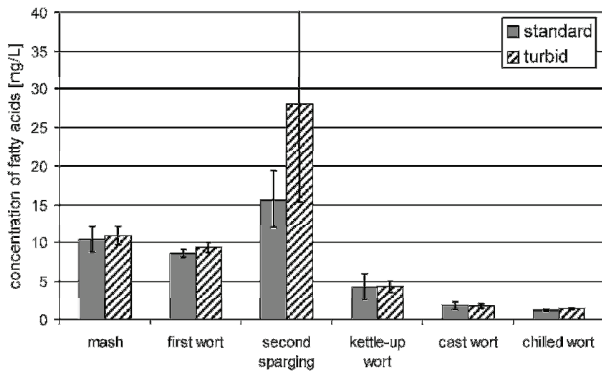


Fig. 4. Relative concentrations of free long-chain fatty acids (sum of C14–C18:3) in wort at different stages of the brewing process, related to 12° Plato. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

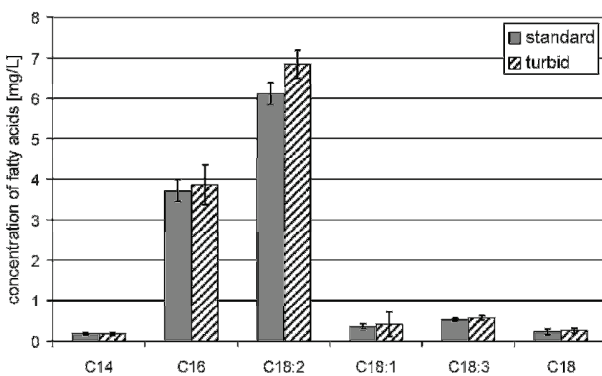


Fig. 5. Absolute concentrations of single free long-chain fatty acids in first wort draw-off. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

time when the wort had already been heated by the energy recovery system. When it was transferred to the wort kettle, the wort had already been boiled for approximately 5 min. Thus formation of hot trub and adsorption of the long-chain fatty acids to hot trub might have already taken place.^{16,18,29} This confirms earlier reports that most of the reactions during wort boiling happen in the early stage of boiling.^{7,17} On the other hand, if sampling had been carried out before the start of the boil, there could have been the risk of inhomogeneous samples, since sufficient mixing by the internal boiler is required to ensure representative wort samples. Finally, in chilled wort, values of 1–1.5 mg/L (sum of free fatty acids C14–C18:3) were found and no difference in the sum values could be observed due to differences in lautering. This was in agreement with the above statements that boiling and an effective removal of hot trub have an attenuating effect on differences in the concentrations of free fatty acids.^{9,11,14}

Since the extract values varied throughout the wort production process, particularly when lautering was considered (first wort vs. post runs), it would be interesting to correlate the fatty acids concentrations to standard wort concentrations of 12° Plato. This would allow a better comparison of the different lauter fractions, in terms of their relative fatty acid load (i.e. what fatty acid load is

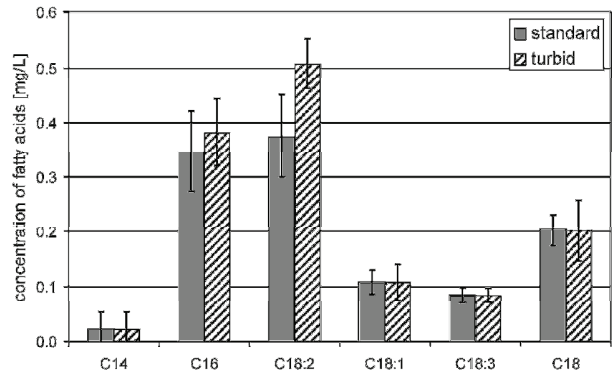


Fig. 6. Absolute concentrations of single free long-chain fatty acids in chilled wort. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

introduced into wort per unit of extract gained during lautering). In the relative illustration (Fig. 4), the first wort had values slightly lower than in the mash, while the concentrations of the second sparging draw-off showed high over-all values. Here, the draw-offs from turbid lautering contained almost twice as much free long-chain fatty acids, on average compared to standard lautering, the differences however were not significant. After boil, no differences were observed between standard and turbid lautering resulting in low values of around 1–2 mg/L (relative to 12°P) in chilled wort, without showing any difference whether standard or turbid lautering was applied (Fig. 4).

In terms of the fatty acid profile, the dominant fatty acids were linoleic acid (C18:2) and palmitic acid (C16), both making up approximately 87% of the total long-chain fatty acid content in the mash, while myristic acid (C14), stearic acid (C18), oleic acid (C18:1) and linolenic acid (C18:3) played only a minor role in the wort (Fig. 5). In the chilled wort, C18:2 and C16 still made around 70% of the content (Fig. 6). Interestingly, the ratios between the single fatty acids did not change due to differences in lautering. The observed fatty acid profile confirmed earlier results.^{2,24,29}

In contrast to the sum values of fatty acids, where no differences could be observed due to changes in lautering procedure, the situation was somewhat different when looking at the single fatty acid profiles. Here, in the first wort (Fig. 5) as well as in the chilled wort (Fig. 6), slight but significant increased concentrations of linoleic acid were detected. Thus, turbid lautering leads to a slight increase of linoleic acid, however the amount is much smaller than expected.^{6,11,12,16,26,33,34,41,45,47}

When discussing the long chain fatty acid analyses carried out for wort samples, one has to consider that the sample preparation included a centrifugation step (9,000 rpm, 10 min). This was necessary to remove any solids which might be contained in the wort samples and would interfere in the analyses. Thus, the applied method was not suitable to detect fatty acids which might be adsorbed onto particles such as hot trub separated prior to analysis. This means that differences in the lauter procedure might have resulted in different compositions of hot trub, which are difficult to detect, but might be important for the following production steps, particularly fermentation. In earlier

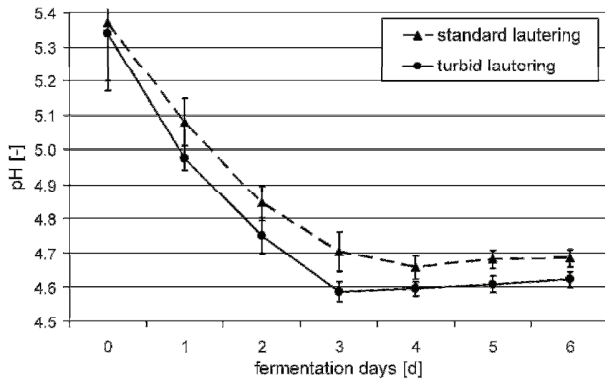


Fig. 7. The pH decrease during fermentation of standard and turbid worts over six fermentation cycles. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

trials, it has been shown that hot trub solids release significant amounts of free long-chain fatty acids and particularly zinc when added to wort.²²

The spent grain analyses of soluble and digestible extract did not give any hint of an inferior extraction of the spent grain cake due to more intensive raking. In terms of the other parameters, the analyses of the obtained worts showed little difference due to the different lautering procedures. In detail, no difference could be detected for the following in chilled wort samples (overall ranges in brackets): TBZ (30–37), zinc (0.08–0.10 mg/L), magnesium (80–90 mg/L), coagulable nitrogen (5–15 mg/L), photometric iodine number (0.37–0.90), free DMS (60–90 µg/L), DMS precursor (29–69 µg/L), solids (130–300 mg/L d.m.) and wort aroma compounds. These findings are in agreement with the results of Schur and Pfenninger,⁴⁰ but in contrast to those of other authors who detected higher zinc and protein values in turbid worts^{9,23,48,49} as well as an insufficient iodine normality.^{33,40} By and large, the turbid wort samples taken during the second sparging appeared to have slightly higher pH values and lower extract values connected with lighter colours. Although these differences were not significant, they may indicate a faster percolation of sparge liquor through the spent grain bed caused by more intensive raking.

In terms of wort analyses, it had been expected that the increase of lautering turbidity, by around 40 EBC on average, when switching from standard to turbid lautering would have caused substantial changes in the wort quality. This however did not occur and considering the above discussion, particularly higher fatty acid and zinc concentrations, were expected as per the pilot scale trials.²³ The reason for this might be the fact that within the pilot scale trials the increase in turbidity ($\Delta \geq +80$ EBC) was much greater than in the large-scale trials described here ($\Delta \approx +40$ EBC).

Fermentation and filtration

In order to evaluate fermentation performance, pH decrease, extract degradation and ethanol formation during fermentation were observed. When turbid lautering was applied, a faster decrease in pH value was obtained from the beginning of fermentation (Fig. 7). From the third day, until the end of fermentation, these differences were sig-

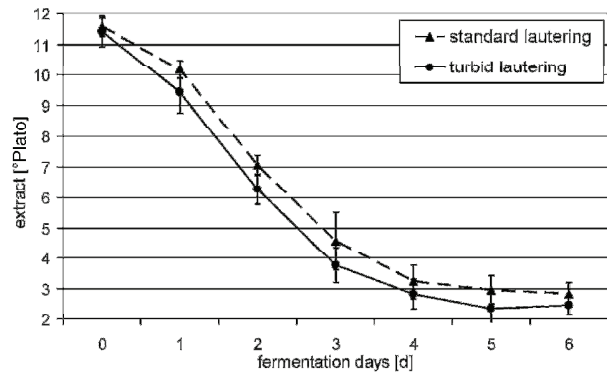


Fig. 8. Extract degradation during fermentation of standard and turbid worts over six fermentation cycles. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

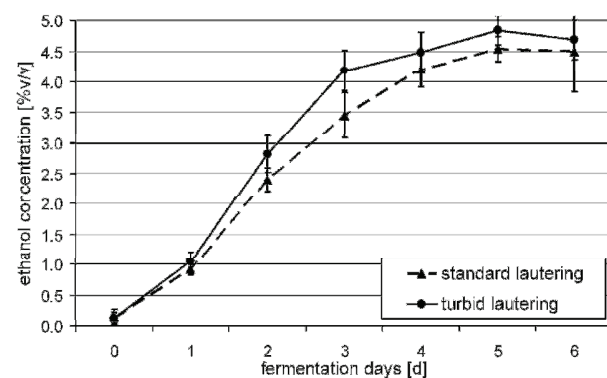


Fig. 9. Evolution of ethanol during fermentation of standard and turbid worts over six fermentation cycles. Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

nificant. A maximum difference occurred on the third day (0.11 units), while at the end of the main fermentation the average final pH was lower by 0.06 units for turbid lautering vs. standard lautering. In terms of extract degradation, turbid lautering caused lower values and therefore faster fermentation throughout the entire fermentation (Fig. 8). For the second and third day of fermentation, a maximum difference of approximately 0.8° Plato on average occurred with turbid wort, these values being lower, but differences were not significant. On the other hand, it is interesting to note that only during the 3rd fermentation cycle, was almost the same rate of extract degradation with either lautering regimes observed. All other five cycles showed higher rates with turbid lautering. Thus, if the average values and confidence intervals are recalculated (omitting the data of the 3rd cycle) a significant difference (up to 1.2° Plato) in extract degradation during the second and third day of fermentation occurred, with the turbid worts fermenting significantly faster than the clear ones (average of five fermentation cycles; data not shown). According to the production process of this brewery, primary fermentation is usually stopped at a final extract value of 2.8° Plato to achieve a balanced beer character. Considering this, the “turbid brews” would have been finished after a four-day fermentation, while the standard brews required five to six days to reach this value (aver-

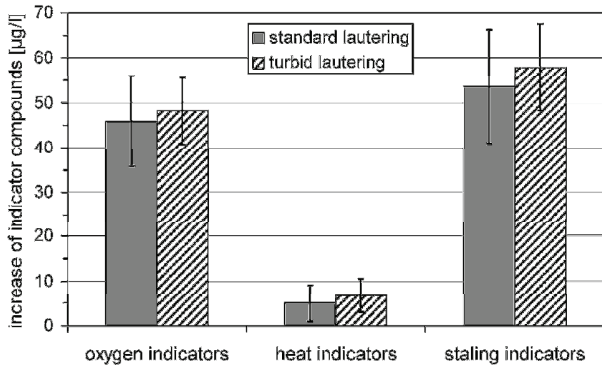


Fig. 10. Increment of oxygen, heat and staling indicators in beer due to forced ageing treatment (24 h with shaking at room temperature, 4 d storage at 40°C). Error bars: confidence interval ($p = 0.95$, $n = 6$).

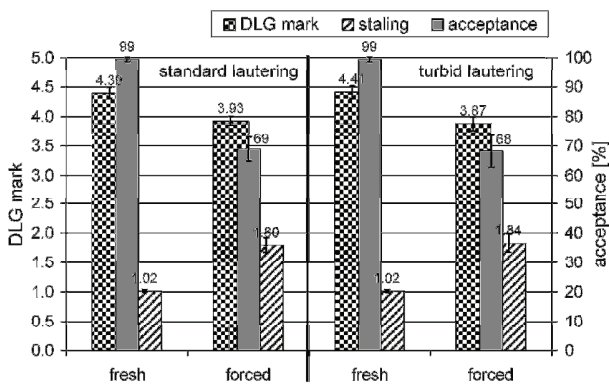


Fig. 11. Tasting results of fresh and forced aged beers according to DLG scheme including staling and acceptance test, left: standard lautering, right: turbid lautering (professional panel, $p = 0.95$, $n = 10$).

age of six fermentations; Fig. 8). Accordingly, ethanol formation was enhanced when turbid lautering was applied (Fig. 9). The maximum difference was 0.73% (v/v) and significant on the third day of fermentation for turbid worts, compared to standard worts. Between the 4th and the 6th day of fermentation, the diacetyl and pentanedione values decreased to final values of 0.25 and 0.27–0.28 mg/L, respectively, and did not show differences between standard and turbid lautering. Therefore, the lautering procedure did not seem to influence the formation or degradation of vicinal diketones, and this is in agreement with Schur and Pfenninger.⁴⁰ The kieselguhr filtration of the respective beers was comparable in terms of the increase of pressure difference, or kieselguhr usage, and did not show any other problems which is in contrast to what has been previously reported.^{9,38,40}

In conclusion, fermentation performance was improved due to the increase of lauter turbidity from approximately 40 to 80 EBC units. The wort analyses, however, did not readily indicate the reason for the improvement. Specifically, neither a greatly increased long-chain fatty acid content nor zinc content, which have been mentioned in terms of turbid lautering, could be found in this investigation.^{6,11,12,16,19,26,33,34,41,45,47} Among all analytes observed in this investigation, the only one that comes into consid-

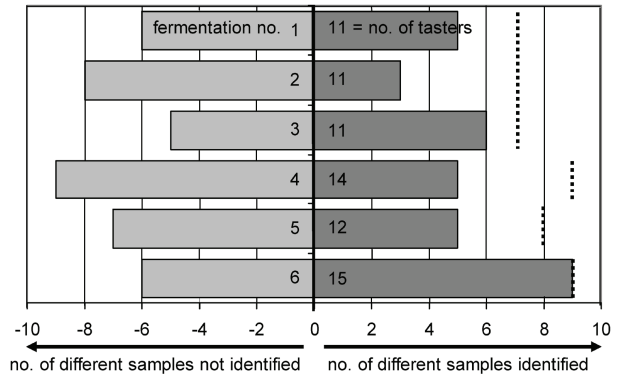


Fig. 12. Results of triangle test to observe ability of tasters to distinguish beers resulting from standard vs. turbid worts over six subsequent fermentations. Right bars: no. of samples correctly identified by tasters, left bars: no. of samples not identified by tasters, dashed lines: minimum no. necessary to distinguish beers significantly ($p = 0.95$, $n = 11$ –15, professional panel, fresh beers).

eration for the improvements was the slightly increased linoleic acid concentration, which may be connected to a different composition of hot trub carried over to the fermentation tank in small amounts, despite proper whirlpool operation.

Flavour and flavour stability

The resulting beers were analyzed for a range of parameters, of which staling was of particular interest. The increase of staling indicators, during a defined forced ageing treatment, gave important indications of flavour stability. As can be seen from Fig. 10, there was a slightly higher increase of staling indicators in beers resulting from turbid worts. However, the difference was not significant and smaller than expected. The differences observed in the increase of oxygen and heat indicators were even smaller, and not significant, and appeared to be due to experimental error. The low increase of staling indicators was in agreement with the small differences in fatty acids, particularly of linoleic acid, observed in the worts despite large differences in lauter turbidity. On the other hand, this was not in agreement with former findings which observed increased amounts of staling compounds in beers from turbid worts due to fatty acid degradation.^{1,3,29,39}

In terms of the organoleptic properties, the fresh beers did not differ in flavour or in freshness impression (Fig. 11). This confirms Sommer's statement that the influence of wort turbidity on beer quality is often overestimated.⁴⁴ Among the aged beers, turbid lautering caused a small but not significant decline in flavour quality vs. the standard brews (Fig. 11). This is in agreement with the slight increase in staling indicators discussed above. Here again, the beers evaluated were more similar than what had been expected from the findings presented in the literature.^{25,30,42} One difference that seemed to stand out was that in terms of bitterness, the basic flavour impression of the fresh beers was described by the professional test panel as being rather soft for the "standard" beer and as full-flavoured for the "turbid" beer, with both being described as well-

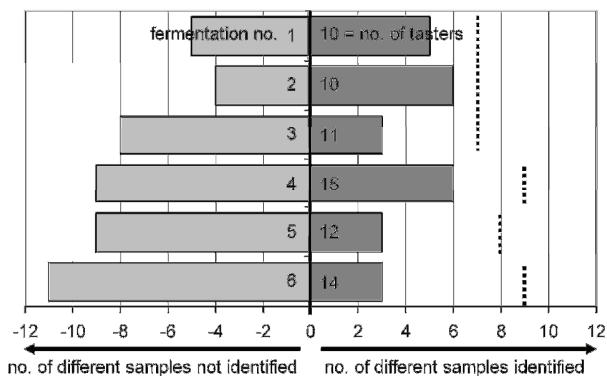


Fig. 13. Results of triangle test to observe ability of tasters to distinguish beers resulting from standard vs. turbid worts over six subsequent fermentations. Right bars: no. of samples correctly identified by tasters, left bars: no. of samples not identified by tasters, dashed lines: minimum no. necessary to distinguish beers significantly ($p = 0.95$, $n = 10-15$, professional panel, forced aged beers).

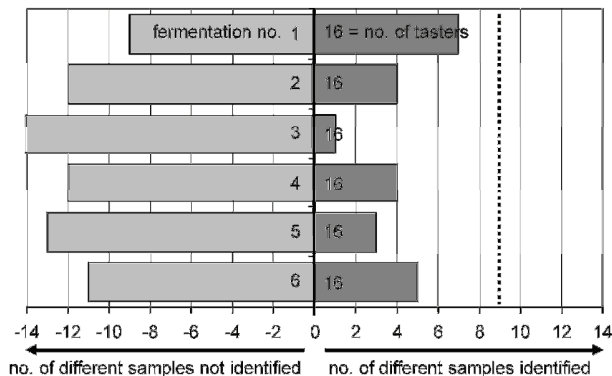


Fig. 15. Results of triangle test to observe ability of tasters to distinguish beers resulting from standard vs. turbid worts over six subsequent fermentations. Right bars: no. of samples correctly identified by tasters, left bars: no. of samples not identified by tasters, dashed lines: minimum no. necessary to distinguish beers significantly ($p = 0.95$, $n = 16$, non-professional panel, forced aged beers).

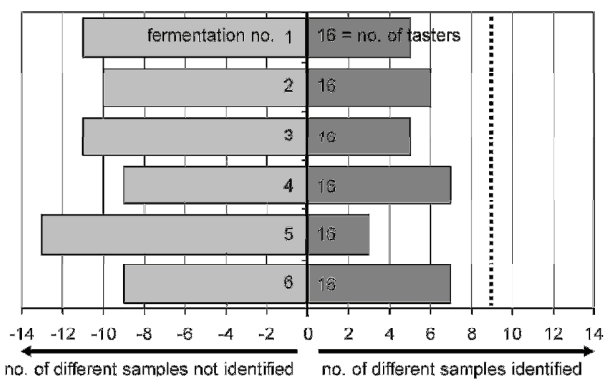


Fig. 14. Results of triangle test to observe ability of tasters to distinguish beers resulting from standard vs. turbid worts over six subsequent fermentations. Right bars: no. of samples correctly identified by tasters, left bars: no. of samples not identified by tasters, dashed lines: minimum no. necessary to distinguish beers significantly ($p = 0.95$, $n = 16$, non-professional panel, fresh beers).

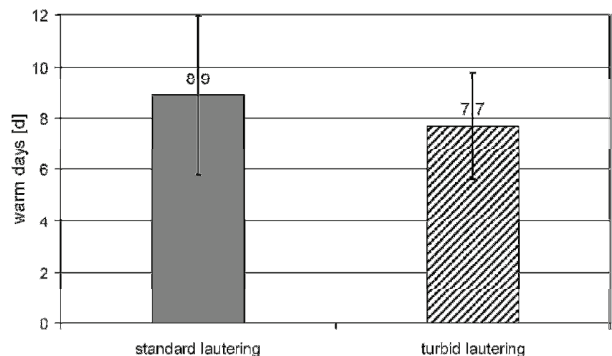


Fig. 16. Non-biological stability of resulting beers according to forcing test (time within a haze increment of 2 EBC is reached after 0/40/0°C treatment; $p = 0.95$, $n = 6$).

balanced. A broad bitterness or bitter aftertaste did not occur with either of the fresh beers in contrast to other observations.²⁹ All of the aged beers were described as having a slight oxidation taste and a trace of bitter aftertaste with no clear preference by the panel members for either the “standard” or the “turbid” beers.

To find out if the beers were distinguishable by the professional and the ordinary customer panel, triangular taste tests were carried out. As seen in Fig. 12, five out of six fresh beers could not be distinguished by the professional panel i.e., the majority did not recognize the difference between standard and turbid lautering in regard to the fresh beers. However, the few tasters recognizing the difference, mainly preferred the standard beer. In terms of aged beers, the “turbid beer” could not be recognized with any measure of significance by the professional panel, indeed the more often the yeast was repitched, the less the different beers were recognized (Fig. 13). Interestingly,

those panel members who were able to distinguish the beers, preferred the aged beers resulting from turbid worts rather than the standard beer in five out of six beers. The ordinary customer panel (non-professional panel) was not able to significantly distinguish any of the beers, whether the beers were fresh or aged (Figs. 14 and 15). Here, the ability to distinguish between the beers within a triangle test was around 30% on average and never exceeded 44%. Those tasters able to distinguish the beers, preferred the standard beers by 55% (fresh beers). However, in terms of the forced aged beers, these tasters preferred the standard beers by two thirds (Fig. 15).

In addition to the difference in bitterness character, which is ultimately a question of the sensory philosophy of the brewery, the tasting results suggest that the influence of turbid lautering is overestimated in terms of flavour quality, as well as flavour stability. This gives an indication that the yeast is able to deal with high turbidities produced by turbid lautering.

Other analytical parameters regarding the flavour, such as beer aroma compounds, higher alcohols and esters, free DMS did not differ noticeably. The diacetyl values of both beers hovered around the flavour threshold at 0.12 mg/L

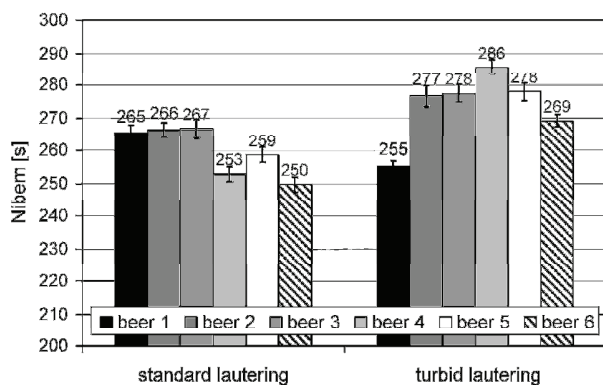


Fig. 17. Foam stability according to Nibem ($n = 6$, $p = 0.95$).

with the turbid beers always being slightly below the standard. Similarly, the pentanedione levels were around the flavour threshold at 0.08 mg/L with the turbid beers being mostly slightly above the standard. The extract and pH values of the turbid beers were lower, and the ethanol content was higher over-all as seen in the fermentations, however, the differences were not significant.

Non-biological stability

The results of the non-biological stability test are presented in Fig. 16. Here, turbid lautering appeared to cause a lower colloidal stability (by around one day) and this is not a significant loss. This is in agreement with the findings of Nielson³⁶ and Schur and Pfenninger⁴⁰.

Foam stability

The beers resulting from the standard lauter procedure showed a stable foam of approximately 266 sec (Nibem) for the first three generations, then decreased to 250 sec (Fig. 17). The beers resulting from turbid lautering showed significantly higher foam stabilities for all beers, except the first one. Here, with five out of six beers, the stability was higher by at least 10 sec. Similar to the standard beers, a slight decrease was observed towards the sixth generation. This is in accordance to Eils, who also observed an increased foam stability due to more turbid lautering.⁹

CONCLUSIONS

Finally, the investigations presented in this paper showed that a variation of lauter parameters, particularly permanent raking in the deep position, caused an increase of average lauter turbidity, in this case from around 40 EBC to 80 EBC units, which is far above most of today's lauter performance specifications. The conclusion was that not only the raw material quality, but also the applied lauter techniques and procedures, have an important impact on the quantity of lauter turbidity. Here, the upper value of 80 EBC units represents a "worst case" scenario. This covers all cases that may occur in large-scale production, even under extreme conditions. Despite the great increase in lauter turbidity, it may be concluded that the wort qualities were quite similar, except for a slight but significant increase of linoleic acid concentration in the turbid worts. Considering the variation in turbidity, the

differences in wort quality would be expected to be much greater than what was actually detected by the analytical methods applied. It appears that particularly the boiling step, followed by an extensive wort clarification, has an attenuating effect on differences in wort quality caused by lauter variations. Neither insufficient spent grain extraction nor higher iodine values were observed due to turbid lautering. The fermentation performance, expressed as extract degradation, pH decrease and ethanol formation, was increased by turbid lautering as applied, and yeast vitality appeared to be improved by applying turbid lautering, even in the 6th fermentation cycle, probably due to better yeast nutrition. Despite a high lauter turbidity, the resulting beers did not show filtration problems. In terms of staling, only a small and insignificant increase of staling compounds was detected, which is in agreement with the small increase of linoleic acid in wort due to turbid lautering. The beers were evaluated as being quite similar in taste, and for both fresh and forced aged beers, neither a professional nor a non-professional panel was able to significantly distinguish "turbid" from standard beers. The improvement of foam stability for most of the beers indicates better yeast nutrition due to turbid worts.

In conclusion, not only may fermentation performance be improved by more turbid lautering but, additionally, the negative consequences of such a production practice may be exaggerated, since none of the quality parameters of the final beers were significantly compromised in this study. If and when fermentation problems occur in a brewery, particularly when yeast has already been repitched several times, a moderate increase in lautering turbidity should be preferred, since excessively bright worts may be detrimental to yeast nutrition. When higher lauter turbidities are occasionally observed due to changes in the lauter procedure, the risk of decreased beer quality appears to be minimal.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Stadtbrauerei Spalt, Spalt/Germany, for their strong support in these large-scale trials at their plant. We also thank Fa. Sigris, Ennetbürgen/Switzerland, for providing the online turbidimeter DualScat. The help of Mr. John Brauer of Brewing Research International in proofreading the English manuscript is hereby acknowledged. We are also grateful to Jubiläumstiftung Weihenstephan 1905, Weihenstephan/Germany, and to Wissenschaftliche Station für Brauerei in München e.V., Munich/Germany, for their support. Special thanks to the reviewers of this article who gave valuable suggestions on how to improve the paper.

REFERENCES

- Anderson, R.G. and Kirsop, B.H., The control of volatile ester synthesis during the fermentation of wort of high specific gravity. *J. Inst. Brew.*, 1974, **80**, 48–55.
- Anness, B.J. and Reed, R.J.R., Lipids in the brewery – a material balance. *J. Inst. Brew.*, 1985, **91**(3/4), 82–87.
- Äyräpää, T. and Lindström, I., Influence of long-chain fatty acids on the fermentation of esters by brewer's yeast. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Salzburg, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1973, pp. 272–282.
- Dickel, T., Krottenthaler, M. and Back, W., Investigations into the influence of residual cold break on beer quality. *Brauwelt Int.*, 2002, **20**(1/02), 23–25.

5. Drost, B.W., van der Berg, R., Freijee, F.J.M., van der Velde, E.G. and Hollemans, M., Flavor stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1990, **48(4)**, 124–131.
6. Dufour, J.P., Alvarez, P., Devreux, A. and Gerardi, W., Influence of the filtration procedure on the relationship between wort turbidity and its lipid content. *M Schr. Brauwiss.*, 1986, **39(3)**, 115–121.
7. Eiber, P., Würzekochung und Eiweißkoagulation unter besonderer Berücksichtigung von Druck und Temperatur sowie der Heizflächenverhältnisse. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1958, pp. 8–14.
8. Eichhorn, P., Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1991, pp. 50–55.
9. Eils, H.-G., Über den Einfluß der Sudhaueinrichtung auf die Beschaffenheit von Würze und Bier. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994, pp. 40–125.
10. van Gheluwe, G.E.A., Jamieson, A.M. and Valyi, Z., Factors Affecting the formation of fusel alcohols during fermentation. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1975, **12(3)**, 169–175.
11. Graf, H., Carbonyl and Alterung des Bieres. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1984, pp. 76–96.
12. Greffin, W. and Krauß, G., Schrotten und Läutern. II. Arbeit mit konventioneller Trockenschrotmühle und Läuterbottich – eine Literaturübersicht. *M Schr. Brauerei*, 1978, **31(6)**, 192–212.
13. Grill, W. and Püspök, J., Die freien höheren Fettsäuren bei der Verarbeitung von Rohfrucht. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Amsterdam, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1977, pp. 195–209.
14. Jones, M.O., Cope, R. and Rainbow, C., Changes in the free fatty acids and other lipids of worts during boiling and fermentation. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Nice, Elsevier Scientific: Amsterdam, 1975, pp. 669–681.
15. Klopfer, W.J., Wort Composition, A Survey. EBC Monograph, 1974, **1(1)**, pp. 8–24.
16. Klopfer, W.J., Tuning, B. and Vermeire, H.A., Free fatty acids in wort and beer. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Nice, 1975, Elsevier Scientific: Amsterdam, pp. 659–667.
17. Köhler, P., Krottenthaler, M., Herrmann, M., Kessler, M. and Kühbeck, F., Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren. *Brauwelt*, 2005, **145(6)**, 143–150.
18. Krauß, G., Zürcher, C. and Holstein, H., Die schaumzerstörende Wirkung einiger Malzlipide und ihr Schicksal im Verlauf des Mälzungs- und Brauprozesses. *M Schr. Brauwiss.*, 1972, **25(5)**, 113–123.
19. Kreder, G.C., Yeast assimilation of trub-bound zinc. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1999, **57(4)**, 129–132.
20. Krottenthaler, M., Entwicklung einer Selektionsmethode mit Serieneignung zur Anhebung der Bierqualität und der den Biergeschmack beeinflussenden Qualitätsparameter der Gerste. *Dissertation*, TU München, Freising-Weihenstephan, 1992, pp. 10–30.
21. Kühbeck, F., Back, W. and Krottenthaler, M., Influence of lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality – A review. *J. Inst. Brew.*, 2006, **112(3)**, 215–221.
22. Kühbeck, F., Back, W. and Krottenthaler, M., Release of long-chain fatty acids and zinc from hot trub to wort. *M Schr. Brauwiss.*, 2006, **59(3/4)**, 67–77.
23. Kühbeck, F., Schütz, M., Krottenthaler, M. and Back, W., Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2006, **64(1)**, 16–28.
24. Lentini, A., Takis, S., Hawthorne, D.B. and Kavanagh, T.E., The influence of trub on fermentation and flavour development. Proc. 23rd Inst. Brew., Asia Pacific Sect., 1994, pp. 89–95.
25. Leyser-Heiß, Die Bierbrauerei. Max Waag Verlag: Stuttgart, 1887, p. 293.
26. Lustig, S., Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozeß. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1994, p. 18, p. 38, pp. 41–55.
27. Lustig, S., Miedaner, H., Narziß, L. and Back, W., Beeinflussung alterungsrelevanter Aromastoffe durch technologische Maßnahmen bei der Malz-, Würze- und Bierbereitung. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Brussels, IRL Press: Oxford, 1995, pp. 499–506.
28. Miedaner, H., Brautechnische Analysemethoden. 4th ed, Selbstverlag der MEBAK. Vol. II, Freising-Weihenstephan, 2002, pp. 7, 10, 34–124.
29. Mück, E.A., Über das Verhalten der Fettsäuren beim Brauprozeß. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1985, pp. 35–43, 67, 83, 116, 119, 129–132.
30. Narziß, L., Abriß der Bierbrauerei. 4th ed, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1980, p. 158.
31. Narziß, L., Läuterbottich und Maischefilter. Optimierung der Arbeitsweise. *Brauwelt*, 1982, **122(23/24)**, 1030–1057.
32. Narziß, L., Probleme der Geschmacksstabilität in kleinen und mittleren Brauereien. *Brauwelt*, 1982, **122(49)**, 2292–2301.
33. Narziß, L., Die Technologie der Würzebereitung. 7th ed, Vol. II, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1992, pages 221–223, 262.
34. Narziß, L. and Mück, E., Das Verhalten der langkettigen freien Fettsäuren beim Würzekochen und bei der Würzebehandlung. *M Schr. Brauwiss.*, 1986, **39(7)**, 252–257.
35. Narziß, L. and Weigt, K., Über Trübung und Trubstoffgehalt der Würze beim Abläutern mit verschiedenen Systemen. *Brauwelt*, 1980, **120(12)**, 409–416.
36. Nielsen, H., The importance of running clear lauter wort. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 1973, **10(1)**, 11–16.
37. Pfenninger, H., Brautechnische Analysemethoden. In: Selbstverlag der MEBAK. 2nd ed, Vol. III, Freising-Weihenstephan: 1996, pages 5–13, 18–21, 31–34, 37–39, 131–133, 135–137.
38. Royston, M.G., Wort boiling and cooling. In: Modern Brewing Technology, W.P.K. Findlay, Ed, MacMillan Press: London, 1971, pp. 77–79.
39. Schisler, D.O., Ruocco, J.J. and Mabee, M.S., Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1982, **40(2)**, 57–61.
40. Schur, F. and Pfenninger, H.B., Einfluß von Läuterzeit und Würzetrübung auf Herstellung und Qualität des Bieres. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Berlin, DSW: Dordrecht, 1979, pp. 105–116.
41. Schuster, I., Die höherem freien Fettsäuren bei der Würzebereitung und ihr Einfluß auf die Gärung und die Bierbereitung. Dissertation, TU München, Freising-Weihenstephan, 1985, pages 14, 29–49, 62, 83, 101, 142–144, 160, 191, 243, 251.
42. Schuster, K., Die Technologie der Würzebereitung. 4th ed, Ferdinand Enke Verlag: Stuttgart, 1963, pp. 230–240.
43. Schütz, M. and Back, W., The influence of mash acidification on long chain fatty acid content in wort determined by a new developed method. *M Schr. Brauwiss.*, 2005, **58(2)**, 6–10.
44. Sommer, G., Moderne Sudhaustechnologie. *M Schr. Brauerei*, 1979, **32(5)**, 228–239.
45. Verstrepen, K.J., Derdelinckx, G., Dufour, J.-P., Winderickx, J., Thevelein, J.M., Pretorius, I.S. and Delvaux, F.R., Flavour-active esters: adding fruitiness to beer. *J. Biosc. Bioeng.*, 2003, **96(2)**, 110–118.
46. Wackerbauer, K. and Bender, G., Die Bedeutung der freien Fettsäuren und Fettsäure-Äthylester während der Gärung und Lagerung. *M Schr. Brauerei*, 1983, **36(4)**, 152–158.
47. Wackerbauer, K., Bender, G. and Poloczek, K., Die Beeinflussung der freien Fettsäuren durch die technologischen Parameter bei der Sudhausarbeit. *M Schr. Brauwiss.*, 1983, **36(1)**, 18–25.
48. Zangrando, T., Klarheit der Läuterbottichwürze und Bierqualität. *Brauwelt*, 1976, **116(41)**, 1315–1316.
49. Zangrando, T., Über den Einfluß der Klarheit der Läuterwürze auf die Bierqualität. *Mitt. Versuchsanst. Gärungsgew. Wien*, 1978, **32(9/10)**, 101–105.

(Manuscript accepted for publication July 2006)

Kühbeck, F., Back, W., and Krottenthaler, M.

Release of Long-Chain Fatty Acids and Zinc from Hot Trub to Wort

The addition of hot trub to the fermenting wort has often been reported to enhance fermentation performance, while on the other hand, some of its components and their degradation products are thought to be detrimental to the quality of the resulting beer. In order to gain more knowledge of a potential improvement of yeast supply by nutrients like long-chain fatty acids (C14-C18:3) and zinc, release (re-dissolution) trials were carried out by adding hot trub to wort, both derived from industrial production. Free long-chain fatty acids were released mainly as palmitic and linoleic acid in a total amount of 0.9 mg/L additional to the content of 1 – 2 mg/L usually found in cold worts, while the hot trub particles showed a total reservoir of fatty acids in the order of 4 mg/L, which may be further released during fermentation. Zinc was released at an average concentration of 0.14 mg/L solely due to hot trub addition, this being relevant for yeast nutrition. For both nutrients, the maximum release was observed after a contact time of 4 h, while an extended period of up to 7 days did not lead to a further release. An increase of ethanol concentration to 5 %v/v, and/or a decrease of pH value to 4.0 in order to simulate some of the changes occurring during fermentation, did not impact on the release of neither fatty acids nor zinc in wort. These trials confirm a high bio-availability of zinc and to a lower extend also of long-chain fatty acids, thus, hot trub addition may improve nutrient supply of yeast, particularly when dealing with deficient worts, which might be the reason for the increase of fermentation performance reported earlier.

Descriptors: bio-availability, hot trub, long-chain fatty acids, lipids, solubility, zinc

1 Introduction

Several components of wort turbidity and, more specifically, of hot trub are believed to have an influence on the brewing process. In particular, lipids such as long-chain fatty acids, zinc as well as the particle characteristics of hot trub have been discussed lively among researchers and practical brewers in the past decades until today. Trub addition to the pitching wort was found to increase yeast vitality [73] and fermentation performance [30, 34, 35, 41, 49, 71, 73, 75, 76, 90]. For example, trials with turbid wort (3.5 – 4 %v/v trub solids; determined by centrifuging) and clarified wort (0.1 %v/v) showed that yeast fermented faster with trub containing wort compared to clear wort in three subsequent fermentations [44]. Additionally, the yield of yeast was found to be higher when wort containing trub was fermented [1]. Moreover, trub may influence the aroma profile of the resulting beer due to its impact on the formation of higher alcohols and esters [1, 11, 44, 69]. On the other hand, components of hot trub are reported to be precursors of staling substances [23, 60] and may damage foam stability in case of excess dosage [81], so that a complete trub separation has been recommended to ensure a high quality of the resulting beer [51, 94]. Since the chemical composition and formation of hot trub have sufficiently been described elsewhere [9, 44, 54, 63], this investigation focuses on the components of hot trub which are thought to be most important for yeast nutrition and improvement of fermentation performance: long-chain fatty acids and zinc. The particle characteristics of hot trub are being dealt with by various current investigations and will later be reported.

1.1 Lipids in hot trub

Considering all trub components, the lipid fraction seems to have the biggest positive influence on yeast activity and flavor development [10, 45, 72, 75, 83, 86]. The addition of lipids to fermentation, particularly of unsaturated long-chain fatty acids and ergosterol, has a pronounced effect on the growth and metabolism of yeast [8, 83, 93] since unsaturated long-chain fatty acids form an integral part of plasma membrane, where they are reported to regulate the exchange of various compounds into and out of the yeast cell; they improve inter alia the uptake of amino acids and maltotriose [45, 76, 83], enhance the ability of yeast to resist high ethanol concentrations [43, 45, 56, 76, 83, 84] and regulate the activities of membrane-bound enzymes [74]. Among wort lipids, free linoleic acid (C18:2) was often considered to be the most important component due to its comparable high concentration, its physiological functions, its high rate of incorporation into the yeast cell and the fact that linoleic acid, like other polyunsaturated acids, cannot be synthesized by *Saccharomyces cerevisiae* itself, but has to be taken up from the medium [2, 13, 58, 72, 83]. In this context, an increasing uptake of linoleic acid into the cell by continued contact of yeast with trub was reported, giving an indication of the bio-availability of C18:2 adsorbed to trub, while contact with clarified wort causes a depletion of linoleic acid concentration in the cell membrane [44]. In terms of uptake rate Thurston et al. found that 70 % of C18:2 added to wort in a concentration of 50 mg/L at the start of fermentation (growing cells) was taken up within 4 h, while 100 % was taken up within 18 h after addition [85]. Similarly, when re-suspending stationary-phase cells (non-growing) in fresh wort around 67 % of the supplemented C18:2 (60 mg/L) was taken up within 24 h [59].

Beside its function in improvement of yeast growth and fermentation performance linoleic acid plays an important role in terms of flavor stability of the resulting beer. It has been discussed extensively in the literature that linoleic and linolenic acid (C18:3) could lead to the formation of E-2-nonenal which is supposed to be a main component of staling flavor and may affect the flavor already in traces [15, 18, 53, 87]. Beside E-2-nonenal, a wide

Corresponding author: Florian Kühbeck, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, TU München-Weihenstephan, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Tel.: ++49 8161 715271, email: Florian.Kuehbeck@wzw.tum.de

range of C6-C12 aldehydes, ketones and unsaturated alcohols were identified as off-flavors in beer due to degradation of these fatty acids [87]. Moreover, fatty acids seem to be the only part of lipids which is flavor-active in bottled beer [7] and more particularly, unsaturated long-chain fatty acids are the only one reacting with oxygen, e.g. linolenic acid reacts 3-4 times faster than linoleic acid and the latter reacts 30 times faster than oleic (C16) and palmitic acid (C16:1). Fatty acids bound as esters react up to 50 % slower compared to free fatty acids [52, 88]. On the other hand, the oxidation of saturated fatty acids is meaningless due to their slow reaction rate [15]. In contrast, Graf could not detect an influence of the addition of higher fatty acids in terms of sensory analysis of fresh and aged beers. Further, a degradation of linoleic and linolenic acid was not accompanied by increased carbonyl levels [23]. Ahvenainen et al. recommend an optimal concentration of 10–20 mg/L of long-chain fatty acids (C16-18:3) in wort which causes an intensive fermentation, while unwanted aroma compounds are not formed excessively [1].

In terms of foam stability there seems to be a significant negative correlation between free long-chain fatty acids and foam stability since unsaturated fatty acids (C16:1, C18:1, C18:2, C18:3) are efficient at disrupting foams when added to beer in certain concentrations (> 0.6 mg/L) [40]. It has also been reported that long-chain fatty acids such as oleic acid, linoleic acid and linolenic acid only show a detrimental effect to foam when present in a 40 to 100-fold concentration usually found in beer [31, 36, 88].

In terms of the non-biological stability, the role of hot trub and fatty acids does not seem to be completely clear by now. According to Nadzeyka, the main factors involved in non-biological stability are: protein amount, polyphenol, and oxygen content of the final beer [61]. Schuster reported that unsaturated fatty acids do not seem to lower non-biological stability of the resulting beer [76], while an adverse effect of hot trub in wort at the fermenting stage was reported, which might, however, have been due to the low molecular polyphenols rather than to lipids [48, 68].

1.2 Long-chain fatty acids in brewhouse wort and hot trub

The destiny of lipids in mash and wort during brewhouse operations has been described in detail in several publications [2, 3, 6, 24, 45, 89, 92] and are briefly summarized here: During mashing, a part of the total fatty acids contained in malt, particularly in fine grist [60], is released to mash as free acids and modified due to the activity of several enzymes, such as lipase and lipoxygenase [25, 40, 67, 89]. When high temperature, short time mashing is applied, higher concentrations of fatty acids are noted compared to one mash or infusion mash method [89]. While decoction mashing is reported to cause a higher amount of fatty acids (C12-C18:3) by 10–25 % in the resulting mash [89], more recent investigations could not detect a significant difference between one-mash method and infusion mashing in terms of the free fatty acid content in mash [38]. A high amount of fatty acid release was found at high mashing-in temperatures in the range of 65–68°C, while up to 65°C only small amounts were released [40, 60]. Within the first 30 min of mashing linoleic and linolenic acid are strongly degraded due to the activity of lipoxygenase, while other fatty acids are not attacked [60]. Further, during lautering the concentration of free fatty acids is reduced due to adsorption to the spent grains filter bed [60]. Here the applied technique (lauter tun or mash filter) as well as the process parameter (filter bed height, racking, deep cuts) play an important role in determining the fatty acid content of the kettle-full wort [31, 60, 89]. Indeed, there seems to be a significant correlation between lauter turbidity and fatty acid content of wort

[63, 65, 76, 89]. Also, a drawing-off of wort from the top layer of pre-run caused high fatty acid concentrations in kettle-full worts [24, 89]. Owing to the removal of the solid spent grain particles, the total fatty acid concentration is decreased by more than 90 % for all lautering systems with lauter tuns being stronger in reductive action than mash filters. During wort boiling coagulation of proteins takes place due to the physical breakdown of hydrogen bonds and disulfide bridges causing a lower hydration and solubility of protein molecules [4]. This is favored by the presence of polyphenols and the decrease in pH meaning the medium comes closer to the isoelectric point of proteins [4]. The most intensive precipitation takes place at a pH value of 5.2 [77]. On the other hand, other authors doubt whether there is an impact of polyphenols on hot trub formation [33, 78]. The coagulation reactions and factors affecting those are described in detail in [4]. In terms of the amount of hot trub Just et al. reported an average amount of 500 mg/L for a 12°P wort [32], Narziß reported 400–800 mg/L (extract free d.m.) [62], while Eils determined an amount of 600–800 mg/L (d.m.) as being typical for lauter tuns [20].

Due to their hydrophobic character long-chain fatty acids adsorb to trub particles [37, 40, 60, 66], while the overall fatty acid concentration is reported to remain unchanged during wort boiling [76]. In contrast to this, oxidation of fatty acids during wort boiling in the presence of oxygen is reported to lead to the formation of degradation products or intermediates [1, 66], which finally affect the flavor stability of the resulting beer due to carbonyl formation. The loss of lipids and particularly of free long-chain fatty acids during wort boiling was found to be in the range of 74–90 % [21, 31, 89]. Applying different boiling temperatures, e.g. atmospheric boiling (100°C) vs. high temperature wort boiling (140°C), did not make a difference in fatty acid behavior [66]. Since protein coagulation is most intense within the first 25 min of boiling [19], the adsorption of fatty acids is expected to be most intensive within this period, too. Beside technical aspects such as boiling system and duration, the reduction depends on the chemical properties of the particular fatty acid such as the number of double bonds, e.g. C18:1 was reported to decrease by 73 %, C18:2 by 80 %, and C18:3 by 90 % [89]. Because of hot trub separation during whirlpool operation the total linoleic acid content is reduced by 75 to more than 92 % while the removal of cold trub by flotation may cause another reduction of 33 % [37, 60]. In contrast to this, according to Narziß et al. the application of hot trub centrifugation causes only a reduction of short-chain fatty acids but not of long-chain fatty acids, while a sedimentation of 20 min is a suitable measure for removing more than 90 % of long-chain fatty acids [66]. Finally, a concentration of around 0.7–1.6 mg/L of free fatty acids (C14-C18:3) is reported for pitching wort [89]. According to the findings of several authors the dominating acids are linoleic acids as well as palmitic acid among the long-chain fatty acids, while the others such as myristic acid (C14), oleic acid and linolenic acid play only a minor role [1, 31, 60, 89].

During fermentation the unsaturated long-chain fatty acids are mainly assimilated by yeast, thus the resulting beers contain mostly much less than 0.1 mg/L [40, 57, 95]. In detail following final beer values are reported: 8–15 µg/L of C14, 20–50 µg/L of C16, 10–30 µg/L of C18, 1–2 µg/L of C18:1, 2–8 µg/L of C18:2, and 0.5–3 µg/L of C18:3 [37, 39]. Some authors also observed higher values in final beers: according to Anness a fatty acid content of 1–2 mg/L seemed to be typical [2], while Jones et al. found 1.3–3.3 mg/L C14-C18 in commercial ales [31].

1.3 Zinc

Besides lipids, the physiological impact of the zinc content of trub on yeast is a matter of discussion. Zinc is an essential element for yeast growth and influences proteolytic activity, protein biosynthesis, and carbohydrate metabolism of the yeast cell [49, 50, 91]. Therefore, a sufficient supply increases fermentation performance [30, 41] and causes a large yeast crop [22, 49]. As an optimum, zinc concentration in pitching wort (12°P) a range of 0.08 – 0.15 mg/L is reported in order to attain a final zinc content of 6 mg per 100 g of yeast d.m. [16, 17]. A latest publication recommended a concentration in the range of 0.15 – 0.3 mg/L in wort [80]. Investigations of Jacobsen showed that an addition of zinc (0.2 mg/L) increased fermentation rate when the original wort was zinc deficient (0.05 mg/L). A positive effect of the addition could be detected for original zinc concentrations of up to 0.2 mg/L. When the concentration in wort exceeded a level of 0.2 mg/L, an addition did not cause a further improvement of fermentation [30]. On the other hand, when EDTA was added (1mM), zinc and other metal ions became unavailable for yeast due to chelation causing a very poor fermentation performance [30]. In brewery worts zinc is often present in suboptimal concentrations [29], thus if concentrations drop below 0.1 mg/L, yeast cells become deficient in metallo-enzymes [49] and slow fermentations result [26]. Similarly, if concentrations exceed 0.6 mg/L, yeast growth is depressed unless the concentration of manganese ions is of a similar level [26, 27]. It was observed that zinc was taken up rapidly and at an early stage of fermentation, mainly in the lag- and late-exponential phases [47]. For example, a concentration of ca. 0.36 mg/L was reduced to below 0.08 mg/L within 2 h after inoculation in a stirred fermentation at 12°C, while the concentrations of Mn and Fe ions hardly changed within this period [47]. After fermentation hardly any zinc could be detected in beer, but almost 100 % was taken up by yeast [41].

