

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie

Funktionelle Getränke auf Basis vermälzter Zerealien und  
Pseudozerealien

Moritz Krahl

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

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Th. Becker

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. W. Back (i.R.)
2. Univ.-Prof. Dr. H.-Chr. Langowski

Die Dissertation wurde am 07.04.2010 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 08.07.2010 angenommen.

Für meine Eltern, die durch ihre Unterstützung eines sicherlich nicht alltäglichen Studienwunsches die Entstehung dieser Arbeit erst ermöglicht haben!

---

## Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Professor Dr.-Ing. Werner Back für die Möglichkeit, diese Arbeit unter seiner Aufsicht durchführen zu können, für das mir entgegengebrachte Vertrauen und den stets hilfreichen, motivierenden und anspornenden Kontakt.

Professor Dr.-Ing. Thomas Becker möchte ich für die Möglichkeit die Arbeit an seinem Lehrstuhl zu Ende führen zu können, für das offene und freundliche Verhältnis in dieser Zeit und die Übernahme des Prüfungsvorsitzes danken.

Ebenso möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr.rer.nat. Horst-Christian Langowski für seine Bereitschaft sich als Zweitprüfer zur Verfügung zu stellen, danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr.-Ing. habil. Stefan Kreis für die Idee zu diesem Projekt, für die Organisation der Förderung ohne welche diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre und für seinen Rat und seine Unterstützung auch nach seinem Abschied vom Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I.

Meinen Kollegen am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I und Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie möchte ich für den freundlichen und offenen Umgang danken. Insbesondere gilt mein Dank hier Stefan Hanke, Michael Wurzbacher, Markus Herrmann, Fei Quian, Frithjof Thiele und meinem Arbeitsgruppenleiter Martin Zarnkow für ihre hervorragende fachliche Unterstützung und Hilfe.

Für die Unterstützung bei den administrativen Aufgaben möchte ich besonders Daniela Schulte, Claudia Gün und Ulli Huber danken.

Ich danke meinen Diplomanden Matthias Gaberz, Mirjam Hänsel, Moritz Metzger, Oliver Olak, Mario Rudolf, Joachim Sandel, Mario Scholz, Carsten Schütz und Felicitas Stürmer und, meinen Bachelorarbeitern Getraud Egle, Jasper Most und Sandra Müller, sowie meinen Studienarbeitern Tamara Assenheimer, Agnes Auer, Katharina Bakic, Kristin Boden, Carolin Hagel, Andreas Hartung, Julia Hörmann, Nicoletta Kriz, Anna Müller, Klaas Reglitz und Jenny Thormann für ihren Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

---

Für die finanzielle Unterstützung möchte ich mich bei dem Fonds Inbev-Baillet Latour ganz herzlich bedanken.

Die in dieser Arbeit untersuchten Buchweizenproben wurden zu einem Teil von Herrn Professor Friedrich Zeller zur Verfügung gestellt. Am Fachgebiet für Obstbau bei Herrn Professor Dieter Treutter und Frau Dr. Carolin Ölschläger wurde ein Teil der Buchweizenpolyphenolanalytik durchgeführt, wofür ich herzlich danke.

Prof. Ludwig Narziß möchte ich für sein begeisterndes Wesen und für das große Vorbild, das er dem akademischen Nachwuchs und allen angehenden Brauereitechnologen ist, danken.

Des Weiteren möchte ich allen hier nicht namentlich erwähnten Kollegen, Hiwis, Laboranten, Projektpartnern, Brauereien und Zulieferern für ihre Unterstützung, das Überlassen von Probenmaterialien, Anregungen und Hilfestellungen danken ohne welche ein eminenten Teil der durchgeführten Versuche nicht oder nur erschwehrt durchführbar gewesen wäre.



---

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>VII</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>IX</b>
<b>1 Einleitung und Problemstellung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Theoretische Grundlagen</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Funktionelle Inhaltsstoffe</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2 Lösliche Ballaststoffe</b> .....	<b>7</b>
2.2.1 Arabinoxylan [33] .....	8
2.2.2 Fructan [42] .....	9
<b>2.3 Vitamine</b> .....	<b>10</b>
2.3.1 Thiamin (Vitamin B <sub>1</sub> ) .....	11
2.3.2 Riboflavin (Vitamin B <sub>2</sub> ) .....	13
2.3.3 Cobalamin (Vitamin B <sub>12</sub> ) .....	13
<b>2.4 Buchweizen</b> .....	<b>14</b>
2.4.1 Buchweizenflavonoide [148] .....	16
2.4.2 Buchweizenflavan-3-ole .....	17
<b>2.5 Osmolalität</b> .....	<b>17</b>
<b>2.6 Glykämischer Index [177-178]</b> .....	<b>19</b>
<b>2.7 Resorption von Getränkeinhaltsstoffen [183]</b> .....	<b>21</b>
<b>2.8 Milchsäurefermentation</b> .....	<b>21</b>
<b>2.9 Geschmacksstabilität von Getränken [202]</b> .....	<b>23</b>
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>24</b>
<b>3.1 Ballaststoffanalytik</b> .....	<b>24</b>
3.1.1 Gesamtarabinoxylan (AX).....	24
3.1.2 Wasser extrahierbares Arabinoxylan (WEAX) .....	24
3.1.3 Fructan und Inulin .....	25
3.1.4 beta-Glucan .....	25
3.1.5 Glucosepolymeranalytik.....	25
<b>3.2 Vitaminanalytik</b> .....	<b>25</b>
3.2.1 Thiaminbestimmung.....	25
3.2.2 Riboflavinbestimmung.....	26
3.2.3 Cobalaminbestimmung .....	26
<b>3.3 Malz- und Würzeanalytik</b> .....	<b>26</b>
3.3.1 Kongressmaisverfahren .....	26
3.3.1.1 Extraktgehalt .....	27
3.3.1.2 pH-Wert .....	27
3.3.1.3 Würzefarbe .....	27
3.3.1.4 Löslicher Stickstoff .....	27
3.3.1.5 Freier Aminostickstoff .....	27
3.3.1.6 Viskosität .....	28
3.3.2 Rohprotein .....	28
3.3.3 Wassergehalt .....	28
3.3.4 Verkleisterungstemperatur .....	28
<b>3.4 Aromastoffanalytik</b> .....	<b>28</b>
3.4.1 Malzaromastoffe.....	28
3.4.2 Würze aromastoffe .....	29
3.4.3 Alterungskomponenten .....	29

---

3.4.4 Dimethylsulfid (DMS) und Vorstufen .....	29
<b>3.5. Milchsäuregärungen .....</b>	<b>29</b>
3.5.1 Analytik des Gärverlaufes .....	30
3.5.2 Milchsäurebestimmung .....	30
<b>3.6 Verkostung alternativer Malzgetränke.....</b>	<b>31</b>
3.6.1 Kommerzielle Getränke .....	31
3.6.2 Milchsauer vergorene Getränke .....	32
<b>3.7 Statistische Betrachtung.....</b>	<b>32</b>
3.7.1 Statistische Versuchsplanung.....	32
3.7.2 Bestimmung der Variationskoeffizienten (VK) der Analysen .....	32
3.7.3 Bestimmung von Korrelationen und Sicherheiten .....	33
<b>3.8 Mälzungsversuche .....</b>	<b>33</b>
<b>3.9 Brauversuche .....</b>	<b>33</b>
<b>3.10 Buchweizendifferenzierung .....</b>	<b>34</b>
3.10.1 Proben.....	34
3.10.2 Rohstoffanalytik.....	34
3.10.2.1 Handbonitierung.....	34
3.10.2.2 Tausendkorngewicht.....	35
3.10.2.3 Hektolitergewicht.....	35
3.10.2.4 Sortierung.....	35
3.10.2.5 Keimenergie und Wasserempfindlichkeit .....	35
3.10.3 Polyphenolanalytik .....	35
3.10.3.1 Flavonoide.....	36
3.10.3.2 Flavan-3-ole .....	36
<b>3.11 Maischversuche .....</b>	<b>36</b>
<b>3.12 Osmolalität.....</b>	<b>37</b>
<b>3.13 Getränkeausmischung .....</b>	<b>37</b>
<b>3.14 Pasteurisation .....</b>	<b>37</b>
<b>3.15 Geschmacksschwellenwerte .....</b>	<b>38</b>
<b>3.16 Rehydrierung durch malzbasierte Getränke.....</b>	<b>38</b>
<b>4 Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Funktionelle Inhaltsstoffe .....</b>	<b>39</b>
4.1.1 Gesamtarabinoxylan (AX).....	39
4.1.2 Wasserextrahierbares Arabinoxylan (WEAX) .....	40
4.1.2.1 Dinkel [33, 98] .....	40
4.1.2.2 Gerste [42] .....	42
4.1.2.3 Hafer.....	45
4.1.2.4 Roggen [33, 42].....	45
4.1.2.5 Weizen [33, 42] .....	48
4.1.3 AX und WEAX im Brauprozess [42] .....	50
4.1.4 Fructan .....	52
4.1.4.1 Dinkel .....	52
4.1.4.2 Gerste.....	53
4.1.4.3 Roggen.....	53
4.1.4.4 Weizen .....	53
4.1.4.5 Fructan im Brauprozess.....	53
4.1.5 Thiamin (Vitamin B <sub>1</sub> ) .....	54
4.1.5.1 Dinkel .....	54
4.1.5.2 Gerste.....	55
4.1.5.3 Hafer.....	56
4.1.5.4 Roggen.....	57
4.1.5.5 Weizen .....	59