1.3.1 Zinc in hot trub

Similar to the binding affinity of hydrophobic fatty acids Zn²⁺ ions tend to be chelated by components of trub [46, 75] which means a decrease in availability of zinc for yeast since the trub remains in the whirlpool almost completely [44]. Therefore, in case of hot trub separation, the zinc content is already lost prior to pitching. Moreover, according to Lentini et al., the strong binding ability of trub for ions further reduces the bio-availability, so that zinc may not be easily available to the yeast during fermentation [44]. They conclude that trub bound zinc is not directly responsible for the stimulation of fermentation performance due to its lower bio-availability while direct addition of zinc to the fermenting wort is more effective [44]. In this context Kreder disagrees observing a positive effect of zinc bound to trub on yeast. When placing dialysis bags filled with cold trub into zinc deficient wort for seven days, the zinc content in wort increased from 0.02 to 0.18 mg/L. According to Kreder this illustrates that zinc is bound to trub only loosely and should be bio-available to yeast during fermentation. In fermentation trials he showed that both, zinc bound to trub or alternatively added as zinc salt, can be assimilated by yeast and therefore stimulate fermentation. Indeed, 84 % of the zinc in trub contained in the dialysis sacs was utilized by yeast during fermentation, supporting his thesis of a high bio-availability of zinc bound to cold trub [41].

1.3.2 Zinc in brewhouse wort

During mashing zinc is extracted from malt as the only important raw material source for zinc in the brewing process [28] resulting in a concentration of 0.37 – 0.56 mg/L at the end of mashing [14]. Due to the removal of solid mash particles [5] and dilution

during lautering, a concentration of 0.07 – 0.16 mg/L remains in the kettle-up wort [14]. The lautering technique and procedure applied were reported to have a direct impact on the zinc content of the resulting wort [12]. Thus, Eils observed an increase of the zinc content in wort if turbid lautering was applied compared to clear lautering [20]. The zinc content further decreased during wort boiling to 0.04 – 0.10 mg/L in cast wort after 30 min of boiling [14]. When boiling was extended to 90 min, no further reduction was observed [14]. An addition of high zinc amounts (resulting in 0.52 mg/L in wort) only 5 min prior to end of boiling (and subsequent hot trub remove) caused a loss of the dissolved zinc by 36 % [14]. As in case of fatty acids the strong reduction of dissolved zinc and other metals during wort boiling is closely connected to the formation of hot trub [82]. Thus, around 50 % of the total zinc content in wort is deposited in trub [41], resulting in high zinc concentrations of 32.2 mg/kg in trub compared to 6.3 mg/kg of the corresponding clear wort [75]. Daveloose observed an even more extreme ratio of 197 ppm in whirlpool trub vs. 0.11 ppm in wort [14]. Quite a variety of measures has been offered to increase the zinc content in wort during brewhouse operations, such as the use of well modified malts, a low mashing-in temperature, and mash acidification (pH 5.4 – 5.5) [16, 64].

Considering this background it is the aim of this investigation to follow the free fatty acid concentration along the different stages in an industrial scale brewhouse operation and to observe the release properties of a hot trub derived from industrial production in terms of long-chain fatty acids and zinc, when added back to wort.

2 Material and Methods

2.1 Fatty acid survey in an industrial brewhouse

2.1.1 Brewhouse equipment and procedure in brewery A

For mashing a one-mash decoction method with a mashing-in temperature of 61°C and a final mashing temperature of 75°C was used. A grist amount of 6,900 kg per brew (Pilsen type malt) was mashed in to a total mash volume of 340 hL. Lautering took 3 h 10 min in a classic lauter tun with a false-bottom load of 350 kg/m². Turbid wort pumping was undertaken for 10 min, lautering of first wort for 85 min was followed by sparging and deep raking. The post run lautering took 80 min. An external boiler was used to boil the wort at ca. 102°C for 60 min. First and second hopping were done at the start of boiling and 10 min before end of boiling. The hot trub was removed by whirlpooling with a stand of 5 min. After cooling the wort to 8°C, a final volume of ca. 480 hL was obtained per brew.

2.1.2 Sampling

Mash samples were taken at the final mash temperature right before end of mashing. First wort samples were taken 45 min after start of first wort run-off. Post-run samples were taken 45 min after start of post run lautering. The kettle-up worts were taken 5 min after start of boiling, while the whirlpool samples were taken 5 min after the whirlpool stand was completed. The cooled wort samples were taken 30 min after start of cooling. All samples were quickly chilled to below 10°C after sampling and were stored at 0°C for later analysis.

2.2 Hot trub

Hot trub samples were taken manually from the whirlpool in the industrial scale brewing procedure of brewery B. The samples were immediately deep-frozen after sampling. Before use they were

gently defrosted and mechanically homogenized without further treatment. For determination of dry matter (d.m.) a sample of hot trub was heated at a temperature of 105°C to a constant weight. The d.m. was calculated by relating the dry to the wet weight.

2.3 Wort preparation

A lager type wort was obtained as chilled wort after whirlpool operation from another industrial scale brewing procedure (brewery C). To 20 L of cold wort around 100 mL of pulpy cropped yeast (ca. $4 \cdot 10^9$ cells/mL; bottom fermenting, strain: W34) was added and homogenized. The resulting suspension was shaken every 30 min. After a total contact time of around 1.5 h, the suspension was filtered in a sheet frame filter (Pall-Seitz, Bad Kreuznach/Germany) applying deep filter sheets SEITZ KS-80 (Pall-Seitz, Bad Kreuznach/Germany) at a pressure difference of 2.5 bars. Prior to filtration, the filter including the filter sheets was rinsed with hot water (80°C) for 20 min and cooled by rinsing with cold de-aerated water. To the resulting clear wort benzoic acid (puriss., p.a., 33047, Riedel-de Haen, Seelze/Germany) was added at a concentration of 500 mg/L for microbiological stabilization.

2.4 Design of release trial

As a control a volume of 800 mL of the obtained wort was filled into a Erlenmeyer flask (2 L) and sealed with Parafilm (Pechiney Plastic Packaging, Menasha WY/USA). Further, an amount of 6.4 g homogenized hot trub as is was added to a volume of 1,600 mL of the obtained wort and thoroughly mixed by shaking. This was at a final concentration of wet hot trub of 4,000 mg/L, which corresponds to 800 mg d.m./L. In order to disperse the trub, the suspension was shaken thoroughly and then divided in two equal portions, each of which was filled into an Erlenmeyer flask (2 L) and sealed with Parafilm. All flasks were placed on a shaker (Guwina-Hoffmann, Berlin/Germany) and gently agitated (intensity: 75 units) at room temperature to keep the suspension permanently in motion. In order to vary experimental conditions, an ethanol content of 5 % by vol. was achieved by addition of 85 mL Ethanol (puriss., p.a., 32205, Reidel-de Haen, Seelze/Germany) to 1,600 mL of the wort prior to trub addition. In another trial, the wort pH value of 4.0 was achieved by adjusting the pH value to 4.0 by adding diluted hydrochloric acid (puriss., p.a., 84409, Fluka, Buchs SG/Switzerland). Finally, in a third trial the wort was adjusted to 5 %v/v ethanol and pH 4.0.

2.5 Sampling and sample preparation

Samples of the homogenized suspensions (ca. 200 mL) were taken at defined periods after the hot trub addition: 0.5, 4, 24 and 48 h. In another trial, additional sampling was carried out after 120 and 168 h. The samples were paper filtered (522 032, Machery-Nagel MN 514 1/4, Düren/Germany), since centrifugation (9,000 rpm, 20 min) was not sufficient to completely remove particles. The clarified samples were chilled to 0°C (fatty acids, pH, extract) or deep frozen (Zn, Mg) until analyses. When the fatty acid content of the suspension (including trub particles) was the subject of investigation, the filtration step was skipped.

2.6 Analyses

Wort analyses were carried out according to MEBAK II 2.14 (pH), 2.10.2.3 (extract) [55], MEBAK III 4.6 (Zn) and 4.8 (Mg) [70]. The content of long-chain fatty acids (C14-C18:3) in wort

samples was detected by solid-phase extraction, diazomethane methylation and GC/MS analysis according to a method published earlier [79].

3 Results and discussion

3.1 Long-chain fatty acids in wort throughout the brewhouse procedure (brewery A)

Due to degradation processes of mashing a high amount of long-chain fatty acids (C14-C18:3: >25 mg/L) was released to mash (Fig. 1). The mash values represent the highest overall values during brewhouse procedure, i.e., during the following steps the concentrations were subsequently lowered due to further mash and wort treatment. As a filtration step, lautering did not only remove solids from the mash, since the spent grain layer also functions as a filter bed in order to partly adsorb dissolved and dispersed substances, confirming the observations of Mück [60]. This resulted in lower free fatty acid concentrations of the first wort of ca. 15–20 mg/L. The concentrations in the post runs as well as in the kettle-full worts were similar to this value confirming former findings [42]. However, if the extract content was considered the free fatty acid content related to extract increased dramatically as the extract value of the run-off decreased toward the end of lautering (not shown). When wort boiling was completed after 60 min, an amount of only ca. 5 mg/L remained in the wort. That is, during wort boiling the loss of free fatty acids was highest throughout the entire process with a decrease of 72 % in this brewhouse. This corresponds very well to the findings of Wackerbauer et al., Jones et al. and Forch discussed above. Since the sample preparation only allows a detection of dissolved free fatty acids, the binding of the great majority of fatty acids to hot trub after its formation during boiling or a degradation [1, 66] caused the free fatty acids to disappear to a significant extend after boiling, while the amount adsorbed to trub probably increased. Further on, the total free fatty acid content slightly decreased to around 3 mg/L in the cooled wort. The fact that there was hardly any difference in the detected concentration before and after the whirlpool operation showed that most of long-chain fatty acids were already bound to trub particles at that stage or degraded when entering the whirlpool. The value of 3 mg/L was quite high due to the old-fashioned equipment of the observed brewhouse. For more modern brewhouses and particularly more modern lauter systems, total long-chain fatty acid concentrations of 1–2 mg/L are rather typical in chilled worts and closer to the values published by Wackerbauer et al. [89].

When detecting the fatty acid profile of a wort prior to boiling, e.g. a first wort (Fig. 2), a dominance of linoleic acid (C18:2) and palmitic acid (C16) was typically observed, while all other fatty acids played only a minor role. In this case C18:2 concentrations (ca. 6 mg/L) are higher compared to the C16 concentrations (ca. 4 mg/L). This confirms the findings published earlier [1, 31, 60, 89].

3.2 Generation of a fatty acid and zinc-deficient wort by yeast treatment

The interaction of high yeast dosages with chilled wort (final concentration ca. $2 \cdot 10^7$ cells/mL) for a short time (ca. 1.5 h) lead to a slight depletion of long-chain fatty acids (C14-C18:3) from 0.67 to 0.50 mg/L on average. This depletion confirms the findings of Lie [47] and would probably be greater if contact time of yeast and wort had been extended [59, 85]. More distinct was the decrease of the wort zinc concentration from 0.13 to 0.05 mg/L

on average due to yeast contact, which confirms the finding of Kreder who detected a reduction in wort from 0.17 to 0.02 mg/L because of yeast exposure [41]. This observation shows the zinc adsorbing effect of yeast, which can be utilized to deplete a wort prior to a release trial. On the other hand, it suggests that for release experiments either with lipids or metals a contact with yeast should be avoided, since the presence of yeast influences wort composition.

3.3 Release of long-chain fatty acids

Figure 3 shows the average values of the total long-chain fatty acids dissolved in wort versus the time of contact of hot trub with wort. The arrow at the ordinate shows the average level of total fatty acids originally contained in wort without any treatment. Since the levels of fatty acids before and after yeast treatment depend on the level in the original wort and therefore vary, all values have been calculated corresponding to the level after yeast treatment ($t = 0$) as blank value, which is defined as "0". Already 30 min after the addition of hot trub to wort, a release of fatty acids was observed. The final value was reached after 4 h of contact at a concentration of 0.9 mg/L on average. All samples taken later on, after 24 and 48 h, did not show different values, therefore there is no indication of an increasing release over time. Additional sampling after 120 h (5 days) and 168 h (7 days) in other trials also did not indicate further release (not shown). Considering that growing yeast cells have a demand for fatty acids right from the start of fermentation [59, 85], and the fact that polyunsaturated fatty acids, such as linoleic acid, cannot be synthesized by the yeast cell itself [13, 58], the fast release of long-chain fatty acids seem to improve the supply of yeast with long-chain fatty acids.

In order to simulate the formation of ethanol and the decrease of pH during fermentation and also to investigate their impact on the release of fatty acids, wort with an ethanol content set to 5 %v/v or with the pH adjusted to 4.0 or both was applied. However, none of the variations caused a difference in fatty acid release. In terms of microbiology, the applied experimental set-up seemed to be stable for at least 48 h, while the risk of an infection seemed to increase for trials of longer periods (5 and 7 days), which was easily detectable by a pH decrease and observation of an opalescence in filtered samples.

As mentioned above, the applied experimental method allows only to observe free fatty acids dissolved in wort due to particle separation prior to analysis. Additionally, it might be interesting to investigate the potential of release in the suspension containing hot trub and wort. Therefore, in another trial the particle separation was skipped and the turbid suspensions were eluted without pre-treatment. As can be seen from Figure 4, the non-filtered samples showed much higher values of ca. 4 mg/L, which were gained 1 – 2 days after hot trub addition. This means that even after a first contact and release to wort there is still a high proportion of fatty acids bound to trub.

Beside the release of the total fatty acid amount it was also of interest to observe the composition of the released fatty acids. A typical fingerprint of the released fatty acids in filtered wort is presented in Figure 5. Here, as well as in case of the non-filtered wort (not shown), C16 and C18:2 dominate while all other fatty acids were of minor importance. This basically corresponds to the fingerprint of the first wort during brewhouse procedure (Fig. 2) and results published earlier [1, 31, 60, 89]. However, in contrast to these, the dominating released fatty acid observed here is C16, which might be due to differences in solubility in aqueous media.

As discussed above, several authors ascribe the nutrition properties of trub solids to the availability of unsaturated fatty acids in trub [1, 75, 83]. In conclusion of the experimental results presented here the fatty acid supply of yeast cells can be improved with an addition of hot trub to the fermenting wort.

3.4 Release of zinc and magnesium

Figure 6 presents the release of zinc in wort after addition of hot trub. The arrow at the ordinate shows the average zinc level originally contained in wort without any treatment. The value in the origin ($t = 0$) shows the average value of zinc after yeast treatment and complete separation of yeast. Since the levels of zinc before and after treatment depend on the level in the original wort and therefore vary, all values have been calculated corresponding to the level after yeast treatment as blank value, which is defined as "0".

Similar to the fatty acids, a release of zinc was observed only 30 min after hot trub addition to wort. After a contact time of 4 h the final value was reached at a concentration of 0.14 mg/L in average. All samples taken later on, after 24 and 48 h, did not show higher values, meaning the equilibrium was achieved after only ca. 4 h of intense contact. Even sampling after 120 h (5 days) and 168 h (7 days) in additional trials did not indicate a further release (not shown). Further trials with adjusted ethanol content (5 %v) and pH value (4.0) did not indicate any difference in zinc release, neither single nor in combination.

Beside zinc the release of magnesium was investigated in a pre-trial. Here, a significant depletion due to the yeast treatment could not be observed, which parallels the findings of Lie et al. for Mn and Fe ions [47]. The magnesium concentrations were within the range of 108 – 116 mg/L without indicating any significant difference due to the addition of hot trub. The high magnesium concentration in chilled wort is also an indication that magnesium is one of the metals which is not enriched in hot trub, and therefore, hot trub addition does not increase its level in wort after addition.

In conclusion these results mean that the addition of hot trub to wort can provide an amount of zinc which should be sufficient for yeast nutrition [16, 17, 80], even if wort was completely deficient of zinc.

4 Conclusion

Throughout the brewhouse procedure the content of long-chain fatty acids and zinc in wort decreases stepwise, with the mash having the highest overall values. That is, the fatty acid input into wort is determined by intensity of mashing and lautering, while the decrease of free fatty acid concentration is primarily determined by boiling, where a transfer from the liquid to the forming hot trub takes place. Correspondingly, zinc has a high affinity towards hot trub and is therefore strongly adsorbed. Finally, the hot trub containing high amounts of fatty acids and zinc is removed during whirlpool operation resulting in low final values in chilled wort. Thus the formation and removal of hot trub from wort are the rate-limiting steps for depleting the wort in fatty acids and zinc.

From this investigation it may be concluded that fatty acids as well as zinc are released very quickly from hot trub as soon as the trub is in contact with wort with both reaching their final concentrations after only ca. 4 h of contact under this experimental set-up. If the release kinetic in a fermentation tank is assumed to be similar, both nutrients would be available for the growing yeast right from the start of fermentation. The release of free fatty acids in a level of

0.9 mg/L means a supplementation of the chilled wort, whereas the non-filtered samples still containing hot-trub particles showed a potential for fatty acid release of around fourfold compared to the initial release. This potential should not be under-estimated when discussing yeast nutrition and possible quality impact on the resulting beers. The analogy of the fatty acid fingerprints of a brewhouse first wort and the trub loaded wort confirms the conclusion that fatty acids originally contained in the wort bind to hot trub as soon as the latter is formed during wort boiling. In case of adding hot trub to the fermentation tank, these fatty acids are released in a similar composition as they were in the brewhouse wort, to the fermenting wort to support yeast nutrition and increase fermentation performance.

In terms of zinc, the release of 0.14 mg/L from hot trub within 4 h of contact means a rapid and significant contribution to yeast nutrition. Even with cooled wort devoid of any zinc, this contribution would be enough to sufficiently supply yeast for a high fermentation performance. The high amount of released, i.e., dissolved zinc also gives an indication of zinc being loosely bound to the trub particles and therefore having a high bio-availability to yeast which confirms former findings. On the other hand, no additional release of magnesium could be found due to hot trub application.

A good supply of yeast nutrients provides a proper and fast fermentation, which is a requirement for high stabilities of the resulting beer (flavor, non-biological, foam and microbiological stability). Therefore, if long-chain fatty acids or zinc are the limiting factor concerning a proper fermentation performance, the supply of long-chain fatty acids and zinc may be improved by an addition of hot trub to the fermenting wort, as was shown by the release trials in this investigation. On the other hand, when a recommended dosage of hot trub is supposed to be defined the flavor-active degradation products of trub components influencing beer quality and particularly flavor stability have to be considered as well. Finally, the quantification can only be done based on the individual conditions in the particular brewery, such as the applied raw material composition (all-malt or adjuncts addition), the yeast management (yeast vitality, number of generations, fermentation performance), the fermentation conditions (original gravity, temperature, pressure), and the characteristics of the resulting beer (aroma profile, flavor matrix, flavor thresholds).

5 Acknowledgements

The authors would like to thank Mr Clemens Schmidt for his assistance during the trials. The help of Mr John Brauer of Brewing Research international in proofreading the English manuscript is hereby acknowledged. We are also grateful to the "Wissenschaftliche Station für Brauerei in München e.V." for their great financial support.

6 References

1. Ahvenainen, J.; Vehviläinen, H.; Mäkinen, V.: Einfluß der Trubentfernung auf die Gärung und Bierqualität. Mschr. Brauerei 32 (1979), No. 6, p. 141 – 144.
2. Anness, B. J.; Reed, R. J. R.: Lipids in The Brewery – A Material Balance. J. Inst. Brew. 91 (1985), No. 3/4, p. 82 – 87.
3. Anness, B. J.; Reed, R. J. R.: Lipids in Wort. J. Inst. Brew. 91 (1985), No. 9/10, p. 313 – 317.

4. Anon.: Wort Boiling and Clarification. Manual of Good Practice. EBC (2000), p. 11, Fachverlag Hans Carl. Nürnberg, Germany.
5. Ault, R. G.; Whitehouse, A. G. R.: Determination of Zinc in Beer and Brewing Materials. J. Inst. Brew. 58 (1952), p. 136 – 139.
6. Äyräpää, T.: Lipids in Wort Brewed With Adjuncts For Bottom Brewing. EBC Wort Symposium, Monograph I (1974), No. 16, p. 278 – 284, European Brewery Convention. Zoeterwoude, The Netherlands.
7. Badings, H. T.: Kaltlagerungsfehler in Butter und ihre Beziehung zur Autoxidation von ungesättigten Fettsäuren, Dissertation, H. Veeman und Zonen N. V., Wageningen, 1970.
8. Bertuccioli, M.; Rosi, I.: Progress in Flavour Research. In: Adda, J.: Developments in Food Science. Vol. 10, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, 1984, p. 387.
9. Biermann, U. K.: Über Menge und Zusammensetzung des Kochtrubes in Abhängigkeit von technologischen Verfahren, Dissertation, TU München, 1984, p. 9 – 154.
10. Cantrell, I. C.; Anderson, R. G.: Yeast Performance in Production Fermentations. Proc. 19th EBC (1983), No. 13, p. 481 – 488, IRL Press Limited. Oxford, England.
11. Carpentier, B.; van Haecht, J. L.; Dufour, J. P.: Influence of the Trub Content of the Pitching Wort on Yeast By-Products Synthesis. Proc. Inst. Brew., Centr. & South African Sect. 3 (1991), p. 144 – 149.
12. Chandrasena, G.; Staines, H. J.; Walker, G. M.: Use of Response Surfaces to Investigate Metal Ion Interaction in Yeast Fermentations. J. Am. Soc. Brew. Chem. 55 (1997), p. 24 – 29.
13. Daum, G.; Tuller, G.; Nemeč, T.; Hraštnik, C.; Balliano, G.; Cattel, L.; Milla, P.; Rocco, F.; Conzelmann, A.; Vionnet, C.; Kelly, D. E.; Kelly, S.; Schweizer, E.; Schuller, H. J.; Hojad, U.; Greiner, E.; Finger, K.: Systematic analysis of yeast strains with possible defects in lipid metabolism. Yeast 15 (1999), No. 7, p. 601 – 614.
14. Daveloose, M.: An Investigation of Zinc Concentrations in Brewhouse Worts. MBAA Techn. Quart. 24 (1987), p. 109 – 112.
15. Dominguez, X. A.; Canales, A. M.: Oxidation of Beer. A Rational Mechanism for the Degradation of Unsaturated Fatty Acids and the Formation of Unsaturated Aldehydes. Brewers Digest 49 (1974), No. 7, p. 40 – 47.
16. Donhauser, S.; Wagner, D.: Möglichkeiten der Beeinflussung des Zinkgehaltes der Würze. Mschr. Brauwissenschaft 39 (1986), No. 6, p. 223 – 230.
17. Donhauser, S.; Wagner, D.; Linsenmann, O.: Hefezink bei konventionellen und Druckgärverfahren. Brauwelt 122 (1982), No. 34, p. 1464 – 1472.
18. Drost, B. W.; van Eerde, P.; Hockstra, S. F.; Strating, J.: Fatty Acids and Staling of Beer. Proc. 13th EBC (1971), p. 451-458, Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands.
19. Eiber, P.: Würzekochung und Eiweißkoagulation unter besonderer Berücksichtigung von Druck und Temperatur sowie der Heizflächenverhältnisse, Dissertation, TU München, 1958, p. 12 – 13.
20. Eils, H.-G.: Über den Einfluß der Sudhauseinrichtung auf die Beschaffenheit von Würze und Bier, Dissertation, TU München, 1994, p. 40, 120 – 124.
21. Forch, M.; Runkel, U.-D.: Die Bedeutung der Würzelipide für die Bierqualität und Möglichkeiten zu ihrer quantitativen Beeinflussung. EBC Wort Symposium, Monograph I (1974), No. 15, p. 258 – 265, European Brewery Convention. Zoeterwoude, The Netherlands.
22. Frey, S. W.; DeWitt, W. G.; Bellamy, B. R.: The Effects of Several Trace Metals on Fermentation. Proc. Am. Soc. Brew. Chem. (1967), p. 199, Bruce Publishing Co. St. Paul, Minnesota/USA.

23. Graf, H.: Carbonyl und Alterung des Bieres, Dissertation, TU München, 1984, p. 87 – 96.
24. Greffin, W.; Krauß, G.: Schrotten und Läutern. II. Arbeit mit konventioneller Trockenschrotmühle und Läuterbottich - eine Literaturübersicht. Mschr. Brauerei 31 (1978), p. 192 – 212.
25. Grill, W.; Püspök, J.: Die freien höheren Fettsäuren bei der Verarbeitung von Rohfrucht. Proc. 16th EBC (1977), p. 195 – 209, DSW. Dordrecht, The Netherlands.
26. Hammond, J.: Yeast Growth and Nutrition. In: Smart, K.: Brewing Yeast Fermentation Performance, 1st ed., Blackwell Science Ltd. Oxford, England, 2000, p. 77 – 85.
27. Helin, T. R. M.; Slaughter, J. C.: Minimum Requirements for Zink and Manganese in Brewer's Wort. J. Inst. Brew. 83 (1977), p. 17 – 19.
28. Hough, J. S.; Briggs, D. E.; Stevens, R.; Young, T. W.: Factors Affecting Fermentations. In: Malting and Brewing Science, 2nd ed., Chapman and Hall. London, 1982, p. 645 – 648.
29. Jacobsen, T.; Lie, S.; Hage, T.: Wort Quality and Zink Content of Malt. Proc. 18th EBC (1981), p. 97 – 104, IRL Press Limited, London, England.
30. Jacobsen, T. H.; Hage, T.; Lie, S. A.: A Fermentation Assay for Wort Element Availability. J. Inst. Brew. 88 (1982), p. 387 – 389.
31. Jones, M. O.; Cope, R.; Rainbow, C.: Changes in the Free Fatty Acids and Other Lipids of Wort During Boiling and Fermentation. Proc. 15th EBC (1975), p. 669 – 681, Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands.
32. Just, F.; Bogs, B.; Drews, B.: Neuere Untersuchungen über den Trub. Proc. 7th EBC (1959), p. 358 – 363, Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands.
33. Kirby, K.; Williams, P. M.; Wheeler, R. E.; Jones, M.: The Importance of the Polyphenols of Barleys and Malts in Beer Sediment and Haze Formation. Proc. 16th EBC (1977), No. 34, p. 415 – 427, DSW. Dordrecht, The Netherlands.
34. Kirsop, B. H.: Pitching Rate. Brewers Digest 53 (1978), No. 7, p. 28 – 32.
35. Kirsop, B. H.: Fermentation: From Beer to Wort. EBC Fermentation and Storage Symposium, Monograph V (1978), p. 3 – 16, Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands.
36. Klopper, W. J.: Wort Composition, A Survey. EBC Wort Symposium, Monograph I (1974), No. 1, p. 8 – 24, European Brewery Convention. Zoeterwoude, The Netherlands.
37. Klopper, W. J.; Tuning, B.; Vermeire, H. A.: Free Fatty Acids in Wort and Beer. Proc. 15th EBC (1975), p. 659 – 667, Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, The Netherlands.
38. Köhler, P.; Krottenthaler, M.; Herrmann, M.; Kessler, M.; Kühbeck, F.: Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren. Brauwelt 145 (2005), No. 6, p. 143 – 150.
39. Krauß, G.; Forch, M.; Holstein, H.: Über das Schicksal einiger Malzlipide während der Gärung. Mschr. Brauerei 28 (1975), No. 10, p. 229 – 237.
40. Krauß, G.; Zürcher, C.; Holstein, H.: Die schaumzerstörende Wirkung einiger Malzlipide und ihr Schicksal im Verlauf des Mälzungs- und Brauprozesses. Mschr. Brauerei 25 (1972), No. 5, p. 113 – 123.
41. Kreder, G. C.: Yeast Assimilation of Trub-Bound Zinc. J. Am. Soc. Brew. Chem. 57 (1999), No. 4, p. 129 – 132.
42. Kühbeck, F.; Schütz, M.; Krottenthaler, M.; Back, W.: Influence of Lauter Turbidity and Hot Trub on Wort Composition, Fermentation, and Beer Quality. J. Am. Soc. Brew. Chem. 64 (2006), No. 1, p. 16 – 28.
43. Lafon-Lafourcade, S.; Larue, F.; Ribereau-Gayon, P.: Evidence for the Existence of "Survival Factors" as an Explanation for Some Peculiarities of Yeast Growth, Especially in Grape Must of High Sugar Concentration. Applied and Environmental Microbiology 38 (1979), No. 6, p. 1069 – 1073.
44. Lentini, A.; Takis, S.; Hawthorne, D. B.; Kavanagh, T. E.: The Influence of Trub on Fermentation and Flavour Development. Proc. Inst. Brew., Asia Pacific Sect. 23 (1994), p. 89 – 95.
45. Letters, R.: Lipids in Brewing, Friend or Foe? Ferment 5 (1992), p. 268 – 274.
46. Lie, S.; Haukeli, A. D.; Jakobsen, T.: Nitrogenous Compounds in Wort. EBC Wort Symposium, Monograph I (1974), p. 25 – 40, European Brewery Convention. Zoeterwoude, The Netherlands.
47. Lie, S.; T., J.: The Absorption of Zink by Brewer's Yeast. Proc. 19th EBC (1983), No. 15, p. 145 – 151, IRL Press Limited. Oxford, England.
48. Macey, A.; Stowell, K. C.; White, H. B.: Use of Formaldehyde for the Reduction of the Anthocyanogen Content of Wort. J. Inst. Brew. 72 (1966), p. 29 – 35.
49. Maddox, I. S.; Hough, J. S.: Effect of Zinc and Cobalt on Yeast Growth and Fermentation. J. Inst. Brew. 76 (1970), No. 3, p. 262 – 264.
50. Mändl, B.; Wullinger, F.; Rütthlein, M.; Heyse, K.-U.: Der Einfluß von Zink auf das Verhalten untergäriger Brauereihefen. Der Weihenstephaner 47 (1979), p. 84 – 96.
51. Marx, G.; Scopel, S.; Wackerbauer, K.: Kochtrubabscheidung, Entfernung und Rückgewinnung der enthaltenen Würze. Brauwelt 125 (1985), No. 33, p. 1697 – 1702.
52. Meilgaard, M. C.: Stale Flavor Carbonyls in Brewing. Brewers Digest 47 (1972), No. 4, p. 48 – 62.
53. Meilgaard, M. C.; Ayma, M.: A Study of Carbonyl Compounds in Beer. IV. Carbonyl Compounds Identified in Heat-treated Wort and Beer. ASBC Proceedings 29 (1971), p. 219 – 229.
54. Meyer, L.: Über den Einfluß der Trubseparierung auf die Organoleptik des Bieres, Diplomarbeit, TU München, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, 1978, p. 4 – 8.
55. Miedaner, H.: Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysekommision (MEBAK). 4th ed., Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, 2002, p. 74 – 75, 90 – 92.
56. Mishra, P.; Prasad, R.: Relationship between Ethanol Tolerance and Fatty Acyl Composition of *Saccharomyces Cerevisiae*, Applied Microbiology and Biotechnology 30 (1989), No. 3, p. 294 – 298.
57. Möller-Hergt, G.: Die Bedeutung der Hydroxyfettsäuren bei der Bierherstellung, Dissertation, TU Berlin, 1999, p. 45 – 48.
58. Moonjai, N.; Verstrep, K. J.; Delvaux, F. R.; Derdelinckx, G.; Verachert, H.: The Effects of Linoleic Acid Supplementation of Cropped Yeast on its Subsequent Fermentation Performance and Acetate Synthesis. J. Inst. Brew. 108 (2002), No. 2, p. 227 – 235.
59. Moonjai, N.; Verstrep, K. J.; Shen, H.-Y.; Derdelinckx, G.; Verachert, H.; Delvaux, F. R.: Uptake of Linoleic Acid by Cropped Brewer's Yeast and Its Incorporation in Cellular Lipid Fractions. ASBC Proceedings 61 (2003), No. 3, p. 161 – 168.
60. Mück, E. A.: Über das Verhalten der Fettsäuren beim Brauprozess, Dissertation, TU München, 1985, p. 58, 60, 67, 83, 100 – 103.
61. Nadzeyka, A.: Isolierung von Bierproteinen und Untersuchung ihrer Bedeutung für die Trübung des Bieres, Dissertation, RWTH Aachen, 1977, p. 88 – 90.

62. Narziß, L.: Abriß der Bierbrauerei, 3rd ed., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1972, p. 161.
63. Narziß, L.: Die Bierbrauerei, 7th ed., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1992, p. 319 – 320.
64. Narziß, L.; Barth, D.; Yamagishi, S.; Heyse, K.-U.: Über den Einfluß des Maischverfahrens auf die Lösung von Stickstoffsubstanzen und Zink in Maische und Würze. *Brauwissenschaft* 33 (1980), No. 9, p. 230 – 237.
65. Narziß, L.; Krüger, R.; Krauß, T.: Technologischer und wirtschaftlicher Vergleich von Abläuternsystemen. Proc. 18th EBC Congress (1981), p. 137 – 152, IRL Press Limited. Oxford, England.
66. Narziß, L.; Mück, E.: Das Verhalten der langkettigen freien Fettsäuren beim Würzekochen und bei der Würzebehandlung. *Mschr. Brauwissenschaft* 39 (1986), No. 7, p. 252 – 257.
67. Narziß, L.; Sekin, Y.: Über die Entwicklung der Peroxidase während des Mälzungs- und Brauprozesses. *Brauwissenschaft* 27 (1974), No. 6, p. 155 – 164.
68. Nielsen, H.: The Importance of Running Clear Lauter Wort. *MBAA Techn. Quart.* 10 (1973), No. 1, p. 11 – 16.
69. Otoguro, K.; Awaya, J.; Tanaka, H.; Omura, S.: Saturated Fatty Acid-Starved Cells of *Saccharomyces cerevisiae* Grown in the Presence of Cerulenin and Oleic Acid. *Journal of Biochemistry* 89 (1981), No. 2, p. 523 – 529.
70. Pfenninger, H.: Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK). 3rd ed., Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, 1997, p. 131 – 132, 135 – 136.
71. Reed, R. J. R.: The Influence of Hot and Cold Break Formation on Whirlpool Operation and Fermentation. *Ferment* 1 (1988), No. 6, p. 39 – 42.
72. Rosi, I.; Bertuccioli, M.: Influences of Lipid Addition on Fatty Acid Composition of *Saccharomyces cerevisiae* and Aroma Characteristics of Experimental Wines. *J. Inst. Brew.* 98 (1992), No. 7/8, p. 305 – 314.
73. Royston, M. G.: Wort Boiling and Cooling. In: Findlay, W. P. K.: *Modern Brewing Technology*, MacMillan Press, London, 1971, p. 77 – 79.
74. Sandermann, H. J.: Regulation of Membrane Enzymes by Lipids. *Biochimica et Biophysica Acta* 515 (1978), No. 3, p. 209 – 237.
75. Schisler, D. O.; Ruocco, J. J.; Mabee, M. S.: Wort Trub Content and Its Effects on Fermentation and Beer Flavor. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 40 (1982), No. 2, p. 57 – 61.
76. Schuster, I.: Die höherem freien Fettsäuren bei der Würzebereitung und ihr Einfluß auf die Gärung und die Bierbereitung, Dissertation, TU München, 1985, p. 19, 23.
77. Schuster, K.: Die Technologie der Würzebereitung, 4th ed., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1963, p. 289.
78. Schuster, K.; Raab, H.: Über die Bedeutung von Polyphenolderivaten der Gerste bzw. des Malzes. *Brauwissenschaft* 14 (1961), No. 5/6, p. 246 – 252.
79. Schütz, M.; Back, W.: The Influence of Mash Acidification on Long Chain Fatty Acid Content in Wort Determinated by a New Developed Method. *Mschr. Brauwissenschaft* 58 (2005), No. 2, p. 6 – 10.
80. Schütz, M.; Hartmann, K.; Herrmann, M.; Keßler, M.; Kreisz, S.; Krottenthaler, M.; Mezger, R.; Schneeberger, M.; Thiele, F.; Zarnkow, M.; Back, W.: Analytische Kontrollmöglichkeiten zur Optimierung technologischer Prozesse. Teil I. *Brauwelt* 146 (2006), No. 8/9, p. 216 – 220.
81. Siebert, K. J.; Blum, P. H.; Wisk, T. J.; Stenroos, L. E.; Anklam, W. J.: The Effect of Trub on Fermentation. *MBAA Tech. Quart.* 23 (1986), p. 37 – 43.
82. Takahashi, Y.: Pilotversuche über den Einfluß verschiedener Maischparameter auf die Eigenschaften der Würze und des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität, Dissertation, TU München, 1996, p. 177.
83. Taylor, G. T.; Thurston, P. A.; Kirsop, B. H.: The Influence of Lipids Derived from Malt Spent Grains on Yeast Metabolism and Fermentation. *J. Inst. Brew.* 85 (1979), No. 4, p. 219 – 227.
84. Thomas, D. S.; Hossak, J. A.; Rose, A. H.: Plasma-Membrane Lipid-Composition and Ethanol Tolerance in *Saccharomyces-Cerevisiae*. *Archives of Microbiology* 117 (1978), p. 239 – 245.
85. Thurston, P. A.; Quain, D. E.; Tubb, R. S.: Lipid Metabolism and the Regulation of Volatile Ester Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.* 88 (1982), No. 2, p. 90 – 94.
86. Thurston, P. A.; Taylor, R.; Ahvenainen, J.: Effects of Linoleic Acid and Supplements on the Synthesis by Yeast of Lipids and Acetate Esters. *J. Inst. Brew.* 87 (1981), No. 2, p. 92 – 95.
87. Tressl, R.; Bahri, L.; Silwar, R.: Bildung von Aldehyden durch Lipidoxidation und deren Bedeutung als "off-flavor"-Komponenten in Bier. Proc. 17th EBC (1979), No. 2, p. 27 – 41, DSW, Dordrecht, The Netherlands.
88. Wackerbauer, K.; Bender, G.: Die Bedeutung der freien Fettsäuren und Fettsäure-Äthylester während der Gärung und Lagerung. *Mschr. Brauwissenschaft* 36 (1983), No. 4, p. 152 – 158.
89. Wackerbauer, K.; Bender, G.; Poloczek, K.: Die Beeinflussung der freien Fettsäuren durch die technologischen Parameter bei der Sudhausarbeit. *Mschr. Brauwissenschaft* 36 (1983), No. 1, p. 18 – 25.
90. Wainwright, T.: Effect of Barley and Malt Lipids on Beer Properties. EBC Symposium on the Relationship between Malt and Beer, Monograph VI (1980), p. 118 – 128, Brauwelt-Verlag. Nürnberg, Germany.
91. Walker, G.: Role of Metal Ions in Brewing Yeast Fermentation Performance. In: Smart, K.: *Brewing Yeast Fermentation Performance*. Blackwell Science Ltd, Oxford, 2000, p. 86 – 91.
92. Witt, P. R.; Burdick, A.: Lipids in Brewing and Brewing Materials. *ASBC Proceedings* (1963), p. 104.
93. Yonigins, A.; Rose, A. H.: Sterol Uptake by Anaerobically Grown *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 5 (1989), p. 459 – 463.
94. Zangrando, T.: Über den Einfluß der Klarheit der Läuterwürze auf die Bierqualität. Mitteilungen der Versuchsanstalt für das Gärungsgewerbe in Wien 32 (1978), No. 9/10, p. 101 – 105.
95. Zürcher, J.: Der Einfluß des Blattkeims von Gerstenmalz auf die Geschmacksstabilität und weitere Qualitätsmerkmale von Bier, Dissertation, TU München, 2003, p. 24.

Received 02. 03. 2006, accepted 13. 03. 2006

Appendix

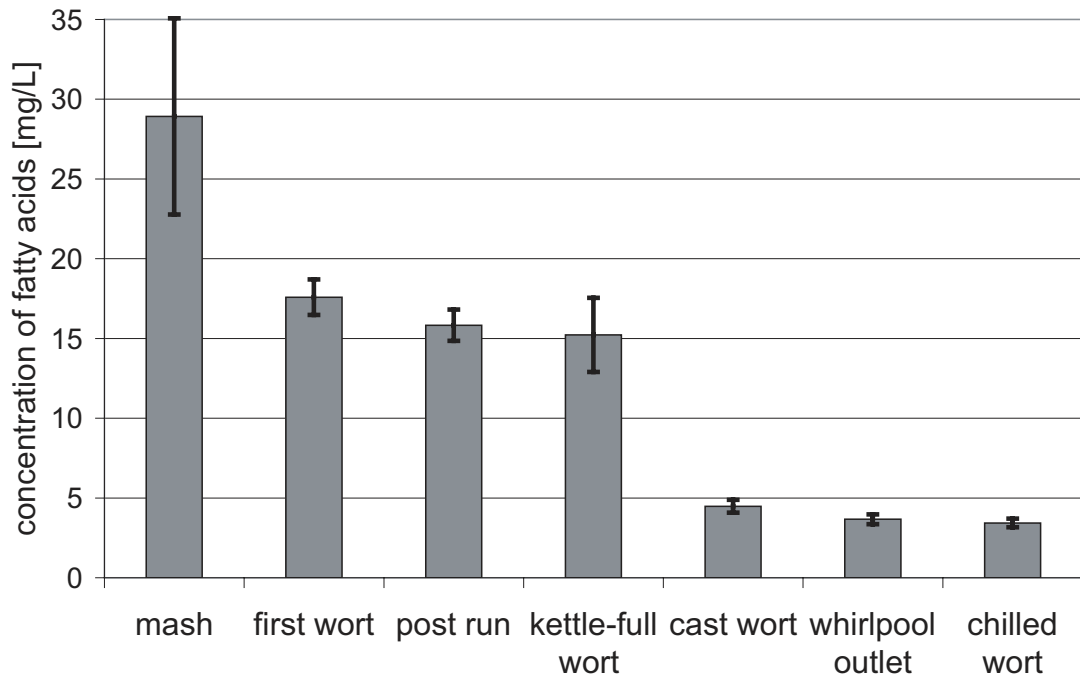


Fig. 1: Total concentration of free long-chain fatty acids (C14-C18:3) in mash and wort throughout an industrial brewhouse procedure (n = 4, p = 0.95)

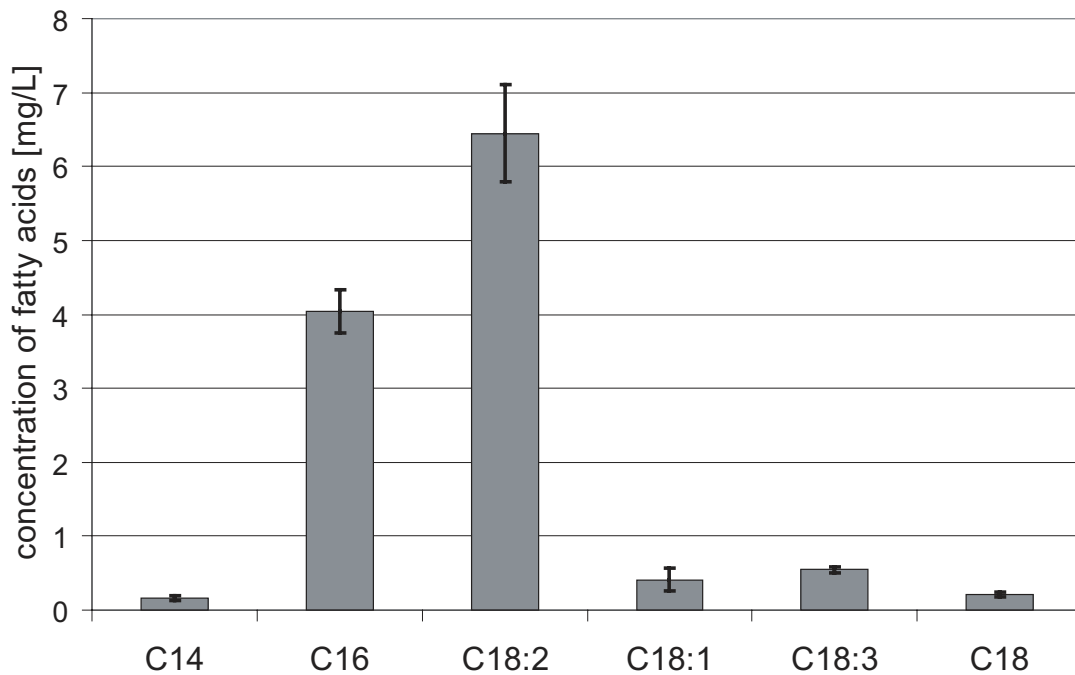


Fig. 2: Fingerprint of free long-chain fatty acids (C14-C18:3) in first wort of an industrial brewhouse procedure (n = 4, p = 0.95)

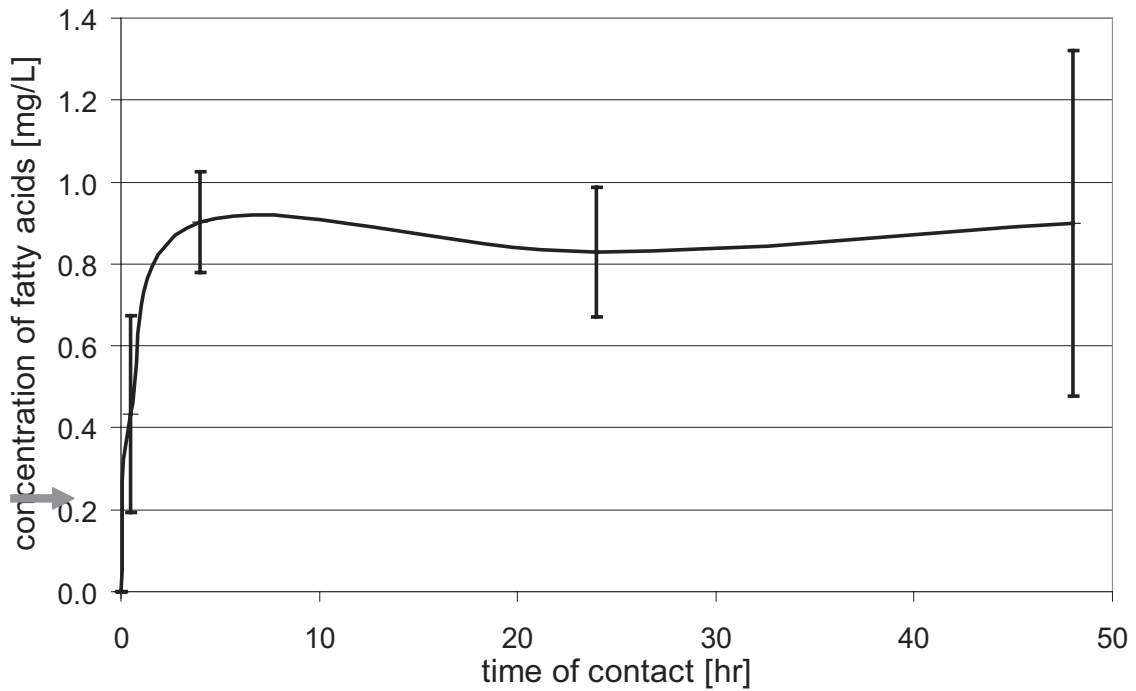


Fig. 3: Release of free long-chain fatty acids (C14-C18:3) after addition of hot trub to wort (800 mg/L (d.m.) at $t = 0$) vs. contact time of trub and wort ($n = 6$, $p = 0.95$). The arrow indicates the original content in wort prior to yeast treatment, while the origin of the diagram ($t = 0$) represents the value after yeast treatment right before trub addition. For each trial the fatty acid concentration at $t = 0$ was set to "0" and all other values relate to this set point.

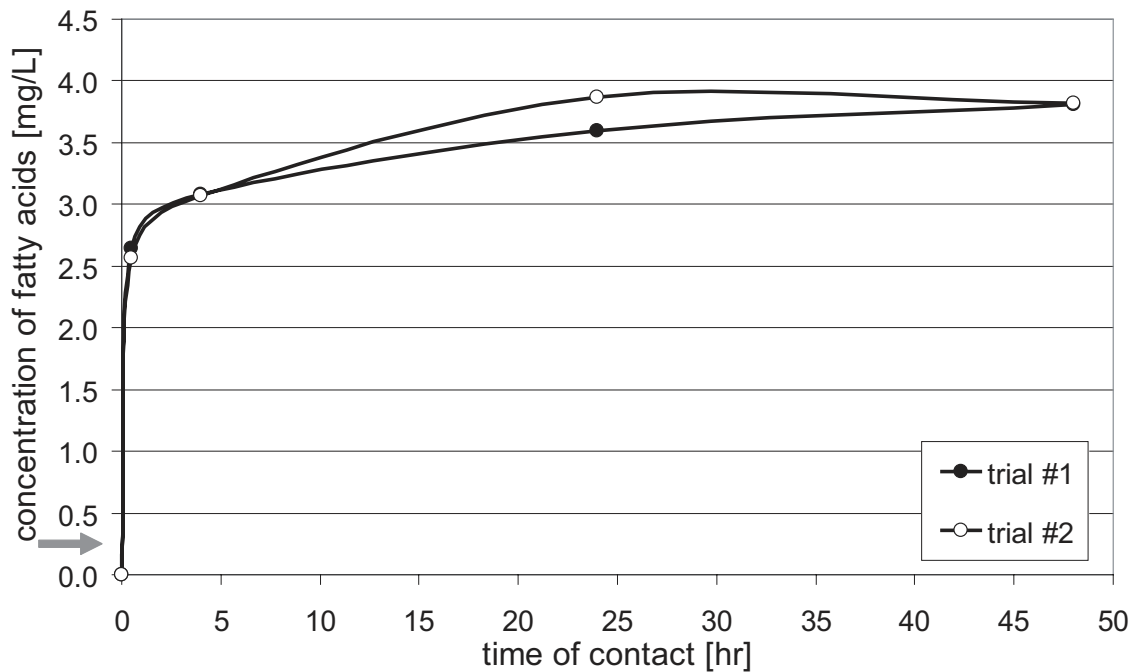


Fig. 4: Long-chain fatty acids (C14-C18:3) in suspension after addition of hot trub to wort (800 mg /L (d.m.) at $t = 0$; no separation of trub particles) vs. contact time of trub and wort. The arrow indicates the original content in wort prior to yeast treatment, while the origin of the diagram ($t = 0$) represents the value after yeast treatment right before trub addition. For each trial the fatty acid concentration at $t = 0$ was set to "0" and all other values relate to this set point.