4.1.5.6 Einfluss des Brauprozesses auf den Thiamingehalt .....	60
4.1.5.7 Thiamin während der Milchsäuregärung .....	60
4.1.6 Riboflavin.....	60
4.1.6.1 Dinkel .....	60
4.1.6.2 Gerste.....	61
4.1.6.3 Hafer.....	62
4.1.6.4 Roggen.....	63
4.1.6.5 Weizen .....	65
4.1.6.6 Einfluss des Brauprozesses auf den Riboflavingehalt .....	66
4.1.6.7 Einfluss der Milchsäuregärung auf den B <sub>2</sub> -Gehalt .....	66
4.1.7 Cobalamin .....	67
4.1.7.1 Einfluss der Mälzung.....	67
4.1.7.2 Alkoholfreie Weißbiere.....	68
<b>4.2 Buchweizen.....</b>	<b>69</b>
4.2.1 Rohstoffdifferenzierung [264].....	70
4.2.1.1 Handbonitierung.....	70
4.2.1.2 Tausendkorngewicht.....	70
4.2.1.3 Hektolitergewicht.....	71
4.2.1.4 Sortierung.....	71
4.2.1.5 Verkleisterungstemperatur.....	71
4.2.1.6 Keimenergie und Wasserempfindlichkeit .....	71
4.2.1.6 Rutingehalt .....	72
4.2.2 Flavonoide.....	72
4.2.2.1 Rutin [148].....	72
4.2.2.2 Orientin [148].....	73
4.2.2.3 Vitexin [148] .....	73
4.2.2.4 Isovitexin .....	73
4.2.2.5 Homoorientin .....	74
4.2.2.6 Rutin während der Keimung von Buchweizen .....	76
4.2.3 Flavan-3-ole .....	76
4.2.3.1 Catechin .....	76
4.2.3.2 Epicatechin.....	77
4.2.4 Vitamine .....	78
4.2.5 Maischarbeit.....	79
<b>4.3 Einfluss von Malz und Maischverfahren auf die Osmolalität .....</b>	<b>79</b>
<b>4.4 Milchsäurefermentation .....</b>	<b>83</b>
4.4.1 Gärverläufe.....	83
4.4.2 Würzearomastoffe bei der Milchsäuregärung [269] .....	85
4.4.3 Alterungskomponenten in Sauergut [202] .....	88
4.4.4 Dimethylsulfitausdampfung in Sauergut.....	89
<b>4.5 Getränkeherstellung .....</b>	<b>93</b>
4.5.1 Ausmischung [267].....	93
4.5.2 Ernährungsphysiologisch positive Zusatzstoffe .....	94
4.5.3 Pasteurisation .....	95
4.5.4 Verkostungen .....	96
4.5.5 Alterungsstabilität [202].....	96
4.5.6 Alterungsindex für alternative malzbasierte Getränke und Malztrunk .....	97
4.5.7 Malzbasierte Getränke bei körperlicher Belastung .....	97
<b>5 Zusammenfassung .....</b>	<b>98</b>
<b>6. Summary .....</b>	<b>101</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>103</b>
<b>8 Veröffentlichungsanhang .....</b>	<b>124</b>

---

8.1 Erwünschter Ballast: Inulin und Oligofructose - lösliche Ballaststoffe als biofunktionelle Getränkesupplementstoffe .....	124
8.2 Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat ( <i>Triticum aestivum</i> var. <i>spelta</i> ) .....	128
8.3 Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) .....	134
8.4 Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process.....	141
8.5 Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.), rye ( <i>Secale cereale</i> ) and spelt wheat ( <i>Triticum aestivum</i> spp. <i>spelta</i> ).....	152
8.6 Der glykämische Index von Getränken .....	160
8.7 Flavor Stability of Alternative Malt-based Beverages .....	166
8.8 The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Triticale (xTriticosecale Wittmack) as a Raw Material for Alternate Fermented Beverages .....	174
8.9 Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung .....	188
<b>Lebenslauf</b> .....	<b>195</b>
Im Rahmen dieser Dissertation bisher entstandene Arbeiten.....	196

---

## Abkürzungsverzeichnis

°C	-	Grad Celsius
%	-	Prozent
%mas	-	Massenprozent
%vol	-	Volumenprozent
Σ	-	Summe
°P	-	Grad Plato
µg	-	Mikrogramm
µl	-	Mikroliter
Abb.	-	Abbildung
AfG	-	alkoholfreie Getränke
AG	-	Aktiengesellschaft
ASBC	-	American Society of Brewing Chemists
ATP	-	Adenosin Triphosphat
AX	-	Arabinoxylan
bzw.	-	beziehungsweise
c	-	Konzentration
ca.	-	circa
CO <sub>2</sub>	-	Kohlendioxid
d. h.	-	dass heißt
DAD	-	Dioden Array Detektor
Dest.	-	destilliert
DIN	-	Deutsches Institut für Normung
DLG	-	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
DMS	-	Dimethylsulfid
DNA	-	Desoxyribonukleinsäure
E	-	Trans
E.	-	Escherichia
E.C.	-	Enzyme commission
e.V.	-	Eingetragener Verein
EBC	-	European Brewery Convention
ELG	-	Eiweisslösungsgrad
et al.	-	et alia (und andere)
EU	-	Europäische Union
FAN	-	freie Aminostickstoff
FDA	-	Food and Drug Administration
FID	-	Flammenionisationsdetektor
g	-	Gramm
GC	-	Gaschromatographie
GG%	-	Gewichts-/Gewichtsprozent
GI	-	Glykämischer Index
h	-	Stunde
HK	-	Hochkurzmaisverfahren

---

HPAEC	-	High-Performance Anion-Exchange Chromatography
HPLC	-	High Performance Liquid Chromatography
kg	-	Kilogramm
koag. N	-	koagulierbarer Stickstoff
l / L	-	Liter
L.	-	Lactobacillus
lat	-	Lateinisch
Lösl. N	-	Löslicher Stickstoff
me	-	Methyl
MEBAK	-	Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission
mg	-	Milligramm
min	-	Minute(n)
ml	-	Milliliter
mPa	-	Millipascal
MV	-	Maischverfahren
n. a.		nicht analysiert
n. v.		nicht verfügbar
NaOH		Natriumhydroxid
ng	-	Nanogramm
nm		Nanometer
Nr.		Nummer
Ø	-	Durchschnitt
PAD		Pulsed Amperometric Detector
PG	-	Polymerisationsgrad
ppm	-	parts per million
R		Registered Trademark
s		Sekunde
s.	-	Siehe
s. o.		siehe oben
s. u.	-	siehe unten
sog.		so genannt
Sp.	-	Spuren
TM		Trademark
TS		Trockensubstanz
TU	-	Technische Universität
u. a.	-	unter anderem
USA	-	Vereinigte Staaten von Amerika
v. a.	-	vor allem
VK	-	Variationskoeffizient
WEAX	-	Wasserextrahierbares Arabinoxylan
Z	-	Cis
z. T.	-	zum Teil
z. B.	-	zum Beispiel
α	-	alpha
β	-	beta
Δ	-	delta