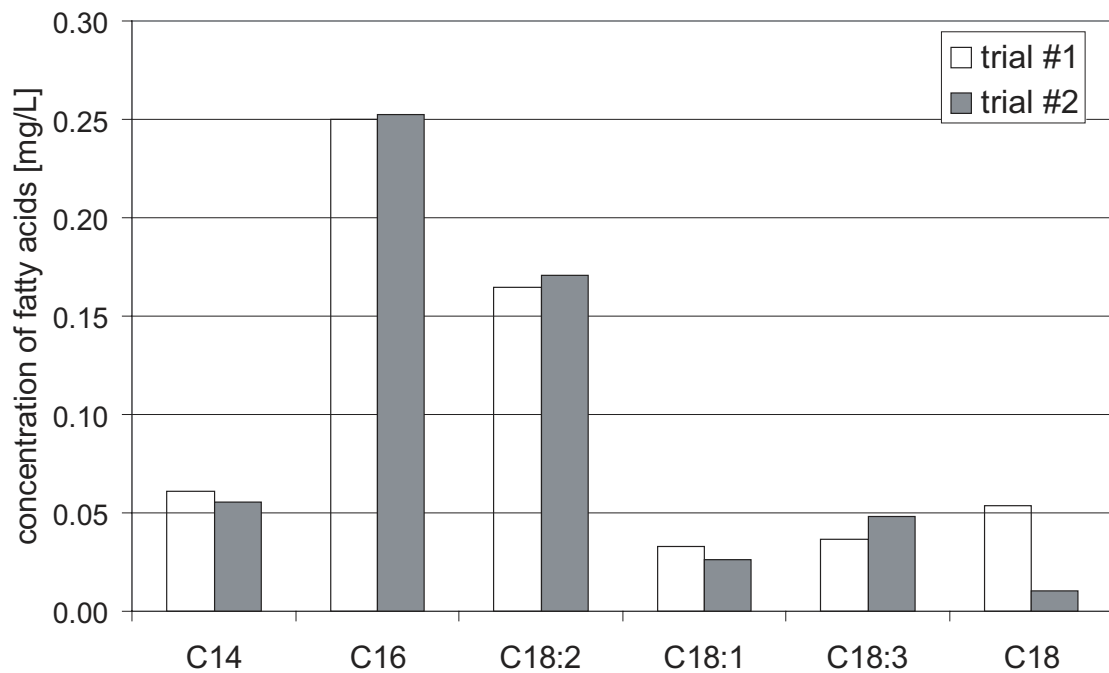


Fig. 5: Fingerprint of released free long-chain fatty acids (C14-C18:3) after addition of hot trub to wort (800 mg/L (d.m.)); filtered samples, $t = 4$ hr)

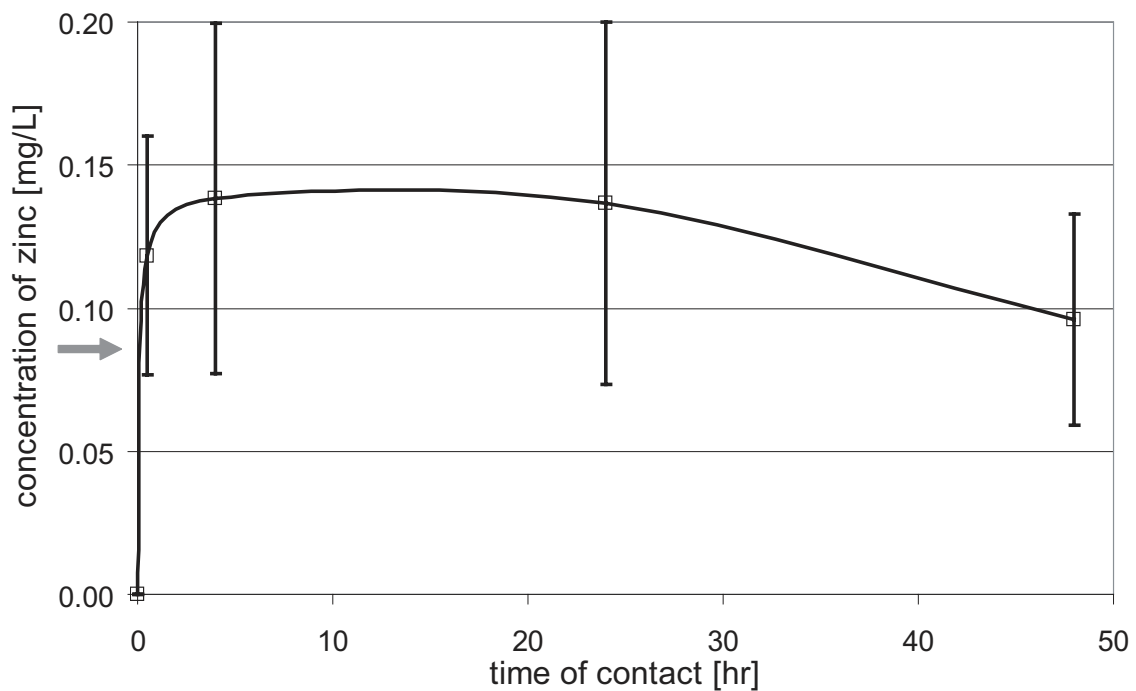


Fig. 6: Release of zinc after addition of hot trub to wort (800 mg/L (d.m.) at $t = 0$) vs. contact time of trub and wort ($n = 6$, $p = 0.95$). The arrow indicates the original content in wort prior to yeast treatment, while the origin of the diagram ($t = 0$) represents the value after yeast treatment right before trub addition. For each trial the zinc concentration at $t = 0$ was set to "0" and all other values relate to this set point

Particle Size Distribution in Wort During Large Scale Brewhouse Operations

F. Kühbeck, W. Back, and M. Krottenthaler

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Germany

T. Kurz

Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, Fachgebiet Lebensmittelverfahrenstechnik, Technische Universität Berlin, Amrumer Str. 32, D-13353 Berlin, Germany

DOI 10.1002/aic.11163

Published online March 27, 2007 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

*This investigation highlights the application of particle size distribution measurement in the brewing process steps of mash separation, wort boiling, and wort clarification. Large-scale trials carried out in seven industrial operations applying different process techniques resulted in the appearance of fine (5 μm), medium (20–25 μm), and coarse particles (>200 μm). During mash separation, the medium and coarse particles were removed while fine particles became dominant and were responsible for the remaining lauter turbidity. Further, prior to start of wort boiling medium particles representing hot trub are formed while the relative portion of fine particles is reduced. This formation is substantially completed when wort boiling temperature is reached, a fact not conforming to current expectations. The coarse particles occurring during wort boiling were identified as originating from hop pellets, while the addition of soluble hop extracts did not cause this signal. Finally, wort clarification by whirlpooling, which is a hydrodynamic separation step, could be described by reduction of coarse and partly of medium particles, while fine particles dominate the resulting wort. The particulate changes observed seem to correlate with chemical analytes conventionally used to characterize these process steps. © 2007 American Institute of Chemical Engineers *AIChE J*, 53: 1373–1388, 2007*

Keywords: brewing, particles, separation, thermal treatment

Introduction

In contrast to turbidity measurements, which provide only an indication of the overall content of a sample, particle size distributions increase analytical information by providing additional structural information. A comparison between a particle size and a turbidity measurement was presented by Annemüller et al.¹ While the measurement of turbidity detects the properties of the substances causing turbidity in toto, particle size

measurement detects single particles in terms of their number and size. Therefore, the selectivity of particle sizing is higher compared with turbidity measurement. When dealing with low particle concentrations, particle sizing shows higher accuracy vs. turbidity measurement, however, only turbidity measurement allows calibration and measurement for higher solid contents [$>150,000$ particles ($>1 \mu\text{m}$)/mL]. Particle sizing is independent of the color of the medium, whereas turbidity measurement is not. While particles of $<1 \mu\text{m}$ are difficult to detect, turbidity measurement also detects colloidal turbidity.¹ Overall, particle size measurement may allow further information to be gained to describe and improve the process engineering, e.g., applied in the brewing industry.

Correspondence concerning this article should be addressed to F. Kühbeck at Florian.Kuehbeck@wzw.tum.de.

While the measurement of turbidity is widespread in the field of brewing, the measurement of particle size distribution is used only rarely. This was due to the lack of affordable equipment in the past. The state-of-the-art equipment available today is highly sophisticated, allowing fully automated data processing, and therefore provides an easy to handle and reliable method. However, for technical reasons, such as heat sensitivity and need for precise alignment of the optical components, it is still a wish to apply the system online in practical brewing operations.

Regarding the measurement and technological relevance of turbidity or particle size distributions in the field of brewing the following applications are known: grist fineness,^{2–5} mash,^{2,3,6–9} wort,^{10–13} spent grain press liquor,¹⁴ hot trub,^{15–21} cold trub,^{22–28} beer filtration properties,^{29–31} and final beers.^{13,32–34} Additionally, properties of the raw materials and their influence on the brewing process were investigated.^{35–37} Wort clarification operations were described by particle or turbidity measurements for hot wort (whirlpooling)^{38–42} and cold wort (cold trub separation).^{23,24,43} Particles occurring during fermentation and their properties were also the focus of research.^{44–49} In terms of the final beers, the nonbiological stability of filtered beer,^{50–52} chill haze,^{53–55} and the stability of yeast containing wheat beers^{37,56–58} were of particular interest. Beside the intermediate and final products of beer processing, such as wort and beer, particle size distribution measurements were applied to characterize process aids such as kieselguhrs, poly(vinylpyrrolidone), and others.^{1,13,59–63} Although particle size distribution measurements were used for research purposes, they never found much favor in industrial beer production applications as a routine method for reasons mentioned earlier.

In more detail, Lotz et al. undertook particle size distributions of ground malt and found particle sizes of <5 and ~20 μm as being dominant.⁵ Stewart and Martin investigated the particle size distribution of a cloudy all-malt wort produced in a pilot brewery, which was not boiled and no hops were added. They found a wide volume distribution from <0.1 to 100 μm in diameter, with the largest percentage of particles being around 7 μm .¹³ For spent grain press liquor, particle sizes range from 0.25 to 100 μm with more than 50% thereof being smaller than 8 μm . The origin of these particles is seen in fragments of proteinaceous membranes.¹⁴ According to van Haecht et al. the volume of sedimentable matters in wort after boiling depends on the intensity of turbid wort pumping during mash separation and on the boiling time.⁴¹ In terms of the particle size of hot trub a range of 30–80 μm is reported, which was published already in 1937 by Enders and Spiegl^{15,16} and was confirmed by others.^{17,18} Ghosh and Sommer investigated into cold trub and its flotation and found median values from 8 to 9 μm .^{23,43}

As a result, investigations regarding the particle size distribution of selected samples throughout the brewing process were presented in the past. However, in most of the cases detailed information in terms of the respective brewing process (e.g. mash separation method, wort turbidity, boiling parameters, wort clarification) are missing. Further, there is a lack of information regarding the particle size distribution in wort along the brewhouse procedure, particularly for mash separation, wort boiling, and wort clarification as subsequent process steps. Additionally, it has to be considered that from the brewing engineering point of view quite a big number of innovative

Table 1. Technological Key Figures of Wort Boiling for All-Malt Beers^{104,105}

| Parameter | Setpoint of Cast Wort | Setpoint of Chilled Wort |
|---------------------------|-----------------------|--------------------------|
| N coag., mg/L | 15–25 | – |
| TBAN | <45 | <60 |
| dTBAN (to kettle-up) | ≤15 | – |
| DMS free, $\mu\text{g/L}$ | <100 | <100 |

N coag., coagulable high molecular nitrogen compounds; TBAN, thiobarbituric acid number; dTBAN, increase of TBAN value during wort boiling; DMS, dimethyl sulfide.

mash separation and boiling techniques were implemented in the last two decades. These include improvements of the classic lauter tun concept, implementation of new lauter tun, and mash filter concepts as well as innovative control principles.^{4,5,9,64–82} Innovations have been even more extensive in the field of wort boiling. Beside the conventional internal and external boiler (tubular heat exchanger) novel boiling technologies such as thin-film evaporation, dynamic low pressure boiling, wort stripping, and vacuum evaporation were introduced.^{78,83–103} Quite a number of basic investigations were undertaken to characterize and optimize the main technological parameters of boiling such as evaporation rate, dimethyl sulfite (DMS) content, thiobarbituric acid number (TBAN), and coagulable nitrogen compounds (N coag.) (Table 1^{104,105}). However, beyond this important work there is a lack of knowledge in enhanced characterization of the applied process techniques. More to the point, particle size distribution changes during mash separation when switching from turbid to clear wort draw-off have not yet been adequately described. How do the different applied techniques, i.e. a lauter tun or a mash filter, influence the particle sizes in wort? How do boiling process technologies, which represent either “more gentle” or “vigorous” boiling philosophies, differ in terms of particle size distribution and chemical properties of the resulting wort in this matter? Or more specifically: Do modern gentle boiling techniques with low maximum temperatures of boiling provide a different particle size distribution compared with conventional boiling procedures with higher heating medium temperatures?

The aim of this investigation is, therefore, to gain systematic knowledge about particle size distributions of wort in different stages of the brewhouse procedure in the process steps of mash separation, wort boiling, and wort clarification. Besides basic information about particle sizes during mash separation and boiling, a variety of different industrial-scale mash separation and boiling systems (Tables 2 and 3) were investigated to provide a comparison of particle size distributions between conventional and novel process techniques and correlate those with conventional analytical parameters, such as N coag. and TBAN.

Experimental

Particle size distribution

For the measurement of particle size distribution in the range of 0.1–875 μm a laser diffraction sensor (HELOS/BF, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld/Germany) equipped with a HeNe laser ($\lambda = 632.8 \text{ nm}$; $P = 5 \text{ mW}$) and a wet dispersion unit (SUCCELL, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld/Germany) was

Table 2. Technical Data of Mash Separation and Separation Systems of Industrial Brewing Operations (A–G) and Pilot Plant (H) Investigated

| Brewery | A | B | C | D | E | F | G | H |
|--|------------|------------|------------|---------------------------|------------|------------|-------------|--------------------|
| Lauter system | Lauter tun | Lauter tun | Lauter tun | Lauter tun with clearance | Lauter tun | Lauter tun | Mash filter | Lauter tun (pilot) |
| Year of manufacturing | 1980 | 1988 | 1967 | 2002 | 1990 | 1981 | 2004 | 1989 |
| Inner diameter, mm | 4800 | 9000 | 4040 | 4000; clear.: 2000 | 9200 | 5400 | – | 340 |
| Total volume, hL | 217.2 | 1272 | 189.7 | 110 | 1328 | 455 | – | 0.6 |
| Specific load, kg/m ² | 210.5 | 179.2 | 136.5 | 183.4 | 198.6 | 218.3 | 31.7 | 33.06 |
| Slot width of false bottom, mm | 0.7 | 0.7 | 1.5 | n.a. | 0.7 | 0.75 | – | 0.7 |
| Number of knives, m ⁻² | 1.33 | n.a. | 1.56 | 1.48 | 1.58 | 1.22 | – | 11.02 |
| lauter time (first + weak wort), min | 128 | 150 | 102 | 106 | 137 | 129 | 80 | 120–130 |
| Total load, kg | 3810 | 11,400 | 1750 | 1740 | 13,200 | 5000 | 5800 | 12 |
| Effective lautering area, m ² | 18.10 | 63.62 | 12.80 | 9.49 | 66.48 | 22.90 | 183 | 0.363 |
| Volume of lauter wort, hL | 192 | 676 | 110 | 118 | 750 | 315 | 340 | 62 |

Systems vary in terms of age (manufacturing year) and process engineering (lauter tun = horizontal bed filtration supported by milled false bottom; mash filter = vertical filter bed compartments supported by PP glove); min, minute; hL, 100 L; n.a., not available.

used. Zeroing was carried out with deionized water prior to each run. For sample measurement wort of ~20°C was added to the water until the optical density of the resulting suspension was in an optimum range (10–15%). Prior to and during measurement dispersion was achieved by stirring (stirrer setpoint: 50%) the content of the sample basin (approximate volume: 500 mL) and pumping its content through a flow cell measuring cuvette (pump setpoint: 80%). Stirrer and pump performances did not exceed the above setpoints in order to avoid foaming of the analyte suspension causing interference. The stainless steel flow cell had a path length of 2 mm. All samples were measured without and with ultrasonic treatment ($P = 60$ W) in steps (0, 30, 60, 90, 120 s) to provide an optimum dispersion.

Mash separation and wort boiling systems

A variety of lauters (filter bed formation by gravity; bed support: stainless steel false-bottom) of different designs and/or from different manufacturing dates and a modern mashfilter

(forced filter bed formation; bed support: polypropylene glove) were investigated. Samples were taken during turbid wort pumping, first-wort draw-off, sparging draw-off, and partly during last-running draw-off. In terms of wort boiling seven different systems covering conventional boiling technologies (internal/external tubular heat exchanger) as well as the latest technologies (internal tubular heat exchanger with forced circulation flow, thin film evaporation, wort stripping, vacuum evaporation) were investigated. Additionally, pilot scale trials were undertaken applying a method and system for achieving clear lautering without raking and conventional hot trub separation by whirlpool as described.¹⁰⁶ Within the pilot scale brews a variation of hopping was investigated with no hops, and adding CO₂ extract hop (Hopsteiner, Mainburg/Germany) and pellet hops (type 45; Hopsteiner, Mainburg/Germany) to boiling wort. Samples were taken during wort collecting and heating-up of kettle wort, of kettle-up wort (start of boiling), of boiling wort in intervals of 10 min, of cast wort and hot clarified wort when half of the wort had been chilled. Details of all systems are presented in Tables 2 and 3.

Table 3. Technical Data of Thermal Treatment, Boiling Systems, and Wort Clarification of Industrial Brewing Operations (A–G) and Pilot Plant (H) Investigated

| Parameter | A | B | C | D | E | F | G | H |
|--|---------------------------------|----------|---------------------------|-----------------------|----------|---------------------------|-----------|----------------------|
| Boiling system | Gentle boiling + wort stripping | External | External + wort stripping | Thin film evaporation | Internal | Internal with forced feed | External | Wall heating (pilot) |
| Year of manufacturing | 1970/2005 | 1981 | 1990/2000 | 1998 | 1992 | 2006 | 1998/2005 | 1989 |
| Inner diameter, mm | – | 5800 | 4800 | 3000 | 5982 | 4000 | 4200 | 420 |
| Boiling temperature at boiler outlet, °C | 100 | 103 | 105 | 98.5 | 101–102 | 100 | 102.5 | 98–99 |
| Boiling temperature in kettle, °C | 98 (60 min) + 99.5 (5 min) | 102–103 | 98 | 96–97 | 98.5 | 99 | 99.7 | 100 |
| Boiling time, min | 60 + 5 | 55 | 35 | 47 | 65 | 70 | 50 | 60–90 |
| Evaporation rate, %/h | 1 (boil.)/60 (evapor.) | 7.6–8.7 | 13.7 | 5.7 | 5.5–6.5 | 3 | 6 | 10–12 |
| Volume of cast wort (chilled), hL | 230 | 620 | 102 | 108 | 750 | 300 | 390 | 0.6 |
| Heating area, m ² | n.a. | 396 | 19.7 | n.a. | 78.7 | 33.8 | 300 | 0.14 |
| Whirlpool stand, min | 30 | 15 | 10 | 20 | 25 | 45 | 35 | 15 |
| Wort cooling, min | 60 | 60 | 45 | 60 | 60 | 60 | 60 | 10 |

Systems vary in terms of age (manufacturing year) and process engineering (gentle boiling = gentle heating of wort and keeping wort <100°C; wort stripping = evaporation step in reduced pressure or vacuum; external = tubular heat exchanger with forced circulation flow; internal = tubular heat exchanger with natural or forced circulation flow); min, minute; hL, 100 L; h, hour; n.a., not available.

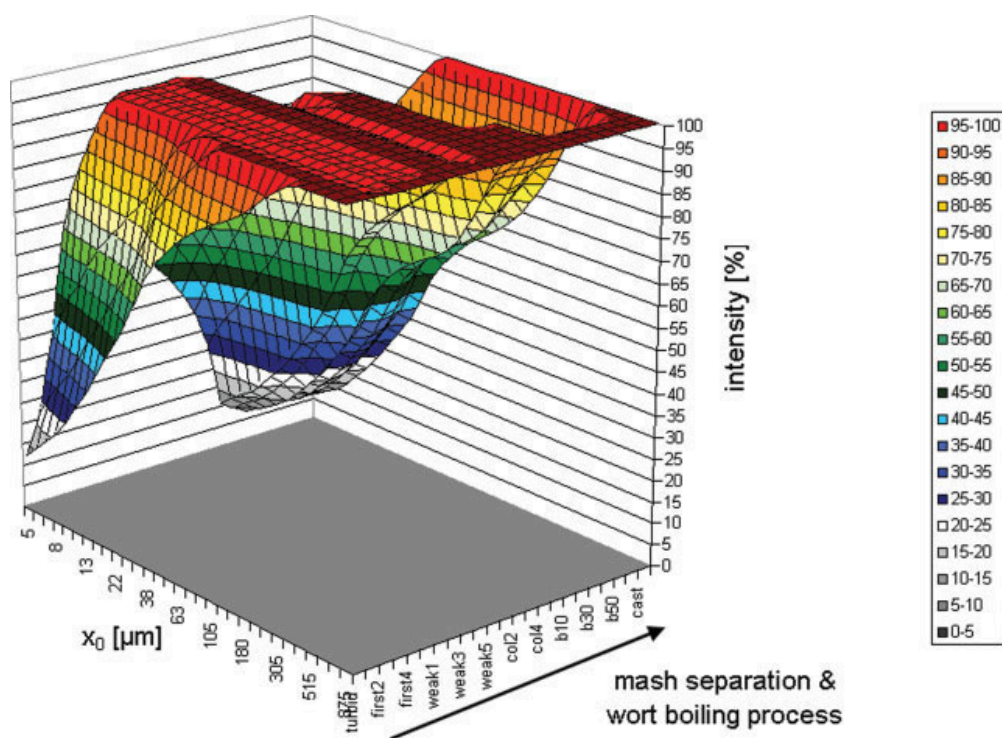


Figure 1. Exemplary particle size sum distribution Q3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (F in Table 2); boiling system: internal boiler with forced circulation flow (F in Table 3)]; x axis: equivalent diameter x_0 [μm]; y axis: process step [turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool)]; chilled = chilled wort (after whirlpool)]; z axis: peak intensity Q3 [%].

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

Sampling of wort and analyses

Wort samples of ~ 0.4 L (pilot scale trials) or 1.5 L (industrial scale trials) were taken from the wort pipeline (lautering sample) or directly from wort kettle (collecting/kettle-up/boiling) in intervals of 10–15 min depending on the process step, sealed, and were immediately cooled to $\sim 15^\circ\text{C}$ by water bath. As one aim of this investigation is to gain information about the different stages of mash separation and wort boiling, cooling of samples right after sampling is necessary to stop thermal reactions, which would otherwise continue to take place in a hot sample. On the other hand, cooling of samples to 0°C or even deep freezing might have an influence on the particle composition of the sample content, and therefore, on the particle size distribution. Permanent and nonpermanent hazes occurring due to cooling to 0°C are well known in the field of brewing. As a consequence, the samples for distribution measurements were kept at room temperature until analyses. By taking the samples hot and immediate sealing prior to cooling microbiological stability was achieved. All distribution measurements were done at room temperature within 12–18 h after sampling and after homogenization of samples by manual shaking. For all other analyses further batches of samples were stored at 0°C until analysis and manually homogenized right before analyses.

pH, extract, color, N coag., and TBAN analyses were carried out according to standardized procedures of MEBAK II 2.14, 2.10.2.3, 2.13.2, 2.4, and 2.8.2, respectively.¹⁰⁴

Elimination of peaks by calculation

For purposes described later, single peaks of distribution diagrams were eliminated by calculation. This was achieved by graphically determining the size of the respective peak to be eliminated in the sum distribution and arithmetic recalculating the peak size of the remaining peaks in that way that their areas sum to 100%. For example, the diagram consists of three peaks A, B, and C, of which C is to be eliminated. The peak areas are like 50% (A), 20% (B), and 30% (C). The recalculated values are: $A_r = 50\% \times 100/(100-30) = 71.4\%$; $B_r = 20\% \times 100/(100-30) = 28.6\%$. The recalculated ratio of $A_r:B_r$ is $71.4\%/28.6\% = 2.5$ as was prior to calculation ($A:B = 50\%/20\% = 2.5$).

Presentation of particle size distributions

Particle size distributions may be displayed as sum distribution (Figure 1) as well as density distribution (Figure 2). Since in the case of this investigation density distributions seem to make it easier to detect differences between distributions, the following results are presented in the density distribution in semilogarithmic diagrams. A typical presentation of particle size distribution of mash separation (separating liquid and solid phase of mash into wort and spent grains) and wort boiling process (most intensive thermal process step of brewing) contains the equivalent particle size x_m as x axis, the process step as y

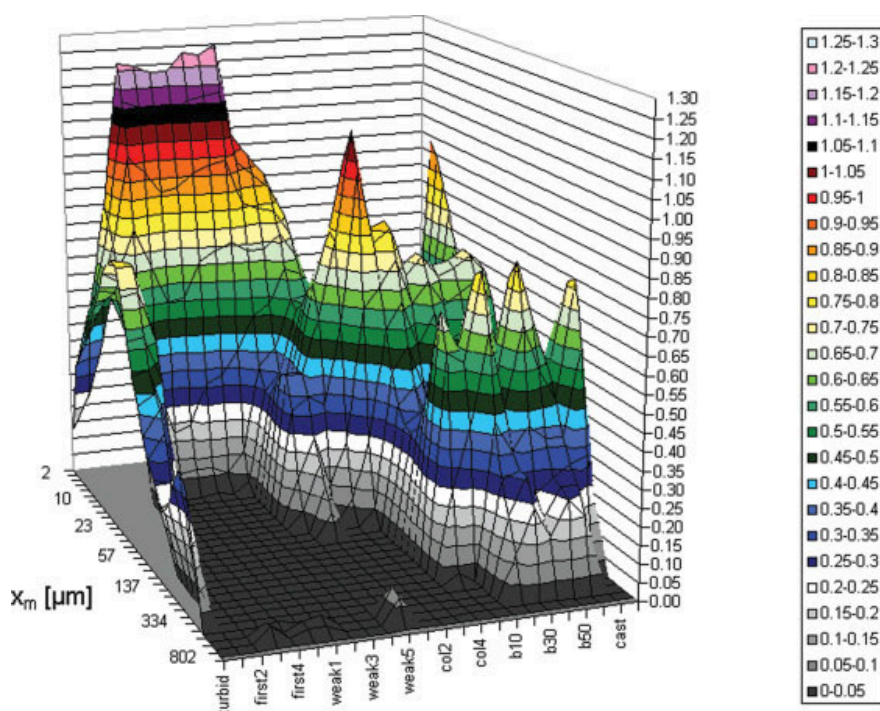


Figure 2. Exemplary particle size density distribution q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification (mash separation system: lauter tun (F); boiling system: internal boiler with forced circulation flow (F)); x axis: equivalent diameter x_m [μm]; y axis: process step [turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; z axis: relative peak intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$].

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

axis and the peak height as z axis (Figure 2). To simplify the peak identification a top view maybe suitable (Figure 3). Herein the particle size is displayed as x axis, the process step as y axis and the color within the diagram represents the peak height (equivalent to z axis).

Results and Discussion

From the particle size top view (Figure 3) it is understood that essentially three different peaks occur during mash separation and wort boiling: at $\sim 5 \mu\text{m}$ (referred as fine particles in the following), at $\sim 23 \mu\text{m}$ (referred to as medium or middle-size particles), and at $\sim 235 \mu\text{m}$ (referred to as coarse particles). This finding confirms the results of Lotz et al. discussed earlier.⁵ The reason for the occurrence of three distinct groups of peaks (fine, medium, and coarse) in all investigated breweries could be either due to the similar raw materials or to the milling systems. Indeed, when applying different milling systems, such as roller mills for lauter tuns or hammer mills for mash filters, substantially the same classification of particles occurred (see later). Therefore, the milling procedure seems to be of minor importance in this case. On the other hand, all breweries within these trials applied malted barley to produce a lager type beer. Since the raw material barley was genetically similar for all trials, the respective malts also had similar characteristics. It is well known that barley malt kernels contain smaller and larger particles of which the smaller have a diameter of

around $5 \mu\text{m}$ and mainly contain protein or fractions of proteinaceous membranes.¹⁴ In contrast, the larger ones have a diameter of around $20 \mu\text{m}$, with starch being their main component. As discussed earlier, most of the authors found peaks at $7\text{--}8 \mu\text{m}$ in cloudy unhopped wort or spent grain press liquor,^{13,14} which basically confirms the presence of $5\text{-}\mu\text{m}$ fraction found here.

Since a presentation of Figure 3 contains ~ 750 data points, it seems to be suitable to simplify the presentation by mainly focusing on only the three peaks mentioned earlier when discussing particle size distributions throughout the process steps of mash separation, wort boiling, and wort clarification, since these peaks were characteristic for all industrial processes investigated.

Mash separation

After completing the mashing process and transfer of mash to the lauter tun or mash filter the mash separation step starts by turbid wort pumping, to form a filter layer and to lower the turbidity of the resulting wort for technological reasons. In the recycling wort particles of medium size ($\sim 23 \mu\text{m}$) were dominant, while fine and coarse particles (5 and $235 \mu\text{m}$) were of minor importance (Figures 3, 4, 6, 8). After turbid wort pumping the draw-off of first wort ("first" in figures) starts. While drawing-off the first wort the coarse particles disappeared ("first1"), later followed by the medium particles ("first3"),

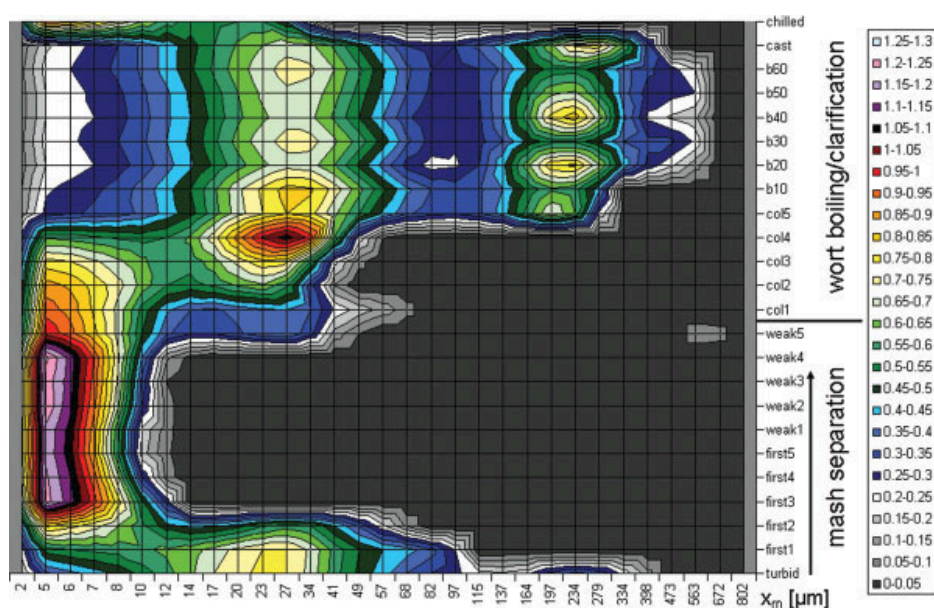


Figure 3. Top view of an exemplary particle size density distribution q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (F); boiling system: internal boiler with forced circulation flow (F)]; x axis: equivalent diameter x_m [μm]; y axis: process step [down: mash separation; top: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; z axis: relative peak intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$] expressed as colors; considerable signals at 5, 23, and 234 μm .

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

with the fine particles became dominant. When first wort draw-off is completed, sparging follows when hot water is sprayed on top of the filter cake to wash out the remaining extract. As the water penetrates through the filter layer the extract content of the draw-off starts to decrease successively. This so-called weak wort draw-off continues until the end of mash separation and is stopped when the extract content of the weak wort reaches a certain lower limit ($\sim 1^\circ\text{Plato}$ ($=^\circ\text{P}$)). Sparging can be done continuously or batch-wise, with the number of water additions depending on the individual brewhouse procedure and may be in the range of 1–3. At the beginning of weak wort draw-off fine particles dominated, whereas middle and coarse particles did not occur. At the end of lautering the medium particles reappeared due to raking, that is, vertical cutting of the filter layer by applying a number of knives in slow motion. In some cases, when deep raking close to the false-bottom (filter layer support) was applied to increase penetration rate of water through the filter layer peaks of medium particles appeared during draw-off (Figures 4 and 5). This may particularly occur with older lauter tuns or improper raking conditions.

The particle size distributions as discussed here correlate to the draw-off turbidity measured in-line in EBC units. The turbidity decreased rapidly and significantly during turbid wort pumping and reached the lowest value during first wort draw-off, when coarse and medium particles disappeared and only fine particles remained in the drawn-off wort (Figures 5, 7). Throughout all observed lauter systems, the fine particles predominate in the first wort without exception, however, their absolute concentration may vary due to grist composition,

design, and age of the lauter system. Thus it may be concluded that the remaining turbidity of first wort was basically only caused by particles of a size of $\sim 5 \mu\text{m}$, while the medium and coarse particles are retained very well by the filter bed of a proper working lauter tun. Therefore, a further reduction of wort turbidity can only be achieved if the retention of this fine fraction is further improved, which should be considered in future developments regarding the design of a lauter tun. Toward the end of lautering, when the medium particles occurred again the turbidity also increased (Figure 5). With older lauter tuns even coarse particles may occur at the end of the process or in rare cases throughout the whole process (not shown). This might be due to an improper process control with unnecessary deep cuts or an unsuitable design of the raking machine. Therefore the adjustment of the process control and the application of a state-of-the-art raking machine are crucial points when trying to lower wort turbidity and particle flow.

Leaving lauter tuns aside for the moment, a modern mash filter was also under investigation. Mash filters are characterized by vertical filter compartments having polypropylene gloves as support instead of a horizontal false bottom (lauter tun). Here basically the same particle sizes occurred as in lauter tuns (Figure 6). From Figure 6 it can be seen that the coarse particles occurred only during turbid wort pumping and here to a lower extend compared with the lauter tuns. The medium particles predominated during turbid wort pumping and first wort drawn and did not decrease before weak wort draw-off, when fine particles became the major fraction. In contrast to a modern lauter tun, the medium particles did not completely disap-

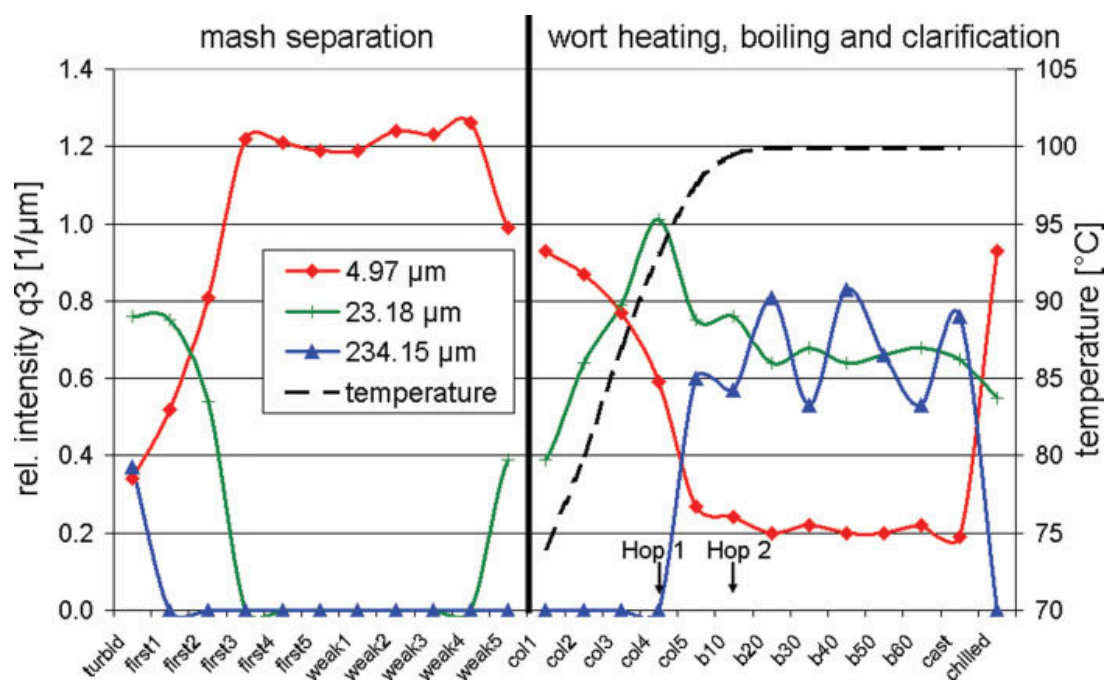


Figure 4. Sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (F); boiling system: internal boiler with forced circulation flow (F)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; temperature during wort collecting and boiling (broken line); x axis: process step [left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$]; arrows indicate points of hop additions (hop 1 and 2: pellet hopping).

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

pear throughout the entire mash separation process. Toward the end of draw-off the medium size particles increased similarly to lauter tuns as described earlier. In conclusion, this means filtration characteristics of a mash filter differ from a modern lauter tun with mash filter wort having a considerable amount of medium particles additionally to the fine fraction. Thus, if the filtration performance of a modern mash filter is to be improved in terms of the particle composition of the resulting wort, a further reduction of the fine and particularly of the medium particles should be achieved. Possible ways to do so may be an intensified recycling of turbid wort at the start of filtration or an increase of the height of the filter bed layer. In contrast, a modern and properly controlled lauter tun has a different particle composition with a fast reduction of coarse and medium particles at the beginning of mash separation and a complete absence of these throughout the entire draw-off period (Figures 4, 7).

Wort boiling

The most intensive thermal step within the brewhouse procedure is wort boiling. It is required to sterilize wort, stop enzymatic reactions, evaporate water from wort to an desired extend, remove unwanted wort aroma compounds, improve dissolution and isomerization of hop components, and cause precipitation of wort protein contents to an insoluble coagu-

lum, known as hot break or hot trub. From a technological point of view wort boiling has often been characterized by heat load (expressed as increase in TBAN), evaporation characteristics (evaporation rate), decrease of DMS (evaporation of unwanted flavor compound) and N coag. (formation of hot break).

Collecting and heating of wort

In modern boiling operations wort is collected in the kettle during mash separation, and heating of wort often starts already when wort reaches a certain level in the kettle before mash separation is completed, to reduce operation time. Because of the heating wort having a temperature of around 90–95 $^{\circ}\text{C}$ when the collection of wort is complete (kettle-up), the time until start of boiling is shortened. Although the reactions taking place during wort boiling are primarily discussed, it is interesting to observe what happens prior to the start of boiling. The wort collected in the kettle prior to heating contained a similar particle size distribution as described for mash separation: fine particles dominate, medium particles were present to a lower extend while coarse particles did not occur at all (Figures 4–7). When heating up to boiling temperature, an increase of the medium particle peak was observed, while the fine particle peak decreased (Figures 4, 5, 7). This means there was a coarsening of particles from the fine to the medium

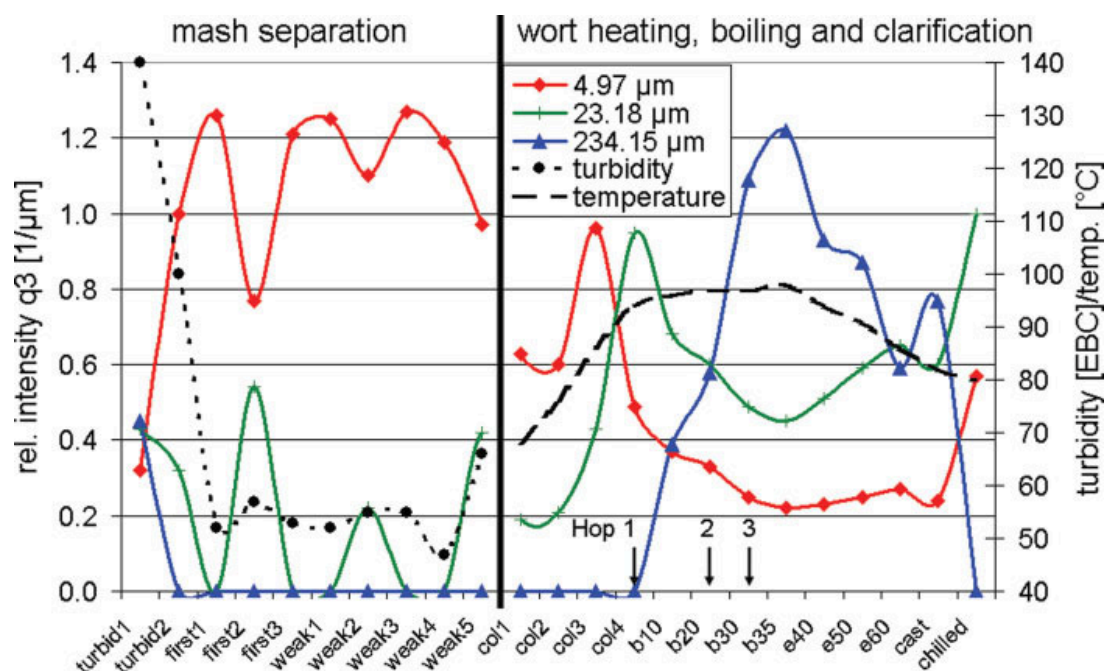


Figure 5. Sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (C); boiling system: external boiler + wort stripping (C)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; turbidity during mash separation (broken line with points); temperature during wort collecting and boiling (broken line); x axis: process step [left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; en = evaporation, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: turbidity of lauter wort [EBC]/temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$]; arrows indicate points of hop additions (hop 1, 2, and 3: pellet hopping).

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

fraction, which is because of the coagulation of mainly protein material accompanied by the adsorption of other substances such as lipids and metal ions. Accordingly, one may conclude the formation of hot break does not only occur during wort boiling as it is mostly described in the literature, but takes already place before the whole batch starts to boil. To confirm this result a pilot-scale wort batch was collected, and heating was started only after mash separation was completed. When homogeneously heating the whole batch (stirring), medium particles occurred only when a temperature of 98°C (boiling temperature) was reached (not shown). Therefore, the formation of hot trub particles requires boiling temperature or a temperature close to it. This seems to be in contrast to the earlier observation that particle formation in large-scale trials occurred right after the start of heating of wort and the portion of medium particles increased while heating. This can be explained since a bypass flow from the wort kettle is heated to boiling temperature in a boiler, which provides sufficient thermal energy to allow the coagulation reaction to take place. Particles are formed in this bypass flow, which is then returned to kettle and mixed with the remaining cooler wort. Since the bypass heating takes place continuously, the amount of medium particles in the kettle continuously increases during wort heating, which was actually observed (Figures 4, 5, 7). This phenomena sup-

ports other observations where a formation of turbidity and/or a strong decrease of free fatty acids were reported prior to wort boiling ($<100^{\circ}\text{C}$), which is due to adsorption to hydrophobic surface areas at hot break formation.^{107–109} As the temperature increased not only the signal level at a particle size of 23 μm increased but also the peak extended toward coarser particle sizes (Figure 3). This confirms earlier publications reporting of particle sizes in hot break of 30–80 μm .^{15–18,26,110,111} However, one reason for the appearance of medium particles might also be seen in the introduction of medium particles during the late phase of mash separation. Here the observation of a most modern lauter tun gives an important indication: even when no medium particles occurred during mash separation and were therefore not introduced into the kettle during collecting, the medium particle peak increased when wort was heated (Figure 7). In other words, there seems to be a considerable formation of medium particles already during heating. These results were confirmed by pilot-scale trials, where a clear draw-off of wort free of medium or coarse particles was achieved and heating started only after collection was completed (not shown).

Boiling phase

At the start of boiling, which was in the range of $97\text{--}100^{\circ}\text{C}$ depending on the boiling system and the applied pressure a

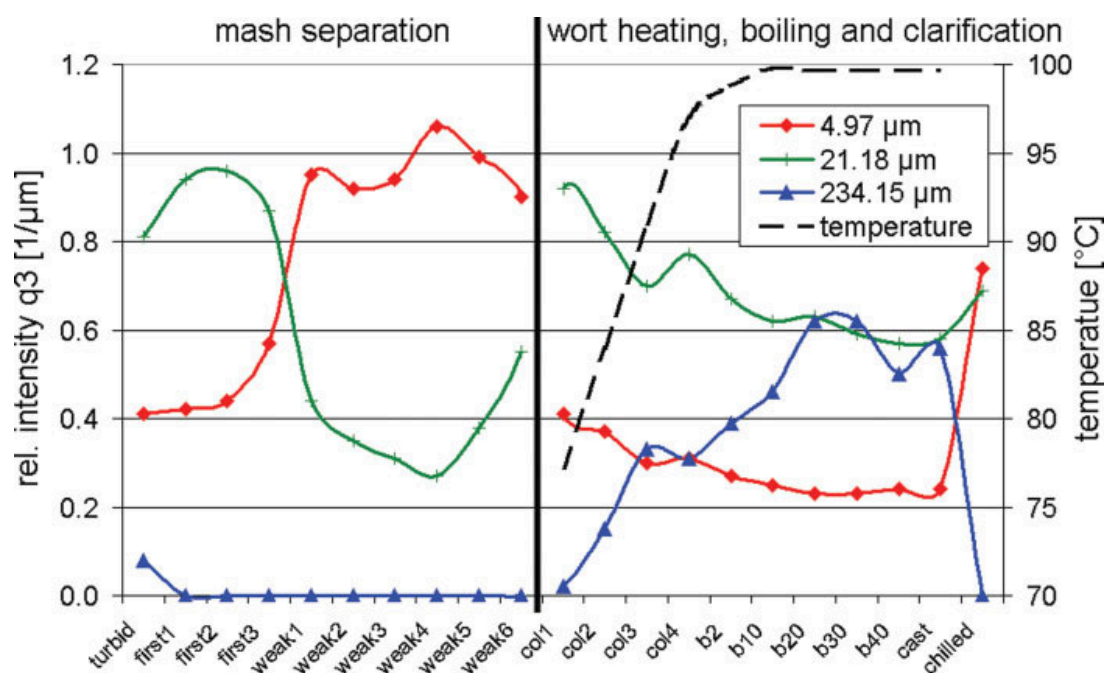


Figure 6. Sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: mash filter (G); boiling system: external boiler (G)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; temperature during wort collecting and boiling (broken line); x axis: process step [left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$].

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

sudden increase of the coarse particles occurred (Figures 4, 5, 7). This might be caused by hopping when hops were added to the boiling wort mostly in form of dried pressed hop pellets at the start of boiling. This increase did not originate from mash separation since it also occurred even if no coarse particles were introduced during mash separation. By hopping, therefore, coarse particles are introduced into the boiling wort. In practical operations, the hopping dosage is usually divided into two or three additions added at different points of time. In case of Figure 3 the second hopping took place 10 min after start of boiling, after which the coarse particle peak further increased. Alternatively, the first hopping dose can also be provided as hop extract, either as ethanol or supercritical CO_2 extract, for bitter hopping. In this case the viscous extract is completely dissolved after addition without remaining of any solid particles. This was investigated in one brewery with extract as first hopping dosage and pellets as second hopping dosage. Here the level of coarse particles was zero prior to hopping and remained zero when extract was added to the kettle at the start of boiling (Figure 8). Twenty minutes later the second hopping was performed using pellets and the coarse peak increased to a measurable value (Figure 8). The conclusion, therefore, is that the signals occurring in the range $>200 \mu\text{m}$ are caused by hop components, particularly originating from hop pellets. This was confirmed by a pilot-scale brew where CO_2 extract and pellet hoppings were carried out subsequently with a peak at $>200 \mu\text{m}$ only occurring after pellet hopping (not shown).

At this point it should be noted that the sum of each particle size density distribution as displayed here adds up to 100%. For instance, the signal of a particle class A decreases when a new particle class B is introduced such as during hopping with pellets, despite the fact that the number of particles A does not change when introducing particles B. From this point of view it would be interesting to recalculate the particle size distributions during boiling in order to eliminate the effect caused by hop compounds in order to analyze what happens to the medium and fine particles. As was mentioned for the heating phase the peak of the medium particles increased until start of boiling. Then, as boiling proceeded, in five out of seven boiling systems the peak level remained constant until end of boiling (exemplarily shown in Figure 9), while only in two cases the peak slightly increased toward the end of boiling (when coarse particle peak were eliminated by calculation). In conclusion, this means most of the hot break formation is completed already at the start of boiling and there is no considerable gain during the boiling phase itself. This finding might have far-reaching consequences for the boiling step. Since the precipitation of wort proteins is one of the aims of wort boiling as mentioned earlier, it is important to know when after the start of boiling this precipitation is completed. As the trials show, the precipitation mainly seems to be completed at the very beginning of boiling, that is, as soon as the whole batch of wort reaches boiling temperature. Therefore, according to these trials the boiling duration might be reduced to a minimum from

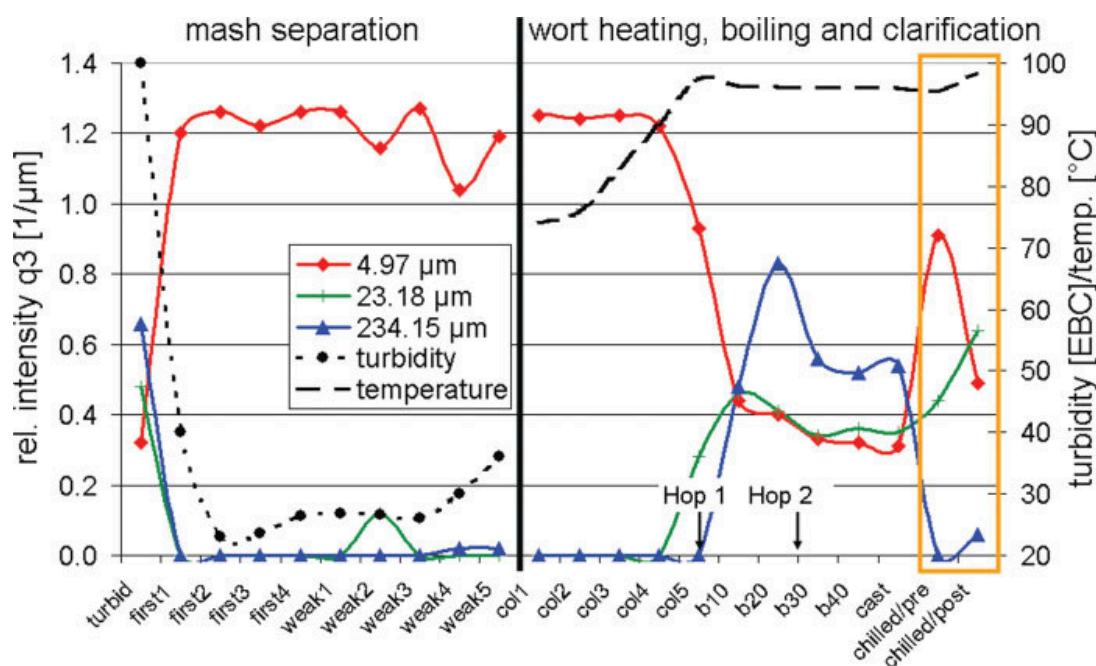


Figure 7. Sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: most modern lauter tun (D); boiling system: thin film evaporator (D)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; turbidity during mash separation (broken line with points); temperature during wort collecting and boiling (broken line); highlighted area: heating/evaporation step prior to wort chilling. x axis: process step [left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: turbidity of lauter wort [EBC]/temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$]; arrows indicate points of hop additions (hop 1 and 2: pellet hopping).

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

the precipitation point of view. At least it may be concluded that protein precipitation is not the limiting step in terms of a process time reduction compared with the other technological goals of wort boiling.