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 WEAX während der Keimung von Dinkel.....	41
Abbildung 2 Zusammenhang zwischen WEAX und Würzeviskosität bei Dinkelmalz .....	42
Abbildung 3 WEAX und Viskosität in Gerstenmalzwürzen .....	43
Abbildung 4 beta-Glucan und Viskosität in Gerstenmalzwürzen .....	44
Abbildung 5 Extrakt und beta-Glucan in Gerstenmalzwürzen .....	44
Abbildung 6 Extrakt und WEAX in Gerstenmalzwürzen.....	45
Abbildung 7 WEAX bei der Keimung von Roggen .....	46
Abbildung 8 Zusammenhang zwischen Extrakt und WEAX bei Roggenmalz .....	47
Abbildung 9 Zusammenhang zwischen WEAX und Viskosität bei Roggenmalz.....	48
Abbildung 10 Zunahme von WEAX bei der Keimung von Weizen .....	49
Abbildung 11 Zusammenhang zwischen WEAX und Viskosität bei Weizenmalzwürzen .....	50
Abbildung 12 WEAX und Extrakt im Brauprozess (Beispiel Weißbier).....	51
Abbildung 14 Korrelation zwischen Extraktgehalt und WEAX bei deutschen Weißbieren.....	52
Abbildung 15 von Keimtemperatur und Weichgrad auf den Thiamingehalt von Dinkelmalz ( $R^2=0,774$ ) .....	55
Abbildung 16 Einfluss von Keimtemperatur und Keimzeit auf den Thiamingehalt von Gerstenmalz .....	56
Abbildung 17 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Thiamingehalt von Hafermalz ...	57
Abbildung 18 Einfluss von Keimdauer und Weichgrad auf den Thiamingehalt von Roggen ( $R^2=0,914$ ) .....	58
Abbildung 19 Einfluss von Keimtemperatur und Keimgutfeuchte auf den Thiamingehalt von Roggenmalzen ( $R^2=0,914$ ) .....	59
Abbildung 20 Einfluss von Keimdauer und Keimtemperatur auf den Riboflavingehalt von Dinkelmalz ( $R^2=0,672$ ) .....	61
Abbildung 21 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Riboflavingehalt von Gerstenmalz ( $R^2=0,730$ ) .....	62
Abbildung 22 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Riboflavingehalt von Hafermalz	63
Abbildung 23 Einfluss von Keimtemperatur und Weichgrad auf den Riboflavingehalt von Roggenmalzwürzen ( $R^2=0,904$ ).....	64
Abbildung 24 Einfluss von Weichgrad und Keimdauer auf den Riboflavingehalt von Roggenmalz ( $R^2=0,904$ ) .....	65
Abbildung 25 Einfluss von Keimdauer und Weichgrad auf den Riboflavingehalt von Weizenmalz .	66
Abbildung 26 Zusammenhang zwischen Cobalamin und Extrakt bei alkoholfreien Weißbieren ....	69
Abbildung 27 Einfluss von Wassergehalt und Temperatur auf den Isovitexingehalt von Buchweizenmalzen ( $R^2=0,919$ ).....	74
Abbildung 28 Einfluss von Wassergehalt und Temperatur auf den Homoorientingehalt von Buchweizenmalz ( $R^2=0,830$ ).....	75
Abbildung 29 Zunahme des Rutingehaltes bei der Vermälzung von Buchweizen .....	76
Abbildung 30 Einfluss von Temperatur und Keimzeit auf den Catechingehalt von Buchweizenmalz ( $R^2=0,975$ ) .....	77
Abbildung 31 Einfluss von Keimtemperatur und Keimzeit auf den Epicatechingehalt von Buchweizenmalzen ( $R^2=0,821$ ).....	78
Abbildung 32 Extrakt und Osmolalität ( $R^2 = 0,92$ ).....	81
Abbildung 33 Zusammenhang von Osmolalität und Extrakt in verschiedenen Weizenmalzwürzen einer Sorte und Provenienz .....	82
Abbildung 34 Entwicklung des Milchsäuregehaltes während der Gärung.....	84
Abbildung 35 Korrelation von Milchsäuregehalt und resultierendem pH-Wert ( $R^2=0,973$ ) .....	84
Abbildung 36 von Milchsäuregehalt und resultierendem Osmolalitätsanstieg ( $R^2=0,985$ ) [263] ....	85

---

Abbildung 37 Entwicklung der Würzearomastoffe bei der Milchsäurefermentation von Malzextrakt 1 .....	87
Abbildung 38 Würzearomastoffe bei der Milchsäurefermentation von Malzextrakt 2 .....	87
Abbildung 39 Alterungsindikatoren bei der forcierten Alterung von Sauergut .....	89
Abbildung 40 DMS und DMS-P bei der Würzekochung .....	90
Abbildung 41 DMS und DMS-P bei der Kochung angesäuerter Würze .....	91
Abbildung 42 DMS und DMS-P bei der Kochung von Sauergut .....	91
Abbildung 43 Mischungskreuz zur Berechnung der Anteile an destilliertem Wasser und Mischung bei bestimmter Menge Fertiggetränk .....	93
Abbildung 44 Geschmackliche Veränderungen bei einem malzbasierten Sauergutgetränk mit Pfirsichkonzentrat und Aroma [267] .....	96



---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Verwendete Milchsäurebakterien .....	30
Tabelle 2 Veränderung der Osmolalität durch Kochen von Polysacchariden .....	54
Tabelle 3 Cobalamingehalt von Hafermalzen.....	67
Tabelle 4 Rutingehalte verschiedener Buchweizensorten (n.v. = Probe nicht verfügbar).....	72
Tabelle 5 Einfluss verschiedener Maischverfahren auf die Kongresswürze .....	80
Tabelle 6 Einfluss von Mineralsalzen auf die Osmolalität [261].....	94
Tabelle 7 Geschmacksschwellenwerte von Fruktanen in verschiedenen Getränken (n.a. = nicht analysiert) [270].....	94

# 1 Einleitung und Problemstellung

Zu Beginn des dritten Jahrtausends unserer aktuellen Zeitrechnung sieht sich die Bevölkerung in den westlichen Industrienationen mit einer radikal geänderten Problematik in der Ernährung konfrontiert. Galt der Fokus über Jahrtausende der Sicherstellung der Versorgung mit Makronährstoffen wie Kohlehydraten, Eiweiß und Fetten, um die Aufrechterhaltung der Vitalfunktionen und das Überleben zu sichern, eine Problematik, die für Milliarden von Menschen in Entwicklungs- und Schwellenländern nach wie vor ein zentraler Punkt des Alltags ist, so haben sich in den heute so genannten Wohlstandsgesellschaften neue Problemfelder aufgetan. Der einfache und unproblematische Zugang zu einem im Übermaß verfügbaren Nährstoffangebot, gekoppelt mit einer hohen Verfügbarkeit so genannter raffinierter Lebensmittel, haben zum Entstehen einer Vielzahl von ernährungsbedingten Erkrankungen in diesen Ländern geführt. Kardiovaskuläre Erkrankungen haben sich zu der Haupttodesursache entwickelt und die nicht-insulinabhängige Diabetes Mellitus (Typ II) belastet die Volkswirtschaften durch jährliche Kosten in Milliardenhöhe.

Diese Entwicklung hat in den letzten Jahren zu einem gestiegenen Bewusstsein der Verbraucher für die Folgen fehlerhafter Ernährung und zu einer medial verstärkten, vermehrten Wahrnehmung des Problems in der Gesellschaft geführt. Lebensmittel- und Fleischskandale haben ihr Übriges dazu beigetragen, dass sich eine die sozialen Schichten übergreifende Konsumentengruppe ausgebildet hat, die auf natürliche Produkte ohne chemische Zusätze wie Konservierungsstoffe, Geschmacksverstärker, Antioxidantien oder Aromen, wahlweise aus ökologischem Anbau oder artgerechter Haltung Wert legt und bereit ist, solche Produkte aus dem oberen Preissegment zu kaufen.

Eine Möglichkeit, dem Trend zur Fehlernährung zu begegnen, besteht in der Herstellung von Lebensmitteln mit einem ernährungsphysiologischen Zusatznutzen, so genannten „Funktionellen Lebensmitteln“.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss des Mälzungsprozesses und einzelner Mälzungsparameter auf den Gehalt an bioaktiven Substanzen in Malz zu untersuchen und in einem zweiten Schritt Möglichkeiten aufzuzeigen, diese originär nutritiven Inhaltsstoffe

durch malzbasierte alternative Getränke dem Konsumenten verfügbar zu machen. Daneben besteht die Möglichkeit für Getränkebetriebe und insbesondere Brauereien, mit der Produktion alternativer alkoholfreier Getränke die Auslastung bestehender Anlagen zu verbessern und vorhandene Kapazitäten in optimierter Form zu nutzen.

Diese Arbeit zeigt das Potential des Mälzungsprozesses für die Anreicherung bioaktiver Inhaltsstoffe, insbesondere wasserlöslicher Arabinoxylane in Dinkel, Gerste, Triticale, Weizen und Roggen, biofunktioneller Polyphenole in Buchweizen, wasserlöslicher Vitamine in Dinkel, Gerste, Hafer, Weizen und Roggen. Des Weiteren wird das Verhalten dieser Inhaltsstoffe im Brauprozess, sowie Möglichkeiten alternativ fermentierte Getränke aus vermälzten Rohstoffen herzustellen, sensorisch zu bewerten und aufgrund analytischer Parameter Aussagen zu Alterungs- und Geschmacksstabilität zu erhalten diskutiert.

Da diese Arbeit als Dissertation mit integrierten Veröffentlichungen abgefasst ist, werden relevante Ergebnisse im Folgenden teilweise nur knapp dargestellt und übergreifend diskutiert. Für eine detaillierte und umfangreiche Darstellung der Literaturdiskussion, des Material- und Methoden-Teils sowie der Ergebnisse wird in diesen Fällen auf die folgenden angehängten Veröffentlichungen zur Dissertation verwiesen:

Publikationen in chronologischer Reihenfolge:

Krahl, M., J. Hörmann, A. Auer, W. Back, und S. Kreis, *Erwünschter Ballast: Inulin und Oligofruktose - lösliche Ballaststoffe als biofunktionelle Getränkesupplementstoffe*. Getränkeindustrie, **2008**(5): p. 10-13.

Krahl, M., S. Müller, W. Back, und S. Kreis, *Arabinoxylan (Pentosan) in der Malz- und Bierbereitung*. Brauwelt, **2008**. 148(10): p. 248-252.

Krahl, M., C. Hagel, M. Zarnkow, W. Back, und S. Kreis, *Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*)*. BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft), **2008**. 61(3): p. 170-174.

Krahl, M., W. Back, M. Zarnkow, und S. Kreis, *Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench)*. Journal of the Institute of Brewing, **2009**. 114(4): p. 294-299.

Zarnkow, M., B. Schulze, W. Back, E. Arendt, S. Kreis, M. Krahl, und M. Gastl, *The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Triticale (xTriticosecale Wittmack) as a Raw Material for Alternate Fermented Beverages*. BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft), **2009**. 62(2): p. 54-66

Krahl, M. und W. Back, *Der glykämische Index von Getränken*. Brauwelt, **2009**. 149(15-16): p. 431-435.

Krahl, M., S. Müller, M. Zarnkow, W. Back, und T. Becker, *Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process*. Quality Assurance and Safety of Crops and Food, **2009**. 1(4): p. 244-256

Krahl, M., M. Zarnkow, W. Back, und T. Becker, *Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat (Triticum aestivum L.), rye (Secale cereale) and spelt wheat (Triticum aestivum spp. spelta)*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, **2010**. 68(1): p. 34-40

Krahl, M., M. Zarnkow, F. Stürmer, und T. Becker, *Flavor stability of novel malt-based beverages*. MBAA TQ, **2009**. 46(4)

Krahl, M., S. Dold, und T. Becker, *Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung*. Der Weihenstephaner, **2009**. 77(4): p. 128-133.

Weitere Publikationen aus dem Bereich dieser Arbeit in chronologischer Reihenfolge:

Krahl, M., W. Back, und S. Kreis. *Fructan and Arabinoxylan in Malting and Brewing of Wheat and Rye*. in *31st EBC Congress*. 2007. Venice: Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.

Krahl, M., G. Egle, M. Zarnkow, W. Back, und S. Kreis, *Isotonie bei Getränken*. Getränkeindustrie, **2007**(11): p. 30-33.

Krahl, M., G. Egle, T. Assenheimer, und W. Back. *Novel malt-based beverages*. in *IBD Africa Section Convention*. 2009. South Africa.

Krahl, M., G. Egle, und W. Back, *Bezalkoholowe, izotoniczne napoje produkowane na bazie slodu*. Agro Przemysl, **2009**(1): p. 46-51.

Krahl, M., *Auf ein Wort - Der glykämische Index von Bier, ein großes Mißverständnis?* Brauindustrie, **2009**. 94(12): p. 25

Krahl, M., M. Zarnkow, und T. Becker, *Der glykämische Index von Getränken*. Getränkeindustrie, **2009**: 63(12): p. 30-33

Krahl, M. und W. Back, *The glycaemic index of beverages*. Brauwelt International, **2010/I**. p. 35-39

Krahl, M., S. Müller, und W. Back, *Arabinoxylans (Pentosan) in malt and beer preparation*. Brauwelt International, **2010**. in Press.

## 2 Theoretische Grundlagen

Eine der ersten Arbeiten, die sich auf universitärer Ebene mit gesundheitlichen Auswirkungen malzbasierter Getränke befasste, wurde im Jahre 1689 in der thüringischen Stadt Erfurt an der dortigen kurfürstlichen Universität angefertigt. Sie beschäftigte sich mit der Wirkung des Erfurter Bieres auf die Gesundheit seiner Konsumenten [1]. In dieser Schrift führt der Verfasser Christian Helbigk unter anderem folgende Punkte an:

*„...Wenn es aber vorschriftsgemäß zubereitet ist, richtig von Gärstoffen befreit, warm und von dunkler Farbe, dann wird es wahrheitsgemäß ein Stellvertreter des Weines genannt; es wärmt nämlich in gleicher Weise und ist sehr nahrhaft, es heilt mittels Hopfen und Gerste Verstopfung [obstructionibus] der Milz und der Leber und eingebildetes Nierenleiden [renum malo hypochondriaco]...Außerdem ist es stillenden Frauen für einen reicheren Milchfluß äußerst zuträglich, wenn es regelmäßig in Suppen eingenommen wird ... kann also unser Erfurter Bier sowohl Blähungen erzeugen als auch dieselben vertreiben, ja sogar vollends wie ein Medikament alle möglichen Verstopfungen [obstructiones] im Körper auflösen ...“*

(Übersetzung aus dem Lateinischen, Prof. Dr. Gerlinde Huber-Rebenich, Lateinische Philologie des Mittelalters und der Neuzeit, Institut für Altertumswissenschaften, Friedrich-Schiller-Universität Jena).

Bereits in den oben zitierten Zeilen lassen sich Ursprünge für bis heute gültige Aussagen zu malzbasierten Getränken finden. Das Attribut nahrhaft wird auch heute noch für Getränke der Gattung Malztrunk ausgelobt. Da damalige Biere generell niedrigere Vergärungsgrade als heutige aufwiesen, insbesondere aufgrund schlechterer Maisarbeit, sind, was den Kohlenhydrat und Eiweißgehalt angeht, Parallelen zu sehen. Auch die Eignung alkoholfreier und alkoholarmer Biere für Schwangere und Stillende - die ehemalige Biergattung des Nährbieres sei hier als Beispiel erwähnt - scheint schon bekannt gewesen zu sein, da Bier als Suppenbestandteil seinen Alkohol verliert, oder der Alkoholgehalt zumindest weitgehend abgesenkt wird.

Im Folgenden werden die für diese Arbeit relevanten Themengebiete behandelt. Teilgebiete, die in den angehängten Publikationen ausführlich diskutiert sind, werden dabei

nur überblicksartig dargestellt. Für die ausführliche Literatordiskussion sei hier auf die jeweiligen Veröffentlichungen verwiesen.

## **2.1 Funktionelle Inhaltsstoffe**

Der in Louvain-la-Neuve tätige Wissenschaftler Marcel B. Roberfroid definierte 2002 funktionelle Substanzen wie folgt [2]:

*„... Eine Substanz kann als funktionell angesehen werden, wenn ausreichend bewiesen ist, dass sie eine positive Wirkung auf eine oder mehrere Funktionen des menschlichen Körpers jenseits der reinen Ernährungsfunktion zeigt ...“*

Neben verschiedenen wissenschaftlichen Definitionen funktioneller Inhaltsstoffe hat die Thematik in den letzten Jahren auch vermehrt die Judikative der Europäischen Union (EU) und anderer Staaten wie der Vereinigten Staaten von Amerika (USA) oder Japans beschäftigt, mit dem Ziel, klare Regularien für die Auslobung so genannter „Health-Claims“ zu schaffen. Nur nach vorheriger Genehmigung und ausreichend klinischen Tests ist eine gesundheitsbezogene Werbung auf Lebensmitteln statthaft.

Diese gesetzliche Grundlage baut auf einer durch eine Kommission von Wissenschaftlern unter Mitarbeit von Industrie und staatlichen und privaten Forschungsstellen erarbeiteten Grundlage auf. Unter anderem waren hier die Professoren Aggett, Daniel, Delzenne, Maughan, Pool-Zobel, Rechkemmer und Roberfroid beteiligt [3-4].

In dieser Arbeit werden Begriffe wie „funktionell“, „bioaktiv“, „originär nutritiv“ oder „biofunktionell“ verwendet, unbeachtet der Frage, ob für die betrachtete Stoffgruppe aktuell eine gesundheitsbezogene Werbung erlaubt ist oder nicht. Auch war es nicht Ziel dieser Arbeit, Studien über die Bioverfügbarkeit der betrachteten Stoffgruppen durchzuführen oder ihre Wirkung in klinischen Untersuchungen zu verifizieren.

## 2.2 Lösliche Ballaststoffe

Der Begriff Ballaststoffe beschreibt eine heterogene Gruppe an Nahrungsinhaltsstoffen, die sich durch die gemeinsame Eigenschaft auszeichnen, dass sie nicht durch menschliche Verdauungsenzyme angegriffen und abgebaut werden können. War der Begriff des Ballaststoffes in seiner ursprünglichen Form für Stoffe pflanzlicher Herkunft reserviert [5], so wurde diese Definition immer wieder erweitert und umfasst heute auch Bestandteile tierischen Ursprungs. Die erste Analyse, die nach damaligem Kenntnisstand „belastende“, unverdauliche Kohlenhydrate untersuchte, war die Analyse der Rohfaser [6]. Zu dieser Bestimmung wurde eine Probe mit Trichloressigsäure gekocht und der Hydrolyserückstand zurückgewogen. Die Analytik der Gesamtballaststoffe wurde in der Folge um einen Teil löslicher Ballaststoffe, die in 95 %-igem Ethanol ausfällbar sind, erweitert. Weitere heute mitgezählte Anteile des Ballaststoffgehaltes sind darüber hinaus noch resistente Stärke [7] und die ethanollöslichen Fructane [8].