Wort clarification

All investigated brewing systems used a whirlpool to separate the hot break according to the “tea cup effect,” which implies that the wort is tangentially introduced into the flat bottom vessel causing a rotation of the vessel content. This rotation causes the solid particles of higher density to concentrate in the bottom center of the vessel forming a cone of solids. The clarified wort is drawn-off from the outer diameter of the vessel. The aim is to provide a wort for the further brewing steps of fermentation and maturation, which is as clear and bright as possible for quality and technological reason. The sense of this intention is, however, currently under discussion.^{106,109,112}

From the particle point of view the effect of the whirlpool step becomes apparent when comparing the wort composition at the end of boiling (cast wort) with that after whirlpooling and chilling (chilled wort). As can be seen from Figure 4 the coarse particles completely disappeared, the medium particles were slightly reduced, while the fine fraction definitely

increased in density distribution. This means, clarified wort mainly contained the fine fraction, which did not seem to be touched by whirlpooling. This is also valid for the medium fraction to a lower extent, while the coarse fraction is completely separated, if the whirlpool works properly. Thus, the remaining turbidity of post-whirlpool wort is mainly caused by the fine particles in the range of 5 μm and only to a minor extent by medium particles of 20–25 μm , but not by coarse particles of $>200 \mu\text{m}$ in equivalent diameter. In terms of the particle size this result seems to be consequent since coarse particles are expected to sediment faster than medium and small particles, which could be confirmed here. Therefore, the measurement of particle size distributions allows to optimize the duration of the whirlpool stand since it may easily be adjusted to a preferred particle composition. Further, it seems to be possible to easily detect a lack or failure of the whirlpool function or any other wort clarification means by taking out particle size distribution measurements of cast wort and chilled wort. Correspondingly, when the formed hot break was analyzed the respective peaks at ~ 34 and 234 μm were observed.¹¹³

In the special case of the thin film evaporation boiling method, hot break is conventionally separated by whirlpooling but another heating and evaporation step, which is carried out

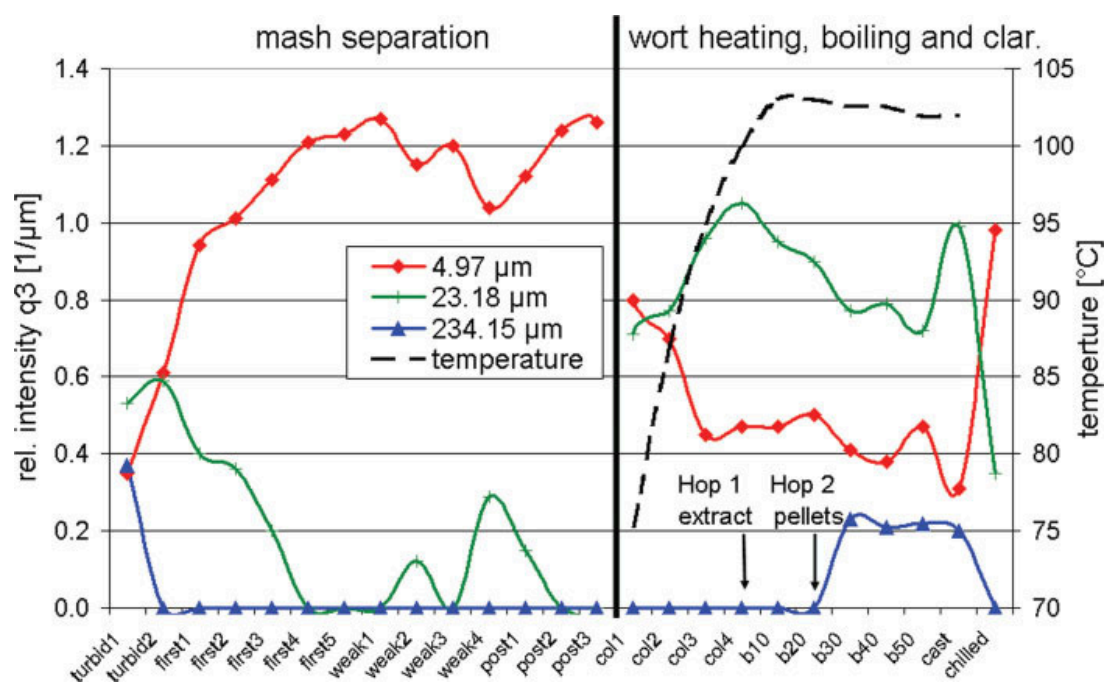


Figure 8. Sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (B); boiling system: external boiler (B)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; temperature during wort collecting and boiling (broken line); x axis: process step [left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; post = post runs (not collected); col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)]; y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$]; arrows indicate points of hop additions (hop 1: extract hopping; hop 2: pellet hopping).

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

at the end of the whirlpool procedure prior to wort cooling. This is done due to further remove the unwanted volatile aroma compound dimethyl sulfide, which is degraded from its precursor *S*-methyl methionine due to heat stress. As whirlpooling usually increases heat stress of the wort by keeping it at temperatures $>90^{\circ}\text{C}$, a significant amount of dimethyl sulfide is formed within this step and conventionally there is no way to reduce it thereafter. Here, the additional heating and evaporation step allows to reduce the dimethyl sulfide concentration directly prior to wort cooling with no further formation. Within this heating step it was observed that the fine particles rapidly decreased in favor of medium particles (Figure 7, marked box). Since lauter fractions and hop products can be excluded from influencing this step, this confirms the earlier hypotheses that heating leads to the formation of medium size particles.

Besides, as former and current investigations show the presence of particles of a certain size and composition seems to have a significant influence on the fermentation performance of the resulting wort. Therefore, the mash separation and particularly the boiling and clarification steps are important measures to influence size, number and composition of the formed and remaining particles present in wort as can be shown by applying particle size distributions and other methods.

Technological parameters of wort boiling

The N coag. value represents the remaining coagulable high molecular nitrogen compounds in wort such as proteins and polypeptides. It is a key indicator for the non-biological stability (haze formation) as well as for the foam stability of the resulting beer and is therefore of crucial importance. Figure 10 shows the N coag. values in wort, wherein all values have been adjusted to an extract content of 12°P to eliminate dilution effects (e.g. which occur during wort collecting when weak wort is added to first wort). As can be seen from Figure 10, the N coag. values decreased with time no matter what boiling system was being used. More particularly, during wort collecting and heating, that is prior to start of boiling, a reduction was already observed, which continued during the boiling phase. This confirms the earlier assumption of hot break formation already taking place during heating up prior to start of boiling. In detail, the gentle boiling system (A in Table 3) and the thin-film evaporator (D) had high final values of >15 mg/L, while the external boiler with post-stripping (C) and one conventional external boiler (G) had middle-range values of ~ 12 mg/L. The internal boilers, either with forced circulation (F) or not (E), and the other external boiler (B) had low final values of 5–10 mg/L. This indicates that the conventional boiling techniques cause a strong reduction of N coag. while more modern

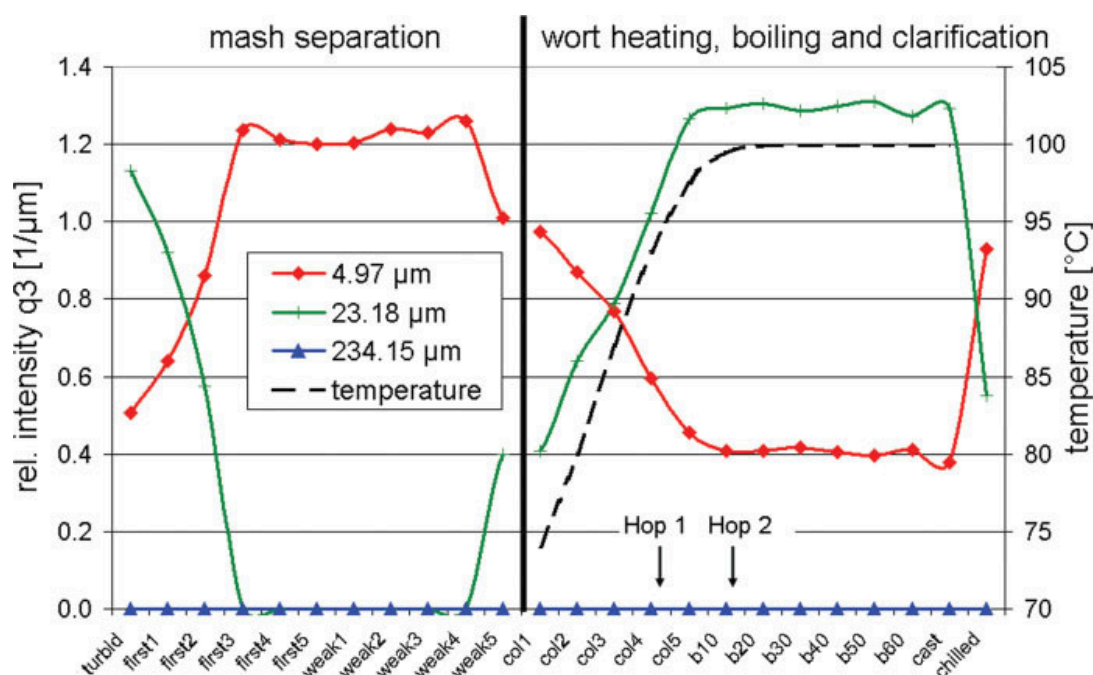


Figure 9. Normalized sectional trends of particle size density distributions q_3 of wort during mash separation, wort boiling, and wort clarification [mash separation system: lauter tun (F); boiling system: internal boiler with forced circulation flow (F)] representing selected particle size classes: 4.97, 23.18, and 234.15 μm equivalent diameter; values normalized: particle signals of $x_m > 50 \mu\text{m}$ have been eliminated by calculation (corresponding to non normalized diagram: Figure 4); x axis: process step (left: mash separation; right: boiling and wort clarification; turbid = turbid wort pumping; first = first wort; weak = weak wort; col = collecting/heating of wort; 1, 2, 3, etc. = sample no.; bn = boiling, sampling n minutes after start of boiling; cast = cast wort (prior to whirlpool); chilled = chilled wort (after whirlpool)); y1 axis: relative intensity q_3 [$1/\mu\text{m}$]; y2 axis: temperature during wort boiling [$^{\circ}\text{C}$]; arrows indicate points of hop additions (hop 1 and 2: pellet hopping).

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

systems seem to be gentler in effecting in protein coagulation. Since the particle size distribution measurement does not allow to quantify the number of particles of each class, it seems to be difficult to correlate the N coag. reduction and the particle sizing in terms of quantification, however, both methods indicate that coagulation reactions take place already prior to boiling.

While the TBAN depends on the quality of the raw materials used for brewing, its increase from the start of boiling (dTBAN) is independent from raw material effects and therefore a well-known heat load indicator of wort. As can be seen from Figure 11, the TBAN increased for all systems during boiling and further during wort clarification due to the whirlpool stand at temperatures of around 95°C or above, where the formation of TBAN still takes place. When comparing the dTBAN at the end of the particular boiling procedure (see Table 3) three groups may be identified: dTBAN is very low and in the range of 5–10 for the external boiler with post-stripping (C in Table 3) (due to pre-cooling of wort⁹⁷), the gentle boiling system (A) and the thin-film evaporator system (D). The external boiler (G) was in the range of around 11, while the other external boiler (B) as well as the internal boilers (F, E) had values of 17–19. This correlates well with the findings for N coag.: the rougher the boiling the higher the TBAN increase and the greater the N coag. decrease. An increase in TBAN

was already observed during heating of worts before boiling temperature was reached.

Conclusions

From the results of the large and pilot scale trials undertaken in this investigation it may be concluded that three basic different particle sizes occur in wort in the steps of mash separation, wort boiling and wort clarification: fine (ca. $5 \mu\text{m}$), medium ($20\text{--}25 \mu\text{m}$) and coarse particles ($>200 \mu\text{m}$). During mash separation a high wort turbidity is characterized by appearance of medium sized particles, while in clear wort fine particles are dominant and medium and coarse particles are absent. Toward the end of mash separation, when EBC turbidity increases again due to raking, medium and even coarse particles may be present in wort, depending on design and age of lauter equipment as well as process control characteristics. This means different kinds of particles seem to be responsible for different levels of wort turbidity. Thus, the design and process control of the lauter system have an influence on the composition of the resulting wort, not only in terms of turbidity but also in terms of particle composition. It may be concluded that the particle size distribution correlates to the EBC turbidity to a certain extend. It is the disappearance of medium and coarse particles

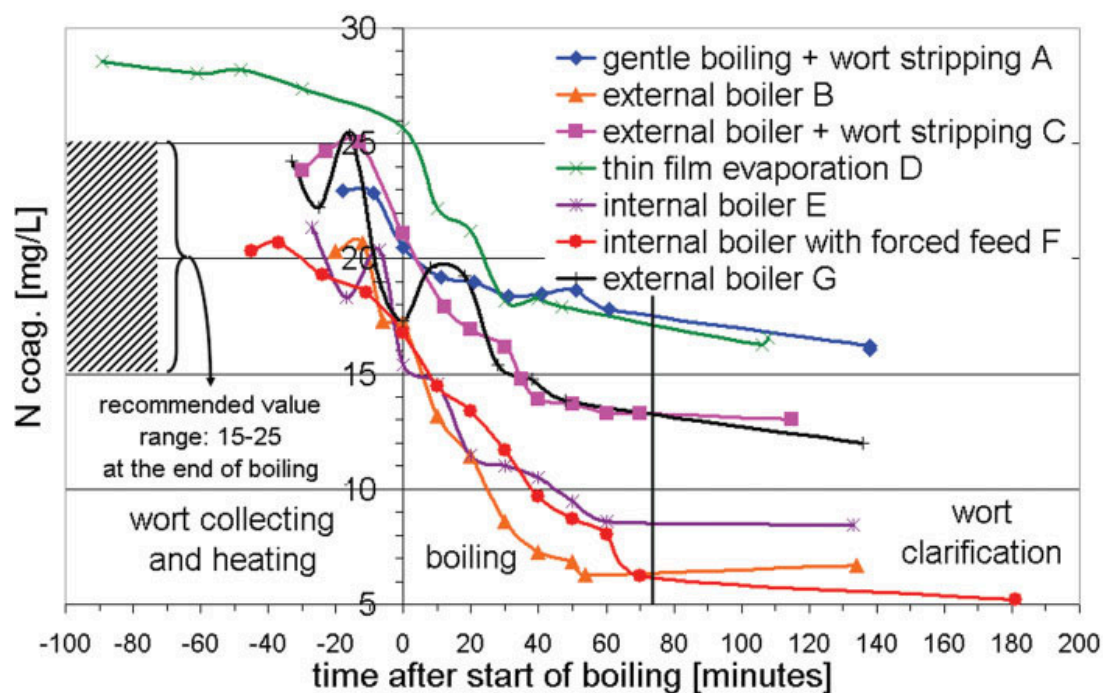


Figure 10. N coag. values in wort during collecting, heating, boiling, and clarification of wort; variation of boiling systems according to Table 3; values normalized to an extract value of 12°P to eliminate dilution effects; hatched area: recommended content in cast wort according to Table 1.

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

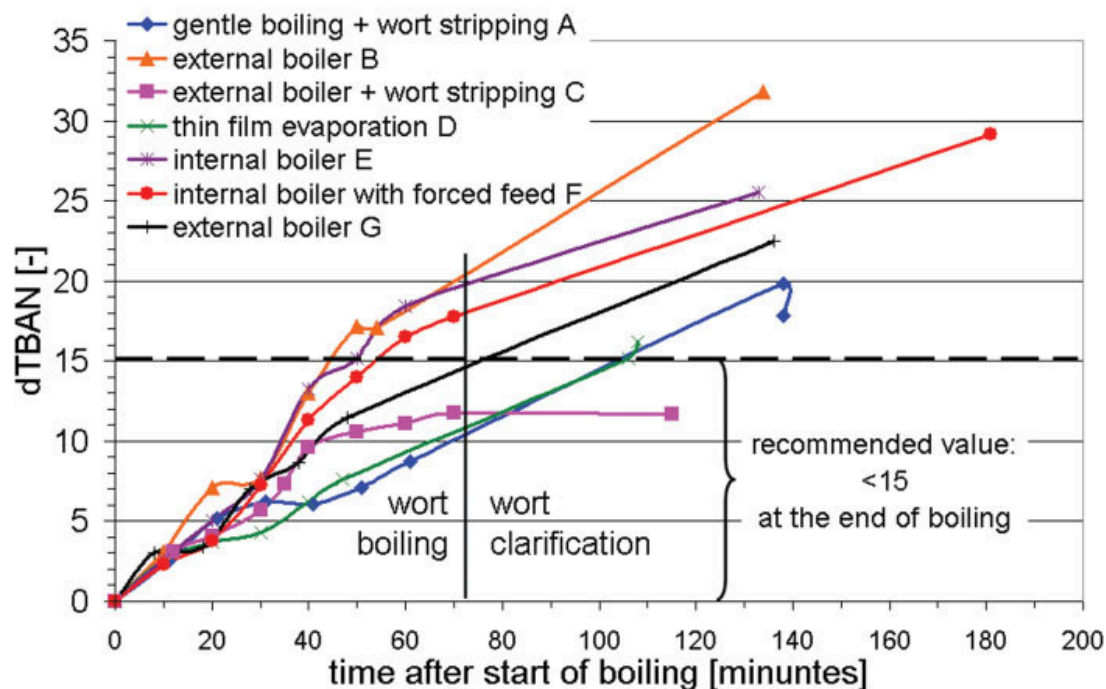


Figure 11. Increase of TBAN values (dTBAN) in wort during boiling and clarification; variation of boiling systems according to Table 3; broken line: maximum recommended increase in cast wort according to Table 1.

[Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

that cause a decrease in EBC turbidity. While lauter tuns usually eliminate medium and coarse particles when running clear wort, the mash filter investigated here removed coarse particles completely, but medium particles only partly.

The process of wort boiling may be divided into wort collecting/heating phase and the boiling phase itself. During heating of wort to boiling temperature a coarsening of the particles in favor of the medium particles occurs. This is due to the formation of hot break already during heating up of wort, which is indicated by a reduction of N coag. levels and an increase of TBAN already prior to start of boiling. It is also shown that the way of hopping (pellets or extract) plays an important role in terms of the particle composition of the resulting wort. The addition of hop pellets causes signals of coarse particles (>200 μm), which can easily be distinguished from hot trub particles. In contrast, if soluble hop extracts are used, these coarse particle peaks do not occur. If the coarse signals are eliminated by calculation it is observed that the ratio of medium to fine particles is constant throughout the boiling phase. This means most of the hot break formation takes place at the begin or even prior to boiling, while toward the end of boiling not much change is observed in terms of particle size distribution. Further, at wort clarification using a whirlpool the coarse particles are completely removed from wort, while medium particles are reduced, both due to hot break separation. Thus, applying particle size measurement allows to evaluate a proper whirlpool function. If this solid separation step is working properly, the clarified wort mainly contains fine particles similarly to a clear lauter wort.

These investigations show that the process steps of mash separation, wort boiling, and wort clarification can be characterized by particle size distribution measurements, which allow to gain further technological information in addition to the conventional turbidity measurement. Changes in chemical analytes such as N coag. and TBAN partially correlate with changes of single particle fractions. Furthermore, in practical brewing operations particle size distribution measurements may be used to monitor if single process steps such as mash separation or wort clarification work properly.

Since this investigation gives an extensive overview on the influence of different technologies applied in the brewing process on the particle size distribution of wort throughout the brewhouse procedure, it seems to be promising to undertake multiple trials for each of the investigated system in order to statistically confirm the observations made within this investigation. Further, it seems to be interesting to isolate the particles that cause the respective peaks in the size distribution and to identify their composition in future trials in order to learn more about the brewhouse process steps and their effect on the fermentation process and the resulting beer quality. In the near future, the measurement of particle size distributions of wort might be used to optimize the investigated process steps by tailoring the most effective quality and quantity of particles for an optimum fermentation performance and beer quality.

Acknowledgments

We thank the involved breweries for supporting us to carry out these large-scale trials at their plants. We also thank Fa. Sympatek, Clausthal-Zellerfeld/Germany, for providing the HELOS particle analyzer. The help of Mr. John Brauer of Brewing Research International (Nutfield/UK) in

proofreading the English manuscript is hereby acknowledged. We are also grateful to the Wissenschaftliche Station für Brauerei in München e.V., Munich/Germany, for financial support. Special thanks to the reviewers of this article who gave important suggestions to improve its quality.

Literature Cited

1. Annemüller G, Marx R, Gottkehaskamp L. Überprüfung der Filtrationsqualität mit einem Partikelmeßgerät. *Brauwelt*. 2000;140:1573–1578.
2. Huige NJ, Westermann DH. Effect of malt particle size distribution on mashing and lautering performance. *MBAA Techn Quart*. 1975;12:31–40.
3. Richter K, Sommer K. Pulverschrot—Reaktionsgeschwindigkeiten beim Maischen. *Mschr Brauwiss*. 1994;47:4–7.
4. Schneider J, Weisser H. Diafiltration of Mash. *J Inst Brew*. 2004;110:326–334.
5. Lotz M, Schneider J, Weisser H, Krottenthaler M, Back W. New mash filtration technique for processing of powder grist. In: *Proceedings of EBC Congress*, Maastricht, 1997:299–305.
6. Anite NG, Westermann DH. Effect of particle size distribution on mashing and lautering performance. In: *Proceedings of Institute of Brewing of the Third Convention*, Australia and New Zealand Section, Queensland, Australia, 1974:133–149.
7. Bühler TM, Matzner G, McKechnie MT. Agitation in mashing. In: *Proceedings of EBC Congress*, Brussels, 1995:293–300.
8. Bühler TM, McKechnie MT, Wakeman RJ. A model describing the lautering process. *Mschr Brauwiss*. 1996;49:226–233.
9. Andrews J. A review of progress in mash separation technology. *MBAA Techn Quart*. 2004;41:45–49.
10. Lukes BK, O'Brien TJ. Improved methods for the determination of wort colour and turbidity. *J Am Soc Brew Chem*. 1983;41:152–157.
11. Siebert KJ, Stenross LE, Reid DS. Characterization of amorphous-particle haze. *J Am Soc Brew Chem*. 1981;39:1–11.
12. Wackerbauer K, Bender G, Poloczek K. Die Beeinflussung der freien Fettsäuren durch die technologischen Parameter bei der Sudhausarbeit. *Mschr Brauwiss*. 1983;36:18–25.
13. Stewart GG, Martin SA. Wort clarity: effects on fermentation. *MBAA Techn Quart*. 2004;41:18–26.
14. Stiles SR, Henry S, Herbert J. Centrifugal separation, isolation and characteristics of brewery spent grains and press liquor. *MBAA Techn Quart*. 1977;14:21–34.
15. Enders S, Spiegl A. Über Trübungen in Würze und Bier. Teil I. *Wo Br* 1937;54:97–100.
16. Enders S, Spiegl A. Über Trübungen in Würze und Bier. Teil II. *Wo Br*. 1937;54:105–110.
17. Vacano NL. Practical experience with centrifugal clarification of wort and beer. *Wallerstein Lab Commun*. 1955;18:13–25.
18. Handley MF, Hough JS. Investigation into the design and performance of model whirlpool separators. *Brew J Lond*. 1969;105:49–55.
19. Dufour JP, Alvarez P, Devreux A, Gerardi W. Influence of the filtration procedure on the relationship between wort turbidity and its lipid content. *Mschr Brauwiss*. 1986;39:115–121.
20. Richter K. Sedimentationsanalyse mit der Sedimentationswaage, Diploma Thesis, Technische Universität München, 1987:77.
21. Dufour HP, Hernandez RM, Loreti LF, Meyer AM. Lipids in relation to wort boiling. *EBC Monograph*. 1991;18:12–24.
22. Grill W, Püspök J. Der Einfluß des Kühltrubgehaltes auf die Geschmacksstabilität von Flaschenbier. In: *Proceedings of EBC Congress*, Berlin, 1979:61–77.
23. Ghosh A, Sommer K. Flotative Entfernung von Eiweißpartikeln. *Mschr Brauwiss*. 1984;37:359–363.
24. Solfrank B, Sommer K. Effektivität der flotativen Abscheidung von Kühltrub aus Bierwürze bei verschiedenen Belüftungsorganen. *Mschr Brauwiss*. 1989;42:364–368.
25. Narziß L. Die Technologie der Würzereibereitung, 7th edition. In: Schuster K, Weinfurtner F, Narziß L, editors. *Die Bierbrauerei*, Vol. 2. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1992:319–322.
26. Lutz M, Brück D, Denk V, Delgado A. Untersuchungen zur Partikelgrößenverteilung von Heißtrub. *Der Weihenstephaner*. 1997;65:154–157.
27. Dickel T, Krottenthaler M, Back W. Untersuchungen zum Einfluß des Kühltrubeintrages auf die Bierqualität. *Mschr Brauwiss*. 2000;53:95–100.

28. Dickel T, Krottenthaler M, Back W. Investigations into the influence of residual cold break on beer quality. *Brauwelt Int.* 2000;20:23–25.
29. Kolczyk M, Oechsle D. Ein neues Partikelmeßsystem zur Beurteilung von Filtraten und zur Qualitätssicherung. *Brauwelt.* 1998; 138:1288–1292.
30. Ilberg V, Machauer P, Sommer K. Partikelgrößenmessung zur Filtrierbarkeitsbeurteilung von Bieren. *Brauwelt.* 1993;133:1502–1505.
31. Fischer S, Schäfer W, Sommer K. Abscheideverhalten einer Zentrifuge bei der Weizenbierseparation. *Brauwelt.* 2000;140:849–852.
32. Buckee GK, Morris TM, Bailey TP. Calibration and evaluation of haze meters. *J Inst Brew.* 1986;92:475–482.
33. Lim Y-H, Pecar M, Sudarmana D, Pell R, Freeman R, Hawthorne D. Effect of storage conditions on the filterability of beer. *MBAA Techn Quart.* 1992;29:37–41.
34. Ancin C, Ayestaran B, Corroza M, Garrido J, Gonzalez A. Influence of prefermentation clarification on the higher alcohol contents of wines. *Food Chem.* 1996;55:241–249.
35. Baker CW, Amr AS. Independence of malting quality and barley flour particle size. *J Am Soc Brew Chem.* 1978;36:87–92.
36. Schwill-Miedaner A, Flocke R, Sommer K. Zusammenhänge zwischen Malzauflösung und Partikelgrößenverteilung des Schrotens. *Brauwelt.* 1997;137:412–416.
37. Delvaux F, Gys W, Michiels J, Delvaux FR, Delcour JA. Contribution of wheat and wheat protein fractions to the colloidal haze of beers. *J Am Soc Brew Chem.* 2001;59:135–140.
38. Nielsen H. The importance of running clear lauter wort. *MBAA Techn Quart.* 1973;10:11–16.
39. Michel R, Krüs HW, Schöffel S, Schreiner R, Sommer K. Calculation and description of particle trajectories in a rotational flow near the ground with and without a sidewall. *Mschr Brauwiss.* 1986; 39:428–433.
40. Reed RJR, Jordan G. Factors affecting trub formation during wort boiling. In: *Proceedings of EBC Congress*, Lisbon, 1991:673–680.
41. van Haecht JL, van Brackeleire C, de Dufour J-P, Devreux A. An alternative to the whirlpool, the wort decanter. *EBC Monogr.* 1990;XVI:96–111.
42. Denk V. Weitere Ergebnisse und Erfahrungen beim industriellen Einsatz des neuen Whirlpoolkonzeptes. *Brauwelt.* 1991;131:1219–1225.
43. Ghosh A, Sommer K. Partikelgröße von Kühltrub und Luftblasen zur Optimierung der Flotation. *Mschr für Brauwesen.* 1986; 39: 384–390.
44. Delente J, Gurley J. Carbon dioxide in fermenting beer. Part I. *MBAA Techn Quart.* 1968;5:187–192.
45. Delente J, Akin C, Krabbe E, Ladenburg K. Carbon dioxide in fermenting beer. Part II. *MBAA Techn Quart.* 1968;5:228–234.
46. Delente J, Akin C, Krabbe E, Ladenburg K. Fluid dynamics of anaerobic fermentation. *Biotechn Bioeng.* 1969;11:631–646.
47. Takahashi T, Suga S, Nagami K, Kumada J. Endoscopic investigations on the behaviour of biological and non-biological particles during fermentation and storage of beer (II). In: *Proceedings of EBC Congress*, London, 1983:169–176.
48. Takahashi T, Suga S, Nagami K, Kumada J. Endoscopic investigations on the behaviour of biological and non-biological particles during fermentation and storage of beer (III). In: *Proceedings of EBC Congress*, Helsinki, 1985:483–490.
49. Axcell B, Kruger L, Allan G. Some investigative studies with yeast foods. *Proc Inst Brew Aust NZ Sect.* 1988;29:201–209.
50. Siebert KJ, Lynn PY. Effect of protein-polyphenol ratio on the size of haze particles. *J Am Soc Brew Chem.* 2000;58:117–123.
51. Siebert KJ, Lynn PY. Effects of alcohol and pH on protein-polyphenol haze intensity and particle size. *J Am Soc Brew Chem.* 2003;61:88–98.
52. Morris TM. The relationship between haze and the size of particles in beer. *J Inst Brew.* 1987;93:13–17.
53. Claesson S, Sandegren E. Studies on haze by Doppler-light-scattering. In: *Proceedings of EBC Congress*, Salzburg, 1973:343–348.
54. Wainwright T. Non-biological hazes and precipitates in beer. *Brew Dig.* 1974;49:38–48.
55. Bamforth CW. Beer Haze. *J Am Soc Brew Chem.* 1999;57:81–90.
56. Delvaux F, Depraetere SA, Delvaux FR, Delcour JA. Ambiguous impact of wheat gluten proteins on the colloidal haze of wheat beers. *J Am Soc Brew Chem.* 2003;61:63–68.
57. Delvaux F, Combes FJ, Delvaux FR. The effect of wheat malting on the colloidal haze of white beers. *MBAA Techn Quart.* 2004;41:27–32.
58. Peinert J-C. Partikelgröße—Indikator für die Trübungsstabilität von Bier. *Brauwelt.* 2006;146:478–481.
59. Reed RJR, Freeman GJ, Eggars HU. Selection of filter-aids appropriate to beer particle size. In: *Proceedings of EBC Congress*, Lisbon, 1991:641–648.
60. Wackerbauer K, Evers H, Kaufmann B. Improvement of measurement of haze during final beer filtration. *MBAA Techn Quart.* 1992;29:73–77.
61. Freeman GJ. Rapid estimation of effective bed voidage for kieselguhrs. *J Inst Brew.* 1993;99:219–221.
62. Niemsch K. Bierstabilisierung. Der Schritt in das neue Jahrtausend mit der Erfahrung von gestern. *Brauwelt.* 2001;141:399.
63. Husemann K, Hebmüller F, Eßlinger M. Die Bedeutung der Tiefenfiltration bei der Kieselgurfiltration von Bier (Teil 2). *Mschr Brauwiss.* 2003;56:152–160.
64. Stippler K, Wasmuth K, Maitner W. Moderne Läutertechnik in Hochleistungssudwerken. *Brauwelt.* 1988;128:2201–2204.
65. Back W, Krottenthaler M. Neue Regelung für den Abläutervorgang im Läuterbottich. *Brauwelt.* 1999;139:1666–1668.
66. Miedaner H. Gibt es eine neue Generation von Läuterbottichen? *Brauwelt.* 2002;142:1094–1098.
67. Gattermeyer P, Weinzierl M, Wasmuth K, Stippler K. Pegasus: the new Lauter Tun method. *Cerevisia.* 2003;28:31–36.
68. Narziß L, Krüger R, Krauß T. Technologie und wirtschaftlicher Vergleich von Abläutersystemen. In: *Proceedings of EBC Congress*, Copenhagen, 1981:137–152.
69. Narziß L. Moderne Abläuterung. *Brauwelt.* 1992;132:1661–1663.
70. Herrmann H. Läuterbottich—Stand der Technik. *Brauwelt.* 1992;132:1094–1096.
71. Lenz B, Herrmann H. Eine neue Läuterbottichkonstruktion. *Kvasny prumsyl.* 1992;38:6–10.
72. Narziß L. Läuterbottich und Maischefilter. Optimierung der Arbeitsweise. *Brauwelt.* 1982;122:1030–1057.
73. Jurado J, Mohseni S. Design and implementation of a programmable controller based on differential pressure sensors to control the runoff for a Lauter Tun. *MBAA Techn Quart.* 1992;29:6–10.
74. Herrmann H. Läuterbottich für 10 Sude in 24 Stunden. *Brauwelt.* 1991;131:1227–1229.
75. Miedaner H, Weinzierl M, Wasmuth K. Observations on a Lauter Tun with new design. *MBAA Techn Quart.* 2005;42:329–331.
76. Kraus T. Technologischer und wirtschaftlicher Vergleich der verschiedenen Läutersysteme, Diploma Thesis, TU München, 1982:98.
77. Melis M. Das Maischefilter 2001—eine neue Brautechnik. *Brauwelt.* 1991;131:1187–1192.
78. Meilgaard MC. Effects on flavour of innovations in brewery equipment and processing: a review. *J Inst Brew.* 2001;107:271–286.
79. Harmegnies F, Marle L, Tigel R. Mash filtration: influence of sparging parameters on wort quality and sparging efficiency. *MBAA Techn Quart.* 2006;43:58–62.
80. Menger H-J. Neue Generation Dünnschicht-Kammerfilter bewährt sich unter Produktionsbedingungen. *Brauinindustrie.* 2004;89:28–31.
81. Wolfseder A. Drei-Kammern-Läuterbottich für 24 Sude pro Tag. *Brauwelt.* 2004;144:1288–1290.
82. Anon. Die neue Maischefilter-Generation. *Brauwelt.* 2004;144: 1502–1507.
83. O'Rourke T. Die moderne Anpassung der Würzekochung. *The Brewer.* 1984;70:12–18.
84. Sommer G. Theoretische Grundlagen der kontinuierlichen Hochtemperatur-Würzekochung. *Mschr Brauerei.* 1982;35:25–27.
85. Wackerbauer K. Die technologischen Auswirkungen der Aussenkochung. In: *Proceedings of EBC Congress*, Copenhagen, 1981:169.
86. Narziß L, Miedaner H, Schneider F. Weiterführende Untersuchungen zur Technologie der Würzekochung unter besonderer Berücksichtigung energiesparender Maßnahmen. *Mschr Brauwiss.* 1991;44:96–106.
87. Hackensellner T. Würzebereitung mit dynamischer Niederdruckkochung. *Brauinindustrie.* 2001;86:14–16.
88. Mezger R, Krottenthaler M, Back W. Die Aufteilung des Prozessschritts Würzekochung in zwei Phasen am Beispiel des Kochverfahrens SchoKo. *Brauwelt.* 2003;143:1055–1061.
89. Anonymous. Wort boiling and clarification. In: European Brewery Convention, editor. *Manual of Good Practice*. Nürnberg, Germany: Fachverlag Hans Carl, 2000:24–25.
90. DeClerck J. The process of wort boiling. *Brew Dig.* 1967;42:96–99.
91. Mezger R, Krottenthaler M, Back W. Modern wort boiling systems—an overview. *Brauwelt Int.* 2003;21:34–39.

92. Weinzierl M, Miedaner H, Stippler K, Wasmuth K, Englmann J. Merlin—a new wort boiling system. *MBAA Techn Quart.* 2000;37:383–391.
93. Mezger R, Krottenthaler M, Back W. Dividing wort boiling into two phases. Using the SchoKo boiling process as an example. *Brauwelt Int.* 2004;22:29–32.
94. Mezger R, Krottenthaler M, Back W. Vacuum boiling—a new alternative for gentle wort processing in the brewhouse. *Brauwelt Int.* 2006;24:22–25.
95. Yamashita H, Kühbeck F, Hohrein A, Herrmann M, Back W, Krottenthaler M. Fractionated boiling technology: wort boiling of different Lauter fractions. *M Schr Brauwiss.* 2006;59:130–147.
96. Krottenthaler M, Hartmann K, Back W. Use of a flash evaporator for wort treatment. *Brauwelt Int.* 2001;19:457–459.
97. Coors G, Krottenthaler M, Back W. Wort pre-cooling and its influence on casting. *Brauwelt Int.* 2003;21:40–41.
98. Krottenthaler M, Back W. The effects of wort precooling during cast-out. *Brew Distilling Int.* 2001;32:14–15.
99. Krottenthaler M, Lehmann J, Mieth R. Use of a vacuum evaporator unit in Gilde Brauerei AG. *Brauwelt Int.* 2003;21:382–387.
100. Kaltner D, Mitter W, Binkert J, Preis F, Zimmermann R, Biendl M. Würzekochsystem SCHOKO und Hopfenkomponenten. *Brauwelt.* 2004;144:1562–1566.
101. Schwill-Miedaner A, Krottenthaler M. Neue Kochsysteme—ein Überblick. *Der Weihenstephaner.* 1999;67:69–73.
102. Wasmuth K, Stippler K, Weinzierl M, Gattermeyer P. Stromboli kocht ohne Druck—eine sympathische Lösung. *Brauwelt.* 2003;143:948–852.
103. Wasmuth K, Weinzierl M, Gattermeyer P. Stromboli—ein Vulkan auf der Überholspur. *Brauwelt.* 2004;144:925–927.
104. Miedaner H. *Brautechnische Analysemethoden, 4th edition.* Freising-Weihenstephan: Selbstverlag der MEBAK (MEBAK: Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission), 2002;2:35–92.
105. Back W. *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie,* 1st edition. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, Brauwelt Wissen, 2005;1:77.
106. Kühbeck F, Schütz M, Krottenthaler M, Back W. Influence of Lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. *J Am Soc Brew Chem.* 2006;64:16–28.
107. Stippler K, Wasmuth K, Gattermeyer P. Generationswechsel beim Innenkoher. Teil II: Gezieltes Einwirken auf die verschiedenen Phasen des Würzekochens. *Brauwelt.* 1997;137:1386–1397.
108. Schwill-Miedaner A, Sommer K. Probenahme im Sudhaus. Ein Beitrag zur Qualitätssicherung, Teil 1. *Brauwelt.* 1996;136:1607–1610.
109. Kühbeck F, Back W, Krottenthaler M. Influence of Lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality in large-scale trials. *J Inst Brew.* 2006;112:222–231.
110. Michel R. *Grundlegende Mechanismen der Heißtrubabscheidung,* Vol.14. Düsseldorf: VDI-Verlag, Fortschrittsberichte VDI, 1989:56.
111. Bartschat H. Einfluß der Heißtrubabscheidung auf die Filtrierbarkeit von Bier—Ein Vergleich zwischen einem neu konzipierten Whirlpool und einer modernen Zentrifuge, Diploma Thesis, TU München, 1997:69.
112. Kühbeck F, Back W, Krottenthaler M. Influence of Lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality—a review. *J Inst Brew.* 2006;112:215–221.
113. Kühbeck F, Müller M, Kurz T, Back W, Krottenthaler M. Effect of hot trub and particle addition on fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae.* *J Biotechnol* submitted.

Manuscript received Nov. 10, 2006, and revision received Jan. 27, 2007.



Effect of hot trub and particle addition on fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae*

Florian Kühbeck^{a,*}, Michael Müller^a, Werner Back^a,
Tomas Kurz^b, Martin Krottenthaler^a

^a Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Germany

^b Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, Fachgebiet Lebensmittelverfahrenstechnik, Technische Universität Berlin, Amrumer Str. 32, D-13353 Berlin, Germany

Received 4 April 2007; received in revised form 30 May 2007; accepted 12 June 2007

Abstract

In this investigation, the effect of hot trub (a precipitation product of the wort boiling process in beer manufacturing) addition on fermentation performance was observed under variation of yeast vitality, and origin and the amount of hot trub. Its addition improved suspended cell concentrations for all yeast vitalities tested, and the more trub was added, the greater the effect. Further, pilot-scale fermentations showed significantly lower pH values and an accelerated extract degradation, thus, advancing fermentation by roughly 1 day for hot trub addition versus the fermentation of extremely bright wort. Since the positive effect of trub has often been associated with its particulate characteristics, fermentations with fractionated model particles, such as poly(vinylpyrrolidones) and kieselguhr, of different particle sizes were carried out under variation of yeast vitality and particle amounts. The addition of both particle types also improved fermentation performance, however, the effect was not as great as that of hot trub. Particulate material may improve the development of CO₂ from the fermenting medium, thus reducing its concentration and inhibitory effect on yeast metabolism. The most effective fraction of kieselguhr had a 40 μm peak which also occurred in particle size distributions of all hot trubs investigated. This could be of particular interest when discussing particle effects.

© 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: CO₂; Fermentation; Hot trub; Nucleation; Particles; Yeast

1. Introduction

Within the beer manufacturing process it is widely accepted among brewers as being crucial for a proper final beer quality to obtain bright wort with a complete separation of hot and cold trub [1]. Turbid worts and in particular the carry-over of hot and cold trub were reported to be detrimental to beer quality in terms of bitter substance yield, yeast cell metabolism, filtration characteristics, flavor quality, flavor stability, foam stability and non-biological stability [1–6]. In contrast to this, it was reported that extremely bright worts have detrimental effects on fermenta-

tion and/or beer quality [3,7–10]. Moreover, trub addition to the pitching wort was found to increase yeast vitality and yield [3,11,12] as well as fermentation performance [3,7,8,11–16]. Particularly, trub containing worts fermented faster, had lower final gravity, lower pH and higher ethanol concentrations compared to clarified worts [6,11,13,17].

1.1. Hot trub

The influence of hot trub on yeast vitality and fermentation performance is associated with several components of hot trub, e.g. lipids, zinc and particulate properties [11,16,18–20]. Although some authors underline the nutritive importance of lipids and particularly of unsaturated long-chain fatty acids [11,12,18–24], others believe zinc might be the most effective component of trub [11,14,25]. A third group doubts any nutritive effects deriving from trub [6,26,27]. Instead, the latter group identifies the particulate characteristics of hot trub as being responsible for its effect on fermentation performance.

Abbreviations: approx., approximately; DIN, Deutsche Industrienorm (German industry standard); d.m., dry matter; EBC, European Brewery Convention; hr(s), hour(s); ICP, intracellular pH; *n*, number of simultaneous batches; *p*, confidence level; P, Plato; PVPP, poly(vinylpyrrolidones); rpm, rounds per minute

* Corresponding author. Tel.: +49 8161 608 324; fax: +49 8161 608 140.

E-mail addresses: FBK@patentfirm.de (F. Kühbeck), Iglhaut@iglhaut.org (M. Müller), Werner.Back@wzw.tum.de (W. Back), T.Kurz@lb.tu-berlin.de (T. Kurz), Martin.Krottenthaler@wzw.tum.de (M. Krottenthaler).

1.2. Particulate effect and CO₂ content during fermentation

At the very start of fermentation CO₂ is formed because of metabolic activities of the yeast and is dissolved in wort in an increasing amount, mainly in form of aqueous species [28]. The CO₂ concentration increases and may even reach a saturation level [26,29]. CO₂ bubble formation may eventually occur when a critical limit determined by wort composition, pressure, temperature, and certain surface effects is exceeded. CO₂ bubbles typically break from their nucleation sites when they reach about 50 µm in diameter and grow as they rise upward due to decreasing pressure and increasing diffusion of CO₂ from the surrounding liquid into the gas phase of the bubble [29,30]. Details of bubble formation were highlighted in earlier publications [26,29,31,32]. The suitable nucleation sites for non-polar CO₂ offered by particulate surfaces may ease development of bubbles, thus reducing the concentration of dissolved CO₂ [6,33]. Indeed, Stewart et al. observed lower CO₂ levels in cloudy wort compared to clear wort (2.4 g/L versus 5 g/L) [34]. Yeast cells sediment immediately after inoculation, causing the number of cells in suspension to decrease until bubble formation occurs since yeast has a higher density than wort at all times of the fermentation process [29,30,32,35].

1.3. Inhibitory effect of CO₂ on yeast

It is well-known that CO₂ is inhibitory to yeast growth, cell viability and fermentation performance [6,36–38]. A possible explanation is that a high level of dissolved CO₂ in the yeast cell gives rise to a sufficient concentration of bicarbonate ions in the cell which inhibit enzymatic reactions, particularly those involved with cell growth and division [27,37]. Thus, a reduction of the dissolved CO₂ concentration level helps yeast to keep up its metabolism and growth.

Over and above this reduction of the “toxic” effect of CO₂, a mechanical side effect comes into consideration due to increased CO₂ development. As more bubbles are formed and ascend due to the particle effect, the fermenting wort is kept in more intensive movement, similar to stirring. This causes more yeast cells to stay in suspension allowing a higher exchange rate of nutrients and metabolites to the individual yeast cell throughout the entire fermentation tank. As a result, the inhibitory effect of CO₂ is reduced and more yeast cells are found in suspension, thus fermentation is finally accelerated since there is a very distinct correlation between fermentation velocity and suspended yeast mass [32]. The quantity of suspended yeast during primary fermentation is a function of the CO₂ development velocity [32]. Further, there is a good correlation between the amount of evolved CO₂ and the reduction in specific gravity and therefore, fermentation speed [39]. These considerations may be even more interesting when growing fermenter dimensions, in particular greater fermenter depths, cause increasing CO₂ saturation levels as are applicable in practical brewing operations [40,41]. On the other hand, the problems associated with the fermentation of very bright worts seem to be due to a high dissolved CO₂ concentration and the described consequences [6]. Furthermore, the importance of CO₂ in fermenting wort was

also highlighted by Rice et al. who, in the case of an increased fermentation temperature, hold the decreased concentration of CO₂ as the principle reason for yeast growth differences rather than the temperature difference itself [36]. Therefore, it is concluded that maximum yeast growth is rather influenced by the CO₂ level and is independent of temperature [36].

1.4. Addition of inert particles to fermentation

The “particulate effect” on the CO₂ concentration in the fermenting wort depends on the amount, type, density, chemical properties and/or surface characteristics of the particles present in the fermenter and is also known from enological and distilling studies [42–44]. In earlier trials it was observed that the addition of silica gel particles does not cause a binding of yeast cells to particles and that silica gel particles sediment faster than yeast cells [35].

When diatomaceous earth was added in a concentration of 0.2 g/L the resulting CO₂ level was similar to that of cloudy wort, while a variation of the amount in the range of 0.05 to 0.2 g/L had the same effect, no matter what amount was added [34]. However, when using bentonite the effect of lower CO₂ levels was not obtained to such an extent, even at a concentration of 1 g/L. Further, the addition of silica gel particles of the same particle size (8–13 µm in diameter), but of different surface areas (295–725 m²/g) in an amount of 0.2 g/L did not result in a difference in CO₂ levels after 5 h of fermentation [34]. Therefore, it is concluded that the surface area is not crucial for the particulate effect but the particle size is likely the determinant of a particle's ability to be an effective gas nucleator [34]. In another series of trials a greater uptake of amino acids or free amino nitrogen was observed in cloudy compared to clear wort, even though diatomaceous earth (0.2 g/L) was added to the clear wort. Thus, there must be an additional effect of cloudy wort contributing to the dynamics of fermentation [34,45,46]. Finally, when diatomaceous earth (0.2 g/L) and palmitoleic acid (C16:1) (5.43 mg/L) were added to clear wort, similar suspended cell counts were obtained, which were higher than those of clear wort over the entire period of fermentation [34].

Axcell et al. explained that protein-based yeast food are known for accelerating fermentation and yielding a higher yeast crop, despite the fact that yeast-foods based on proteins are not utilizable by the yeast [47]. After separation, several groups of single components were added to fermentations. As a result, vitamins as well as long-chain fatty acids did not have a stimulatory effect on yeast neither individually, nor in combination [47]. By contrast, applying particulate material, such as activated carbon, Chromosorb and kieselguhr resulted in a similar stimulatory effect as yeast food. Particularly, activated carbon with a particle size of 10–40 µm had a significant effect on the yeast count [47]. It was finally concluded that certain non-nutritive types of particles had the same stimulatory effect as yeast food [47]. Furthermore, yeast food led to a reduced level of CO₂ (–31%) in fermenting wort, while its absence caused saturation levels [47]. According to Axcell et al. the particle size distribution did not seem to be the determining factor in nucleation since particle size of acid degraded chloroform/methanol-treated yeast

food is similar to that of the original material but is completely inactive. The surface charge may play some role, although activated carbon is essentially non-polar whilst kieselguhr is polar, both having an effect. Also, the physical density of the material is presumably important in that the substance would be most effective if evenly distributed throughout the wort. Additionally, a porous or irregular structure would provide a larger surface for gas nucleation [47]. Interestingly, proteolipid material contained in the particulate material may provide non-polar centers which should help nucleate a hydrophobic gas like CO₂ [47].

Since the matter of lipids and zinc was elucidated in previous publications [48,49], the focus of this paper is the effect of hot trub on fermentation performance in comparison to other particle types. Here, the effects of hot trub of different origins, different hot trub amounts and different yeast vitalities are investigated. Additionally, the effect of model particulate material is to be assessed under variation of particulate type, particulate size, yeast vitality and particulate amount.

2. Experimental

2.1. Wort preparation

A lager type wort was obtained after whirlpool operation from an industrial scale brewing procedure with a cast volume of 300 hl. The wort was chilled to 0 °C and stored for at least 24 h and then cold filtered in a sheet frame filter (Pall-Seitz, Bad Kreuznach, Germany) applying deep filter sheets SEITZ KS-80 (Pall-Seitz, Bad Kreuznach, Germany) at a pressure difference of 2.5 bar. The retention rate was set to remove particles with particle size of >2 µm from wort. Prior to filtration, the filter including the filter sheets was rinsed with hot water (80 °C) for 20 min and cooled by rinsing with cold de-aerated water. Aeration of wort was performed with Venturi nozzles using sterile air just before pitching.

2.2. Yeast

Prior to pitching, propagated yeast (*Saccharomyces cerevisiae*; yeast strain W34; Hefebank Weihenstephan, Weihenstephan/Germany) was monitored for vitality (intracellular pH (ICP) method) and viability (methylene blue staining). *Aging method 1*: In order to lower yeast vitality, yeast was stored at 0 °C for 7 days. *Aging method 2*: To obtain lowest vitality, suspended yeast was treated by adding ethanol (10% by weight), incubating at 36 °C for 90 min, centrifuging (9000 rpm for 5 min), and washing with de-ionized water (0 °C) three times. Pitching rate was 15×10^6 cells/mL.

2.3. Fermentations

All fermentations were carried out at a temperature of 12 °C under atmospheric pressure. For pilot-scale fermentations, closed cylindro-conical tanks (height: 500 mm; diameter of cylinder: 210 mm) with a net volume of 10 L each (Pantolsky, Neuried, Germany) with an automated temperature control (Siemens, Munich, Germany) were used. The laboratory-scale fermentations were carried out in EBC fermentation tubes (height: 1500 mm; diameter: 46 mm) according to [50] with a net volume of 2.6 L each (Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Weihenstephan, Germany) set up in a refrigerator (Liebherr, Lindenberg, Germany) with automated temperature control.