Eine mögliche Definition von Ballaststoffen, wie sie in der Codex Alimentarius Commission verabschiedet wurde, lautet wie folgt [9]:

*„...Ballaststoffe bestehen wahlweise aus:*

- *Essbarem, natürlich in verzehrbereiten Nahrungsmitteln vorkommendem, unverdaulichem Material, bestehend aus Kohlenhydratpolymeren mit einem Polymerisierungsgrad (PG) von über 3, oder aus*
- *Kohlenhydratpolymeren ( $PG \geq 3$ ) welche aus Nahrungsmittelrohstoffen durch physikalische, enzymatische oder chemische Methoden gewonnen werden, oder aus*
- *Synthetisch gewonnenen Kohlenhydratpolymeren ( $PG \geq 3$ ). ...“*

Während unlösliche Ballaststoffe sich vornehmlich durch eine Erhöhung des Stuhlvolumens und eine verkürzte Darmtransitzeit auszeichnen [10], besteht die Bedeutung löslicher Ballaststofffraktionen in ihrer Fermentierbarkeit durch im Darm angesiedelte Bakterien [11-13]. Dieser prebiotische Effekt, der unter anderem die drei löslichen Getreideballaststoffe Arabinoxylan,  $\beta$ -D-Glucan und Fructan vereint, resultiert in einer Zunahme probiotischer Bakterien wie Lactobacilli und Bifidobacteria im Lumen des



Dickdarms [14-17]. Die Metaboliten dieses Kohlenhydratabbaus sind unter anderem die kurzkettigen Fettsäuren Butyrat (Buttersäure), Laktat (Milchsäure) und Propionat (Propionsäure), welche vom Wirt aufgenommen und weiterverstoffwechselt werden können [18]. Insbesondere Butyrat zeigt eine positive, anticancerogene Wirkung auf die Epithelzellen der Darmwand [19-24]. Eine weitere positive Wirkung von prebiotischen Kohlenhydraten ist das Absenken des intestinalen pH-Wertes, wodurch zum einen das Wachstum von pathogenen oder potentiell pathogenen Keimen gehemmt wird [18] und zum anderen die Mineralstoffresorption aus der Nahrung verbessert wird [2, 8, 25]. Sehr hohe Aufnahmen von über 14 g am Tag an fermentierbaren löslichen Ballaststoffen wirkten sich jedoch in klinischen Studien negativ, in Form von Flatulenz, aus [26]. Eine Aufnahme von 4 g pro Tag wird empfohlen [27] und durch die Food and Drug Administration (FDA) der USA wird eine gesundheitlich positive Wirkung ab einer Aufnahme von 3 g löslichen, bakteriell metabolisierbaren Ballaststoffen bestätigt [28]. Die FDA gestattet eine gesundheitsbezogene Auslobung dahingehend, dass die Aufnahme dieser Stoffe den LDL-Cholesterinspiegel im Blut senkt und somit vor koronaren Herzerkrankungen schützt [29-32].

### **2.2.1 Arabinoxylan [33]**

Arabinoxylane sind ein Teil der natürlich in Pflanzen vorkommenden Ballaststoffe und werden in lösliche, unlösliche und Gesamtarabinoxylane differenziert. Die Struktur basiert auf einem  $\beta$ -(1-4)-D-Xylopyranose-Rückgrat, welches in O-2 und/oder O-3 Position mit  $\alpha$ -L-Arabinofuranose substituiert sein kann [34]. Die in pflanzliche Zellwandstrukturen eingebauten Arabinoxylane sind teilweise durch Diferulasäurebindungen und andere Kondensationsprodukte der Ferulasäure [35] untereinander quervernetzt, wodurch ihre Löslichkeit erschwert wird. Arabinoxylanfraktionen mit einem hohen Ferulasäureanteil können unter oxidativen Bedingungen feste Gelnetze bilden [36]. Die Löslichkeit von Arabinoxylanen hängt insbesondere von der Kettenlänge des Polyxylaserückgrates und dem Arabinosesubstitutionsgrad ab. Kürzere Kettenlängen und eine höhere Anzahl an Substituenten verbessern die Löslichkeit [34]. Der wasserlösliche Teil der Arabinoxylane

kann bei Verwendung von ungemälztem Weizen zu Problemen im Brauprozess führen, so können Läuterarbeit und Filtration erschwert werden [37-38]. Auch das Phänomen einer vorzeitigen Hefeflokkulation wird zum Teil auf wasserlösliche Arabinoxylane zurückgeführt [39]. Insbesondere bei Verwendung unvermälzter Weizenanteile wurden erhöhte Würzeviskositäten festgestellt [40]. Andere Autoren hingegen messen den Arabinoxylanen keinen Einfluss auf den Prozess der Bierbereitung zu [41].

### **2.2.2 Fructan [42]**

Fructane sind  $\beta$ -D-verknüpfte Polymere der Fructose, die in ungefähr 15 Prozent aller höheren Pflanzen vorkommen [43] und dort als eine Alternative zu dem weiter verbreiteten Reservekohlenhydrat Stärke dienen. Als Substrat bei der Fructanbiosynthese in Pflanzen dient Saccharose (2- $\beta$ -D-Fructofuranosyl- 1- $\alpha$ -D-Glucopyranosid). Chemisch gesehen sind Pflanzenfructane lineare Polysaccharide, die vorwiegend, wenn nicht sogar ausschließlich aus  $\beta$ -(2-1)-Fructosyl-fructose Bindungen bestehen. Eine endständige  $\alpha$ -D-Glucoseeinheit ist meistens vorhanden, jedoch nicht notwendig [8]. Allgemein weisen Pflanzenfructane einen PG von unter 50 auf, dieser kann jedoch in Einzelfällen über 200 betragen [44]. Von der Nomenklatur werden Fructane in Inulin und Oligofructose unterschieden. Langkettige Moleküle mit einem PG von über 30 werden als Inulin bezeichnet, bei einem PG von unter 10 spricht man von Oligofructose [45]. Ihre interessanten ernährungsphysiologischen Eigenschaften erhalten diese Kohlenhydrate aufgrund ihrer Fähigkeit, den menschlichen Verdauungsenzymen zu widerstehen und den Darmtrakt intakt zu erreichen [46].

### **2.2.3 $\beta$ -Glucan**

Das aus  $\beta$ -(1-3)-(1-4)-D-Glucopyranosyleinheiten aufgebaute  $\beta$ -Glucan ist der Hauptbestandteil der Endospermzellwände von Gerste [47-49] und Hafer [50]. Übliche Gewichtsanteile im Korn liegen zwischen 3 und 7 Prozent der Trockenmasse [50] und werden stark durch die Aufwuchsbedingungen und die Sorte bestimmt [47]. Während des

Mälzungsprozesses wird das in den Zellwänden vorliegende hochmolekulare  $\beta$ -Glucan enzymatisch abgebaut [51-52], wodurch die Korninhaltsstoffe leichter zugänglich werden und vor allem die Viskosität der resultierenden Würzen sinkt [53]. So korrelieren lediglich die  $\beta$ -Glucangehalte in Malz und Bier und nicht die der ungemälzten Gerste mit dem fertigen Bier [47]. Im Bereich der Bierbrauerei führen hohe  $\beta$ -Glucangehalte in Würze und Bier zu unerwünschten Erscheinungen wie Läuter- und Filtrationsproblemen aufgrund erhöhter Viskosität [38, 47-48, 54-57]. Diese Probleme werden durch Scherkräfte und hohe Alkoholgehalte noch verschärft [54]. Entgegen existierenden Meinungen konnte bisher kein positiver Einfluss auf den Bierschaum durch  $\beta$ -Glucan nachgewiesen werden [58]. Im Bereich der Backwarenherstellung hingegen kann der Zusatz von  $\beta$ -Glucan die Backqualität schlechter Mehle verbessern [59]. Die ernährungsphysiologische Bedeutung von  $\beta$ -Glucan als zumeist löslichem Ballaststoff beruht auf der Tatsache, dass es sich um ein prebiotisches Polysaccharid handelt [60]. Hierauf gründen sich die resultierenden Effekte wie reduzierte Gesamt- und LDL-Cholesterinwerte im Blut [30-32, 61-64], sowie eine langsamere Resorption der mit der Nahrung aufgenommenen Glucose, und daraus wiederum resultierend niedrigere postprandiale Glucosekonzentrationen [30, 65-66]. Aufgrund dieser positiven Effekte, die  $\beta$ -Glucan als Bestandteil der Humanernährung aufweist, wird eine gesundheitsbezogene Werbung mit erhöhten  $\beta$ -Glucangehalten von Ernährungsorganisationen befürwortet [30] und so genannte „Health Claims“ sind in einigen Ländern wie den USA, den Niederlanden und Schweden bereits zugelassen [61].

Neben dem Vorkommen in Getreide haben in diesem Fall  $\beta$ -(1-3)-(1-6)-D-Glucane eine weitere wichtige Bedeutung als Zellwandkomponenten von Mikroorganismen wie Hefen und als Exopolysaccharide verschiedener schleimbildender Bakterien [67-74].

## **2.3 Vitamine**

Unter der Stoffgruppe der Vitamine werden Verbindungen zusammengefasst, die vom Organismus im Stoffwechsel nicht oder nur in unzureichendem Ausmaß gebildet werden und um eine ausreichende Versorgung sicherzustellen, durch die Nahrung zugeführt werden müssen. Die Zufuhr kann hierbei entweder als komplettes Vitamin oder als

Provitamin erfolgen, welches zu dem jeweiligen korrespondierenden Vitamin metabolisiert werden kann. Ernährungsphysiologisch dienen Vitamine weder als Energielieferanten, noch als Gerüstbestandteile, sondern sind als Coenzyme oder prosthetische Gruppen an katalytischen Prozessen beteiligt [75]. In der Ernährungswissenschaft werden 13 Substanzen und Gruppen von Substanzen der Stoffgruppe der Vitamine zugeordnet. Hiervon sind vier fettlöslich, Retinol (Vitamin A), die Calciferole (Vitamin D), die Tocopherole (Vitamin E), Phylochinon (Vitamin K<sub>1</sub>) und Menachinon (Vitamin K<sub>2</sub>). Die zweite Gruppe, die der wasserlöslichen Vitamine, setzt sich aus Ascorbinsäure (Vitamin C), den Vitaminen der B-Gruppe, Thiamin (B<sub>1</sub>), Riboflavin (B<sub>2</sub>), Niacin (B<sub>3</sub>), Pyridoxin (B<sub>6</sub>), den Fولاتen (B<sub>9</sub>) und Cobalamin (B<sub>12</sub>) sowie Biotin und der Pantothersäure zusammen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die wasserlöslichen Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und B<sub>12</sub> untersucht.

### **2.3.1 Thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>)**

Vitamin B<sub>1</sub>, auch Thiamin genannt, enthält eine Pyrimidin- und eine Thiazolkomponente, die über eine Methylenbrücke miteinander verbunden sind. Auf Grund des quaternären Stickstoffatoms ist Thiamin eine starke Base [76]. Die Struktur von Vitamin B<sub>1</sub>, so wie sie heute geläufig ist, ist der Wissenschaft schon seit ca. 1895 bekannt [77]. Es gehört zu den wasserlöslichen Vitaminen und ist, wie alle Vitamine der B – Gruppe [78], ein wichtiges Coenzym im Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsel. Dabei spielt es keine Rolle, ob das Vitamin in freier oder phosphorylierter Form vorliegt, da Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsvorgänge in allen Zellen ablaufen. Thiamin ist sowohl für die Energiegewinnung aus Kohlenhydraten als auch für die Energiespeicherung wichtig, da seine Hauptfunktion beim letzten Schritt des Abbaus der Kohlenhydrate beziehungsweise beim Umbau in die Energiespeicherform Fett zum Tragen kommt. Vitamin B<sub>1</sub> ist bei neutralen und alkalischen Reaktionen thermolabil, insofern als es bei thermischen Belastungen zu Verlusten von Thiamin kommt. Ein weiterer Wirkungsverlust beziehungsweise eine weitere Inaktivierung tritt ein, wenn schweflige Säure oder Sulfite im kalten Medium den Pyrimidinrest abspalten. Da bei Getreide das meiste Thiamin in den Randschichten des Kerns und in der Hülle des Keimlings liegt, enthalten helle Auszugsmehle kaum noch Vitamin B<sub>1</sub>, weil diese Komponenten dort nicht mehr vorhanden

sind. Außer in Getreide ist Thiamin hauptsächlich in Gemüse und Obst sowie teilweise auch in Fleisch vorhanden [75].

Die Biosynthese von Vitamin B<sub>1</sub> ist erst seit kurzem bekannt [79] und basiert auf drei getrennten Schritten.

Der erste Schritt ist die Pyrimidinbiosynthese:

Die Pyrimidinbiosynthese von Thiamin in Eukaryonten (wie beispielsweise Pflanzen) ist komplett unterschiedlich zu der Synthese in Prokaryonten (wie beispielsweise *E. coli*). Der Syntheseweg von Pyrimidin in Prokaryonten, deren Kennzeichen das Fehlen eines Zellkerns ist, ist bereits bekannt. Bei Eukaryonten konnte er bisher noch nicht nachvollzogen werden [80], wobei ein Ergebnis der Forschung in der Erkenntnis besteht, dass der hier gebildete Pyrimidinteil des Thiaminmoleküls aus L – Histidin und Vitamin B<sub>6</sub> (Pyridoxin) abgeleitet wird [79].

Des Weiteren wird die Bildung von Thiazol benötigt:

Pflanzen nutzen denselben Weg für die Thiazolbiosynthese wie Enterobakterien. In Untersuchungen zu Enterobakterien wurde festgestellt, dass der Thiazolrest des Thiamins aus Tyrosin [81], Cystein [82], und Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat [83] abgeleitet ist. Die Thiazolbiosynthese ist sehr komplex und benötigt mindestens sechs Genprodukte [84].

In einem abschließenden Schritt werden die beiden Untereinheiten Pyrimidin und Thiazol durch das Enzym Thiamin – Phosphat –Synthase (TPS) zu Vitamin B<sub>1</sub> verbunden [85]. Das Enzym Thiamin – Phosphat –Synthase katalysiert hier die Verbindung zu TPP, indem es die beiden Untereinheiten Pyrimidin und Thiazol über eine Methylenbrücke miteinander verbindet [85]. Auch Thiamin kann sowohl als Phosphat, als auch als Pyrophosphat vorliegen. Alle Organismen, die in der Lage sind, Thiamin zu synthetisieren, besitzen verschiedene Formen dieses Verbindungszyms. In einem abschließenden Schritt erfolgt dann auch die Phosphorylierung zu Thiaminpyrophosphat (TPP) [79], die aktive Form von Vitamin B<sub>1</sub>.

In der westlichen Ernährung besteht das Risiko, dass neben übermäßiger Versorgung mit freien Zuckern zu geringe Thiaminmengen aufgenommen werden. Dies erhöht das Risiko an Darm- und anderen Krebsarten zu erkranken [86].

Die empfohlene Tagesdosis für einen gesunden erwachsenen Menschen liegt bei 1,3 mg.

### 2.3.2 Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>)

Riboflavin wurde 1879 als Substanzgemisch in Milch entdeckt und deswegen zuerst auch als Lactochrom und dann Lactoflavin bezeichnet [87]. 1933 gelangen dann erste Isolierungen aus Eiweiß [88] und Molke [89] und es wurde 1935 erstmals in seiner Struktur identifiziert [90]. B<sub>2</sub> ist in neutralem und saurem Milieu stabil und hitzebeständig, nicht jedoch in alkalischem. Die empfohlene Tagesdosis beträgt für einen erwachsenen Menschen 1,7 mg [75], wobei ein nicht unbedeutender Anteil des aufgenommenen Riboflavins durch den Urin wieder ausgeschieden werden kann [91]. Riboflavin ist aus einem Isoalloxanring aufgebaut, der am N<sub>10</sub> Atom mit einem Ribitolrest substituiert ist [92]. In Getreide ist Riboflavin vor allem im Keimling und in der Aleuronschicht lokalisiert, das Endosperm weist nur einen geringen Gehalt auf [93].

Der quantitative Anstieg des Riboflavingehaltes bei verschiedenen Getreidearten während des Keimens wurde des Öfteren festgestellt [94-98].

Seine Bedeutung im Stoffwechsel von Mensch, Tieren und Pflanzen hat Riboflavin als enzymgebundenes Coenzym von über 60 verschiedenen Oxidoreduktasen. Hier wirkt der Isoalloxanring als reversibles Redoxsystem bei der Übertragung von Wasserstoff [99-101]. Weitere Bedeutung hat B<sub>2</sub> als Cofactor für den Phototropismus von Hafer [102-104], bei der Biolumineszenz von Bakterien [105-106] und bei der DNA Photoreparatur [107].

### 2.3.3 Cobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>)

Vitamin B<sub>12</sub>, auch Cobalamin genannt, ist insofern ein bemerkenswertes Vitamin, als es nur von Prokaryoten oder auf chemischem Wege [108-110] synthetisiert werden kann. Dies kann sowohl aerob als auch anaerob geschehen [111-112] und erfordert über 30 Gene [113]. Tiere und Menschen benötigen Vitamin B<sub>12</sub> und sind nicht in der Lage, es zu bilden, wohingegen Pflanzen es weder benötigen noch bilden können [114]. Vorkommen von Vitamin B<sub>12</sub> in Pflanzen scheinen somit auf mikrobielle Verunreinigungen und Kontaminationen hinzuweisen und nicht aus den Pflanzen selbst zu stammen [115-116].