2.4. Fermentation additives: hot trub

Hot trub samples were obtained manually from the whirlpool of three different industrial scale brewing operations (A, B and C) and immediately deep-frozen after sampling. Prior to use they were gently defrosted and mechanically homogenized without further treatment. The hot trub samples were pre-suspended in wort and added to the wort during pitching. For determination

of dry matter (d.m.) a sample of hot trub was heated at a temperature of 105 °C to a constant weight. The d.m. was calculated by relating the dry to the wet weight. As the average d.m. content was approx. 25%, the dosage was 2 g/L of hot trub as is, which corresponds to approx. 0.5 g d.m./L, if not mentioned otherwise.

2.5. Fermentation additives: model particles

As model particles, poly(vinylpyrrolidones) (PVPP; Divergan RS[®], BASF, Ludwigshafen, Germany), coarse (Becogur[®] 4500) and fine kieselguhrs (Becogur[®] 100; both Begerow, Langenlonsheim, Germany), and activated carbon (SIHA Activated Carbon GE; Begerow, Langenlonsheim, Germany) were added during pitching in a concentration of 0.5 g d.m./L, if not specified differently. Sieving fractions of either PVPP and kieselguhr samples were obtained by sieving mechanically for at least 30 min using sieves with mesh sizes of 40, 80, 160 and 315 µm (sieves according to DIN 4188, Haver & Boecker, Oelde, Westfalen, Germany; sieving apparatus: KS 1000, Retsch, Haan, Germany). The obtained fractions were analysed in terms of particles sizes by particle size distribution analysis.

2.6. Particle size distribution analysis

For measuring the particle size distribution in the range of 0.1–875 µm, a laser diffraction sensor (HELOS/BF, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Germany) equipped with a HeNe-laser ($\lambda = 632.8$ nm; $P = 5$ mW) and a wet dispersion unit (SUCCELL, Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Germany) was used. Resetting to zero was carried out with de-ionized water prior to each run. For sample measurement, particles were added to the water until the optical density of the resulting suspension was at an optimum range (10–15%). Prior to, and during measurement, dispersion was achieved by stirring (stirrer setpoint: 50%) the content of the sample basin (approximate volume: 500 mL) and pumping its content through the flow cell measuring cuvette (pump setpoint: 80%). The stainless steel flow cell had a path length of 2 mm. All samples were measured with and without ultrasonic treatment ($P = 60$ W) in steps (0, 30, 60, 90 and 120 s) to provide optimum dispersion.

2.7. Sampling of wort and analysis

Samples of fermenting wort (ca. 50 mL) were taken daily for pH, extract and ethanol content monitoring. Samples for suspended cell count analysis (ca. 10 mL) were taken two to three times a day, depending on the stage of fermentation. pH, extract ethanol and vicinal diketone quantifications were carried out according to the standardized procedures (MEBAK II 2.14, 2.10.2.3, 2.13.2, 2.4 and 2.8.2, MEBAK III 1.2.1, 1.3.1.1 and 1.3.2) [51,52]. Pitching rate and yeast growth were monitored by counting the cells in a Thoma chamber and the cell viability was assessed using the methylene blue staining technique according to the MEBAK III 10.11.4.4 and 10.11.3.3 [52], but in alteration of mentioned method citrated methylene blue was used. Vitality measurements of the yeast were carried out by measuring the ICP value according to methods published earlier [53,54].

2.8. Statistical analyses

Means were calculated by arithmetically averaging the values of corresponding trials. Confidence intervals were calculated for a confidence level (p) of 95% and are displayed as error bars in the figures.

3. Results and discussion

For all trials, the possible effects of particles naturally contained in the wort were eliminated by a final polishing filtration (retention rate >2 µm) of each wort batch. Thus, a single clear wort, practically free of particles was obtained and used for all trials within one test series. Further, the same yeast batch was used within one fermentation trial. Therefore, the addition of

certain portions of hot trub and/or model particles was the only variation to the plain filtered wort. A sample of filtered wort with no addition served as a control.

3.1. Trials with hot trub and particle addition (preliminary screening in pilot fermenters)

In order to gain an overview on the effect of hot trub and various particles, a preliminary pilot-scale fermentation trial was conducted by adding various particles to filtered wort. The addition of hot trub, fine and coarse kieselguhr, activated carbon, and PVPP all caused an increase in the concentration of cells in suspension by more than 20% compared to filtered wort without additives (not shown). Further, the pH of the fermenting wort decreased faster and remained lower until the end of fermentation when hot trub or particles were added. The pH minima, being 4.22–4.30 for hot trub/particle addition and 4.38 for the control, were reached approx. 90 h after the start of fermentation. A similar relation was also observed for the pH values at the end of fermentation. Accordingly, particle addition, compared to bright wort caused a faster extract decrease.

From this screening experiment it might be concluded that the addition of hot trub or other types of particles, favors the fermentation performance and leads to an acceleration of the fermentation. This confirms the former observations of excessively bright wort being detrimental to fermentation performance [3,7–10]. In order to gain a more detailed view of the particulate effects the following trials were undertaken mainly in lab-scale fermenters (EBC tubes), which allow the fermenting of 16–20 batches simultaneously.

3.2. Hot trub of different origins and variation of yeast vitality (lab-scale fermentations)

Fig. 1 contains the particle size sum and density distributions of three hot trubs obtained from different large scale brewing operations. All trubs had peaks at 40–50 μm and 200–300 μm , with hot trub A having another peak at 800–1000 μm . According to a former investigation, the peak at 40–50 μm is derived from a protein/protein–polyphenol coagulate, while the 200–300 μm peak may originate from pellet hopping [55]. Finally, the

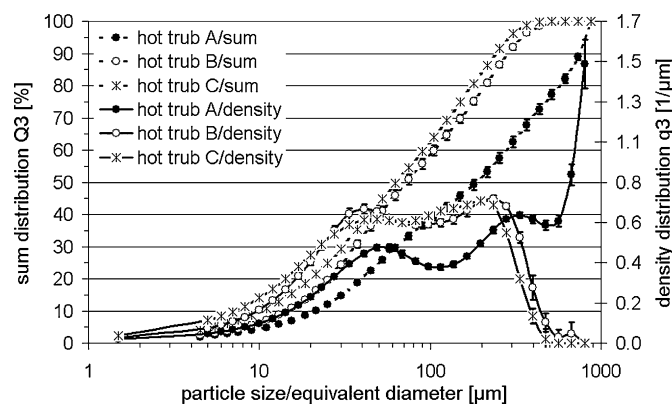


Fig. 1. Particle size sum (Q_3) and density distribution (q_3) of hot trub samples of different breweries A, B, and C (ultrasonic treatment: 60 s; $n=5$; $p=0.95$).

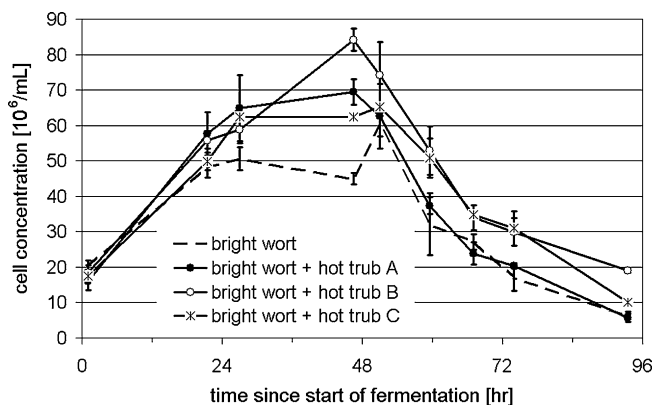


Fig. 2. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of different hot trubs in an amount of 2 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.35; viability: 86.7%; fermenter volume: 2.6 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n=4$; $p=0.95$).

peak at 800–1000 μm , which occurred only once, may be caused by even coarser hop particles or may be an artifact.

Worts, after addition of these three hot trubs were fermented with yeasts of varying vitality. When applying a yeast of high vitality (ICP: 6.35), all hot trub additions caused a faster increase in suspended cell concentrations and had significantly higher absolute peak cell concentrations (Fig. 2). Further, hot trub additions resulted in a significant lowering of pH values from 48 h after start until the end of fermentation (Fig. 3), confirming the above and previously published results [3,6–8,11–17]. The extract graph, however, did not show the differences as clearly (not shown). The latter, might be due to the height to diameter ratio of the lab-fermenters (EBC tubes: 32.6:1) which differed from the pilot-scale fermenter (2.4:1) as well as from large-scale fermenters (cylindro-conical tanks: approx. 4:1). A similar effect in cell concentration was also observed for yeast of low vitality (ICP: 5.74), which was obtained by storing yeast at 0 °C for 7 days (aging method 1), and for yeast of very low

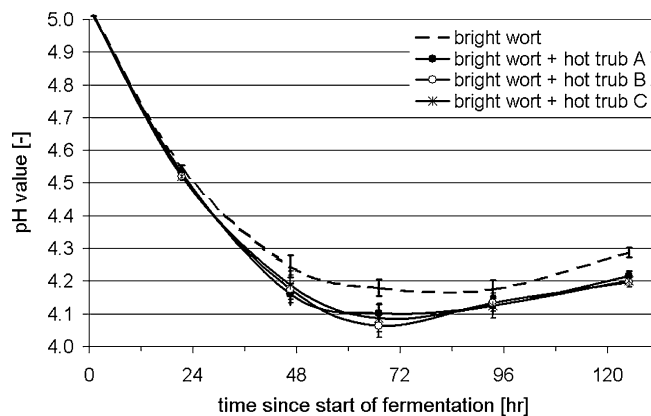


Fig. 3. pH values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of different hot trubs in an amount of 2 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.35; viability: 86.7%; fermenter volume: 2.6 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n=4$; $p=0.95$).

vitality (ICP: 5.46) which was obtained by an ethanol treatment (aging method 2) (not shown). For the two reduced yeast vitalities, the differences in pH and extract decrease between hot trub addition and control were observed as a tendency (not shown).

In conclusion, the addition of hot trub improved fermentation performance by causing higher concentrations of yeast cells in suspension, allowing a more intensive metabolism of wort components due to enhanced cell to medium contact. This is valid not only for a certain hot trub but was shown for all hot trubs investigated here. The increased suspended cell concentration is likely as a consequence of improved CO₂ development leading to a reduction of its concentration in the liquid phase and therefore to a reduction of its inhibitory effect, as discussed above [32]. Indeed, it was repeatedly observed that hot trub (or other particles) containing worts clearly showed reduced foaming properties when sampling in the middle of fermentation. This means that the dissolved CO₂ concentration was at least partly reduced. According to Daoud, the significantly increased cell concentrations correlate well with a faster decrease in specific gravity. Our results support this tendency. A new observation is, that hot trub addition leads to increased cell counts for yeast of any vitality. This is important for practical brewing applications since as a result, hot trub addition seems to be recommendable for fresh yeasts as well as for stressed and very stressed yeasts.

3.3. Variation of the amount of hot trub (lab-scale fermentations)

After varying the origin of hot trub and yeast vitality, the trub amount was to be varied in order to estimate a minimum amount which would cause an effect on fermentation performance and also the optimum amount. According to Fig. 4, increasing amounts of hot trub A lead to an increased concentration of cells in suspension for the observed range (0.5 to 4 g/L as is) with the upper limit roughly corresponding to the maximum amount of hot trub occurring in practical oper-

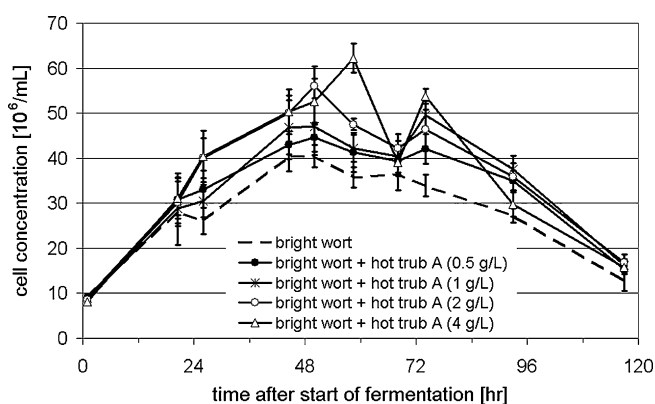


Fig. 4. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of hot trub A in different amounts: 0, 0.5, 1, 2 and 4 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.53; viability: 95.4%; fermenter volume: 2.6 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 10×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

ations (0.8 g/L d.m.) [56]. While the control shows values not exceeding 40×10^6 cells/mL, the maximum is 45, 50, 56 and 62×10^6 cells/mL for an addition of 0.5, 1, 2 and 4 g hot trub/L, respectively. This means a net gain of 10, 22, 38 and 54% in suspended cells, respectively, and this may lead to the following conclusion: the more hot trub is applied, the better the fermentation performance, with a noticeable effect occurring from additions of 1 g/L (as is) or more. It is remarkable that the drastic and significant differences in cell concentrations are not reflected in corresponding differences in pH and extract performance (not shown) which is in contrast to former findings [32,39]. This may be due to the geometry of the lab fermenters (EBC tubes), as mentioned above. Consequently, the effect of hot trub A, which performed best, was also tested in a pilot-scale trial for significance.

3.4. Significance of the effect of hot trub

In order to confirm the above observations, the addition of hot trub was compared with the control (no particles) using four pilot-scale fermenters, each. Here, the addition of hot trub (2 g/L as is) caused a significant increase in the number of cells suspended in the range from ca. 30–80 h after start of fermentation (Fig. 5). The maximum cell count achieved was approx. 65×10^6 cells/mL for hot trub versus 50×10^6 cells/mL for the control (+30%) which roughly corresponds to the increase found in the lab-scale fermentations (+38%). The addition of hot trub caused a significantly faster decrease in pH values of the fermenting wort, with a minimum at 4.22 (hot trub) versus 4.39 (control) after 90 h of fermentation (Fig. 6). This significant difference in the pH values holds from the 40 h mark, until the end of fermentation. Accordingly, the extract content decreased faster due to the addition of hot trub with a maximum difference of 1.3 P after 65 h of fermentation (Fig. 7). However, here the differences were not significant due to larger confidence intervals. Considering a final extract value of 2 P as being the end of fermentation, the “hot trub fermentations” would have reached that point 90 h after start of fermentation while the clear wort required a fermenta-

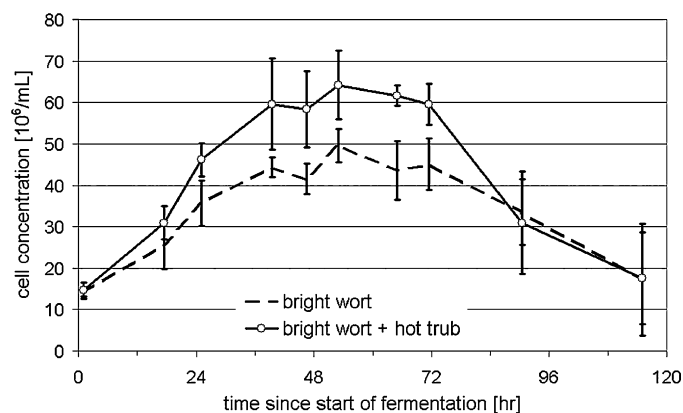


Fig. 5. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of hot trub A in an amount of 2 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.42; viability: 89.7%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

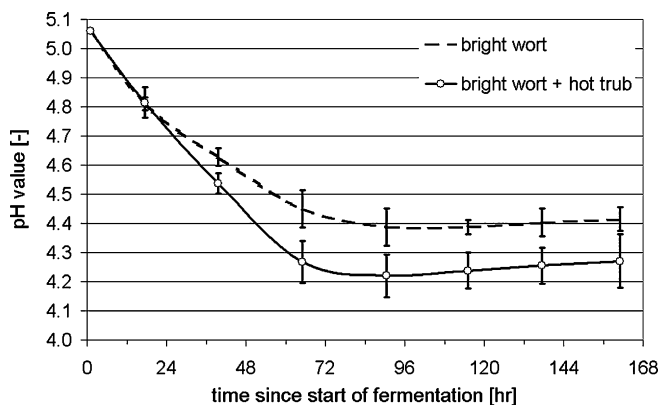


Fig. 6. pH values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of hot trub A in an amount of 2 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.42; viability: 89.7%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

tion time of 115 h. Therefore, the addition of hot trub leads to a reduction in fermentation time of approx. 1 day in terms of extract decrease confirming former results with hot trub addition [48] or increased lauter turbidity [57,58]. In this case, the diacetyl and pentanedione values were also significantly lower with hot trub (not shown).

Since the particulate characteristics of hot trub are considered as being mainly responsible for fermentation improvement (see Section 1), systematic investigations regarding the effect of model particles should be undertaken. For this, PVPP and kieselguhr were chosen as model particles, since they improved fermentation performance in preliminary trials. These particles provide particulate functions without having any nutritive effect compared to hot trub. Considering Stewart's conclusion for silica gel that particle size is determining rather than surface area [34], a portion of each bulk particulate material was sieved using mechanical sieves resulting in three fractions with peaks at 30–40, 80–120 and 200–220 μm in the q_3 density distribution. The first and third fraction should roughly simulate the particle peaks of hot trub (40–50 and 200–300 μm ; Fig. 1) in order to gain further information about different particle sizes.

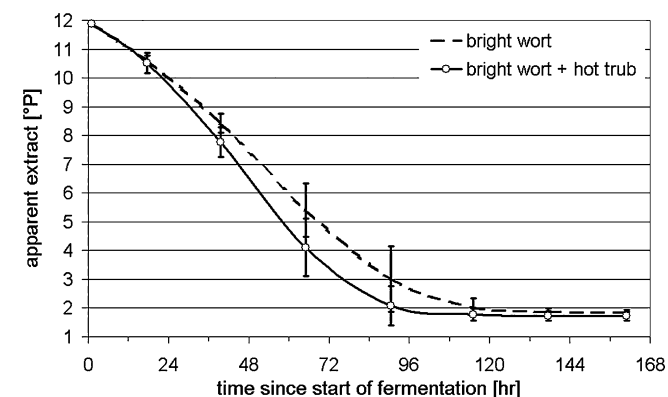


Fig. 7. Apparent extract values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of hot trub A in an amount of 2 g/L (as is) and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.42; viability: 89.7%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

Besides particle sizes, the yeast vitality and addition amounts should be varied, too.

3.5. PVPP: variation of particle sizes and yeast vitality (lab-scale fermentations)

Sieving of PVPP bulk material resulted in three fractions with peaks at 30, 80 and 220 μm in the q_3 density distribution (cumulative graph in Fig. 8). Worts after addition of these three fractions (0.5 g/L) were separately fermented in lab-scale fermenters. When a yeast of high vitality (ICP: 6.51) was pitched, the particles performed better than the control, however, differences in cell counts were small and not significant (not shown). Within the group of particles no clear trend could be observed. For pH and extract development, the coarse and medium fractions seem to be more active than the fine, but significant differences to the control did not appear (not shown). On the other hand, when yeast was kept at 0 °C for 1 week (aging method 1; ICP: 5.69) and pitched, significantly higher cell counts were achieved by PVPP, particularly by the coarse fraction (220 μm ; 66 versus 53×10^6 cells/mL; +25%). For the pH and extract values no significant differences in values were obtained (not shown).

3.6. Significance of the effect of PVPP

When a non-fractionated portion of commercially available PVPP (0.5 g/L) was applied in pilot-scale fermentations with yeast of high vitality (ICP: 6.44; viability: 92%), a significant advantage in terms of the suspended cell concentration, pH value and extract decrease was obtained (Figs. 9–11). The maximum cell concentration was increased by ca. 32% vs. the control, the minimum pH value was lower by 0.09 (4.22 versus 4.31), and the extract level was 0.66 P lowered after 63 h of fermentation.

Compared to hot trub, PVPP was also able to improve fermentation performance, however the effect seems to be smaller. Since PVPP was added in a similar amount like hot trub (related to d.m.) and also contained similar fractions in terms of the particle size distribution (cf. Figs. 1 and 8) it may be concluded that

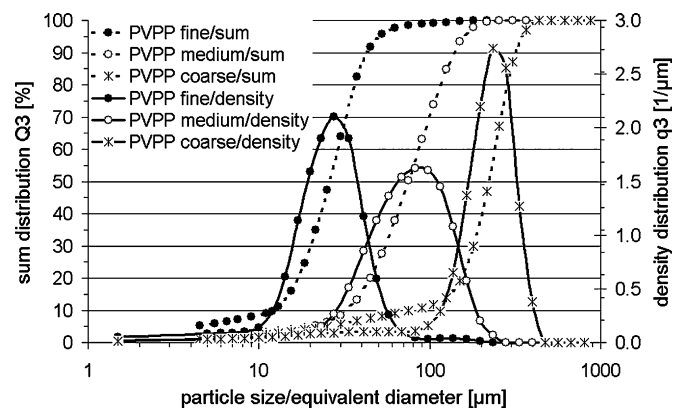


Fig. 8. Particle size sum (Q_3) and density distribution (q_3) of PVPP as cumulated presentation of three fractions, obtained by sieving (ultrasonic treatment: 60 s; $n = 5$; $p = 0.95$).

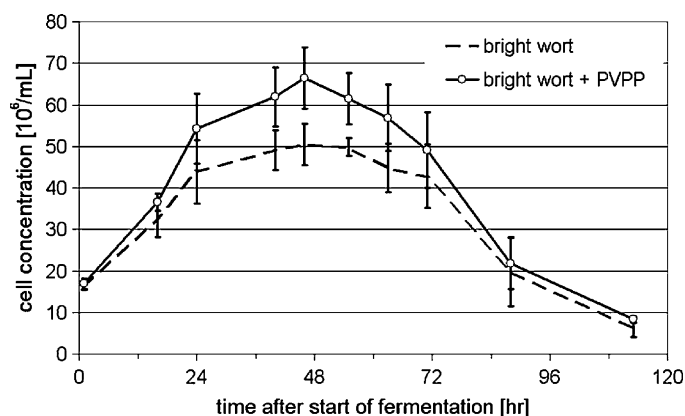


Fig. 9. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated PVPP in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.44; viability: 92%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

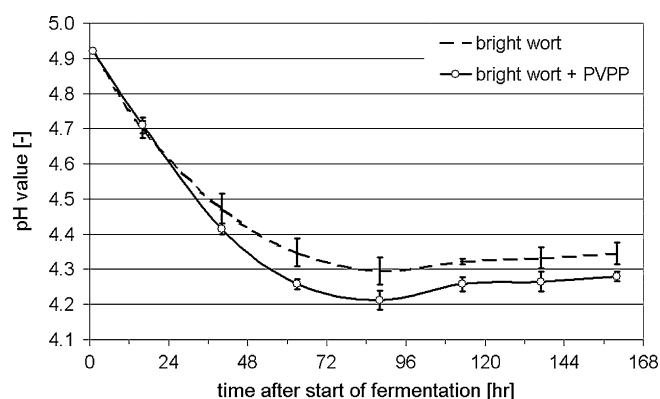


Fig. 10. pH values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated PVPP in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.44; viability: 92%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

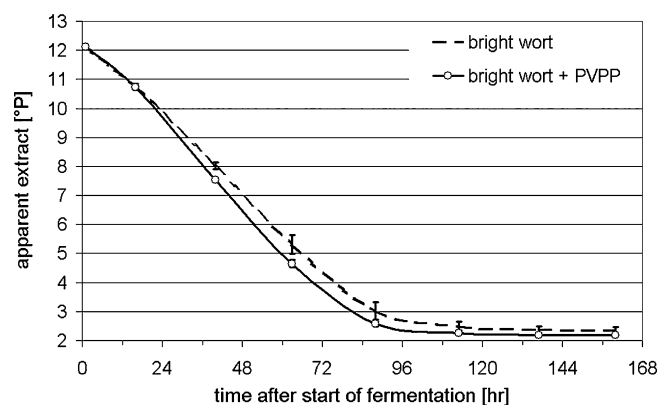


Fig. 11. Apparent extract values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated PVPP in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.44; viability: 92%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: 12 °C; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

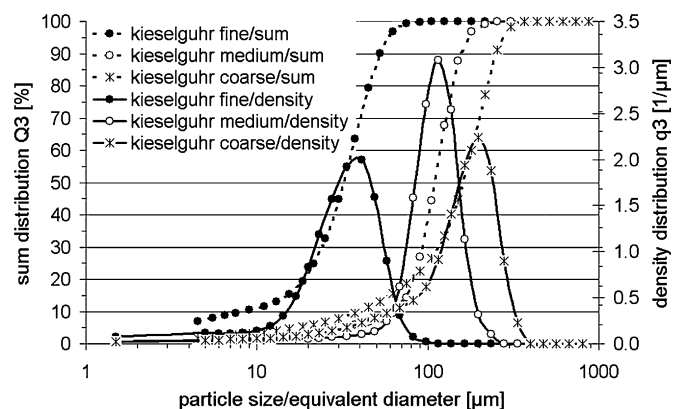


Fig. 12. Particle size sum (Q_3) and density distribution (q_3) of coarse kieselguhr as cumulated presentation of three fractions, obtained by sieving (ultrasonic treatment: 60 s; $n = 5$; $p = 0.95$).

hot trub has a particulate effect as well as an additional nutritive effect, probably provided by long-chain fatty acids and zinc [49].

3.7. Kieselguhr: variation of particle sizes and yeast vitality (lab-scale fermentations)

Beside PVPP, kieselguhr was in the focus of investigations as another type of non-nutritive particle. By sieving a coarse bulk kieselguhr, three fractions were obtained with peaks at 40, 120 and 200 μm in the q_3 density distribution (cumulated graph in Fig. 12). The addition of the fractions caused a significant increase of cells in suspension throughout the entire fermentation, when yeast of high vitality was applied. In terms of pH and extract content decrease, the medium and particularly the fine fraction were slightly ahead of the control with only small differences (not shown). On the other hand, when yeast of a low vitality (7 days at 0 °C; ICP: 5.72) was pitched, the cell numbers of the particle fermentations tended to be higher, although differences were only partially significant (not shown). In terms of pH value and extract content decrease, no consistent tendencies occurred (not shown).

3.8. Variation of the amount of kieselguhr particles (lab-scale fermentations)

Finally, a variation of the quantity of the fine kieselguhr fraction (40 μm, see above and Fig. 13) was applied. Here again, a faster increase of cell numbers with higher overall maximum was obtained by the effect of particles. The increments were 6, 20, 21 and 37% related to the amounts of 0.125, 0.25, 0.5 and 1 g/L, respectively (Fig. 13). pH values and particularly the extract performance indicated a significant advantage for particulate addition to bright wort in fermentation performance (not shown). Tendentially, the amounts of 0.5 and 1 g/L had the best results, meaning the more particles are applied, the better the fermentation performance. This is in contrast to the finding of Stewart et al. who observed a similar reduction effect on CO₂ level when varying the addition of diatomaceous earth in the range of 0.05–0.2 g/L [34].

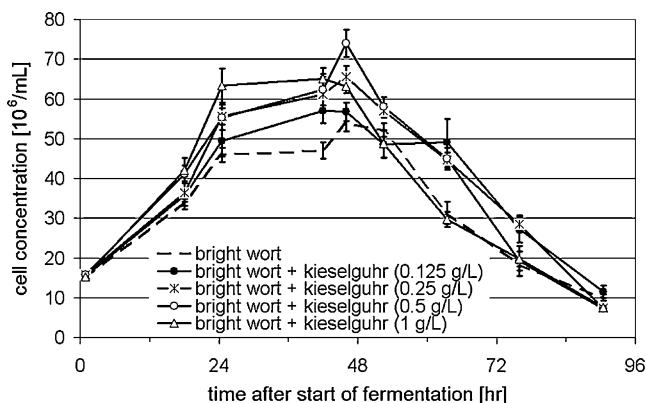


Fig. 13. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of fine kieselguhr fraction ($<40\ \mu\text{m}$) in different amounts: 0, 0.125, 0.25, 0.5 and 1 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.30; viability: 91.6%; fermenter volume: 2.6 L; fermentation temperature: $12\ ^\circ\text{C}$; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

3.9. Significance of the effect of kieselguhr

When a non-fractionated portion of commercially available kieselguhr (0.5 g/L) was applied in pilot-scale fermentations with yeast of high vitality (ICP: 6.19; viability: 96%), a moderate but not significant increase in terms of the maximum suspended cell concentration (+ ca. 20%; Fig. 14), but virtually no difference in terms of pH value and extract content decrease was observed (Figs. 15 and 16).

The positive effect of the fine fraction ($40\ \mu\text{m}$; Fig. 13) may give a hint for the observed positive particulate effect of hot trub since all investigated hot trubs contained a $40\ \mu\text{m}$ fraction. In this context, Axcell et al. found that protein-based yeast food provides a size distribution of $2\text{--}50\ \mu\text{m}$ for bubble nucleation [47], which might also be provided by hot trub, as well as by the fine kieselguhr fraction. On the other hand, this positive effect could not be proved for the non-fractionated commercial kieselguhr sample, which might be due to the fact that the fine fraction is contained in a too small a portion, therein.

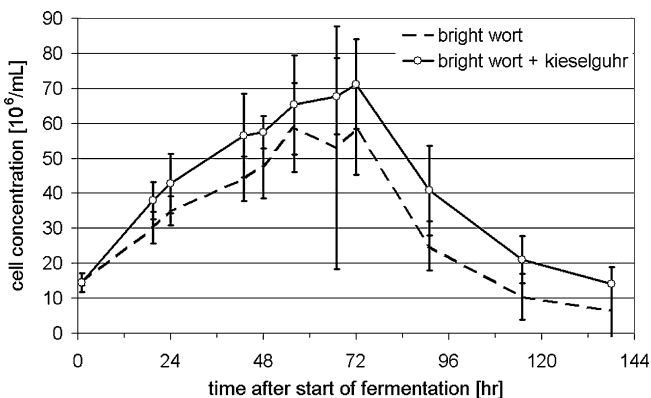


Fig. 14. Concentration of yeast cells suspended in fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated kieselguhr in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.19; viability: 96.2%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: $12\ ^\circ\text{C}$; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

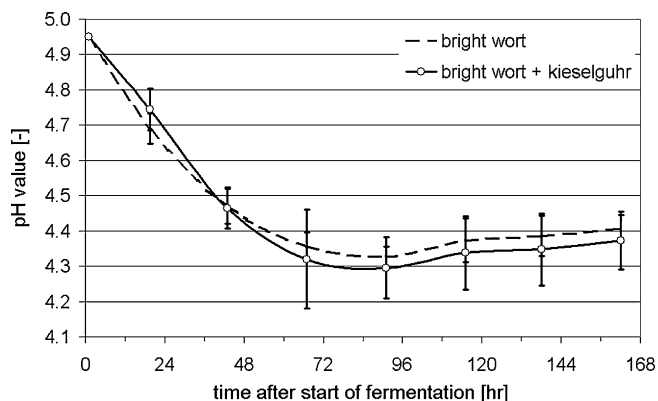


Fig. 15. pH values of fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated kieselguhr in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.19; viability: 96.2%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: $12\ ^\circ\text{C}$; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

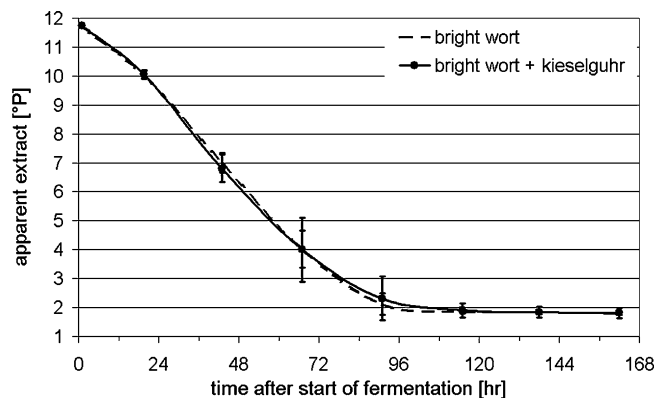


Fig. 16. Apparent extract of fermenting wort vs. fermentation time after addition of non-fractionated kieselguhr in an amount of 0.5 g/L and pitching with yeast of high vitality (ICP: 6.19; viability: 96.2%; fermenter volume: 10 L; fermentation temperature: $12\ ^\circ\text{C}$; pitching rate: 15×10^6 cells/mL; $n = 4$; $p = 0.95$).

Similar to PVPP, it might also be concluded for kieselguhr that the additional nutritive features of hot trub discussed above may result in a greater overall advantage. This is in agreement with former findings for cloudy wort vs. the addition of diatomaceous earth to bright wort [34,45,46]. Further, it confirms the observations of Stewart et al. who found a greater effect when long-chain fatty acids were added to bright wort additionally to diatomaceous earth. Further, as hot trub is a complex protein/protein–polyphenol precipitate with lipids (e.g. linoleic acid) and metal chelates (e.g. zinc), beside the nutritive effects it provides non-polar surfaces that might help the non-polar CO_2 to nucleate.

4. Conclusions

Our trials confirm that excessively bright worts are detrimental to fermentation performance and might therefore also be detrimental to final beer quality. The addition of hot trub as well as other particles leads to an increased development of CO_2 from the fermenting wort. This is due to particles providing suitable nucleation sites and this in turn causes a reduction of CO_2 concentration below the saturated levels occurring in

bright worts. As a consequence, suspended cell concentrations are increased, and the inhibitory effect of dissolved CO₂ is reduced. Due to higher suspended cell counts, the contact of yeast cells to medium is intensified and therefore, the metabolic rate rises. The addition of hot trub of various origins to yeasts of various vitalities leads to higher cell counts in suspension and consequently, to higher fermentation performance. In summary, hot trub addition is beneficial to yeast of either, high vitality (e.g. propagated/assimilated yeast), or low vitality (e.g. after several fermentation cycles). Further, the more hot trub or particles are added, the more advantageous for fermentation. The positive effects of hot trub in terms of fermentation have been confirmed by a pilot-scale trial showing significant differences in terms of suspended cell count and pH value. The extract decrease was also more rapid, but not significantly. Based on the latter trial, an overall acceleration of fermentation by approx. 1 day could be observed confirming former observations [48]. Of course, potential consequences for final beer quality are somewhat the scope of this paper and have to be considered when applying hot trub in practical operations.

The addition of “inert” particles without nutritive effect such as PVPP or kieselguhr also had a positive effect on fermentation when added to bright wort. However, the positive effect did not occur as clearly for all yeast vitalities and was not as great as that of hot trub. Here, a kieselguhr fraction with a peak at 40 µm appeared to be most effective. All investigated hot trubs, which effectively improved fermentation, also had a 40 µm fraction, which might lead to the conclusion that particle sizes of around 40 µm have an outstanding particulate effect on fermentation.

Since the composition and effect of hot trub depends on the individual characteristics of the respective brewery, particularly raw material composition, mashing, mash separation, boiling step, and yeast management, it would be almost impossible to confidently provide a general recommendation in terms of hot trub dosage to pitching wort. It would therefore be a great challenge to undertake similar trials in large-scale operations in order to confirm these findings and gain more insight regarding the optimum hot trub dosage, which can technically be controlled by the duration of the whirlpool stand, and the implications for the resulting beer quality.

Acknowledgements

We are thankful to the Hefebank Weihenstephan, Weihenstephan, Germany, for generously providing yeast samples. We also thank Begerow, Langenlonsheim, Germany and BASF, Ludwigshafen, Germany, for supplying particulate materials. Thanks to Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Germany, for providing the HELOS particle analyzer. The help of Mr. John Brauer of Brewing Research international (Nutfield, UK) in proofreading the English manuscript is hereby acknowledged. We are also grateful to the Wissenschaftliche Station für Brauerei in München e.V., Munich, Germany, for financial support. Special thanks to the reviewers of this article who gave important suggestions to improve its quality.

References

- [1] Zangrado T. Über den Einfluß der Klarheit der Läuterwürze auf die Bierqualität. Mitt Versuchsanst Gärungsgew Wien 1978;32(9–10):101–5.
- [2] Marx G, Scopel S, Wackerbauer K. Kochtrubabscheidung. Entfernung und Rückgewinnung der enthaltenen Würze. Brauwelt 1985;125(33):1697–702.
- [3] Royston MG. Wort boiling and cooling. In: Findlay WPK, editor. Modern brewing technology. London: MacMillan Press; 1971. p. 77–9.
- [4] Mück EA. Über das Verhalten der Fettsäuren beim Brauprozeß. TU München; 1985. p. 35–132 [dissertation].
- [5] Graf H. Carbonyl und Alterung des Bieres. TU München, 1984. p. 76–96 [dissertation].
- [6] Siebert KJ, Blum PH, Wisk TJ, Stenroos LE, Anklam WJ. The effect of trub on fermentation. MBAA Tech Quart 1986;23:37–43.
- [7] Jacobsen TH, Hage T, Lie SA. A fermentation assay for wort element availability. J Inst Brew 1982;88:387–9.
- [8] Maddox IS, Hough JS. Effect of zinc and cobalt on yeast growth and fermentation. J Inst Brew 1970;76(3):262–4.
- [9] Klopper WJ. Wort composition, a survey. EBC Monogr 1974;1(1):8–24.
- [10] Anonymous. Wort boiling and clarification. In: European brewery convention. Manual of good practice. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl; 2000. p. 24–5.
- [11] Schisler DO, Ruocco JJ, Mabee MS. Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. J Am Soc Brew Chem 1982;40(2):57–61.
- [12] Wainwright T. Effect of barley and malt lipids on beer properties. EBC Monogr 1980;6:118–28.
- [13] Lentini A, Takis S, Hawthorne DB, Kavanagh TE. The influence of trub on fermentation and flavour development. Proc Inst Brew, Asia Pacific Sect 1994;23:89–95.
- [14] Kreder GC. Yeast assimilation of trub-bound zinc. J Am Soc Brew Chem 1999;57(4):129–32.
- [15] Reed RJR. The influence of hot and cold break formation on whirlpool operation and fermentation. Ferment 1988;1(6):39–42.
- [16] Schuster I. Die höheren freien Fettsäuren bei der Würzebereitung und ihr Einfluß auf die Gärung und die Bierbereitung. TU München; 1985. p. 101 [dissertation].
- [17] Carpentier B, van Haecht JL, Dufour JP. Influence of the trub content of the pitching wort on yeast by-products synthesis. Proc Inst Brew, Centr South Afr Sect 1991;3:144–9.
- [18] Rosi I, Bertuccioli M. Influences of lipid addition on fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and aroma characteristics of experimental wines. J Inst Brew 1992;98(7–8):305–14.
- [19] Letters R. Lipids in brewing, friend or foe? Ferment 1992;5:268–74.
- [20] Taylor GT, Thurston PA, Kirsop BH. The influence of lipids derived from malt spent grains on yeast metabolism and fermentation. J Inst Brew 1979;85(4):219–27.
- [21] Äyräpää T, Lindström I. Influence of long-chain fatty acids on the fermentation of esters by brewer's yeast. Proc EBC Congr, Salzburg 1973: 272–82.
- [22] David MH, Kirsop BH. Yeast growth in relation to the dissolved oxygen and sterol content of wort. J Inst Brew 1973;79(1):20–5.
- [23] Rose AH. The role of oxygen in lipid metabolism and yeast activity during fermentation. EBC Monogr 1978;5:96.
- [24] Ahvenainen J, Vehviläinen H, Mäkinen V. Einfluß der Trubentfernung auf die Gärung und Bierqualität. Mschr Brauwiss 1979;32(6):141–4.
- [25] Lie S, Haukeli AD, Jakobsen T. Nitrogenous compounds in wort. EBC Monogr 1974;1(2):25–40.
- [26] Delente J, Gurley J. Carbon dioxide in fermenting beer. MBAA Tech Quart 1968;5(3):187–92. Part I.
- [27] Kleynhans SA, Jackson AP, Pickerell ATW. Practical control of fermentation to assist in ensuring consistent high quality beers. MBAA Tech Quart 1992;29(2):69–72.
- [28] Groat M, Ough CS. Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation rate, wine composition and wine quality. Am J Enol Vitic 1978;29:112–9.
- [29] Delente J, Akin C, Krabbe E, Ladenburg K. Carbon dioxide in fermenting beer. Part II. MBAA Tech Quart 1968;5(4):228–34.

- [30] Delente J, Akin C, Krabbe E, Ladenburg K. Fluid dynamics of anaerobic fermentation. *Biotechnol Bioeng* 1969;11(4):631–46.
- [31] Hough JS, Briggs DE, Stevens R, Young TW. Factors affecting fermentations. *Malting and brewing science*, vol. 2, 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1982. p. 645–8.
- [32] Trolle B. Experiments on bottom fermentation. III. The quantity of suspended yeast during primary fermentation as a function of carbon dioxide formation under different conditions. *J Inst Brew* 1950;56(11–12):364–72.
- [33] O'Connor-Cox ESC, Lodolo EJ, Steyn GJ, Axcell BC. High gravity wort clarity and its effect on brewing yeast performance. *MBAA Tech Quart* 1996;33(1):20–9.
- [34] Stewart GG, Martin SA. Wort clarity: effects on fermentation. *MBAA Tech Quart* 2004;41(1):18–26.
- [35] Kumada J, Takahashi T, Nakatani K, Nagami K. Endoskopische Untersuchungen des Verhaltens der biologischen und nichtbiologischen Partikel während der Gärung und Lagerung des Bieres. *Proc EBC Congr, Copenhagen* 1981;293–301.
- [36] Rice JF, Helbert JR, Garver JC. The quantitative influence of agitation on yeast growth during fermentation. *Am Soc Brew Chem Proc* 1974;32(2):94–6.
- [37] Kruger L, Pickerell ATW, Axcell BC. The sensitivity of different brewing yeast strains to carbon dioxide inhibition – fermentation and production of flavour-active volatile compounds. *J Inst Brew* 1992;98(2):133–8.
- [38] Kirsop BH, Hughes SP, Aries VC. Effects of carbon dioxide on yeast growth. In: *Fourth international specialized symposium on yeasts "yeasts for industrial use"*, Berlin; 1976. p. 492.
- [39] Daoud IS, Searle BA. On-line monitoring of brewery fermentation by measurement of CO₂ evolution rate. *J Inst Brew* 1990;96(9–10):297–302.
- [40] Kirsop BH, Rennie H, Wilson RJH. Controlled oxygenation and decarbonation during beer fermentation. In: *Fifth international fermentation symposium*, Berlin; 1976. p. 380.
- [41] Meilgaard MC. Effects on flavour of innovations in brewery equipment and processing: a review. *J Inst Brew* 2001;107(5):271–86.
- [42] Thomas KC, Hynes SM, Ingledew WM. Effects of particulate materials and osmoprotectants on very-high-gravity ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *J Appl Environ Microbiol* 1994;60:1519–24.
- [43] Ancin C, Ayestaran B, Corroza M, Garrido J, Gonzalez A. Influence of pre-fermentation clarification on the higher alcohol contents of wines. *Food Chem* 1996;55(3):241–9.
- [44] Merritt NR. The effect of suspended solids on the fermentation of distiller's malt wort. *J Inst Brew* 1967;73:484–8.
- [45] Slaughter JC, Flint PWN, Kular KS. The effect of CO₂ on the absorption of amino acids from a malt extract medium by *Saccharomyces cerevisiae*. *Fed Eur Microbiol Soc Microbiol Lett* 1987;40(2–3):239–43.
- [46] Knatchbull FB, Slaughter JC. The effect of low carbon dioxide pressures on the absorption of amino acids and production of flavor-active volatiles by yeast. *J Inst Brew* 1987;93(5):420–4.
- [47] Axcell B, Kruger L, Allan G. Some investigative studies with yeast foods. *Proc Inst Brew, Australia and New Zealand Sect* 1988;29:201–9.
- [48] Kühbeck F, Schütz M, Krottenthaler M, Back W. Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. *J Am Soc Brew Chem* 2006;64(1):16–28.
- [49] Kühbeck F, Back W, Krottenthaler M. Release of long-chain fatty acids and zinc from hot trub to wort. *Mschr Brauwiss* 2006;59(3–4):67–77.
- [50] Anon. Yeast characterisation: fermentation in EBC tubes 21.25. vol. 2. London, England: Institute of Brewing; 1997. Institute of Brewing, ed. *Methods of analysis, microbiological, microbiological process control, yeast characterisation*.
- [51] Miedaner H. *Brautechnische Analysenmethoden*. 4th ed., vol. II. Freising-Weihenstephan, Germany: Selbstverlag der MEBAK, 2002. MEBAK, ed. *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analy senkommission (MEBAK)*. p. 35–92.
- [52] Pfenninger H. *Brautechnische Analysenmethoden*. 2nd ed., vol. III. Freising-Weihenstephan, Germany: Selbstverlag der MEBAK, 1996. *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analy senkommission (MEBAK)*. p. 18–39, 308–12.
- [53] Imai T, Nakajima I, Ohno T. Development of a new method for evaluation of yeast vitality by measuring intracellular pH. *J Am Soc Brew Chem* 1994;52(1):5–8.
- [54] Back W, Imai T, Forster C, Narziß L. Hefevitalität und Bierqualität. *Mschr Brauwiss* 1998;51(11–12):189–95.
- [55] Kühbeck F, Kurz T, Back W, Krottenthaler M. Particle size distribution and technological parameters in wort during lautering and boiling applying a variation of large scale lauter and boiling techniques. *AIChE J* 2007;53(5):1373–88.
- [56] Narziß L. *Die Technologie der Würzbereitung*. 7th ed., vol. II. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. In: Schuster K, Weinfurter F, Narziss L, editors. *Die Bierbrauerei*; 1992. p. 319–22.
- [57] Kühbeck F, Back W, Krottenthaler M. Influence of lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality in large-scale trials. *J Inst Brew* 2006;112(3):222–31.
- [58] Kühbeck F, Back W, Krottenthaler M. Influence of lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality – a review. *J Inst Brew* 2006;112(3):215–21.

H. Yamashita, F. Kühbeck, A. Hohrein, M. Herrmann, W. Back and M. Krottenthaler

Fractionated boiling technology: wort boiling of different lauter fractions

In the past few years, many innovations in wort boiling have been introduced in order to minimize thermal stress associated with the staling of beer. Many of these innovations were based on gentle wort boiling. These concepts were very successful for retaining beer flavor stability and saving energy. However, the possibilities are limited, because the quality of wort after lautering (sweet wort) itself cannot be altered. If sweet wort were separated into several groups according to each one's staling sensitivity, it would be possible to achieve much more in the area of wort boiling. In the framework of this research, the first wort and the spargings were boiled separately. The first wort was treated as a staling-sensitive wort, and the spargings as a less staling-sensitive wort. No hops were added when boiling either the first wort or the spargings. The following was measured during boiling: extract, color, pH, polyphenols, nitrogen content and fractions, amino acids, carbohydrates, free dimethylsulfide (DMS) and carbonyl compounds. As a result of these investigations, distinct differences were observed between both of the boiled fractions, e.g. high amounts of substances resulting from lipid degradation in the boiled spargings. Additionally, the creation of different aroma compositions was possible through wort aroma simulations using Fractionated Boiling Technology (FBT). Some of these aroma components in wort are later important for the flavors typically associated with beer staling.

Descriptors: wort boiling, first wort, sparging, flavor stability, staling flavor, aging, brewing

1 Introduction

For over 50 years, research has been done on the origins of the staling flavors in beer, and today it is still one of the biggest challenges facing the brewing industry. Almost 30 years ago, Dalglish [1] proposed the model of sensory changes in beer flavor during aging, which includes a decrease in sensory bitterness, an increase in sweet notes, an increase and subsequent decrease in ribes aroma and increase in cardboard flavor. The best-characterized substance is (E)-2-nonenal [2-5] derived from malt lipids, which was thought to be the main source of cardboard flavor. The generally accepted opinion was that this substance develops during the storage of beer. However, Schieberle [13, 20] recently pointed out that this substance is not generated during storage and the role of (E)-2-nonenal as an important staling flavor remains an open question. In any case, researchers have strived to minimize cardboard flavor by focusing their research on the lipid oxygenation substance (E)-2-nonenal itself or by analyzing the potential for (E)-2-nonenal formation. Important information has also been gained from research which focused on the technological influences during malt and beer production, e.g. high temperature kilning during malting, pH control during mashing, high temperature mashing (> 62 °C) to suppress lipoxygenase activity [2, 51], lowering of the pH of spargings [3], influence of pH on beer [6], influence of sulfite on (E)-2-nonenal adducts [4], effect of wort boiling on free (E)-2-nonenal [5] and (E)-2-nonenal potential [7]. Recently, the withering of green malt through reduced air humidity and high air flow rates was shown to have a positive effect on reducing

potential (E)-2-nonenal formation [8]. Presently, it still remains unclear whether or not (E)-2-nonenal is important for cardboard flavor.

On the other hand, in recent years sweet aroma components have been frequently discussed. These flavor components are primarily carbonyl compounds, such as Strecker aldehydes, products of lipid oxidation or the Maillard reactions [9]. These key flavors and their flavor intensity were measured by the gas chromatography-olfactometry (GCO) method with aroma extract dilution analysis (AEDA) [10, 11] or by means of multivariate modeling like Projection to Latent Structures algorithms (PLC) [12]. Through these studies 3-methylbutanal (malty, unripe banana-like), 2-methylbutanal (green grass-like), methylpropanal (green grass-like) [13], phenylacetaldehyde (honey-like) [14, 15], (E,E)2,4-nonadienal (fatty, waxy) [14], methional (cooked potato-like) [15], γ -nonalactone and dihydro-5-pentyl-2(3H)-furanone, respectively (coconut-like) [12, 16, 17], 2-furfural (almond-like, fruity), 5-hydroxymethyl furfural: 5 HMF (grainy) [12, 18] and heptanal (wine-like) [12] have been identified as key staling flavors. These carbonyl compounds are originally derived from malt [19] and most are released during the wort boiling process.

From the viewpoint of the concentration and the odor activity of these flavors, wort boiling plays a significant role in the evaporation of these volatile carbonyl compounds and in the regeneration of these substances in Maillard and Strecker reactions [26]. Therefore, the connection between wort boiling and staling flavors in beer has been the focus of many research projects.

According to Back [21], the thiobarbituric acid number (TBN) correlated with 5 HMF [22, 23] has been used as a means for measuring thermal stress with regard to flavor stability; the increase of this amount (Δ -TBN) during wort boiling should be less than 15. Fritsch [24] has studied the sensory difference between unboiled wort and boiled wort without a hop addition. He found that boiled wort exhibited less malty and grainy notes than unboiled wort. One of the reasons was the decrease in concentrations of 3-methylbutanal, hexanal and (Z)-4-heptanal. Liégeois [5]

Authors: Hiroshi Yamashita, Florian Kühbeck, Alexander Hohrein, Markus Herrmann, Werner Back and Martin Krottenthaler, TU München-Weihenstephan, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Weihenstephaner Steig 20, D-85354 Freising, Germany. E-mail: h.yamashita@asahibeer.co.jp

Tables and Figures see Appendix

suggested that wort boiling contributed approximately 70% of the free (E)-2-nonenal in aged beer. Drost [2] and Narziß [26] mentioned the volatile carbonyl compounds are removed during the wort boiling process. Morikawa [25] reported that the nonenal potential in cold wort and beer decreases slightly in accordance with the length of wort boiling time and the total evaporation rate, and additionally, a lower pH of the sweet wort results in a lower TBN after boiling. According to Ogane, Strecker aldehydes in aged beer tended to increase with longer the boiling times and greater thermal stress [7].