Der Tagesbedarf bei gesunden Menschen beträgt 1 – 3 µg und wird für zwei essentielle Enzyme benötigt, die Methioninsynthase [117-119] und die R-methylmalonyl-CoA-Mutase [120-121]. In Bakterien existieren darüber hinaus zwei weitere B<sub>12</sub>-abhängige Reaktionen, die bisher bekannt sind [122-123]. Die ersten Erwähnungen von B<sub>12</sub> resultieren aus den 20er Jahren des letzten Jahrhunderts, als die beiden amerikanischen Mediziner Minot und Murphy die Heilung perniziöser Anämie über die Verabreichung von frischer Leber zeigten. Diese Entdeckung führte in der Folge zu der Verleihung von Nobelpreisen, 1934 an Minot und Murphy und 1964 an Hodgkin für die Strukturaufklärung [120, 124-127]. Die Bezeichnung Vitamin B<sub>12</sub> wurde 1948 eingeführt und das Vitamin zusätzlich, neben dem Nachweis in Leber auch in Rindfleischextrakt, Milchpulver und Bakterienkulturen nachgewiesen [128-129].

Ernährungsphysiologisch resultiert ein Mangel an B<sub>12</sub>, ähnlich wie B<sub>6</sub>- oder Folsäuremangel in erhöhten Homocysteinleveln und somit einem erhöhten Risiko von Schlaganfällen, kardiovaskulären Erkrankungen und Gefäßproblemen. Besonders ältere Bevölkerungsgruppen sind hier gefährdet [130]. Diese Probleme sind üblicherweise auf eine ungenügende Resorption aus der Nahrung zurückzuführen [131-132]. Zusatz von Cobalamin zu Nahrungsmitteln führt zu deutlich reduzierten Homocysteinleveln [133]. Neben den direkten Auswirkungen eines B<sub>12</sub>- Mangels gibt es Anzeichen, dass auch weitere Erkrankungen wie Muskelschwäche, Alzheimerkrankheit oder Demenz daraus resultieren können [134-135].

Außer aus der unmittelbaren Nahrung kann Vitamin B<sub>12</sub> auch durch probiotische und andere Mikroorganismen im Verdauungstrakt gebildet werden. Während jedoch die hieraus resorbierbare Menge beim Menschen nicht bedarfsdeckend ist, können Rinder aus dieser Quelle ihren Tagesbedarf decken.

## **2.4 Buchweizen**

Buchweizen ist ein Pseudogetreide aus der Familie der Knöterichgewächse (*Polygonaceae*). Es gibt zwei Arten dieser Pflanze, die als Nahrungsmittel Einsatz finden. Der gewöhnliche oder süße Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* MOENCH) wächst auf

stickstoffarmen Böden. Er reift in einer Vegetationszeit von etwa 90 – 110 Tagen in frostfreien Perioden in den asiatischen Höhenlagen bis zu 2500 m über Normal Null [136-137]. Bei Temperaturen unter + 2 °C kann es bereits zu Kälteschäden kommen. Die Vegetationszeit kann sich bei kühleren Temperaturen unter der Voraussetzung von anhaltendem Wasser- und Stickstoffangebot auf bis zu 120 Tage verlängern [138]. Die Körner sind grau bis dunkelgrau und haben im Vergleich zum Tataren-Buchweizen einen relativ geringen Phenolgehalt.

Der frostunempfindlichere Verwandte, der Tatarenbuchweizen (*Fagopyrum tataricum*), kann in höheren Lagen reifen [136]. Anfang des 18. Jahrhunderts wurde er in Europa zum ersten Mal beschrieben. Der Tatarenbuchweizen wird zur Futterherstellung, als Buchweizenmehl, in Mischung mit Weizen sowie für die Gewinnung des Polyphenols Rutin genutzt [137]. Die Körner sind bräunlich-schwarz und etwas kleiner als die Körner des *F. esculentum*. Die Blüten sind hellgrün. Durch den höheren Tanningehalt im Tatarenbuchweizen schmeckt dieser bitterer [139] und wird daher, zum Beispiel in Japan, oft abgelehnt [140].

Eine weitere Art, der wilde oder ausdauernde Buchweizen (*Fagopyrum cymosum*) ist im Gegensatz zu den beiden anderen Arten eine perennierende (mehrjährige) Art und wird in der Literatur nicht als Lebensmittel deklariert. Diese Buchweizenart ist im Himalaja beheimatet und trägt längliche, ovale Körner, die etwas größer als die der beiden einjährigen Pflanzen sind [140-141].

Ursprünglich in Zentralasien beheimatet, wird der Buchweizen heute auch in Japan, Rußland, Mitteleuropa und in Kanada angebaut. In Osteuropa wurde er bereits um die erste Jahrtausendwende angebaut, im Westen ist der erste Anbau im Mittelalter bekannt. In Deutschland war der Buchweizen seit dem 14. Jahrhundert als Nutzpflanze sehr verbreitet. Seit dem 19. Jahrhundert ist der Anbau im Gegensatz zu den Nachbarländern deutlich zurückgegangen, da in Deutschland die Kartoffel und die Getreidearten als Stärkelieferanten immer mehr in den Vordergrund gerückt sind. In Europa und Nordamerika werden aus Buchweizen meistens Pfannkuchen, Kekse oder Nudeln hergestellt. Die Franzosen verarbeiten Buchweizenmehl zu Crêpes, in Südtirol wird Buchweizen für Knödel und in Slowenien zum Brotbacken (mit 70 % Weizenmehl) verwendet, um nur einen kleinen Auszug zu nennen [142]. Heute sind die größten



Anbauländer China, Rußland, Ukraine, Polen, USA, Brasilien und Frankreich. Größter Importeur für Buchweizen ist Japan, hier werden aus Buchweizen größtenteils Nudeln hergestellt, aber auch Buchweizenbier wird in Japan genossen [142-144].

Der lateinische Name „*Fagopyrum*“, *Fago* (die Buche) und *pyrum* (Korn, Weizen), bedeutet übersetzt das Korn der Buche, Buchweizen oder Buchenkorn. Die Benennung wird abgeleitet von der dreikantigen Form der grau bis braunen, 5 – 6 mm langen und 3 bis 4 mm breiten Früchte, die der Buchecker ähneln [145]. Der zweite Teil des Namens „Weizen“ ist auf die Ähnlichkeit mit dem Mehlkörper des Weizens zurückzuführen [142, 144]. Botanisch gesehen sind die Körner Nüsse (Archänen). Ähnlich den Getreidekörnern ist der Keimling im Endosperm eingebettet, welches von einer eiweißreichen Aleuronschicht umgeben ist. Die polyedrischen Stärkekörner des Hornendosperms und die rundlichen Stärkekörner des Mehlendosperms bilden den Hauptinhaltsstoff der Endospermzellen [146]. Die kräftige, verholzte, dunkelbraune Fruchtschale ist nicht mit der Samenschale verbunden und kann daher leicht abgeschält werden. Durch den Schälvorgang wird trotzdem auch ein Teil des Samens entfernt, sodass eine Ausbeute von ca. 70 % und mehr erreicht werden kann. Beim Tataren-Buchweizen nimmt die Schale 30 – 35 % des Samens ein [137-138, 144, 147]. Der Embryo besteht aus breiten, mehrfach zusammengefalteten Keimblättern [142].

#### **2.4.1 Buchweizenflavonoide [148]**

Ernährungsphysiologisch gesehen zeichnet sich Buchweizen als Pseudogetreide dadurch aus, dass er glutenfrei ist und somit auch für Menschen, die an der genetisch bedingten Darmerkrankung Zöliakie leiden, als Nahrung geeignet ist, aber vor allem auch durch seinen hohen Gehalt an Polyphenolen und hier insbesondere an Flavonoiden. Die sechs Hauptflavonoide des Buchweizens sind Rutin, Quercetin, Orientin, Homoorientin, Vitexin und Isovitexin [149]. Der hohe Gehalt an Flavonoiden in Buchweizen bewirkt, dass das antioxidative Potential des Buchweizens höher ist als das der meisten Getreide- und Pseudogetreidearten [150-151]. Das heute am besten untersuchte Flavonoid in Buchweizen ist Rutin. Buchweizen kann daher in der Ernährung als eine hervorragende

Rutinquelle angesehen werden [152-153]. Rutin und die weiteren Flavonoide weisen eine Vielzahl von gesundheitsfördernden Eigenschaften auf, darunter Entzündungshemmung, Schutz vor DNA-Schädigungen, krebsvorbeugende Wirkung, Schutz vor koronaren Herzerkrankungen und Verbesserung der Blutcholesterinwerte [153-171]

### **2.4.2 Buchweizenflavan-3-ole**

Neben den Flavonoiden bilden die Flavan-3-ole eine weitere Gruppe der Buchweizenpolyphenole. Die Hauptvertreter dieser Stoffgruppe sind Catechin, Epicatechin und ihre Polymere, sowie die Procyanidine [172]. Die Stoffgruppe der Catechine, insbesondere als funktioneller Bestandteil von grünem Tee bekannt, weist unter anderem antioxidative, krebsvorbeugende, arteriosklerosevorbeugende und zellschützende Eigenschaften auf [173-175].