There are also some opinions to the contrary, but reduction of thermal stress during wort boiling is generally considered to improve beer flavor stability.

The most recent ideas regarding the principle of homogeneous wort heating and boiling have been well researched. As a result, new types of boiling systems have been developed in order to reduce thermal stress [21, 26-39]. Recent innovations incorporate improved wort convection during wort boiling, especially during the heating phase. Improved convection helps eliminate partial overheating (pulsation) in an internal calandria and dead zones in the wort kettle [36-38]. In this way, unnecessary thermal stress is avoided and the wort boiling process is gentle and homogeneous.

These advances in wort boiling technology are limited in their capacity to maintain flavor stability in beer because manipulation of the wort boiling process still cannot change the initial quality of the sweet wort. However, if it were possible to separate the sweet wort into staling-sensitive wort fractions and staling-insensitive wort fractions prior to boiling and subsequently boil each of them using modern wort boiling technology, increased flavor stability would be expected. Narziß and Schneider [40] described their findings on high temperature wort boiling (HTW) 25 years ago. They collected and boiled the first wort and 3 spargings separately, then mixed them before pitching. The beer proved to be better in quality than the control sample due to an overall reduction in the "boiled" flavors, which are caused by the excessive production of certain compounds, e.g. 2-furfural and heterocyclic nitrogen compounds. The authors concluded that low gravity worts are better suited for HTW from the viewpoint of beer quality. This could mean that the high gravity first wort is not stable at high temperatures, such as those present during wort boiling. In contrast it appears that low gravity wort spargings are not as susceptible to these effects during boiling.

In our research, in order to reduce the staling of beer, we treated the first wort (high gravity) as a staling-sensitive wort during boiling and the spargings (low gravity) as less staling-sensitive. Each was boiled separately. No hops were added when boiling either the first wort or the spargings. A 60 L pilot system was used. The following was measured during boiling: extract, color, pH, polyphenols, nitrogen compounds, amino acids, carbohydrates, free dimethylsulfide (DMS) and aroma carbonyl compounds. The concentration of each of these substances was measured in the first wort and the spargings at designated sampling times. These data were used as the basis for calculating different boiling time combinations for the first wort fraction and sparging fractions in order to find the final concentration of wort aroma compounds in the cast-out wort. These measurements have provided new insight into the behavior of individual aroma components during wort boiling. We simulated undesirable aroma compounds, e.g. Strecker degradation substances, with different boiling times of the first wort and spargings, then we were able to determine the optimal length of time for boiling the first wort as well as for boiling the spargings in order to minimize these undesirable flavor components.

2 Material and methods

2.1 Wort sample production (60 L pilot system)

The wort boiling experiments were carried out in an identical fashion, with the exception that the boiling time was varied, (100 min and 120 min), and sampling times were varied with the goal of determining the effects on the the components described above.

Milling of the malt

14.5 kg of pale malt was milled using a two-roller mill (Künzel, Germany) with the roller gap adjusted to 0.8 mm. The malt specifications are as follows:

| | |
|---------------------------------|-------------------------|
| Water content: | 6.2% |
| Extract content (dry weight): | 82.1% |
| Protein content: | 11.2% |
| Soluble N in malt (dry weight): | 751 mg/100 g dry weight |
| Kolbach index: | 41.9% |
| Friabilimeter value: | 84.5% |
| Totally glassy fraction: | 1.0% |

Mashing

The 60 L pilot system consists of a mash kettle, a mash tun, a lauter tun, a wort kettle and a whirlpool made of stainless steel (Kamm, Germany) located at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I Weihenstephan. The temperature of mash vessels and wort kettle is regulated by a PT100 sensor and are heated using saturated steam from a steam generator PS200 (Stritzel Dampftechnik, Germany).

The mash vessels are each equipped with one agitator blade.

The lauter tun is 335 mm in diameter and can accept a mash volume of 68 L. With 14.5 kg of grist, the specific grist load is 162.4 kg/m². To avoid a decrease in temperature in the settling mash, the lauter tun is equipped with a heating jacket regulated with hot water at a temperature of 78 °C. The lauter tun has a rake unit consisting of two arms and 3 knives, which corresponds to 33 knives per m² of lauter floor surface. The water used for sparging is supplied by the hot liquor tank and enters through a spray head at a temperature of 78 °C.

The wort kettle is 45 cm in diameter and 65 cm in high and is equipped with an agitator blade to guarantee homogeneous wort boiling.

The grist was mashed in with 58 L of mash water (grist : water = 1 : 4) at 52 °C. An infusion mashing process was used and corresponding temperatures and times are as follows:

| | |
|--------|----------|
| 52 °C: | 30 min |
| 62 °C: | 30 min |
| 72 °C: | 30 min |
| 78 °C: | mash out |

The temperature was increased at a rate of 1 °C/min between stands.

A total of 40 L of first wort was collected and immediately boiled with no hop additions at atmospheric pressure. After the first wort

was collected, sparge water was added twice to the lauter tun, 30 L and 20 L, respectively. A total of 50 L was collected using 16 L vessels filled with carbon dioxide to avoid oxidation. After the first wort boiling and the subsequent rinsing of the wort kettle, the total spargings were added to the wort kettle and boiled in exactly the same way as the first wort.

For the first boiling experiment (Brew 1), the wort boiling time of the first wort and spargings were 120 min each and for the second experiment (Brew 2), they were boiled 100 min each. The steam supply for the wort kettle remained constant during boiling. We took samples at defined times during wort boiling. In order to slow all chemical reactions, the samples were cooled down quickly in cold water and placed in a climate-controlled room at 0 °C.

2.2 Wort analysis

Prior to wort analysis, samples were centrifuged at 9000 rpm for 20 min at 4 °C.

Most of these analyses were performed according to procedures outlined in MEBAK [55]. Methods were also used which were developed by the institute at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I Weihenstephan. Each analysis method is as follows:

| | |
|----------------------------|----------------------------------|
| <i>Extract</i> | MEBAK 2.10.6.1 |
| <i>pH</i> | MEBAK 2.14 |
| <i>Color</i> | MEBAK 2.13.2 |
| <i>Polyphenols</i> | MEBAK 2.17.1 |
| <i>Anthocyanogens</i> | MEBAK 2.17.2 |
| <i>Tannoids</i> | MEBAK 2.17.3 |
| <i>TBN</i> | MEBAK 2.4 |
| <i>Total-Nitrogen</i> | MEBAK 2.8.1.1 |
| <i>FAN</i> | MEBAK 2.8.4.1.1 |
| <i>Computer simulation</i> | STATISTICA™ 06J, StatSoft, Japan |

Amino acids

The amino acids were analyzed according to the institute method used by the HPLC-laboratory at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I Weihenstephan based on high performance liquid chromatography with a diode array detector (HPLC-DAD). The following amino acids were analyzed: aspartic acid (Asp), glutamic acid (Glu), asparagine (Asn), serine (Ser), glutamine (Gln), histidine (His), glycine (Gly), threonine (Thr), arginine (Arg), alanine (Ala), γ -aminobutyric acid (GABA), tyrosine (Tyr), valine (Val), methionine (Met), tryptophan (Trp), phenylalanine (Phe), isoleucine (Ile), leucine (Leu), lysine (Lys)

Total Dimethylsulfide (DMS), Free DMS, S-methyl methionine (DMS-Precursor)

The above substances were analyzed according to the institute method developed by the GC-laboratory at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I Weihenstephan based on gas chromatography with a flame photometric detector (GC-FPD).

Wort aroma components

The volatile aroma compounds in wort were concentrated through

steam distillation and extracted with dichloromethane. Afterwards, the solvent phase was analyzed using the institute method developed by the GC-laboratory at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I Weihenstephan based on gas chromatography with a flame ionization detector (GC-FID).

The following substances were analyzed: 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methional, benzaldehyde, 2-phenylacetaldehyde, pentanal, 2-pentanone, hexanal, heptanal, (E)-2-(Z)-6-nonadienal, 2-furfural, 2-acetylfuran, γ -nonalactone, 3-methylbutanol, 2-methylbutanol, 1-pentanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-octen-3-ol, phenylethanol.

To obtain the total amount of Strecker aldehydes, we added the amounts of the following five substances together, namely 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methional, benzaldehyde and 2-phenylacetaldehyde.

Fermentable sugars (low molecular weight sugars)

Fermentable sugars were analyzed using the institute method developed by HPLC-laboratory at the Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I based on an ion chromatography system. The following substances were analyzed: fructose, glucose, sucrose, maltose and maltotriose.

3 Results and discussion

3.1 Characterization of both lauter fractions (the first wort and spargings) during wort boiling

All data except pH were adjusted to correspond to a 12% original gravity to determine the wort aroma components present in the boiled first wort fraction and boiled spargings fraction.

3.1.1 Extract, pH, color

Extract

The gravities of the first wort and spargings measured before wort boiling were approximately 16% and 7%, respectively. The concentration of the extract increased in a constant and linear manner, confirming a constant evaporation rate during wort boiling

pH

Figure 1 shows that the pH of the spargings is 0.1–0.2 higher than that of the first wort due to the pH of the sparge water. The reductions in pH could be attributed to the presence of Maillard products, acidity due to the presence of calcium ions or magnesium ions, or by the precipitation of tertiary phosphate [26].

Color adjusted to correspond to an original gravity of 12%

Figure 2 indicates that the color of the spargings was higher than that of the first wort. The reason might be the high amount of polyphenols in the spargings (Fig. 3).

3.1.2 Polyphenols, anthocyanogens and tannoids, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

The amount of total polyphenols, anthocyanogens and tannoids was higher in the spargings than the first wort. It has already been confirmed [26, 41] that spargings contain higher amount of polyphenols. This fact might be one of the reasons why the spargings possess a darker color as mentioned above.

The concentration of anthocyanogens and tannoids decreased

during wort boiling; however total polyphenols remained constant. This could be contributed to the polymerization of low molecular weight polyphenols such as anthocyanogens and tannoids during wort boiling.

It has been suggested that polyphenols from malt also contribute to the precipitation of protein [26], but we found no significant difference between the amount of polyphenols present before and after wort boiling (Fig. 3).

3.1.3 Total nitrogen, FAN and amino acids

Total nitrogen, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

The total amount of nitrogen decreased slightly during wort boiling, and no significant difference was found between the levels in the first wort and in the spargings.

FAN, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

During wort boiling, the amount of FAN present in the first wort decreased by approximately 10 mg/l, but the amount of FAN in the spargings was constant.

Amino acids, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

The amount of total amino acids in the first wort increased during the first 10 minutes of wort boiling and then decreased gradually. In the spargings, it decreased during the first 20 minutes and then remained constant (Fig. 4)

Upon examination of specific amino acid concentrations during wort boiling, the following observations could be made: The individual amounts of Lys, Leu, Phe, Met, Ser, Gly, and Ile in the lauter fractions displayed the same behavior in both wort fractions during boiling as the total amount of amino acids. This means that the concentration decreased during the first 20 minutes and then remained constant. The amounts of Asp, Trp, GABA, Ala, Asn, Glu, His, Thr, Arg, Tyr, Val in the first wort also displayed the same pattern as the total amount of amino acids; however, these amounts did not change during the boiling of the spargings. The decrease in Gln during wort boiling [21], during beer aging [42] and during flash pasteurization [52] is well-documented. Figure 4 shows the decrease of Gln during wort boiling, and there was a noticeable difference between the first wort and spargings.

It has long been established that Strecker aldehydes are created during wort boiling and that the reaction partners are amino acids and carbohydrates [43]. Schieberle [13] found that both oxygen and light have a direct influence on the formation of Strecker aldehydes in beer, and he proposed that the degradation of carbohydrates is not a crucial factor in initiating the formation of Strecker aldehydes during beer aging. In recent years, lipid oxidation products have also been found to be involved in the Strecker degradation of amino acids [44, 45].

With the exception of Gln, we found during the boiling of the spargings that the amount of amino acids decreased at the beginning of boiling but after 20 minutes remained constant. Although there were enough carbohydrates to serve as reaction partners during the boiling of the spargings fraction, no amino acid degradation occurred after 20 minutes of boiling. Generally, it should be noted that the amounts of amino acids and carbohydrates are over 1000 times higher than the concentration of carbonyl compounds.

It is not possible to calculate the concentration of Maillard products by the decrease in educts.

3.1.4 TBN, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

Increases in the amounts of Δ -TBN of the first wort and spargings were almost linear and displayed comparable results (Fig. 5). This result underscores the fact that there is a high correlation between the rate of Gln reduction and increased levels of TBN during wort boiling [21] (Fig. 5).

3.1.5 Fermentable sugars (low molecular weight sugars), adjusted to correspond to an original gravity of 12%

The first wort and spargings possess an almost identical sugar composition. During wort boiling, the total amount of low molecular weight fermentable sugars was almost constant. Compared with Maillard aroma compounds, the amount of sugar was too high, therefore it was very difficult to ascertain whether or not the sugar reacted with other substances.

3.1.6 Free DMS

Free DMS was reduced to levels less than 50 $\mu\text{g/l}$ within the first 10 minutes of wort boiling (Fig. 6). The decrease in the concentrations of free DMS and DMS precursor was almost identical during the boiling of both lauter fractions. With modern boiling technology [28–38], we can reduce and eliminate such compounds efficiently and also prevent their production through pre-cooling technology after wort boiling [39], so that DMS is no longer a problem.

3.1.7 Wort aroma components, adjusted to correspond to an original gravity of 12%

At the beginning of boiling, the spargings contained distinctly more wort aroma components than the first wort, in particular, more lipid oxidation products (Table I).

During boiling, 3-methylbutanal (Fig. 7) and 2-methylbutanal (Fig. 8) evaporated from the wort in the first 10 minutes. After about 50 minutes of boiling the first wort, the amount of these substances slightly increased, but during the boiling of the spargings the levels were constant. Methional and 2-phenylacetaldehyde (Fig. 9) gradually evaporated during wort boiling and showed an increase after about 50 minutes of boiling the first wort. The total amount of Strecker aldehydes also exhibited the same tendency.

We have also documented the same patterns in the normal boiling process on an industrial scale. Changes in certain wort aroma components were examined during wort boiling using eight different types of brewing systems (three with an internal calandria, five with an external calandria, with the following characteristics: cast-out wort volumes of 100–700 hl, steam temperatures of 101–107 °C, boiling times of 50–73 minutes, total evaporation of 2.6–8.5%). The amounts of 2-methylbutanal (Fig. 10) decreased in the first 15–20 minutes and then remained constant at a level of 10–50 $\mu\text{g/l}$. Concentrations of 2-phenylacetaldehyde (Fig. 11) decreased gradually in the first 45 minutes and later increased again in some cases. The differences in phenylacetaldehyde concentration between our experiments and those performed on an industrial scale might be attributable to different malt combinations. In our tests, we used only pale malt, however, in addition to pale malt, the industrial scale breweries used darker malts such as caramel

malt and dark malt, which contain more wort aroma components than pale malt.

The lipid oxidation products hexanal, heptanal, pentanal, 1-pentanol and 1-hexanol experienced a relatively rapid elimination at the start of the boiling process. The compounds 2-pentanone and γ -nonalactone (Fig. 12) gradually decreased at a very slow rate, and we found no significant differences in the levels of these two substances when comparing the boiling of first wort to the boiling of the spargings. Because of its low threshold (11.2 $\mu\text{g/l}$ [17]) in beer, γ -nonalactone is considered to be a very important flavor in beer staling. The spargings contain more γ -nonalactone (Table 1) than the first wort. According to Hertel [46], aroma compounds from fatty acids are not created during boiling, so that if we want to minimize the concentration of this substance, it would be preferable to boil the spargings much longer. In this case, the concentration of long-chain fatty acids (C14 – C18:3) during lautering should be considered. The total concentration of fatty acids was adjusted to correspond to an original gravity of 12%. This concentration is at a moderate level of 8–10 mg/l during first wort collection (Fig. 13) and then increases rapidly as the extract level decreases at the point that spargings are added and raking begins. For different lautering regimes such as clear and turbid lautering, the relative concentrations of fatty acids experience large variations towards the end of lautering and peaks of up to 42 mg/l were observed during second spargings for turbid lautering (Fig. 13) [54].

In order to evaluate the influence of volatile compounds from the wort on the staling of beer, the individual thresholds should be taken into account. The threshold of each substance in beer is given in Table 2 [15, 17, 47–50]. Almost every threshold is high, but the substances, which have relatively low thresholds compared to the amount of wort, are 3-methylbutanal, methional, 2-phenylacetaldehyde, heptanal, (E)-2-(Z)-6-nonadienal and γ -nonalactone.

3.2 Simulation with a mixture of first wort and spargings and different boiling times

From the viewpoint of the amount of Strecker aldehydes, there was significant difference in the patterns between the first wort and spargings during wort boiling. This means that there is a possibility to produce much lower net amount of Strecker aldehydes by mixing of first wort and spargings which were boiled for different periods of time.

We simulated a mixture of first wort and spargings, boiled for different periods of time and represented the results with the help of three-dimensional graphs.

Figures 14 and 15 show the simulation of 3-methylbutanal. The mixture of first wort boiled for 45 minutes and the spargings boiled for 50 minutes yielded the lowest amount.

Figures 16 and 17 show the simulation of 2-phenylacetaldehyde and the minimum amount was reached using a combination of first wort boiled for 50 minutes and the spargings boiled for 80–100 minutes.

The simulation of total amount of Strecker aldehyde can be seen in Fig. 18–19. The minimum amount produced was with a mixture of first wort boiled for 50 minutes and the spargings boiled for 60 minutes. For the production of certain Strecker aldehydes, boiling the first wort for no more than 50 minutes is optimal. If increased evaporation of other volatile compounds is desired, e.g. γ -nonalactone, it is recommended that the spargings should be boiled as long as possible.

Of course, some of these carbonyl substances such as γ -nonalactone [13, 17, 53], phenylacetaldehyde [13] are produced later during fermentation or during beer aging. For many years brewers have attempted to find the precursors of these substances; however, their origin remains unclear at this time. For these reasons, the question remains unanswered as to whether or not wort boiling plays a significant role in increasing the concentration of these substances, and what their role is in beer flavor stability. In this research, we established that the levels of certain carbonyl compounds decrease and subsequently increase when the first wort is boiled, and that the level of amino acids remain constant when the spargings are boiled. These results show us that the Fractionated Boiling Technology (FBT) gives us a new tool with which wort composition can be influenced during boiling.

3.3 Conclusions

We analyzed the effects of boiling two different lauter fractions, namely the first wort fraction and the spargings fraction. We found a continuous decrease in the amount of amino acids during first wort boiling and a decrease and subsequent increase in the levels of certain carbonyl compounds. Contrary to the results from the first wort boiling, the spargings exhibited high levels of polyphenols and wort aroma components, mainly Strecker aldehydes and lipid oxidation products. The amino acid concentration in the spargings remained constant during boiling.

From the simulations done for each of the carbonyl compounds, our findings suggest that boiling the first wort and spargings separately (FBT) could minimize volatile aroma compounds in wort.

In order to minimize Strecker aldehydes, the first wort should be boiled approximately 50 minutes, and to minimize lipid oxidation products, the spargings should be boiled as long as possible.

4 References

1. Dalgliesh, C. E.: Flavour stability. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv., Amsterdam, 1977, **16**, pp. 623–659.
2. Drost, B. W., R. van den Berg, Freijee, F. J. M., E. G. van der Velde and Hollemans, M.: Flavor Stability. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1990, **48** (4), pp. 124–131.
3. Larsen, O. V., Aastrup, S., Nielsen, H. and Lillelund, A. C.: Improvement of flavour stability by reduction of trans-2-nonenal – a case study. Proc. Eur. Brew. Conv., Budapest, 2001, pp. 533–539.
4. Nyborg, M., Outtrup, H. and Dreyer, T.: Investigations of the protective mechanism of sulfite against beer staling and formation of adducts with trans-2-nonenal. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1999, **57** (1), pp. 24–28.
5. Liégeois, C., Meurens, N., Badot, C. and Collin, S.: Release of deuterated (E)-2-nonenal during beer aging from labeled precursors synthesized before boiling. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (26), pp. 7634–7638.
6. Guyot-Declercq, C., François, N., Ritter, C., Govaerts, B. and Collin, S.: Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data. *Food Quality and Preference*, 2005, **16**, pp. 157–162.
7. Ogane, O., Imai, T., Ogawa, Y. and Ohkochi, M.: Influence of wort boiling and wort clarification conditions on aging-relevant

- carbonyl compounds in beer, *Proc. Eur. Brew. Conv.*, Prague, 2005, **86**, pp. 774-780.
8. Ueda, T., Sasaki, K., Itagaki, H., Inomoto, K., Kagami, N. and Kawamura, K.: Investigation into conditions during early kilning stage for improving beer flavor stability, *World Beer Congress*, San Diego, 2004.
 9. Perpète, P. and Collin, S.: Contribution du 3-méthylthiopropionaldéhyde à la saveur de moût des bières sans alcool. *Proc. Eur. Brew. Conv.*, Cannes, 1999, **5**, pp. 17-26.
 10. Ulrich, F. and Grosch, W.: Identification of most volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1987, pp. 184, 277-282.
 11. Ulrich, F. and Grosch, W.: Identification of the most intense odor compounds formed during autoxidation of methyl linoleate at room temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1988, **65**, pp. 1313-1317.
 12. Foster II, R. T., Samp, E. J. and Patino, H.: Multivariate modeling of sensory and chemical data to understand staling in light beer, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2001, **59** (4), pp. 201-210.
 13. Schieberle, P. and Komarek, D.: Staling of beer aroma: a long-known, but still unresolved challenge in brewing science. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, Prague, 2005, **75**, pp. 661-675.
 14. Schieberle, P.: Primary odorants of pale lager beer, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1991, pp. 193, 558-565.
 15. Soares da Costa, M., Gonçalves, C., Ferreira, A., Ibsen, C., Guedes de Pinho, P. and Silva Ferreira, A. C.: Further insights into the role of methional and phenylacetaldehyde in lager beer flavor stability, *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, pp. 7611-7617.
 16. Gijs, L., Chevance, F., Jerkovic, V. and Collin, S.: How low pH can intensify beta-damascenone and dimethyl trisulfide production through beer aging. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, pp. 5612-5616.
 17. Suzuki, M., Wanikawa, A., Kono, K. and Shibata, K.: Factors affecting the formation of gamma-nonolactone and its contribution to the flavor and aroma of aging beer. The institute of brewing & distilling asia pacific section, Tasmania, 2006.
 18. Midigan, D.: Furanic aldehyde analysis by HPLC as a method to determine heat-induced flavor damage to beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1998, **56** (4), pp. 146-151.
 19. Fickert, B. and Schieberle, P.: Identification of the key odorants in barley malt (caramalt) using GC/MS techniques and odour dilution analyses. *Nahrung*, 1998, **42** (6), pp. 371-375.
 20. Schieberle, P. and Komarek, D.: Changes in key aroma compounds during natural beer aging. ACS symposium series 836. Freshness and shelflife of foods, 2003, pp. 70-79.
 21. Back, W.: Würzekochung, Würzekochsysteme. Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie, 1. Aufl., Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 2005, pp. 69-101.
 22. Grigsby, J. H. and Palamand, S.R.: Studies on the staling beer: the use of 2-thiobarbituric acid in the measurement of beer oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1976, **34** (2), pp. 49-55.
 23. Thalacker, R. and Bößendörfer, G.: Die Thiobarbitursäurezahl (TBZ). *Brauwelt*, 2003, **44**, pp. 1441-1445.
 24. Fritsch, H. and Schieberle, P.: Changes in key aroma compounds during boiling of unhopped and hopped wort. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, Dublin, 2003, **22**, pp. 259-267.
 25. Morikawa, M., Yasui, T., Ogawa, Y. and Ohkouchi, M.: Influence of wort boiling and wort clarification conditions on cardboard flavour in beer. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, Dublin, 2003, **73**, pp. 775-782.
 26. Narziß, L.: *Abriss der Bierbrauerei*, 7. Aufl., WILEY-VCH Verlag, Weinheim, 2005.
 27. Kunze, W.: *Technology Brewing and Malting*, 3rd Int. Edition, VLB-Berlin, 2005.
 28. Metzger, R., Krottenthaler, M. and Back, W.: Modern wort boiling systems – an overview., *Brauwelt Int.* 2003, **21** (21), pp. 34-39.
 29. Weinzierl, M., Stipple, K., Wasmuth, K., Miedaner, H. and Englmann, J.: A new wort boiling system., *Brauwelt Int.* 2000, **18** (1), pp. 40-44.
 30. Bühler, Th., Michel, R. and Kantelberg, B.: Dynamic low-pressure boiling – systematically optimized for top quality. *Brauwelt Int.*, 2003, **21** (5), pp. 306-313.
 31. Binkert, J. and Haertl, D.: New wort boiling system using flash svaporation. *Brauwelt Int.*, 2002, **20** (1), pp. 31-38.
 32. Metzger, R., Krottenthaler, M. and Back, W.: Dividing wort boiling into two phases. *Brauwelt Int.*, 2004, **22** (1), pp. 29-32.
 33. Krottenthaler, M. and Lehmann, J.: Einsatz der Vakuumverdampfungsanlage im Sudhaus der Gilde Brauerei AG. *Brauwelt*, 2003, **143** (30), pp. 953-960.
 34. Van Dieren, B., Pieters, W., Brekelsmans, M. and Meersman, E.: Einsatz von Entspannungsverdampfung im Über- und Unterdruckbereich. *Brauwelt*, 2003, **143** (46/47), pp. 1579-1584.
 35. Krottenthaler, M., Hartmann, K., and Back, W.: Use of flash evaporator for wort treatment. *Brauwelt Int.*, 2001, **19** (6), pp. 457-459.
 36. Stippler, K., Wasmuth, K. and Gattermeyer, P.: Generationswechsel beim Innenkocher, Teil I + II. *Brauwelt*, 2001, **141**, pp. 1265-1267, 1386-1397.
 37. Wasmuth, K., Stippler, K., Weinzierl, M. and Gattermeier, P.: Stromboli kocht ohne Druck – eine sympathische Lösung. *Brauwelt*, 2003, **143** (30), pp. 948-952.
 38. Wasmuth, K., Weinzierl, M., Gattermeier, P., Baumgärtner, Y.: Stromboli – ein „Vulkan“ auf der Überholspur. *Brauwelt*, 2004, **144** (30/31), pp. 925-927.
 39. Coors, G., Krottenthaler, M. and Back, W.: Wort pre-cooling and its influence on casting. *Brauwelt Int.*, 2003, **21** (1), pp. 40-42.
 40. Narziß, L., Miedaner, H. and Schneider, F.P.: Weiterführende Untersuchung zur Technologie der Würzekochung unter besonderer Berücksichtigung energiesparender Maßnahmen. *M Schr. Brauwissenschaft*, 1991, **44** (9), pp. 296-311.
 41. Kirby, W., Williams, P. M., Wheeler, R. E. and Jones, M.: The importance of the polyphenols of barleys and malts in beer sediment and haze formation. *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.*, Amsterdam, 1977, pp. 415-427.

42. Hill, P., Lustig, S. and Sawatzki, V.: Die aminosäure Glutamin als Parameter zur Bestimmung des Alterungszustandes von Bieren. *M Schr. Brauwissenschaft*, 1998, **37** (3/4), pp. 36-38.
43. Hashimoto, N.: Amino-carbonyl reaction during wort boiling in relation to flavor stability of beer. *M.B.A.A. Tech. Quarterly*, 1971, pp. 121-126.
44. Hidalgo, J. F. and Zamora, R.: Strecker-type degradation produced by the lipid oxidation products 4,5-epoxy-2-alkenals. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, pp. 7126-7131.
45. Zamora, R., Gallardo, E., Navarro, J. L. and Hidalgo, F. J.: Strecker-type of phenylalanine by methyl 9,10-epoxy-13-oxo-11-octadecenoate and methyl 12,13-epoxy-9-oxo-11-octadecenoate. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, pp. 4583-4588.
46. Hertel, M., Tippmann, J., Sommer, K. and Glas, K.: Engineering investigations of the recreating kinetics of flavour-components during the boiling of wort. *Monatsschr. Brau.*, 2006, **59** (1/2), pp. 45-55.
47. Meilgaard, M. C.: Flavor chemistry of beer: Part II: flavor and threshold of 239 aroma volatiles. *M.B.A.A. Tech. Quarterly*, 1975, **12** (3), pp. 151-168.
48. Meilgaard, M. C.: Beer flavour, Tech. Dissertation, Tech. University of Denmark, 1981.
49. Meilgaard, M. C.: Stale flavor carbonyls in brewing. *Brewers Digest*, 1972, pp. 48-62.
50. Visser, M. K. and Lindsay, R. C.: Role of methional in the development of off-flavors in beer. *J. Am Soc. Brew. Chem.*, 1971, pp. 230-237.
51. Van Iersel, M., Lustig, S., Meersman, E. and Dekkers, F.: Improvement of beer flavour stability by the development of novel malting techniques. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv., Prague, 2005, **78**, pp. 702-707.
52. Krottenthaler, M., Zanker, G., Gaub, R. and Back, W.: Sterile filtration of beer by membranes - economical and physiological aspects. Proc. Congr. Eur. Brew. Conv., Dublin, 2003, **28**, pp. 315-325.
53. Garbe, L. A., Lange, H. and Tressl, R.: Biosynthesis of γ -nonalactone in yeast. ACS symposium series 794. Aroma Active Compounds in Foods. Chemistry and Sensory Properties, 2001, pp. 176-182.
54. Kühbeck, F., Schütz, M., Thiele, F., Krottenthaler, M. and Back, W.: Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation and beer quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2006, **64** (1), pp. 16-28.
55. MEBAK: Brautechnische Analysenmethoden Band II, 4 Aufl. Selbstverlag der MEBAK, Freising – Weihenstephan, 2002.

Received 06. 07. 2006, accepted 24. 07. 2006

Appendix

Table 1 Changes in wort aroma components during wort boiling – Brew 1; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

| Wort aroma components | Boiling time (min) | 0 | 10 | 20 | 30 | 50 | 80 | 120 |
|-------------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 3-methylbutanal (µg/l) | Brew 1 FW | 279.9 | 39.8 | 13.8 | 12.4 | 13.6 | 40.9 | 34.6 |
| | Brew 1 SP | 385.9 | 20.7 | 12.2 | 18.3 | 23.2 | 29.3 | 35.1 |
| 2-methylbutanal (µg/l) | Brew 1 FW | 95.6 | 13.3 | 5 | 4.5 | 4.7 | 12.1 | 11.1 |
| | Brew 1 SP | 144.9 | 8.8 | 5.6 | 7 | 7.8 | 9.2 | 10.9 |
| Methional (µg/l) | Brew 1 FW | 62.2 | 58.2 | 48 | 35 | 29.9 | 33.4 | 35.6 |
| | Brew 1 SP | 65.1 | 62.2 | 60.9 | 44.2 | 49.3 | 45.3 | 43.5 |
| Benzaldehyde (µg/l) | Brew 1 FW | 6.6 | 4.9 | 2.5 | 1.4 | 1 | 1.2 | 0.9 |
| | Brew 1 SP | 12.9 | 6.2 | 4.1 | 4 | 2.6 | 2.3 | 2.1 |
| 2-phenylacetaldehyde (µg/l) | Brew 1 FW | 110 | 95.8 | 72 | 54.9 | 40.2 | 57.6 | 55.8 |
| | Brew 1 SP | 125.4 | 106.8 | 96.9 | 94.4 | 79.7 | 74.6 | 73.8 |
| Σ-Strecker aldehydes (µg/l) | Brew 1 FW | 554.3 | 212.1 | 141.4 | 108.3 | 89.4 | 145 | 138 |
| | Brew 1 SP | 734.2 | 204.6 | 179.7 | 167.8 | 162.6 | 160.6 | 165.4 |
| Pentanal (µg/l) | Brew 1 FW | 28.1 | 5.6 | 1.9 | 2.4 | 1.2 | 1.7 | 1.4 |
| | Brew 1 SP | 45.6 | 4.8 | 3.3 | 3.4 | 2.8 | 3.2 | 2.7 |
| 2-pentanone (µg/l) | Brew 1 FW | 8.3 | 7.1 | 6.3 | 6.3 | 5.6 | 5.5 | 4.4 |
| | Brew 1 SP | 16.3 | 15.1 | 15 | 13.7 | 12.6 | 12.7 | 11.1 |
| Hexanal (µg/l) | Brew 1 FW | 163.8 | 25.8 | 4.1 | 8.9 | 1.4 | 1.8 | 1 |
| | Brew 1 SP | 273.5 | 10.5 | 3.9 | 4.1 | 3.8 | 3.6 | 3.1 |
| Heptanal (µg/l) | Brew 1 FW | 7.4 | 2.4 | 1.4 | 1.6 | 1.4 | 1.7 | 1.4 |
| | Brew 1 SP | 16.3 | 3.2 | 2.8 | 3 | 2.8 | 3.2 | 3.4 |
| (E)-2-(Z) 6-nonadienal (µg/l) | Brew 1 FW | 1.1 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.6 | 0.4 | 0.4 |
| | Brew 1 SP | 2 | 1.9 | 1.3 | 1.1 | 1 | 1.1 | 0.8 |
| 2-furfural (µg/l) | Brew 1 FW | 130.5 | 132.7 | 124.4 | 110.5 | 106.4 | 116.8 | 111.6 |
| | Brew 1 SP | 154.7 | 143.4 | 143.8 | 132.5 | 139.1 | 131.9 | 125.8 |
| 2-acetylfuran (µg/l) | Brew 1 FW | 15.9 | 14 | 11.6 | 11.7 | 9.7 | 8.6 | 7.2 |
| | Brew 1 SP | 27.7 | 27.1 | 26.6 | 25.9 | 21.7 | 20 | 18.1 |
| γ-nonalactone (µg/l) | Brew 1 FW | 8.3 | 8.1 | 7.3 | 5.9 | 4.7 | 3 | 1.4 |
| | Brew 1 SP | 16.3 | 14.8 | 15.6 | 13.6 | 10.7 | 7.9 | 6 |
| 3-methylbutanol (µg/l) | Brew 1 FW | 114.5 | 61.9 | 11.6 | 5.4 | 1.4 | 1.4 | 1.2 |
| | Brew 1 SP | 159.6 | 49.4 | 20.3 | 13.4 | 6.8 | 4.3 | 3.6 |
| 2-methylbutanol (µg/l) | Brew 1 FW | 27.3 | 3.1 | 2.2 | 1.4 | 0 | 0 | 0 |
| | Brew 1 SP | 40.7 | 12.1 | 3.9 | 3.2 | 4.6 | 3.5 | 1.7 |
| 1-pentanol (µg/l) | Brew 1 FW | 62.2 | 36.9 | 8 | 3.9 | 0.7 | 0.6 | 0.4 |
| | Brew 1 SP | 89.6 | 30.3 | 12.3 | 8.1 | 4.5 | 2.3 | 1.1 |
| 1-hexanol (µg/l) | Brew 1 FW | 72.8 | 31.7 | 4.1 | 1 | 0.3 | 0.2 | 0.1 |
| | Brew 1 SP | 131.9 | 25.5 | 7.3 | 4.6 | 2.3 | 1.1 | 0.5 |
| 1-octanol (µg/l) | Brew 1 FW | 1.9 | 1.5 | 0.7 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.2 |
| | Brew 1 SP | 3.7 | 1.6 | 2.7 | 1.2 | 2.3 | 1.1 | 0.5 |
| 1-octen-3-ol (µg/l) | Brew 1 FW | 2.5 | 1.3 | 0.7 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.3 |
| | Brew 1 SP | 4.7 | 1.8 | 1.1 | 0.8 | 0.7 | 0.7 | 0.6 |
| Phenylethanol (µg/l) | Brew 1 FW | 110 | 112 | 105.5 | 92 | 85 | 67.9 | 52.4 |
| | Brew 1 SP | 153.1 | 148.2 | 154.7 | 152.3 | 129 | 106.5 | 98 |

Table 2 Thresholds of various wort aroma components [15, 17, 47-50]

| | Threshold in beer (µg/l: ppb) | Boiling point (°C) | Aroma note | Origin |
|------------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------|
| 3-Methylbutanal | 600 | 91-93 | unripe banana-like, malty | Leucine |
| 2-Methylbutanal | 1250 | 70 | Green grass-like | Isoleucine |
| Methional | <3*, 50-250 | 160-165 | Cooked potato-like | Methionine |
| Benzaldehyde | 2000 | 179 | almond-like, fruity | Phenylglycine |
| 2-Phenylacetaldehyde | <4*, 1600 | 195 | honey-like | Phenylalanine |
| Pentanal | 500 | 102 | grass, banana-like | Linoleic acid C18:2 |
| 2-Pentanone | 30000 | 101-103 | geranium-like | Linolenic acid C18:3 |
| Hexanal | 350 | 129-131 | bitter, vinous | Linolenic acid C18:2 |
| Heptanal | 75 | 153 | bitter, vinous | Oleic acid C18:1 |
| (E)-2-(Z) 6-Nonadienal | 0.05 | 94-95 | green leaf, cucumber-like | Linolenic acid C18:3 |
| 2-Furfural | 150000 | 162 | almond, fruity | Sugars, Amino acids |
| 2-Acetylfuran | 80000 | 67 | burned | 1-Deoxyoson pathway |
| γ-Nonalactone | 11.2, 80 | 121-122 | fruity, coconut-like | fatty acids |
| 3-Methylbutanol | 70000 | 131-132 | banana-like | Leucine |
| 2-Methylbutanol | 65000 | 160-165 | banana-like | Isoleucine |
| 1-Pentanol | 80000 | 138 | medically | Linoleic acid C18:2 |
| 1-Hexanol | 4000 | 157 | Green | Linoleic acid C18:2 |
| 1-Octanol | 900 | 188-198 | coconut-like | Oleic acid C18:1 |
| 1-Octen-3-ol | 200 | 173-175 | green leaf-like | Linoleic acid C18:2 |
| Phenylethanol | 125000 | 218-220 | rose, honey-like | Phenylalanine |

*The threshold was estimated by triangular test with spiked samples. Assessors recognized differences between spiked samples and the control [15]

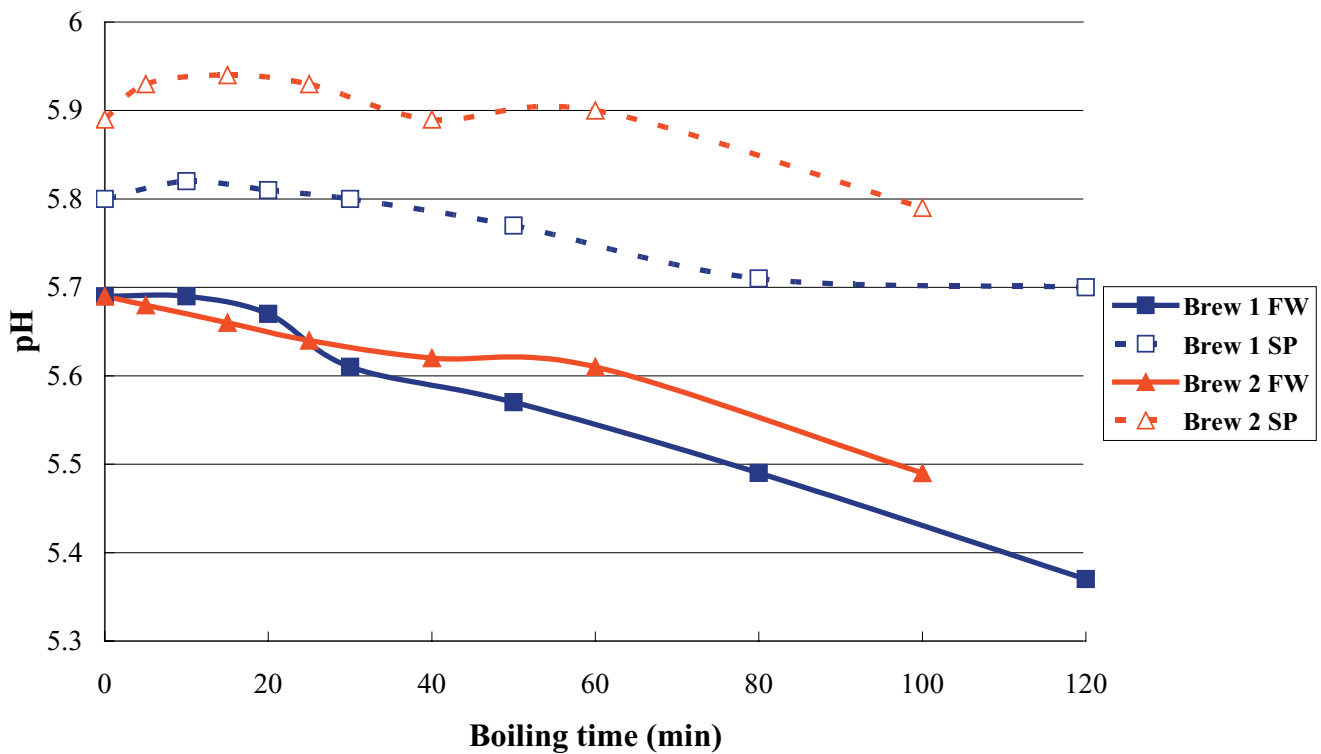


Fig. 1 Changes in pH during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings

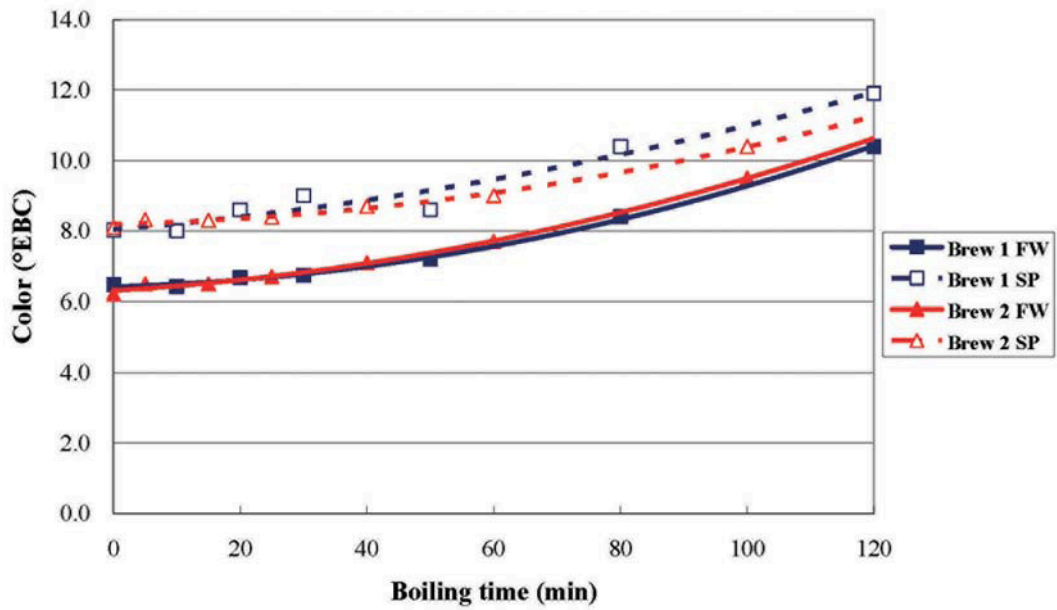


Fig. 2 Color development during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

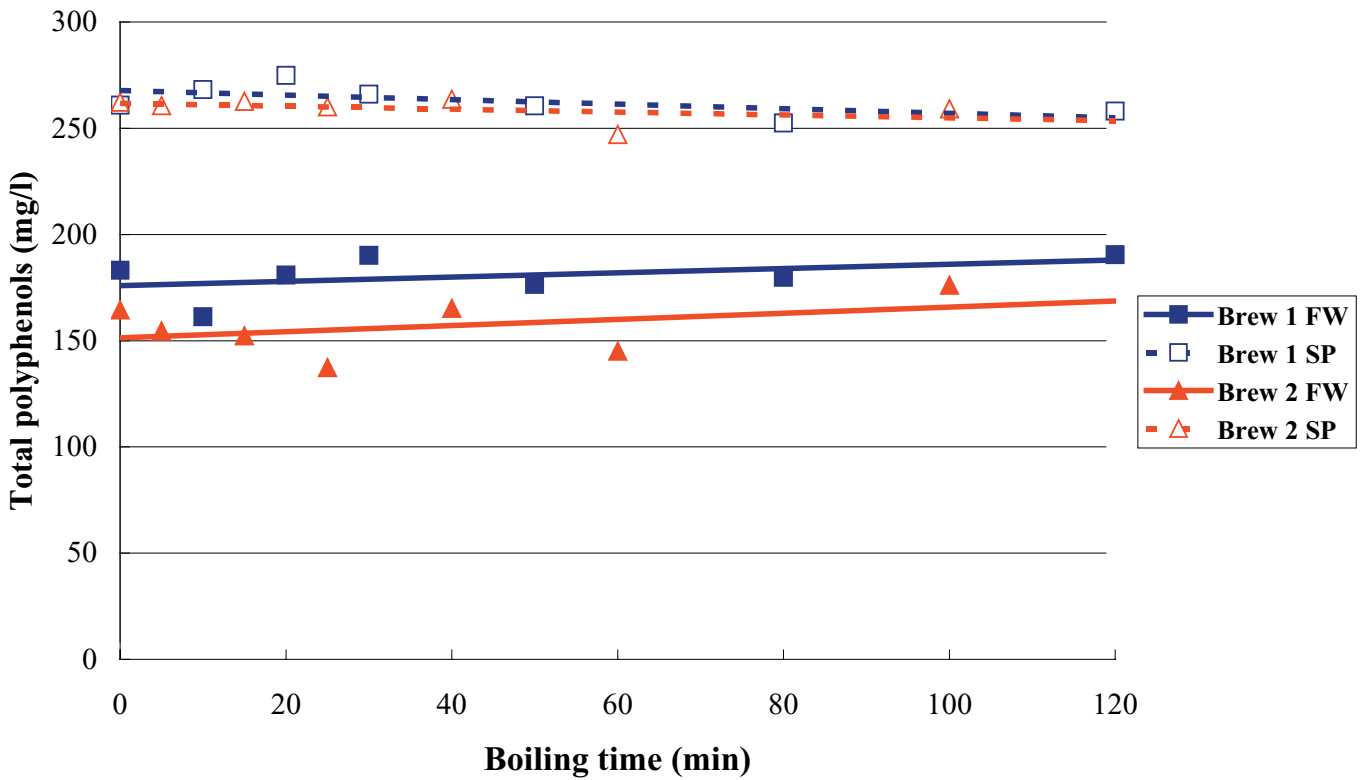


Fig. 3 Changes in the concentration of total polyphenols during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

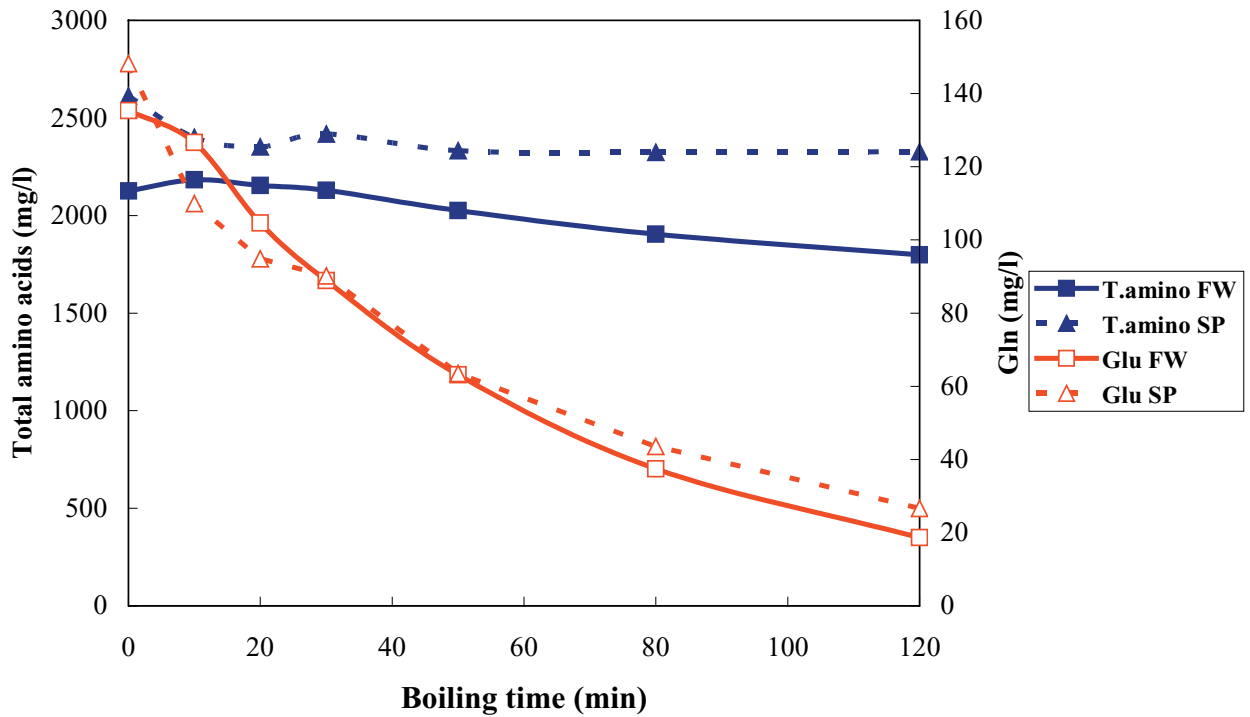


Fig. 4 Changes in the concentration of total amino acids (T.amino) and Glutamine (Gln) during wort boiling – Brew 1; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

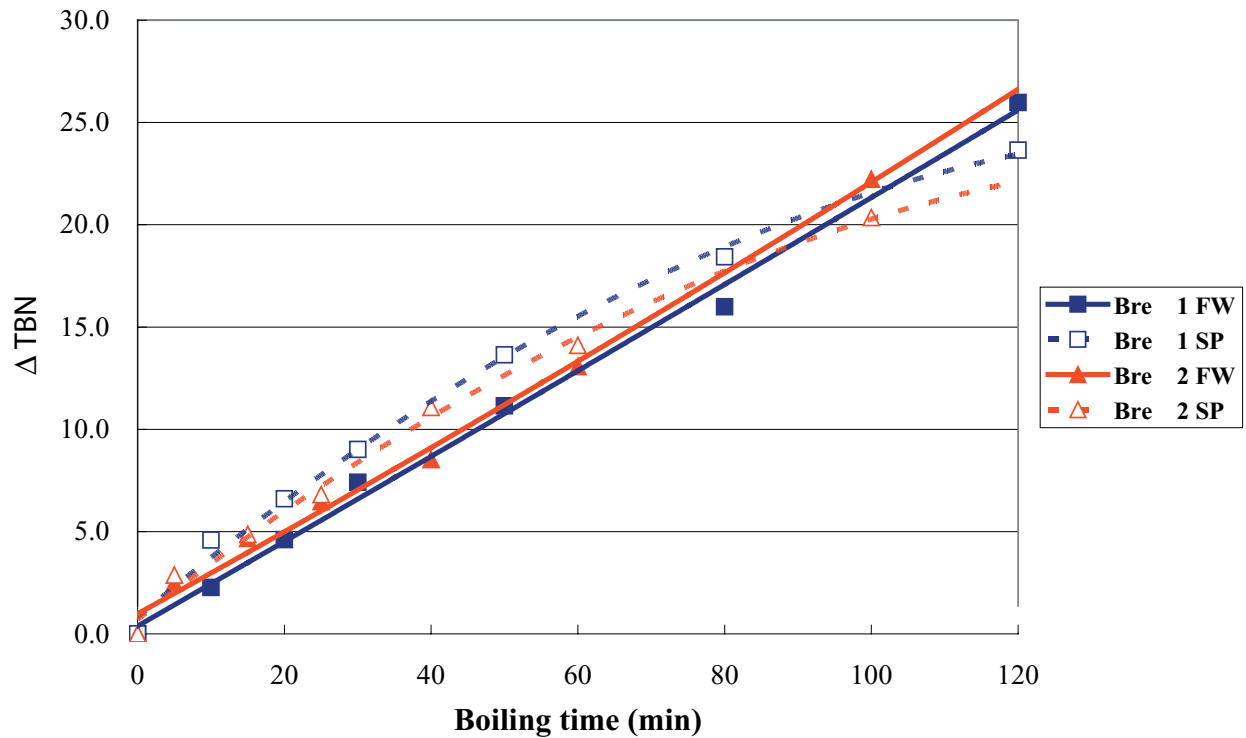


Fig. 5 TBN development during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

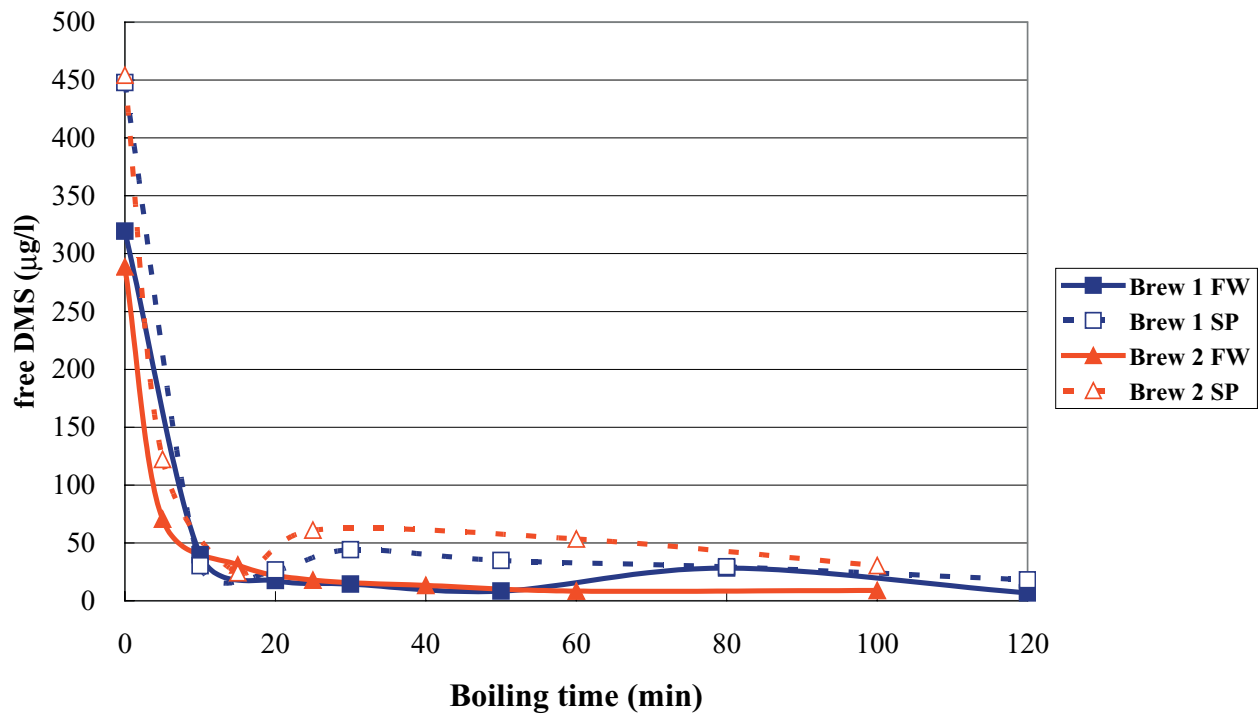


Fig. 6 Changes in the concentration of free DMS during wort boiling - Brew 1; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

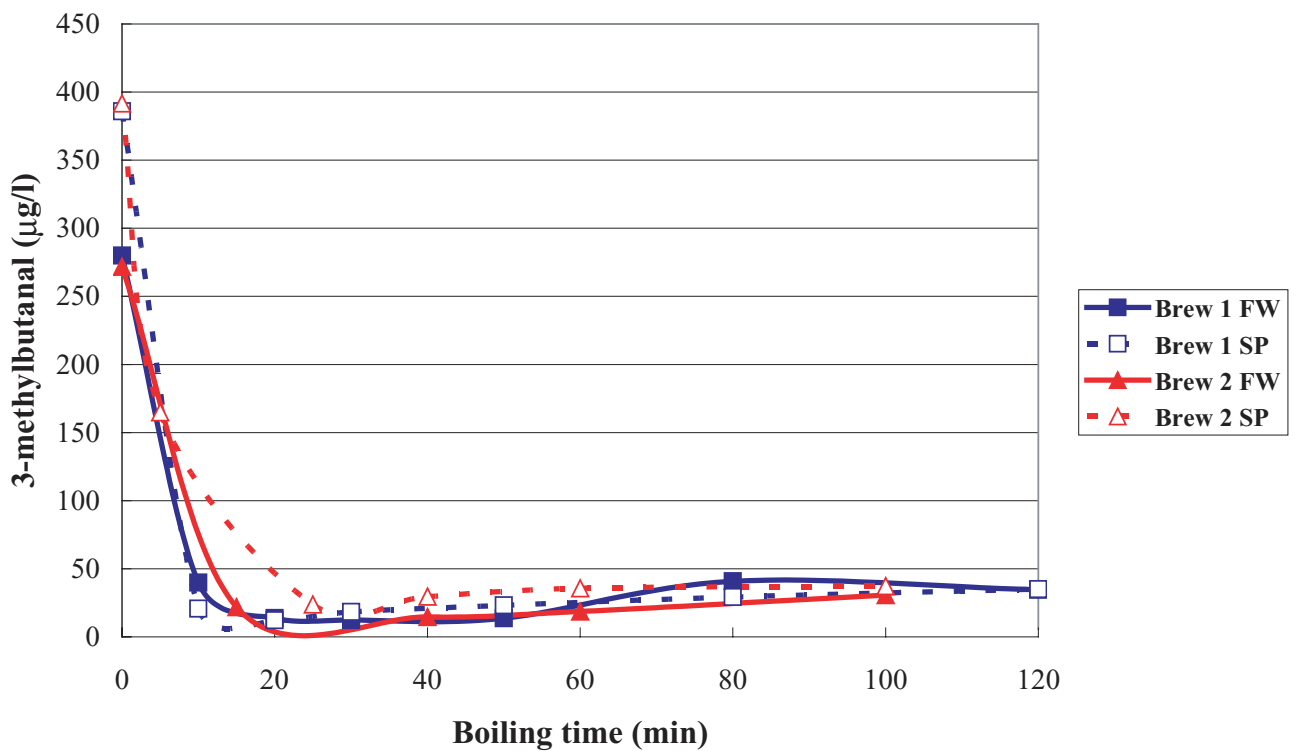


Fig. 7 Changes in the concentration of 3-methylbutanal during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

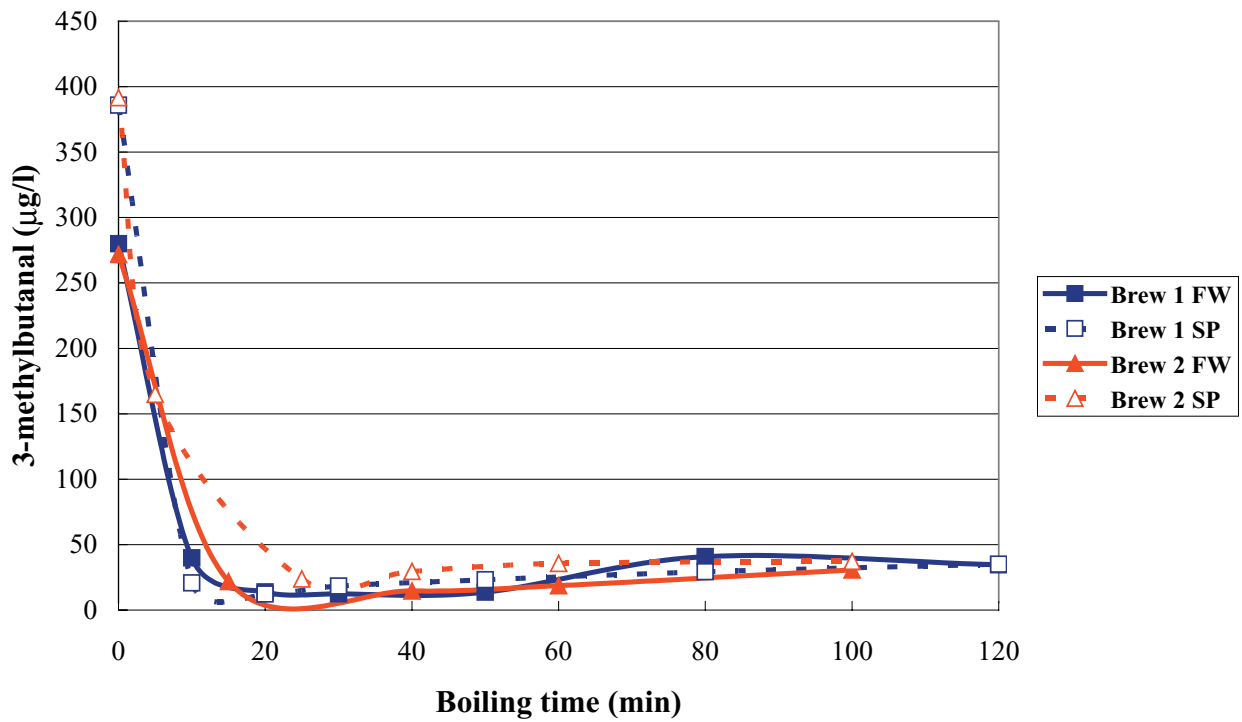


Fig. 8 Changes in the concentration of 2-methylbutanal during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

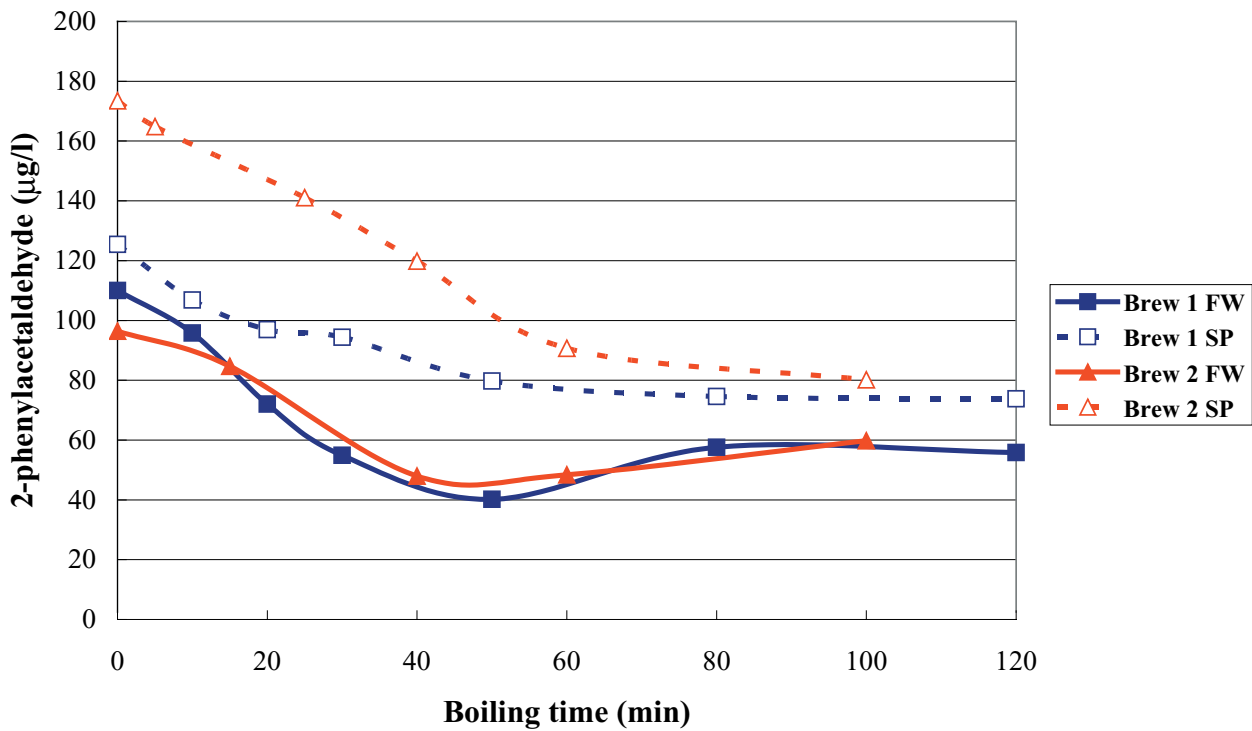


Fig. 9 Changes in the concentration of 2-phenylacetaldehyde during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

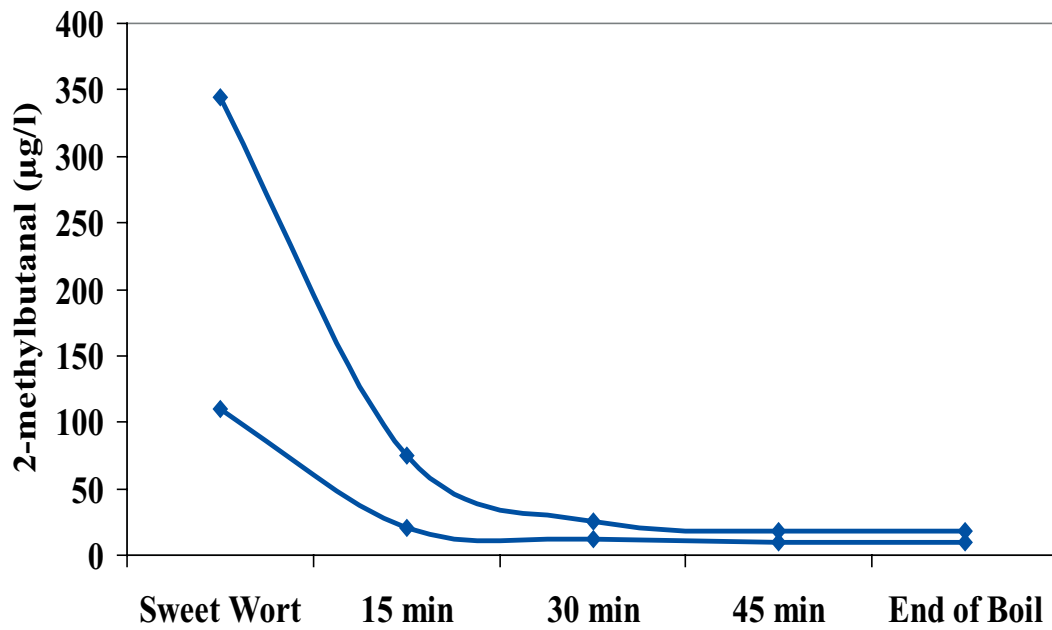


Fig. 10 Changes in the concentration of 2-methylbutanal during wort boiling done on an industrial scale, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

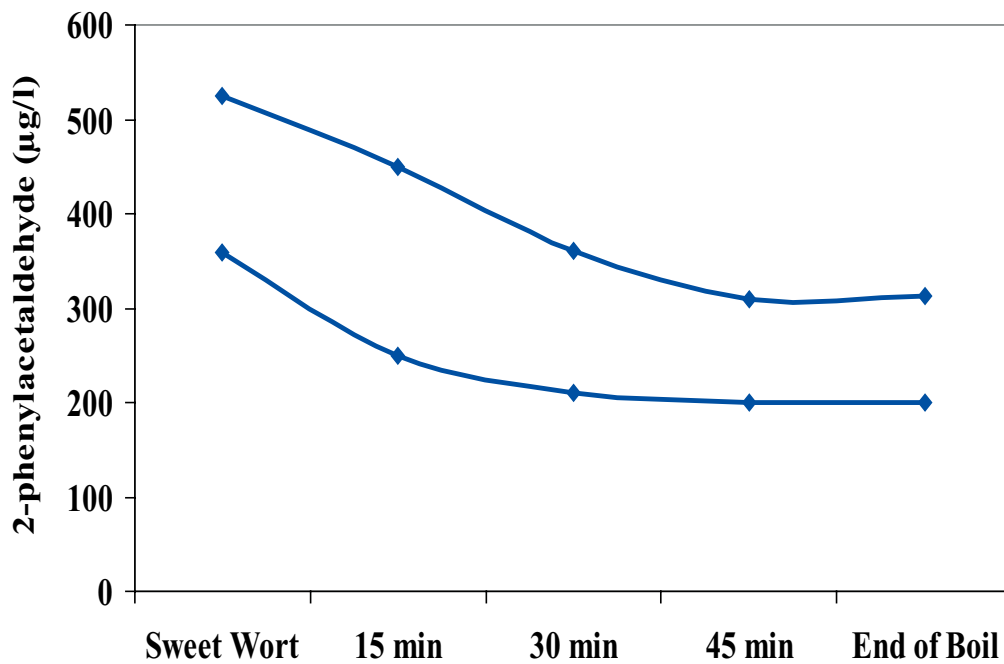


Fig. 11 Changes in the concentration of 2-phenylacetaldehyde during wort boiling done on an industrial scale, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

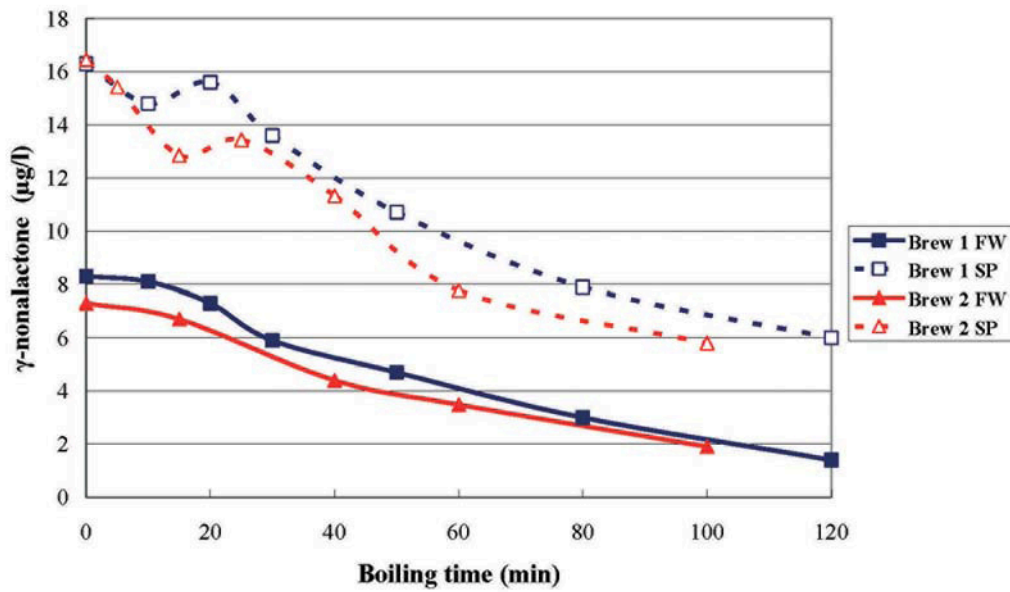


Fig. 12 Changes in the concentration of γ -nonalactone during wort boiling; FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

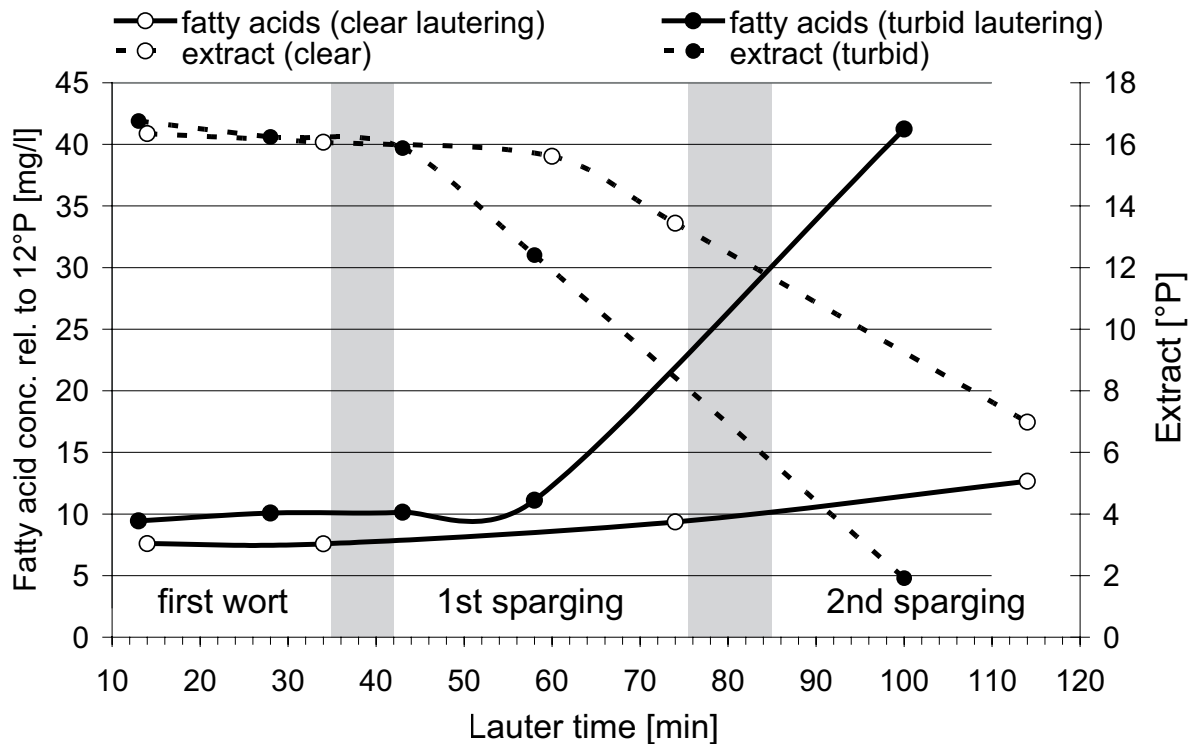


Fig. 13 Concentration of long-chain fatty acids (C14 – C18:3) adjusted to 12% original gravity (12°P) and the extract concentration in wort during clear and turbid lautering; clear lautering: average overall turbidity: 16 EBC, duration: 149 min; turbid lautering: 140 EBC, 110 min [54]

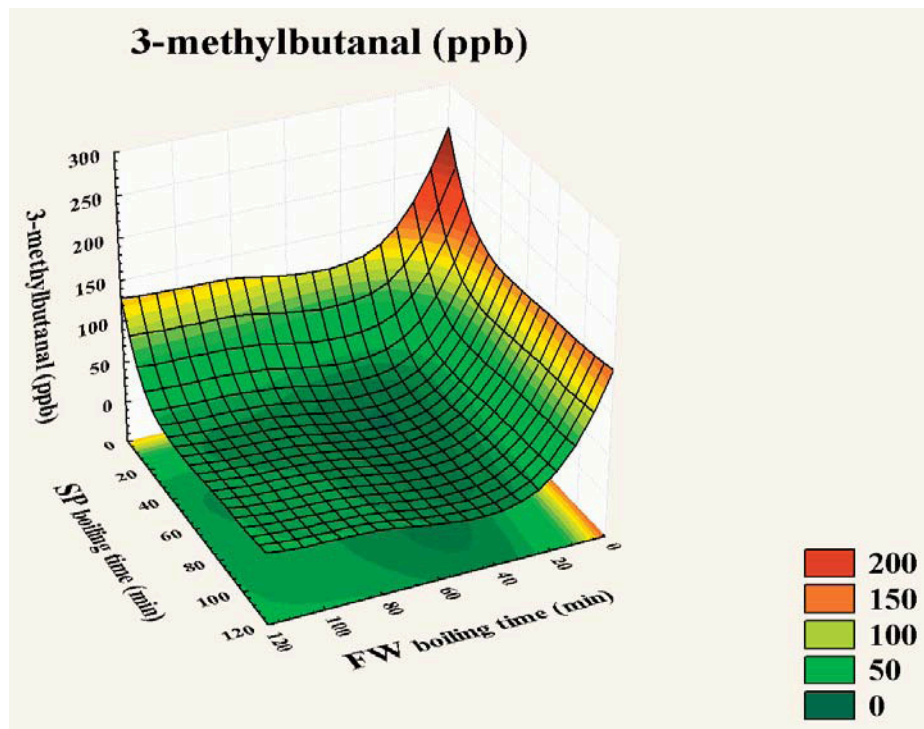


Fig. 14 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (3-methylbutanal); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

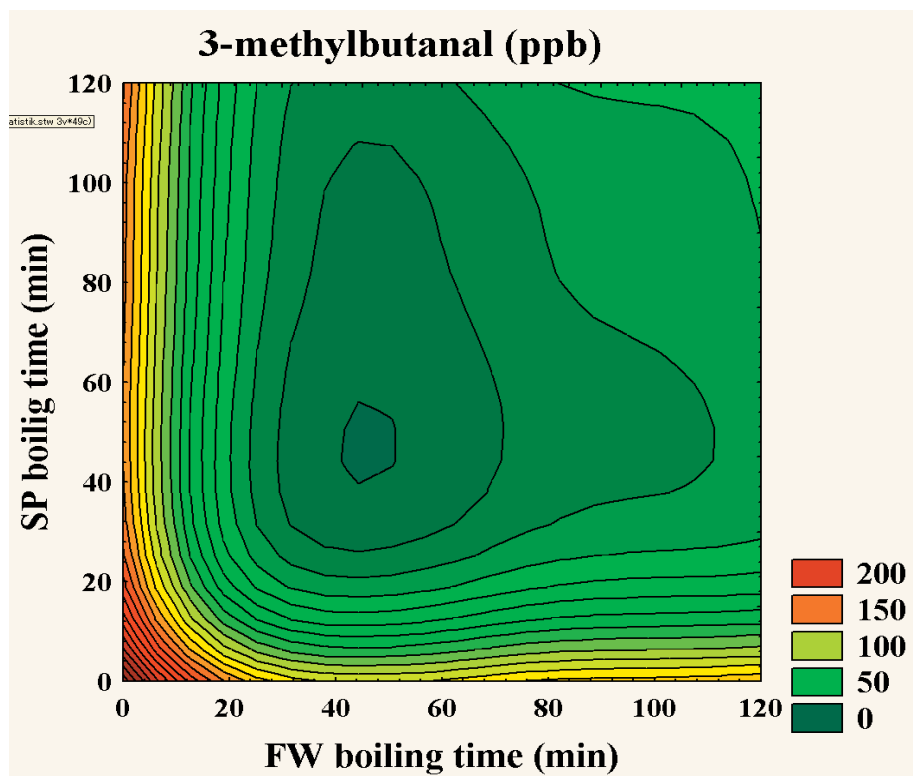


Fig. 15 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (3-methylbutanal); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

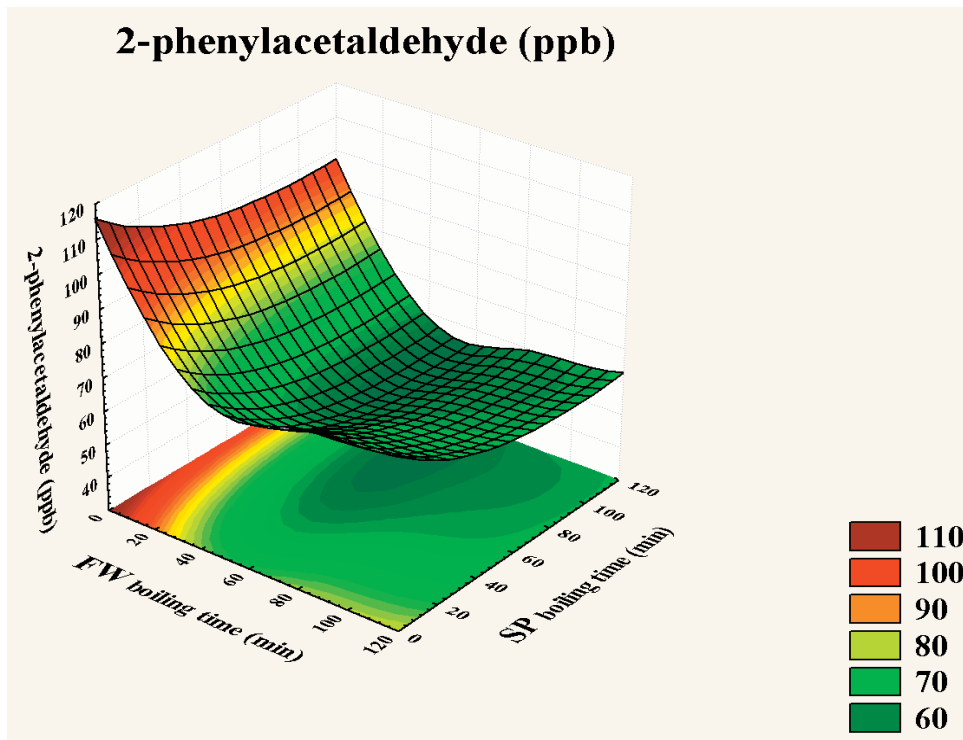


Fig. 16 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (2-phenylacetaldehyde); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

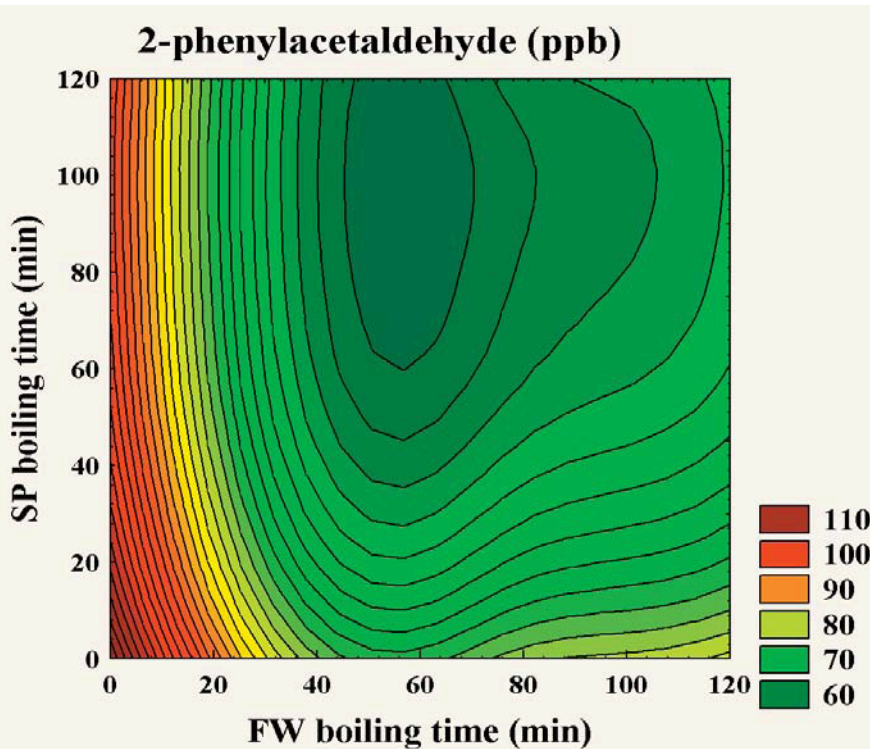


Fig. 17 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (2-phenylacetaldehyde); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

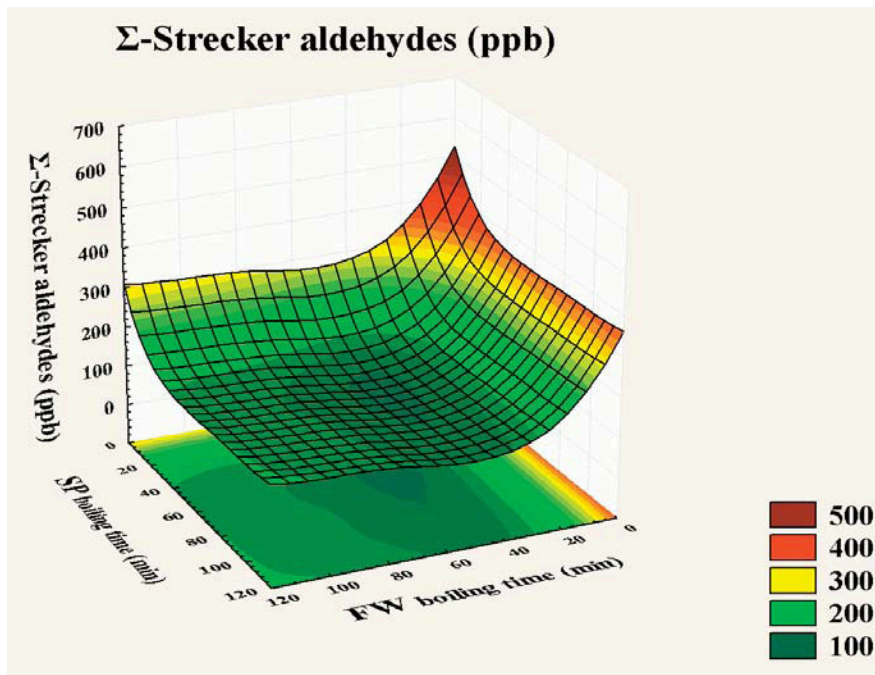


Fig. 18 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (Σ -Strecker aldehydes); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

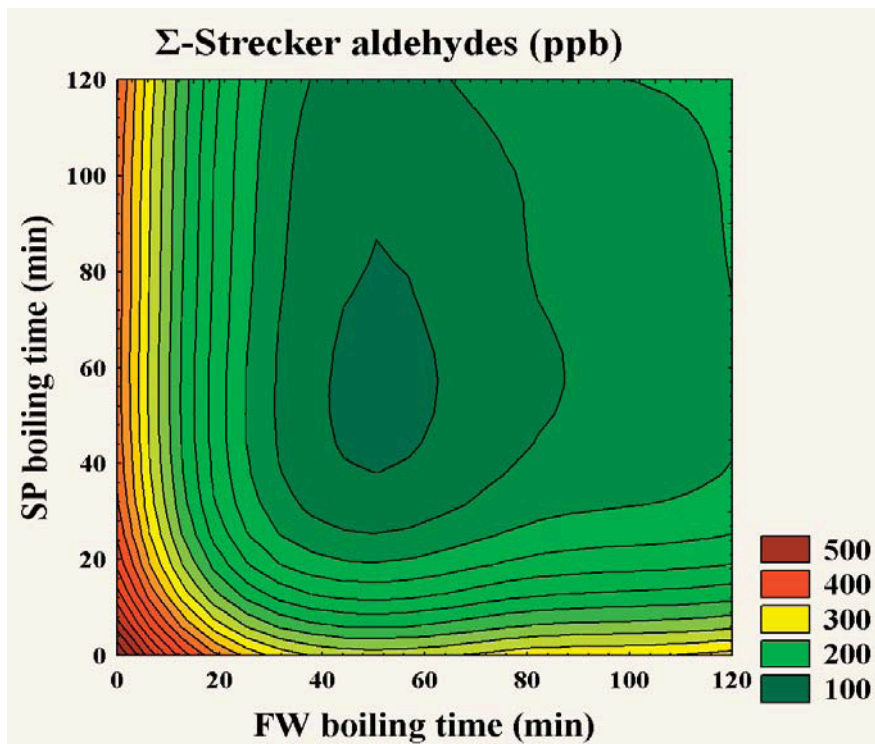


Fig. 19 Simulation with mixture of first wort and spargings and different boiling times (Σ -Strecker aldehydes); FW = first wort, SP = spargings, results from wort samples were adjusted to correspond to an original gravity of 12%

Untersuchungen zu Infusions- und Dekoktionsverfahren

MAISCHARBEIT | Je nach Sudhauseinrichtung können die verschiedensten Verfahren realisiert werden, die sich jedoch auf zwei grundlegende Maischarten zurückführen lassen: das Infusions- und das Dekoktionsverfahren. Dabei bestehen nach wie vor erhebliche Bedenken von einem technisch aufwändigen Dekoktionsverfahren, welches oft schon über Jahrzehnte zum Einsatz kommt, auf ein entsprechendes Infusionsverfahren umzustellen.

ZWEI VERFAHREN haben sich für die Maischarbeit im Sudhaus etabliert, die bis heute in den Brauereien zum Einsatz kommen: das Infusionsverfahren und das Dekoktionsverfahren. Dabei wurden bereits Mitte der sechziger Jahre Versuche unternommen, das technisch aufwändigere Dekoktionsverfahren durch ein Infusionsverfahren zu ersetzen, ohne dabei Abstriche in analytischer und sensorischer Hinsicht machen zu müssen. Dabei gelang es, Biere herzustellen, die von den Analysen her leichte Unterschiede aufwiesen, aber im Dreieckstest nicht zu unterscheiden waren (1). Jedoch noch Ende der siebziger und Anfang der achtziger Jahre arbeiteten die meisten Brauereien nach einem Dekoktionsmaischarverfahren (2). Im Hinblick auf die Energiekrise Ende der Siebziger war das Thema auch unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten interessant, da damals davon ausgegangen wurde, dass sich bei Anwendung eines Infusionsverfahrens nicht zu vernachlässigende Einsparungen gegenüber einem 1- oder sogar 2-Maischarverfahren ergäben. Ein weiterer Anstoß zur Erprobung von geeig-

neten Infusionsverfahren war die sich immer weiter verbreitende Automatisierung und Rationalisierung des Arbeitsablaufes. Ein Infusionsmaischarprogramm war dabei einfacher zu programmieren als ein Dekoktionsmaischarprogramm. Viele Brauereien bestanden aber auf der zusätzlichen Einrichtung eines Dekoktionsverfahrens, um Problemen mit dem Infusionsverfahren bei schlechter Malzqualität begegnen zu können (3). Die Brauereien standen dem Infusionsverfahren weiterhin skeptisch gegenüber, obwohl Mitte der Achtziger wiederholte Untersuchungen zu dem Schluss kamen, dass insgesamt keine Veränderungen in der Produktion und in den analytischen Qualitätsmerkmalen zwischen den Bieren festzustellen waren. Die geschmacklichen und analytischen Unterschiede bestanden

gar nicht oder, wenn überhaupt, nur tendenziell (5).

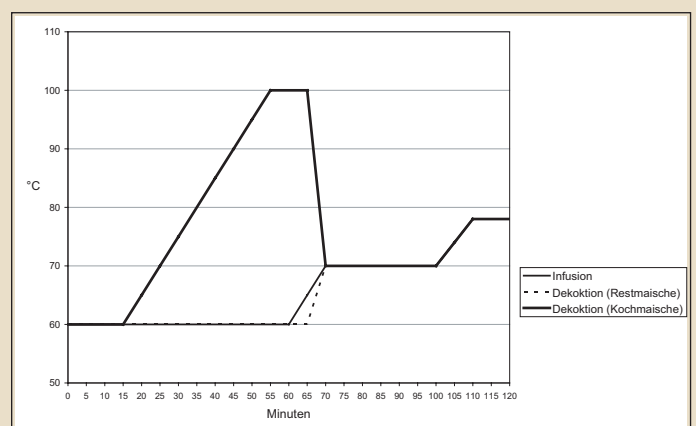
■ Unterschiede der Verfahren

Aus den verschiedenen Untersuchungen, die in der Literatur beschrieben sind, bildet sich folgendes Bild für die Unterschiede zwischen Infusions- und Dekoktionsverfahren:

- Tendenziell weisen beim Infusionsverfahren Ausbeute, scheinbarer Extrakt, scheinbarer und wahrer Endvergärungsgrad niedrigere Werte auf (1).
- Gerbstoffe und Anthocyanogene sind bei Infusionsbier tendenziell weniger stark ausgeprägt (1). Die Schwankungen können jedoch durch verstärkte Auslaugung von Spelzenpolyphenolen ebenso bedingt sein wie durch die Ausfällung von phenolischen Substanzen beim Maischekochen (3).
- Die Kältestabilität ist schlechter als bei dem jeweils vergleichbaren Dekoktionsbier (3).
- Die Schaumstabilität ist entweder unbeeinflusst oder bei Infusionsbieren tendenziell besser als bei den jeweils vergleichbaren Dekoktionsbieren (3).
- Entgegen der oft vorgefundenen Meinung, wonach die Maischekochung zu dunkleren Würzfarben führt, sind die gemessenen Farbwerte annähernd gleich oder identisch (2).
- Die Alterungsstabilität scheint bei ver-

Autoren: Dipl.-Brm. P. Köhler, Dr.-Ing. M. Krotten-thaler, Dipl.-Ing. M. Herrmann, Dipl.-Ing. M. Keßler, Dipl.-Chem. Dipl.-Ing. F. Kühbeck., Lehrstuhl f. Technologie der Brauerei I, TU München-Weihenstephan

Abb. 1
Maischarprogramme,
Infusions- und Dekok-
tionsverfahren



gleichbaren Infusions- und Dekoktionsbiere identisch zu sein (3).

- In der Sensorik werden Infusionsbiere als „milder“ und „feiner“, Dekoktionsbiere oft als „voller“ und „kräftiger“ beschrieben (4).
- Bei Dreieckstests konnte jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (2).

Dennoch kommt heute noch zum Beispiel in etwa 40 Prozent aller Weißbierbrauereien ein Dekoktionsverfahren zur Anwendung.

In den aktuellen Untersuchungen sollten zum einen die Ergebnisse aus früheren Arbeiten verifiziert und zum anderen geklärt werden, inwieweit sich die Maischarbeit direkt auf die Bildung von Würzearomastoffen auswirkt und ob sich Unterschiede im weiteren Bierbereitungsprozess hinsichtlich Bieraromastoffen und Alterungsindikatoren ergeben. Dazu wurden am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I sowohl im Kleinmaßstab (Ausschlagmenge 10 l) wie auch im Pilotmaßstab (Ausschlagmenge 50 l) Würzen im Dekoktionsverfahren und einem daraus abgeleiteten Infusionsverfahren hergestellt und anschließend vergoren, filtriert und sauerstoffarm abgefüllt. Die Maischverfahren sind in Abbildung 1 dargestellt. Sämtliche Würzen wurden demnach in einem Hoch-Kurz-Maischverfahren mit einer Einmaischtemperatur von 60 °C hergestellt, welches lediglich in der Maischekochdauer variierte, die zwischen 5 und 15 min lag. Die Schüttung der Sude bestand sowohl bei den Kleinsuden wie auch bei den Pilotsuden aus 100 Prozent Gerstenmalz, welche durch die Werte in Tabelle 1 gekennzeichnet sind.

Von den Würzen wurden Pfanne-Voll-Proben und Ausschlagwürzeproben genommen und chemisch-technisch, gaschromatographisch und flüssigkeitschromatographisch untersucht. Die Biere wurden ebenfalls chemisch-technisch, gaschromatographisch und zum Abschluss sensorisch geprüft.

Chemisch-technische Würzeanalysen

Bei den typischen Parametern wie Endvergärungsgrad und pH-Wert wurden für die Infusions- und Dekoktionswürzen praktisch identische Werte ermittelt. Für die Farbwerte ergab sich in den Pfanne-Voll-Würzen zunächst kein eindeutiges Bild: während die

Würzen aus dem Kleinsud etwas dunklere Farben auf Seiten des Infusionsverfahrens aufwiesen, waren die Dekoktionswürzen aus dem Pilotsudwerk dunkler. Dieser Trend zeigte sich auch in den Ausschlagwürzen in ähnlicher Stärke. Maximal betrug der Unterschied in den Ausschlagwürzen aber lediglich 0,5 EBC-Einheiten, was als nicht signifikant anzusehen ist. Die Maischekochung hat demzufolge wenn überhaupt nur einen geringen Einfluss auf die Farbe. Die Eiweißlösungs- und Abbauvorgänge wurden zum einen über die Analyse der hoch-, mittel- und niedermolekularen Fraktionen sowie den Gesamtstickstoff überprüft. Der Einfluss der Maischekochung war dabei aber nur tendenziell erkennbar. Zwar wiesen alle Fraktionen leicht geringere Werte seitens des Dekoktionsverfahrens auf, die Werte lagen jedoch alle innerhalb des Analysenfehlers. Bei Untersuchung des noch koagulierbaren Stickstoffs wurden für die Dekoktionswürzen durchweg geringere Werte als bei den Infusionswürzen ermittelt, was auf die Maischekochung und die damit verbundene Ausfällung von Eiweißverbindungen zurückzuführen ist (vgl. Tabelle 2). Der Gehalt an freiem Aminostickstoff (FAN) blieb von der Wahl des Maischverfahrens unbeeinflusst. Die Polyphenolverhältnisse der Würzen ließen nur geringe Unterschiede erkennen. Weder Infusions- noch Dekoktionsverfahren wiesen dabei eindeutig günstigere Zusammensetzungen bezüglich des Polymerisationsindex (PI) auf.

Analyse der Würzearomastoffe

Durch das Malz wird eine Vielzahl von Substanzen in die Würze eingebracht, welche

den Geruch, den Geschmack und das Aroma beeinflussen. Während beim Maischen die Lösungsvorgänge des Malzes sowie enzymatische Reaktionen dominieren, überwiegen bei höheren Temperaturen chemische Reaktionen. Dies trifft auf das Maischen, das Aufheizen in der Würzpfanne und den Würzekochprozess zu. Bei den hohen Temperaturen der Maische- und Würzekochung werden einerseits flüchtige Aromastoffe ausgetrieben, andererseits werden neue gebildet. Dabei erfolgt eine Gleichgewichtseinstellung der jeweiligen Aromastoffe.

Im Bereich der Würzearomastoffe konnten in der Ausschlagwürze keine signifikanten Unterschiede im Vergleich von Infusions- und Dekoktionsverfahren festgestellt werden. Nach dem Abläutern wiesen die Pfanne-Voll-Würzen des Infusionsverfahrens zunächst leicht höhere Gehalte an Streckeraldehyden auf, was auf die Ausdampfung der Streckeraldehyde während des Maischekochens beim Dekoktionsverfahren zurückzuführen ist (vgl. Abb. 2). Nach 50-minütiger atmosphärischer Kochung waren die Würzen im Gehalt an Streckeraldehyden jedoch analytisch identisch. Bei den weiteren ermittelten Würzearomastoffen konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Infusions- und Dekoktionsverfahren festgestellt werden.

Fettsäuren

Im Zusammenhang mit der Geschmacksstabilität des Bieres und Alterungserscheinungen werden häufig Lipide und langkettige Fettsäuren als Vorläufersubstanzen für Alterungscarbonyl genannt (7). Aus diesem Grund sollte beim Vergleich von Infusions-

MALZANALYSE PILSENER BRAUMALZ

Kleinmaßstab und Pilotmaßstab

| Analysenbezeichnung | Einheit | Kleinmaßstab | Pilotmaßstab |
|---------------------------|---------|--------------|--------------|
| Wassergehalt | % | 4,6 | 4,0 |
| Extrakt (lftr.) | % | 79,1 | 79,2 |
| Extrakt (wfr.) | % | 82,9 | 82,6 |
| Farbe (Photometer) | EBC | 3,3 | 3,0 |
| pH-Wert | | 5,83 | 5,89 |
| VZ 45°C | % | 38,2 | 38,2 |
| Verzuckerungszeit | Min. | <10 | 10 – 15 |
| Eiweiß (wfr.) | % | 10,2 | 10,6 |
| Löslicher Stickstoff | mg/100g | 687 | 698 |
| Eiweißlösungsgrad | % | 42,1 | 41,0 |
| Friabilimeter | % | 93,1 | 84,3 |
| Ganzglasigkeit | % | 1,3 | 1,9 |
| Viskosität (8,6% Extrakt) | mPas | 1,481 | 1,490 |

Tab. 1

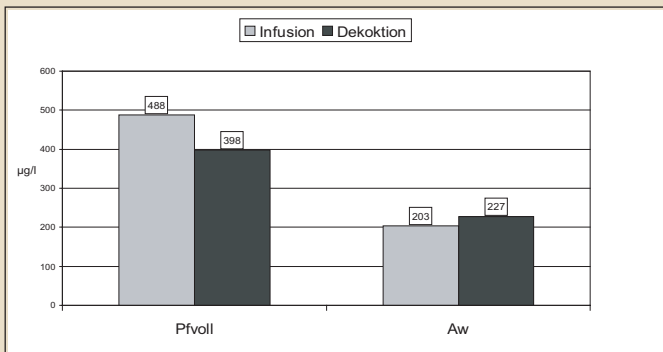


Abb. 2
Gehalt an Strecker aldehyden in Pfanne-Voll und Ausschlagwürzen

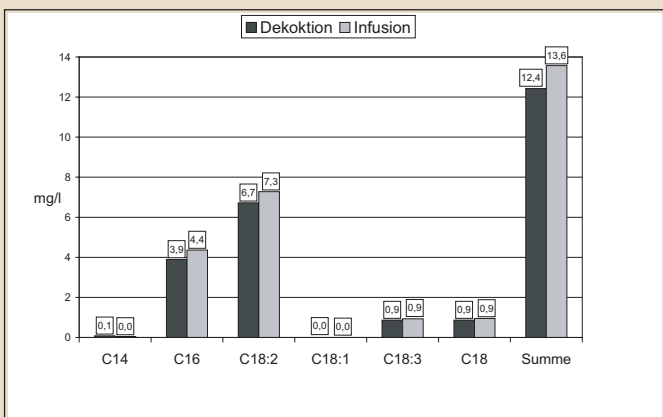


Abb. 3
Fettsäuren in Pfanne-Voll-Würze, Infusions- und Dekoktionsverfahren

und Dekoktionsmaisverfahren eine Betrachtung der langkettigen freien Fettsäuren in den resultierenden Pfanne-Voll Würzen angestellt werden. Nach Abbildung 3 dominieren dabei sowohl bei der Dekoktion wie auch bei der Infusion die Fettsäuren Linolsäure (C18:2) und Palmitinsäure (C16), während die Linolen- (C18:3) und Stearinsäure (C18) in deutlich geringeren Konzentrationen auftreten. Myristin- (C14) und Ölsäure (C18:1) kommen praktisch nicht in der Pfanne-Voll-Würze vor. Die gefundenen Ergebnisse bestätigen die Erkenntnisse von Mück (7). Anhand der durchgeführten Versuche konnte im Bezug auf die langkettigen Fettsäuren kein signifikanter Unterschied zwischen Infusions- und Dekoktionsverfahren festgestellt werden. Im Gegensatz zu dem gefundenen Ergebnis fanden Wacker-

bauer et al. beim Dekoktionsmaischen um 10 – 25 Prozent höhere Fettsäuregehalte (C12-C18:3) in den Pfanne-Voll-Würzen. Dies wird zum einen auf einen verstärkten thermischen Aufschluss von Maischepartikeln mit enzymatisch nicht zugänglichen Lipiden durch die Teilmaischekochung zurückgeführt, was zur verstärkten Freisetzung von Lipiden führe. Zum anderen fand bei den von Wackerbauer durchgeführten Dekoktionsmaischen eine verlängerte Rast der Restmaische bei einer Temperatur von 40 °C statt, die ein Optimum der Lipasen darstellt, was zu einer verstärkten Freisetzung von Fettsäuren als Abbauprodukte der Lipide führt (8).

Im Gegensatz dazu fand bei den hier durchgeführten Versuchen keine Verlängerung der Rast der Restmaische gegenüber

dem Infusionsverfahren statt, da das Infusionsverfahren die Temperaturkurve der Dekoktionsrestmaische bis auf eventuell leicht unterschiedliche Aufheizgeschwindigkeiten sehr ähnlich abbildet. Darüber hinaus wurde bei den Pfanne-Voll-Würzen, die aus dem Dekoktionsverfahren resultierten, ein niedrigerer Gehalt an koagulierbarem Stickstoff gemessen (Tab. 2). Dies deutet auf eine intensive Eiweißkoagulation während der Teilmaischekochung hin. Lipide neigen aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften dazu, sich an hydrophobe Bindungsstellen des Koagulats anzulagern, wie es von der Würzekochung bekannt ist (9). Daher ist es möglicherweise denkbar, dass die Maischekochung zwar wie oben beschrieben zu einer verstärkten Freisetzung von Lipiden führt, gleichzeitig jedoch aufgrund von Adsorptionsphänomenen eine Konzentrationsabnahme der freien Lipide in den Mischen stattfindet, wodurch sich die beiden gegenläufigen Vorgänge zumindest teilweise ausgleichen könnten.

Grundsätzlich sollte beim Vergleich unterschiedlicher Maischverfahren nicht außer Acht gelassen werden, dass die Läutermethode einen wesentlich größeren Einfluss auf die Fettsäuregehalte der Würzen als das Maischverfahren hat. Beispielsweise kann intensives Aufhacken während des Abläuterns zu einem starken Anstieg der freien Fettsäuren in der Pfanne-Voll-Würze führen (8). Darüber hinaus spielen Läutertechnik, Läutergeschwindigkeit und die Glattwasserhandhabung eine wichtige Rolle.

■ Analyse der Bieraromastoffe

Die Würzen wurden nach dem Abkühlen zeitgleich angestellt, um eine größtmögliche Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die Hauptgärung erfolgte bei 10 °C, an die sich eine Diacetylrastr während 3 Tagen bei 16 °C anschloss. Danach wurde das Bier für zwei Wochen bei 0 °C gelagert.

Es konnte gezeigt werden, dass unter Verwendung von Hefe gleichen physiologischen Zustands und Anwendung gleicher Gärparameter sowohl bei Würzen nach dem Infusions- wie nach dem Dekoktionsverfahren keine Unterschiede im Bereich der Bieraromastoffe auftreten. Dies ist ebenfalls bei der Herstellung von Weizenbieren der Fall (14). Dabei war auch von Interesse, ob sich im Laufe der Bieralterung Unterschiede im Hinblick auf die relevanten Alterungsindikatoren ergeben.

| KOAGULIERBARER STICKSTOFF IN AUSSCHLAGWÜRZEN | | | |
|--|--------------|-----|--------------|
| in mg/100ml | | | |
| | Kleinmaßstab | | Pilotmaßstab |
| Infusion | 1,6 | 4,9 | 2,3 |
| Dekoktion | 0,8 | 2,0 | 2,0 |

Tab. 2

Eine bedeutende Gruppe unter den Aromastoffen bilden die Carbonylverbindungen. Sie spielen im Bier im frischen wie im gealterten Zustand eine wichtige Rolle bei der Geschmacksbildung. Hervorzuheben sind dabei die so genannten Streckeraldehyde, darunter 3- und 2-Methyl-Butanal, Methional, Benzaldehyd und 2-Phenylethanal, die z.B. als ausschlaggebende Komponenten für den Alterungsgeschmack identifiziert wurden (6). Dazu wurden die Biere nach Institutsmethode 24 Stunden auf einen Schüttler bei ca. 20 °C und anschließend 4 Tage im Wärmeschrank bei 40 °C forciert gealtert. Es zeigte sich, dass sich bei einer forcierten Alterung keine analytischen Unterschiede zwischen Infusions- und Dekoktionsverfahren bezüglich der Alterungsindikatoren ergeben.

Dextrine als Geschmacksträger

In die Untersuchungen über die Aroma- und Geschmacksstoffe wurde auch eine Analyse der Dextrinzusammensetzung in den Würzen mit aufgenommen. In der Vergangenheit wurden etliche Untersuchungen durchgeführt, um den tatsächlichen Einfluss von Dextrinen auf die Geschmacksbildung zu ergründen und um Zusammenhänge zwischen dem Dextringehalt und dem Aromaprofil von Bier herzustellen. In der Arbeit von Lewis und Langstaff werden die Ergebnisse mehrerer Jahre Forschung zusammengefasst, die im Folgenden dargestellt sind (10).

Eine der beständigsten Annahmen ist, dass Dextrine generell zur Vollmundigkeit und zur Ausbildung des „Körpers“ eines Bieres beitragen. Die Ansicht ist, dass die Maischarbeit und der daraus resultierende Dextringehalt der Würze sich direkt auf die Vollmundigkeit auswirken, bzw. ein erhöhter Dextringehalt zu einer schlechteren Gärung führt, und daraus Biere mit breitem, „öligem“ Charakter im Mundgefühl entstehen. Es wurde gezeigt, dass Dextrine im Wesentlichen geschmacklos sind und ihnen somit kein bestimmtes Geschmacksattribut zugesprochen werden kann. Ihr Effekt auf die Wahrnehmung im Mund und ihr Beitrag zur Geschmacksbildung wird aber dennoch nicht angezweifelt. Gestützt wird die Annahme, dass die im Mundspeichel vorhandene α -Amylase Dextrine zu Zuckern abbauen kann und dadurch zum Nachgeschmack beiträgt.

Die Hydrolyse findet zwar nicht in dem Umfang statt, dass ein süßer Geschmack

Abb. 4
(1) lineare (G4-G10) und verzweigte (I5 - I10) Dextrine: „Beginn Maischeko- chung“; [2] lineare (G4 - G10) und verzweigte (I5 - I10) Dextrine: „En- de Maischeko- chung“; [3] lineare (G4-G10) und verzweigte (I5 - I10) Dextrine: „nach Zubrühen auf 70 °C“

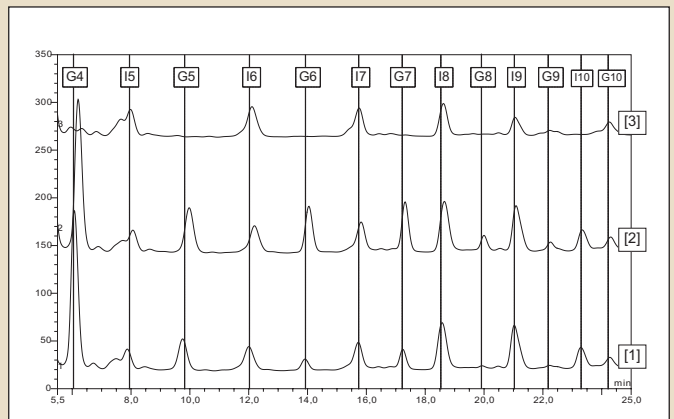
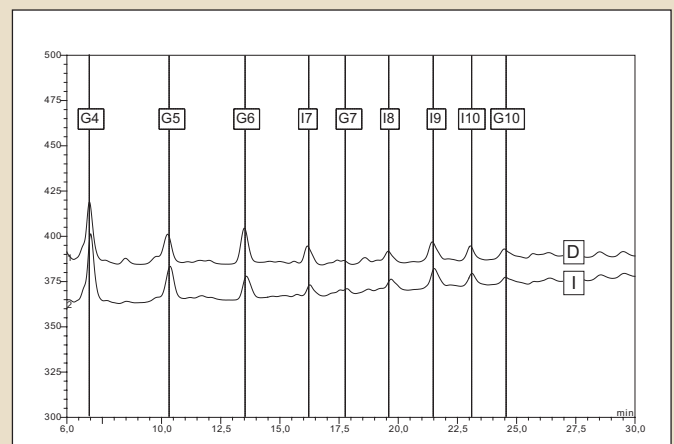


Abb. 5
Dextrinspektrum der Pfanne-Voll-Würzen; Infusions- (I) und Dekoktionsverfahren (D)



empfundene werden kann, der bittere Nachgeschmack des Bieres wird aber teilweise kompensiert. Gegen eine Mitwirkung von Dextrinen an der Geschmacksbildung sprechen Untersuchungen mit Bieren, die aus Würzen mit einem hohen Dextringehalt gebraut wurden. Diese Biere ließen gegenüber „normalen“ Bieren eine gewisse Vollmundigkeit vermissen. Bei einer Zugabe von Enzymen zu Bier, die die im Bier vorhandenen Dextrine abbauen, konnte bei der anschließenden Verkostung keine signifikante Abnahme der Vollmundigkeit festgestellt werden. Eine andere Untersuchung ergab, dass bei Leichtbier erst eine Dextrinzugabe

von mehr als 50 g pro Liter einen messbaren Anstieg der Viskosität zur Folge hat. Da Bier für gewöhnlich deutlich weniger an Dextrinen enthält, schloss man daraus, dass andere Bierinhaltsstoffe wie β -Glucan, Ethanol und Proteine eher einen Beitrag zum Körper eines Bieres leisten als Dextrine.

Lewis und Langstaff unternahmen auch eigene Versuche, wobei sie zunächst zwei Gruppen von Dextrinen definierten und anschließend untersuchten. Dies waren zum einen die Gruppe DP4 bis DP9, (DP = Polymerisationsgrad bzw. Glucoseeinheiten) zum anderen die Gruppe der Dextrine >DP10. Nur bei ersterer (DP4 bis DP9) er-

GRADIENTENPROGRAMM FÜR DIE DEXTRINANALYTIK

| Zeit [min] | Anteil am Eluenten [%] | | |
|------------|------------------------|-------------------|------------------|
| | 250 mM NaOH | 1000 mM Na-Acetat | H ₂ O |
| -5 | 66 | 10 | 24 |
| 0 | 66 | 10 | 24 |
| 5 | 66 | 10 | 24 |
| 30 | 66 | 25 | 9 |
| 50 | 66 | 25 | 9 |

Tab. 3

gaben sich Auswirkungen auf das Mundgefühl. Für die Gruppe >DP10 konnten keine Auswirkungen auf das Geschmacksbild festgestellt werden (10). In den vorliegenden Untersuchungen stellte sich beim Vergleich von Infusions- und Dekoktionsverfahren die Frage, inwieweit sich die Maischekochung auf den Dextringehalt der Würzen auswirkt.

Dazu wurden beim Dekoktionsverfahren folgende Maischeproben genommen: Beginn der Maischekochung, Ende der Maischekochung und nach Zubrühen auf 70 °C. Analysiert wurden die Gruppen der Dextrine DP4 bis DP9, also jene Gruppen, die laut Lewis und Langstaff Auswirkungen auf den Geschmack haben.

Die Dextrine wurden mittels Hochleistungsionenaustauscherchromatographie und gepulster amperometrischer Detektion (HPAEC-PAD) bestimmt.

Zum Einsatz kam dabei ein BioLC-System von Dionex, das mit zwei CarboPac PA 100 (Analysensäule (2 mm x 250 mm) und Vorsäule) ausgestattet war. Die Elution erfolgte bei 30 °C mittels Gradiententechnik bei einem Volumenstrom von 0,25 ml/min. Das Gradientenprogramm ist in Tabelle 3 dargestellt. Das Injektionsvolumen betrug 5 µl einer 1:50 verdünnten Probe. Die Detektoreinstellung entsprach der von Dionex vorgegebenen vierfach Wellenform (vgl. Tabelle 4).

Die Identifizierung der linearen Dextrine erfolgte über einen externen Standard, der aus linearen Maltooligosacchariden (G4-G10) (Sigma M3639-25MG) bestand. Die Identifizierung der verzweigten Dextrine (I4 bis I10) wurde entsprechend den Erkenntnissen von Ross et al. vorgenommen (11). Die verzweigten Dextrine eluieren direkt vor den linearen Dextrinen mit gleichem Polymerisationsgrad. Die Ergebnisse der HPAEC-PAD-Analysen sind in Abbildung 4 und Abbildung 5 dargestellt.

Durch die Maischekochung erfahren hauptsächlich die linearen Dextrine der Größe G6 bis G9 eine Zunahme (Abb. 4). Die Peaks der verzweigten Dextrine (I5 bis I10) bleiben praktisch unverändert. Unmittelbar nach dem Zubrühen sind die linearen Dextrine jedoch nicht mehr messbar, wie ebenfalls in Abbildung 4 gezeigt. Unverändert bleiben weiterhin die verzweigten Dextrine. Die Maischekochung bewirkt demnach offenbar eine Freisetzung von linearen Dextrinen, die sofort nach dem Zubrühen auf 70 °C abgebaut werden.

WELLENFORM ZUR DEXTRINDETEKTION

| Zeit [ms] | Potenzial [V] | Integration |
|-----------|---------------|-------------|
| 0,00 | 0,10 | |
| 0,20 | 0,10 | Anfang |
| 0,40 | 0,10 | Ende |
| 0,41 | -2,00 | |
| 0,42 | -2,00 | |
| 0,43 | 0,60 | |
| 0,44 | -0,10 | |
| 0,50 | -0,10 | |

Tab. 4

Abschließend wurde das Dextrinspektrum der Pfanne-Voll-Würzen von Infusions- und Dekoktionsverfahren bestimmt. Dabei wiesen sowohl Infusions- wie auch Dekoktionsverfahren für die verzweigten (I4 bis I10) und linearen Dextrine (G4 bis G10) die gleichen Peakhöhen auf (Abb. 5).

Schaum- und Trübungsstabilität

Die Untersuchung des Bierschaumes wurde aufgrund der geringen Probemenge aus den Kleinsuden nur bei den Bieren im Pilotmaßstab (50 Liter) durchgeführt. Dabei zeigte sich weder bei frischen noch bei forcierten Bieren ein signifikanter Unterschied bei der Schaumbestimmung nach NIBEM. Dies deckt sich mit Untersuchungen im Industriemaßstab (12). Hierbei wurden ebenfalls atmosphärisch gekochte frische Infusions- und Dekoktionsbiere miteinander verglichen. Die Schaumbestimmung nach Ross & Clark zeigte keine signifikanten Unterschiede. Bei der Untersuchung der chemisch-physikalischen Stabilität wurde für das Infusionsbier tendenziell eine geringere Anzahl an Warmtagen ermittelt als für das Dekoktionsbier. Dies bestätigen die großtechnischen Versuche von Narziß et al. (3)

und Sommer (5). Die höhere Stabilität seitens des Dekoktionsbieres ist wohl auf die verstärkte Ausfällung von Stickstoffsubstanzen bei der Maischekochung zurückzuführen, die im Verlauf der Würzekochung auf Seite des Infusionsverfahrens zwar etwas aufgeholt, aber nicht ganz wett gemacht werden kann.

Verkostung und Bevorzugung

Zum Abschluss wurden die fertigen Biere in einer Dreiecksverkostung sensorisch überprüft. Bei zwei Versuchen erfolgte eine Verkostung auch mit forciert gealterten Bieren. Die Ergebnisse darüber sind in Tabelle 5 festgehalten. Weder bei den frischen, noch bei den forciert gealterten Bieren konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Infusion und Dekoktion gefunden werden. Dennoch haben einige Verkoster den Unterschied erkannt. Statistisch betrachtet kann somit nicht gefolgert werden, dass kein signifikanter Unterschied besteht. Dies deckt sich mit den Verkostungsergebnissen früherer Untersuchungen. Auch damals war eine Unterscheidung der Biere im Dreieckstest nicht möglich (1). In den Untersuchungen von Narziß schnitten die Infusionsbiere bei

ERGEBNISSE DER DREIECKSVORKOSTUNGEN

| | | Teilnehmer | Notwendige Mindestanzahl an Antworten bei Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ (13) | | Tatsächliche Anzahl der Antworten der Teilnehmer | | Infusionsbier bevorzugt |
|---------|----------|------------|--|--------|--|--------|-------------------------|
| | | | richtig | falsch | richtig | falsch | |
| Vers. 1 | frisch | 13 | 8 | 12 | 7 | 6 | – |
| Vers. 2 | frisch | 10 | 7 | 10 | 4 | 6 | 3 |
| Vers. 3 | frisch | 12 | 8 | 12 | 3 | 9 | 1 |
| | forciert | 12 | 8 | 12 | 2 | 10 | 0 |
| Vers. 4 | frisch | 13 | 8 | 12 | 5 | 8 | 4 |
| | forciert | 13 | 8 | 12 | 7 | 6 | 3 |

Tab. 5

allen Versuchen gleich gut oder besser ab als die Dekoktionsbiere. Es wurde zudem festgestellt, dass die gealterten Biere keine über die übliche Schwankungsbreite hinausgehenden Abweichungen zeigten (3).

■ Zusammenfassung

Zwischen Infusions- und Dekoktionsverfahren bestehen im Bereich der chemisch-technischen Analysenwerte nur geringe bis gar keine Unterschiede. Die Würzefarbe wird durch eine Maischekochung nur gering beeinflusst und liegt, vermutlich anlagenbedingt, teilweise niedriger als beim vergleichbaren Infusionsverfahren. Im Bereich der Eiweißfraktionen ergeben sich Unterschiede im Bereich des koagulierbaren Stickstoffs, der beim Dekoktionsverfahren niedriger liegt.

Als Folge daraus ergibt sich wohl auch die etwas bessere chemisch-physikalische Stabilität der Dekoktionsbiere gegenüber den Infusionsbieren. Eine leicht erhöhte Kieselgeldosage führte bei früheren Versu-

chen zu einem Ausgleich der Stabilitäten (4). Auf den Bierschaum hat der geringere Gehalt an koagulierbarem Stickstoff keine Auswirkung. Bei der Analyse der Würze-aromastoffe war der Einfluss der Maischekochung deutlich erkennbar. Die Pfanne-Voll-Würzen der Dekoktionsverfahren weisen dabei einen geringeren Gehalt an Würze-aromastoffen auf als die Infusionswürzen, da diese im Verlauf der Maischekochung ausgedampft werden. Im Verlauf einer 50-minütigen atmosphärischen Würzekochung gleichen sich diese Unterschiede jedoch wieder aus, so dass zum Beispiel die Gehalte an Streckeraldehyden analytisch identisch sind.

Sofern die Würzen parallel mit gleicher Hefe und gleicher Temperatur vergoren werden, bestehen im Bereich der Bieraromastoffe keine Unterschiede zwischen beiden Maischverfahren. Eine Analyse der Alterungsindikatoren erbrachte ebenfalls keine Unterschiede. Bei der Messung der Fettsäuregehalte in der Pfanne-Voll-Würze

ergaben sich leicht niedrigere Werte für das Dekoktionsverfahren, die aber nicht signifikant waren.

In der Dreiecksverkostung schließlich konnte weder signifikant ein Unterschied bzw. signifikant kein Unterschied festgestellt werden.

■ Fazit

Dekoktionsverfahren wurden früher dazu verwendet, um schlechte Malzqualitäten auszugleichen. Für helle Biere ist aus heutiger Sicht die Anwendung eines Dekoktionsverfahrens aufgrund der guten Malzqualitäten nicht mehr dringend erforderlich. Das technisch aufwändige Dekoktionsverfahren kann durch ein daraus abgeleitetes Infusionsverfahren ersetzt werden, ohne dabei signifikante Änderungen in puncto Geschmack und Bierqualität zu verursachen.

■ **Literatur** siehe im Internet unter: http://www.brauwelt.de/deutsch/aktuelle_ausgabe.html – „Spezial“

-ANZEIGE-

Seminar (Nr. 05-01)

Rund um die Bierherstellung „Aktuelle Aspekte zur Brauereitechnologie“

25. – 27. April 2005

Seminarleitung: Tobias Frank

Zielgruppe: Brauereitechnisches Fachpersonal – alle Mitarbeiter, die mit der Herstellung des Bieres zu tun haben –

Zielsetzung: Auffrischung und Vermittlung von weitergehenden Kenntnissen über die verschiedenen Produktionsbereiche und ihr Zusammenspiel, Erkennen von Schwachstellen, praxisorientierte Anleitungen für sicheres und kostenbewusstes Arbeiten, Erstellen von qualitativen und quantitativen Zielen – Kontrolle dieser Ziele

Montag, 25. April 2005

Tagesthemen: Rohstoffe zur Bierherstellung

- 9.00 – 09.30 Uhr: Begrüßung, Einführung
 - 9.30 – 10.30 Uhr: Anforderungen an die Brauwasserqualität
 - 11.00 – 12.15 Uhr: Moderne Aspekte der Hopfung
 - 12.15 – 13.00 Uhr: Biologische Säuerung von Maische und Würze
 - 14.00 – 15.00 Uhr: Malzqualität im Rahmen der Bierbereitung
 - 15.00 – 16.30 Uhr: Einsatz von Spezialmalzen und Röstmalzbieren im Brauprozess
 - 16.30 – 17.15 Uhr: Biersensorik-Kurzpraktikum
- Anschließend gemütliches Beisammensein im Doemens-Bräustüberl.

Dienstag, 26. April 2005

Tagesthema: Sudhausarbeit

- 08.30 – 09.30 Uhr: Einfluss der Schrotung auf die Sudhausarbeit
- 09.30 – 11.00 Uhr: Technologie des Maischens
- 11.30 – 13.00 Uhr: Abläuterung und Kochung
- 14.00 – 15.30 Uhr: Aktuelles zur Sudhaustechnik
- 15.30 – 17.00 Uhr: Gärung – Reifungstechnologie

Mittwoch, 27. April 2005

Tagesthemen: Hefemanagement, Gärung/Lagerung, Filtration

- 08.30 – 09.30 Uhr: Hefemanagement
 - 09.30 – 11.00 Uhr: Würzebelüftung und Hefebehandlung
 - 11.30 – 13.00 Uhr: Aktuelle Techniken zur Filtration und Stabilisierung der Biere
 - 14.00 – 15.30 Uhr: Ausgewählte technische und technologische Probleme
- Anschließend Abschlussdiskussion und Übergabe der Teilnahmezertifikate.

Anmeldung und Gebühren

Doemens Seminar GmbH, Stefanusstraße 8, D-82166 Gräfelfing, Tel. 089/85 80 50, Fax 089/8 58 05 26, E-Mail: seminar@doemens.org. Anmeldungen bitte bis spätestens 14 Tage vor Seminarbeginn. Die Seminargebühr beträgt 700 EUR (zzgl. gesetzl. MwSt.) einschl. Unterlagen, Mittagessen und Bewirtung am 1. Abend. Die Doemens Seminar GmbH behält sich die Stornierung sowie Änderungen im Programm bis zwei Wochen vor Seminarbeginn vor. Rechnung zwei Wochen vor Seminarbeginn erhältlich; diese ist sofort zur Zahlung fällig. Die Stornierung eines Teilnehmers bitte in schriftlicher Form an die Doemens Seminar GmbH. Bei Rücktritt bis 14 Tage vor Veranstaltungsbeginn wird keine Gebühr fällig. Bei Rücktritt eines Teilnehmers zwischen 14 Tage und Veranstaltungsbeginn wird die volle Gebühr fällig. Ersatzanmeldungen werden angenommen. Teilnehmerzahl: Minimum 10.

Tests on infusion and decoction method

MASHING | Depending on brewhouse equipment the most different methods can be put into practice. They all can be put down to two basic mashing types: the infusion and decoction method. As yet, substantial objections exist to replace a technically complex decoction method already effective for decades by an appropriate infusion method.

For mashing two methods have established themselves that are used until today: the infusion method and the decoction method.

However, already during the mid-sixties tests had been conducted that replace the technically more complex decoction method by an infusion method without having to cut back in terms of analytical and sensorial aspects. In doing so, they succeeded in producing beers which differed slightly in analytical aspects, but were indistinguishable by the triangle test (1). However, at the end of the seventies and at the beginning of the eighties most breweries were using a decoction mashing technique (2). In regard of the energy crisis at the end of the seventies the issue was also relevant under an economic point of view, because back then it was assumed that, compared to a 1- or even 2-mash method, using an infusion method would yield savings which can not be overlooked. Another impulse for testing suitable infusion methods was the continuously spreading automation and rationalisation of workflow. Thereby, it was easier to program an infusion mash program than a decoction mash program. Many breweries, however, insisted on an additional option for a decoction program in order to come up against problems of the infusion method occurring with bad malt quality (3). The breweries still were sceptical in regard of the infusion method; although in the mid-eighties recurrent tests came to the result

that there were no detectable differences in production or in analytical quality criteria between those beers. No sensorial nor analytical differences existed and if so only in tendency (5).

Differences between the methods

Based on different tests that are described in literature, the following picture arises regarding the differences between infusion and decoction methods:

- In terms of the infusion method the rate of yield, apparent extract, apparent and true final attenuation, tend to result in lower values (1).
- Tanning agents and anthocyanogens tend to result in less strong distinctiveness (1). The fluctuations, however, can also result from stronger lixiviation of husk polyphenols as well as from precipitation of phenolic substances during mash boiling (3).
- The chill stability is worse compared to the accordant decoction beer (3).
- The foam stability is either unaffected or tends to be better in infusion beers than

in the comparable decoction beers (3).

- Contrary to the popular opinion that mash boiling leads to darker wort colours the detected colours are roughly similar or identical (2).
- The ageing stability seems to be identical between comparable infusion and decoction beers (3).
- From a sensorial point of view infusion beers are described as “milder” and “finer”, decoction beers often as “fuller body” and “stronger” (4).
- In triangle tests, however, no significant difference could be detected (2).

Nevertheless, still about 40% of all wheat beer breweries use a decoction technique. In the current tests results of earlier research were to be verified; and on the other hand it was to be clarified to what extent the mashing procedure effects the formation of wort flavour compounds and if there are differences in the subsequent beer production regarding beer flavour and staling indicators. Thereto, at the Chair for brewing technology I worts were produced both in small scale (cast-out quantity of 10 l) and pilot scale (cast-out quantity of 50 l) with the decoction technique and using an infusion technique deduced from it and subsequently fermented, filtered and bottled low in oxygen. The mashing methods are shown in Fig. 1. All worts were produced using an high temperature/short time mashing method with a mashing-in temperature of 60 °C, which only varied in the mash boiling time of between 5 and 15 minutes. The grist for the

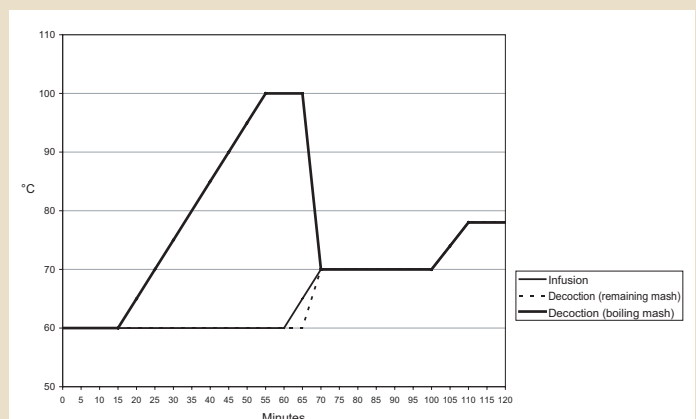


Fig. 1 Mashing programs, infusion and decoction method

Authors: P. Köhler, M. Krottenthaler, M. Herrmann, M. Keßler, F. Kühbeck, Chair for brewing technology I, TU Munich-Weihenstephan

MALT ANALYSIS OF MALT PILSNER STYLE

(small scale & pilot scale)

| Type of analysis | Unit | Small scale | Pilot scale |
|----------------------------|---------|-------------|-------------|
| Water content | % | 4.6 | 4.0 |
| Extract air dry | % | 79.1 | 79.2 |
| Extract water free | % | 82.9 | 82.6 |
| Colour photometer | EBC | 3.3 | 3.0 |
| pH | | 5.83 | 5.89 |
| VZ 45 °C | % | 38.2 | 38.2 |
| Saccharification time | minutes | <10 | 10-15 |
| Protein water free | % | 10.2 | 10.6 |
| Soluble nitrogen | mg/100g | 687 | 698 |
| Degree of protein solution | % | 42.1 | 41.0 |
| Friability | % | 93.1 | 84.3 |
| Glassy kernels | % | 1.3 | 1.9 |
| Viscosity (8.6% extract) | mPas | 1.481 | 1.490 |

Table 1

COAGULABLE NITROGEN IN CAST-OUT WORT

(mg/100ml)

| | Small scale | | Pilot scale | |
|-----------|-------------|-----|-------------|-----|
| Infusion | 1.6 | 4.9 | 3.2 | 2.3 |
| Decoction | 0.8 | 2.0 | 2.3 | 2.0 |

Table 2

brews consisted of 100% barley malt for both small scale and pilot scale brews, which are characterised by their values in Table 1. Samples were drawn from the wort at the time of kettle-full and cast-out and analysed chemical-technically, gas chromatographically and liquid chromatographically. The beers also were analysed chemical-technically, gas chromatographically and finally analysed in sensorial perspective.

Chemical-technical wort analysis

For typical parameters like final attenuation and pH practically identical values were found for both infusion and decoction

worts. In regard of colour in kettle-full worts there was no distinct picture at first: as the small-scale infusion worts showed slightly darker colours the decoction worts produced on pilot scale were darker. This tendency also showed in similar intensity in cast-out worts. However, the difference between the cast-out worts in maximum was merely 0.5 EBC units, which is not significant. The boiling of the mash thus only has marginal impact on the colour. The protein solution and degradation processes were assessed via analysis of the high, middle and low molecular fractions as well as the overall nitrogen. The impact of mash boiling

was only noticeable in tendency. Although all fractions showed slightly lower values regarding the decoction method, the values were all within the analysis error. During tests of the still coagulable nitrogen consistently lower values were found for the decoction wort compared with infusion wort. This can be put down to mash boiling and thus the precipitation of protein compounds associated with it (see Table 2). The free amino nitrogen (FAN) was unaffected by the choice of the mash procedure. The wort polyphenols ratio showed only little differences. Neither infusion nor decoction method showed distinctly more favourable configurations in terms of the polymerisation index (PI).

Analysis of wort flavour compounds

Malt brings a variety of substances into the wort affecting the flavour, taste and aroma. While during mashing the solution processes of the malt as well as enzymatic activities dominate chemical reactions prevail at higher temperatures. This applies to mashing, heating-up in the kettle and to the wort boiling process. At the high temperatures of the mash and wort boiling on one hand volatile aroma compounds are expelled and on the other hand new ones are formed. Thereby, equilibrium of the respective aroma compound is set.

In the field of wort flavour compounds no significant differences between infusion and decoction method could be detected in the cast-out wort. After the end of lautering the kettle-full worts of the infusion method at first showed slightly higher contents of Strecker aldehydes, which can be put down to the evaporation of the Strecker aldehydes during mash boiling at the decoction method (see Fig. 2). After atmospheric boil-

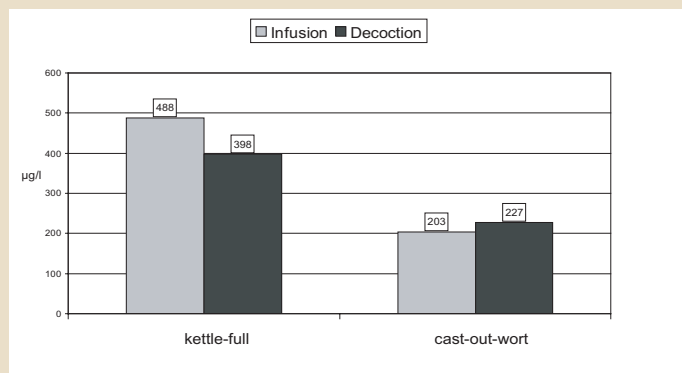


Fig. 2 Content of Strecker aldehydes in kettle-full and cast-out wort

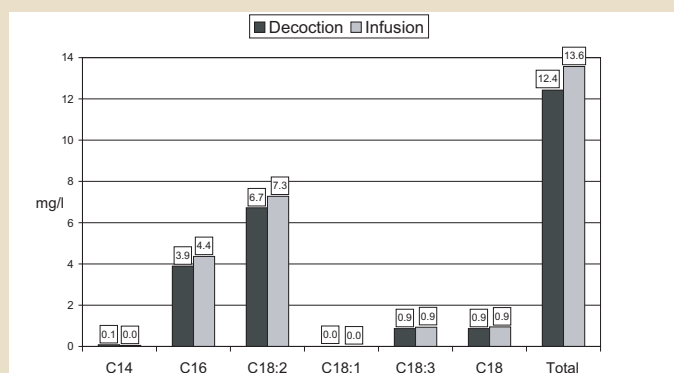


Fig. 3 Fatty acids in kettle-full worts, infusion and decoction method

ing of 50 minutes the worts, however, were analytically identical in terms of Strecker aldehyde content. Also regarding further wort flavour compounds also no significant difference between infusion and decoction method could be detected.

■ Fatty acids

In connection with the beer flavour stability and ageing phenomena often lipids and long-chain fatty acids as precursor substances for ageing carbonyls are cited (7). For this reason long-chain free fatty acids in kettle-full wort were to be examined during the comparison of infusion and decoction mash procedures. According to Figure 3 at both decoction and infusion dominate the fatty acids linoleic acid (C18:2) and palmitic acid (C16), whereas linolenic (C18:3) and stearic acid (C18) appear in distinctly lower concentrations. Myristic (C14) and oleic acid (C18:1) are practically not present in kettle-full wort. The results obtained confirm the findings of Mück (7). Based on the tests regarding long-chain fatty acids no significant difference between infusion and decoction method could be detected.

Contrary to those results Wackerbauer *et al.* found 10 – 25 % higher fatty acid levels (C12-C18:3) in the kettle-full wort of decoction mashes. This is attributed to a fortified thermal degradation of mash particles with enzymatically not accessible lipids due to boiling one part of the mash, which supposedly leads to a release of lipids. Additionally, there was an extended rest of the remaining mash at a temperature of 40 °C, which poses an optimum for lipases, which leads to a fortified release of fatty acids as degradation products of the lipids (8). Contrary to those tests here no extension of the rest of the remaining mash was done compared to the infusion method, because the infusion procedure reproduces the temperature chart of the decoction remaining mash except for potentially slightly different heating-up velocities very similarly. Furthermore, regarding the kettle-full worts produced using the decoction method a lower content of coagulatable nitrogen was found (Table 2). This indicates intensive protein coagulation during boiling of the separated mash. Lipids tend to attach to hydrophobic binding sites of the coagulate due to their lipophilic properties, which is known from wort boiling (9). Thus, it is possibly conceivable that mash boiling leads to a fortified release of lipids as described above; however, at the same time

there is a decrease in free lipids concentration in the mash due to adsorption phenomena, whereby both opposite activities could at least partially equate themselves.

In principle, when comparing different mash procedures, one should not overlook that the lautering method has a much bigger impact on the fatty acid content of the wort as the mashing method. For instance, intensive raking during lautering can cause a strong increase of the free fatty acids in kettle-full worts (8). Moreover, lautering technique, lautering velocity and handling of the last runnings play an important role.

■ Analysis of beer flavour compounds

The worts were pitched after cooling simultaneously in order to guarantee a minimum comparability of the results. The main fermentation was conducted at 10 °C with an adjoining diacetyl rest at 16 °C for 3 days. Subsequently, the beer was stored at 0 °C for two weeks.

It could be shown that using yeast of the same physiological condition and using the same fermentation parameters for worts produced by both infusion and decoction method, no differences in the realm of beer flavour compounds occur. The same applies to wheat beer production (14). It was also of interest whether there are differences regarding relevant ageing indicators in the course of beer ageing.

The carbonyl compounds form an important group within the flavour compounds. They play a significant role for the taste in beer, be it fresh or aged. The so-called Strecker aldehydes are to be mentioned here, among them 3- and 2-methyl-butanal, methional, benzaldehyde and 2-phenylethanal, which e.g. have been identified as crucial components for the staling flavour (6). Therefore, the beers were forced aged according to institute methods for 24 hours on a shaker at approx. 20 °C, and subsequently at 40 °C for 4 days in a warming cupboard. It could be seen that during forced ageing there is no analytical difference between infusion and decoction method in terms of ageing indicators.

■ Dextrins as flavour carrier

By assessing flavour compounds, also analysis of the dextrin composition in the worts was done. In the past, many tests were conducted in order to find the actual impact of

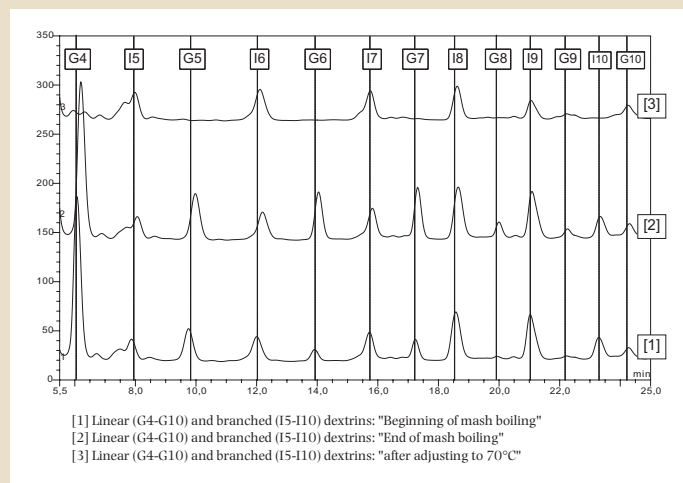


Fig. 4 Linear and branched dextrin increase during mash boiling and after

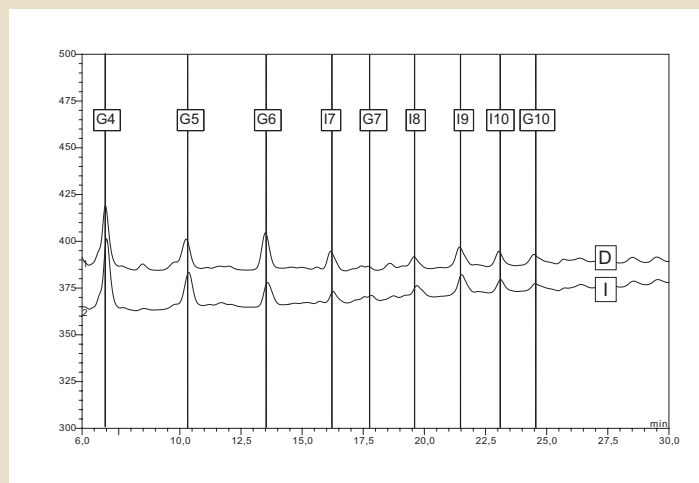


Fig. 5 Dextrin spectrum of kettle-full worts; infusion (I) and decoction method

dextrans on flavour formation, and the inter-relation between dextrin content and beer aroma profile. In the research work of Lewis and Langstaff, the results of many years of research are summarised, which is pointed out below (10).

One of the most consistent assumptions is that dextrans in general contribute to the mouthfeel and formation of the “body” of beer. The assumption is that mashing and the resulting wort dextrin content thereof affect the mouthfeel, or rather, increased dextrin content leads to worse fermentation, and thus beers with broad, “oily” character evolve. It was shown that dextrans are basically tasteless and no distinct flavour attribute can be given.

However, their effect on the mouthfeel and their contribution on taste formation are not disputed. The assumption is supported by the fact that the α -amylase existing in the mouth saliva degrades dextrans into sugars and thus contributes to the existing aftertaste. The hydrolysis does not take place to such an extent that a sweet taste could be sensed, but the bitter aftertaste of beer is compensated partially.

Tests with beers that had been brewed using worts with high dextrin content argue against an involvement of dextrans in terms of flavour formation. Those beers were lacking a certain body. When adding enzymes to beer, which degrade existing dextrans, no significant decrease of the mouthfeel could be detected during the subsequent tasting. Another study came to the result that in case of light beer, only by adding dextrans of more than 50 g per litre was there a measurable increase of viscosity. Since beer usually contains notably fewer dextrans it was concluded that other beer ingredients like β -glucan, ethanol and proteins rather contribute to the body of beer than dextrans.

Lewis and Langstaff undertook their own research, first defining two groups of dextrans and then analysing them. For one this was the group DP4 to DP9, (DP = polymerisation degree, glucose units) and for another the group of dextrans >DP10. Only in the first group (DP4-DP9) were there effects on the mouthfeel. For the group >DP10 no effects on flavour could be detected (10).

For the tests at hand comparing infusion and decoction methods the question

arose to what extent mash boiling effects the wort dextrin content. During the decoction procedure the following mash samples were drawn: beginning of mash boiling, end of mash boiling and after adding boiling mash to adjust the mash to 70 °C. Analysis was done of the dextrin groups DP4 to DP9, thus those groups that contribute to the flavour, according to Lewis and Langstaff.

The dextrans were determined using high performance ion exchange chromatography and pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD). A BioLC-system of Dionex equipped with two CarboPac PA 100 (analysis column 2mm x 250mm) was used. The elution was conducted at 30 °C via gradient technique and a flow rate of 0.25 ml/min. The gradient program is shown in Table 3. The injection volume was 5 μ l of a diluted sample with a ratio of 1:50. The detector setting met the fourfold wave form specified by Dionex (see Table 4).

The identification of the linear dextrans was done by an external standard consisting of linear maltooligosaccharides (G4-G10). The identification of the branched dextrans (I4-I10) was carried out according to findings of Ross *et al.* (11). The branched dextrans eluted directly before the linear dextrans with the same polymerisation degree. The results of the HPAEC-PAD analysis are shown in Figures 4 and 5.

By mash boiling mainly the linear dextrans with the size G6 to G9 receive an increase (Fig. 4). The peaks of the branched dextrans (I5 to I10) practically remain unchanged. However, straight after adding boiling mash the linear dextrans are not measurable anymore, which is also shown

GRADIENT PROGRAM FOR DEXTRIN ANALYSIS

| Time [min] | Proportion of eluent [%] | | |
|------------|--------------------------|--------------------|------------------|
| | 250 mM NaOH | 1000 mM Na-Acetate | H ₂ O |
| -5 | 66 | 10 | 24 |
| 0 | 66 | 10 | 24 |
| 5 | 66 | 10 | 24 |
| 30 | 66 | 25 | 9 |
| 50 | 66 | 25 | 9 |

Table 3

in Figure 4. Furthermore, the branched dextrins remain unchanged. Obviously, mash boiling causes the release of linear dextrins, which are degraded directly after adding boiling mash to adjust the temperature to 70 °C. Finally, the dextrin spectrum of the kettle-fullworts produced by infusion and decoction methods was determined. Both infusion as well as decoction method showed the same peaks for the branched (I4 to I10) and linear dextrins (G4 to G10) (Fig. 5).

Foam and turbidity stability

Due to the little sample volume of the small scale brews, the assessment of beer foam was conducted only in the beers produced by pilot scale (50 litres). Thereby, neither fresh nor forced beer showed a significant difference by determining the foam according to NIBEM. This aligns with the tests at industry scale (12). Hereby, also atmospherically brewed infusion and decoction beers have been compared with each other. The determination of foam according to Ross & Clark showed no significant differences. The chemical-physical stability tended to result in less warm days for the infusion beer than for the decoction beer. This is confirmed by the large-scale tests of Narziß *et al.* (3) and Sommer (5). The higher stability on the part of the decoction beer seems to be put down to the increased precipitation of nitrogen substances during mash boiling that over the course of wort boiling on the part of the infusion method catches up, but not entirely.

Tasting and preference

Finally, the finished beers underwent a sensorial test in a triangle tasting. In two tests also forced beer was tasted. The results are shown in Table 5. Neither in the fresh nor in the forced aged beers was there a significant difference between infusion and decoction. However, some tasters have noticed the difference. Therefore, it can not be concluded statistically that there is no significant difference. This correlates with tasting results of former tests. Back then there was also no differentiation possible of the beers by triangle test (1). In the tests conducted by Narziß the infusion beers performed in all tests as well or better than the decoction beers. Additionally, it was found that the forced beers did not show variations that went beyond common limits of variation (3).

| Time [ms] | Potential [V] | Integration |
|-----------|---------------|-------------|
| 0.00 | 0.10 | |
| 0.20 | 0.10 | Beginning |
| 0.40 | 0.10 | End |
| 0.41 | -2.00 | |
| 0.42 | -2.00 | |
| 0.43 | 0.60 | |
| 0.44 | -0.10 | |
| 0.50 | -0.10 | |

Table 4

Summary

Between infusion and decoction methods there are only little if any differences in terms of chemical-technical analysis values. The wort colour is influenced by mash boiling only little and is – presumably equipment-related – partially lower than with comparable infusion methods. Regarding protein fractions there are differences in the area of coagulatable nitrogen, which is lower at the decoction method. As a result there is a slightly better chemical-physical stability of the decoction beers compared to the infusion beers. A slightly higher silica gel dosage during former tests led to an equation of the stabilities (4). The lower content of coagulatable nitrogen has no effect on beer foam. In the analysis of wort flavour compounds the impact of mash boiling was clearly noticeable. The kettle-full worts produced by the decoction method showed a lower content in wort flavour compounds than those produced by the infusion method, because they are evaporated during mash boiling. However, over the course of atmospheric wort boiling during a time of 50 minutes, those differences equate, so that for instance

the Strecker aldehyde content is analytically identical. If the worts are fermented parallel with the same yeast and temperature, there are no differences between both mash methods in terms of beer flavour compounds. An analysis of ageing indicators also generated no differences. Measurement of the fatty acid contents kettle-full wort resulted in slightly lower values for the decoction method; however, they were not significant.

In the end, during triangle tasting neither significantly a difference nor significantly no difference could be found.

Conclusion

Using decoction methods for pale beer production is not pressingly necessary from a current point of view due to the good malt qualities. The technically complex decoction method can be replaced by an infusion method deduced from it without causing significant changes where taste and beer quality is concerned.

References

The list of references to this article can be downloaded as pdf for free ([http://www.brauwelt.de – „Service/Downloads“](http://www.brauwelt.de/~Service/Downloads/))

| | | | Necessary minimum number of responses at a level of significance of $\alpha = 0.05$ (13) | | Actual number of responses by participants | | Infusion beer preferred |
|---------------------|--------|----|--|-------|--|-------|-------------------------|
| No. of participants | | | correct | wrong | correct | wrong | |
| Trial 1 | fresh | 13 | 8 | 12 | 7 | 6 | – |
| Trial 2 | fresh | 10 | 7 | 10 | 4 | 6 | 3 |
| Trial 3 | fresh | 12 | 8 | 12 | 3 | 9 | 1 |
| | forced | 12 | 8 | 12 | 2 | 10 | 0 |
| Trial 4 | fresh | 13 | 8 | 12 | 5 | 8 | 4 |
| | forced | 13 | 8 | 12 | 7 | 6 | 3 |

Table 5

List of references to the article „Test on infusion and decoction method“, Brauwelt International 1/06, 33 – 37

1. Runkel, U. D.: “Infusions- und Dekoktionsverfahren”, Tagesztg. Brauerei 12/13, p61, 1965.
2. Hug, H.; Pfenninger, H. B.: “Brauver-
suche mit Infusions- und Dekoktions-
maischverfahren”, Proc. EBC-Congr.
Berlin (West), 355–364, 1979.
3. Narziß, L.; Reicheneder, E.; Ngo-Da,
Ph.: “Infusions- und Dekoktions-
verfahren”, Brauwelt 21, 768 – 785,
1981.
4. Autor unbekannt: “Vergleich von In-
fusions- und Dekoktionsverfahren”,
Tagesztg. Brauerei 36/37, 198 – 200,
1965.
5. Sommer, G.: “Versuche zur Optimie-
rung des Maischverfahrens”, Brau-
welt 19/20, 1120–1126, 1985.
6. G. A.: „Strecker-Aldehyde und Ge-
schmacksstabilität“, Brauwelt 20/21,
621–622, 2004.
7. Mück, E. A.: “Über das Verhalten der
Fettsäuren beim Brauprozess”, Disserta-
tion, TU München, Freising-Weihenste-
phan, 1985.
8. Wackerbauer, K.; Bender, G.; Poloczek,
K.: “Die Beeinflussung der freien Fett-
säuren durch die technologischen Para-
meter bei der Sudhausarbeit”, Monats-
schrift f. Brauwissenschaft 1, 20 – 21,
1983.
9. Anon., Wort Boiling and Clarification,
In: Manual of Good Practice, European
Brewing Convention, Ed., Fachverlag
Hans Carl: Nürnberg, 2000, p25.
10. Lewis, M. J.; Langstaff, S. A.: “The
Mouthfeel Of Beer – A Review”, J. Inst.
Brew. Vol. 99, 34–35, 1993.
11. Ross, H. A.; Sungurtas, J.; Ducreux, L.;
Swanston, J. S.; Davies, H. V.; McDougall,
G. J.: “Limit dextrinase in barley culti-
vars of differing malting quality: activi-
ty, inhibitors and limit dextrin profiles”,
Journal of Cereal Science 38, Nr. 3, 325
– 334, 2003.
12. Spohr, V.: “Die Auswirkungen verschie-
dener Kochverfahren auf die Würze-
und Bierqualität”, Diplomarbeit, TU
München, Freising-Weihenstephan,
1999.
13. Mitteleuropäische Brautechnische
Analysekommission (MEBAK) e.V.,
Brautechnische Analysemethoden
Bd. II, 3rd ed., 107–108, 1993.
14. Herrmann, M., Dissertation in Vorberei-
tung, Technische Universität München-
Weihenstephan, o.J. Gait veraesed tat.