## **2.5 Osmolalität**

Die Osmolalität gibt die molare Menge der gelösten, osmotisch wirksamen Teilchen in einem Kilogramm Lösungsmittel an (osmol/kg bzw. mosmol/kg). Sie ist unabhängig von deren Größe und Molekulargewicht und betrachtet nur die Anzahl. Die Teilchendichte wird auch als osmotischer Druck bezeichnet.

Solche osmotisch wirksamen Teilchen können sein:

- Elektrolyte
- Kohlenhydrate
- Proteine
- Puffersysteme

Dabei ist zu beachten, dass bei dissoziierten Substanzen (wie beispielsweise Salze) alle einzelnen Ionen, aus denen der Stoff zusammengesetzt ist, in die Osmolalitätsberechnung miteinbezogen werden.

Blut besitzt eine Osmolalität von etwa 290 mosmol/kg.

Spricht man von Isotonie, so ist damit die Gleichheit zweier Lösungen hinsichtlich ihres osmotischen Drucks gemeint. Im Falle von Getränken bedeutet dies, dass deren Osmolalität der von Blut entspricht. Dabei gibt es jedoch eine gewisse Spannbreite, in der eine Flüssigkeit noch als isoton gilt. Getränke mit einer niedrigeren Teilchendichte werden als hypoton oder auch hypotonisch bezeichnet, solche mit einer höheren Teilchendichte heißen hyperton oder hypertotonisch.

Die Gefrierpunktserniedrigung hängt in verdünnten Lösungen nur mit der Anzahl der Teilchen des gelösten Stoffes, nicht mit ihrer Art oder Größe zusammen. Man spricht von einer kolligativen Eigenschaft (von lat. colligatio, Zusammenfassung).

Die kolligativen Eigenschaften haben eine gemeinsame Ursache, nämlich die Herabsetzung des chemischen Potentials des flüssigen Lösungsmittels durch die Anwesenheit des gelösten Stoffes. Das chemische Potential nimmt von  $\mu_A^*(l)$  auf  $\mu_A^*(l) + RT \ln x_A$  ab ( $\ln x_A$  ist wegen  $x_A < 1$  negativ). Dies bewirkt eine Verschiebung der Lage des Gleichgewichts zwischen Fluid- und Dampfphase (bzw. Fest- und Fluidphase) zu höheren (respektive niedrigeren) Temperaturen. Die Siedetemperatur nimmt zu, der Gefrierpunkt wird herabgesetzt, somit vergrößert sich auch der Temperaturbereich der Fluidphase[176].

Im heterogenen Gleichgewicht zwischen dem reinen, festen Lösungsmittel und der Lösung, die einen Anteil  $x_B$  eines gelösten Stoffes enthält, gilt für die chemischen Potentiale beider Phasen:

$$\mu_A^*(s) = \mu_A^*(l) + RT \ln x_A$$

Hieraus ergibt sich:

$$\Delta T = (RT^2 / \Delta_{Sm}H) x_B$$

Mit:  $\Delta T$  = Gefrierpunktserniedrigung

$\Delta_{Sm}H$  = Schmelzenthalpie des Lösungsmittels

Bei verdünnten Lösungen ist der Molenbruch proportional zur Molalität, somit ergibt sich:

$$\Delta T = K_k m_B$$

$K_k$  = Kryoskopische Konstante

In der Praxis empfiehlt es sich, die kryoskopische Konstante eines Stoffes ebenso wie die ebullioskopische Konstante (Siedepunktserhöhung) als empirischen Parameter anzusehen, wodurch er experimentell bestimmbar wird.

Bei Elektrolyten ist zu beachten, dass die Kationen und Anionen derselben als unabhängige Teilchen zu betrachten sind, sodass aus der Gefrierpunktserniedrigung auch der Dissoziationsgrad  $\alpha$  eines gelösten Elektrolyten bestimmt werden kann. Für einen Elektrolyten, der in zwei Ionen dissoziiert, gilt folglich:

$$\Delta T = K_k m_B (1 + \alpha)$$

Für Nichtelektrolyte ist  $\alpha = 0$ , hier sind Molalität und Osmolalität gleich. Letztere berücksichtigt die Dissoziation des gelösten Stoffes.

## **2.6 Glykämischer Index [177-178]**

Die durch die Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate werden nach erfolgter Magenpassage im menschlichen Darm zu einem Großteil aktiv oder passiv resorbiert. Zunächst werden komplexe Kohlenhydrate, Polysaccharide, Amylose, Amylopektin, Dextrine und Di- und Oligosaccharide durch Speichelenzyme, das saure Magenmilieu und die Enzyme des Intestinaltraktes in ihre Monosaccharidbausteine gespalten. Der Anteil der nichtresorbierbaren Kohlenhydrate in der Nahrung ist zum einen durch den Gehalt an löslichen und nichtlöslichen Ballaststoffen, zum anderen durch die Bildung resistenter Stärke, das heißt von Stärkemolekülen, die durch Verarbeitungsprozesse für die menschlichen Verdauungsenzyme unangreifbar werden, beispielsweise Kartoffelstärke bei nochmaligem Erhitzen, bestimmt. Die bedeutsamsten Monosaccharide in der menschlichen Ernährung sind Glucose (Traubenzucker, Monomer der Stärke, der Maltose und des Maltodextrin), Galactose (zusammen mit Glucose Monomer der Lactose, dem Milchzucker) und Fructose (Fruchtzucker, zusammen mit Glucose Monomer der

Saccharose). Von diesen können Glucose und Galactose aktiv aus dem Darmlumen resorbiert werden, während die Fructoseresorption rein passiv vonstatten geht.

Das membrangebundene SGLT-1 (Sodium Based Glucose Transporter) Transportprotein ist das Transportsystem für Glucose und Galaktose, ein Natrium-Glucose-Cotransporter, welches ein Glucosemolekül oder respektive ein Galaktosemolekül in Kombination mit zwei Natriumionen in die Epithelzelle transportiert. Dieses System arbeitet akkumulierend, die Glucosekonzentration in der Zelle kann das Zehnfache der Konzentration im Darmlumen erreichen. Die treibende Kraft hierbei ist die niedrige intrazelluläre Natriumkonzentration. Das SGLT-1 Protein ist ein sekundär aktiver Transporter, der durch die basolaterale Natrium/Kalium ATPase angetrieben wird. Stöchiometrisch betrachtet bewirkt dabei die Hydrolyse zweier ATP-Moleküle den Transport dreier Glucosemoleküle in die Epithelzellen. Intrazellulär akkumulierte Glucose wird anschließend mit GLUT-2 vermittelter, erleichterter Diffusion in die Blutbahn abgegeben. Glucosetransporter (GLUT-2, GLUT-5) sind transmembranäre Transportproteine, die den Transport von Glucose durch die Zellmembran katalysieren. Der Konzentrationsgradient von Glucose stellt in diesem Fall die für den Transport benötigte Energie bereit. [179-182]

Die Aufnahme der Fructose hingegen erfolgt passiv durch erleichterte Diffusion mit GLUT-5, einem spezifischen Transporter für Fructose, entlang eines Konzentrationsgradienten, und somit deutlich langsamer.

Der Glykämische Index (GI) gibt in der Humanernährung die blutzuckersteigernde Wirkung der mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate an. Ermittelt wird der GI rein experimentell, indem eine Gruppe von Probanden in möglichst kurzer Zeit, maximal jedoch etwa einer Viertelstunde, eine Portion des zu testenden Lebensmittels auf nüchternen Magen zu sich nimmt, in welcher 50 g verwertbare Kohlenhydrate enthalten sind. Im Anschluss wird die resultierende Entwicklung des postprandialen Blutzuckerspiegels über eine definierte Zeit von zwei Stunden im Kapillarblut gemessen und in einem Diagramm gegen die Zeit aufgetragen. Als Referenz wird eine Messung der Entwicklung des Blutzuckerspiegels nach erfolgter Aufnahme von 50 g Glucoselösung oder Weißbrot verwendet. Diese Referenzsubstanzen erhalten den Wert 100. Der GI eines Lebensmittels wird aus dem Quotienten der Fläche unter der Blutglucosekonzentration nach Aufnahme des Lebensmittels und der Fläche unter der Blutglucosekonzentration nach Konsum der

Referenzsubstanz errechnet, wobei dieser Quotient mit 100 multipliziert wird. Ein GI mit Glucose als Referenzsubstanz kann durch Division mit dem Faktor 1,3 ungefähr in den in Amerika üblichen Weißbrotstandard umgerechnet werden. Ein GI von 50 sagt somit aus, dass die postprandiale Blutglucoseantwort nach dem Konsum eines Kohlenhydrates nur halb so groß ist wie die nach dem Konsum des Referenzlebensmittels.

## **2.7 Resorption von Getränkeinhaltsstoffen [183]**

Die Resorption der verschiedenen Inhaltsstoffe eines Getränkes aus dem Darmlumen ist in der angehängten Veröffentlichung ausführlich im Reviewstil dargestellt [183].

## **2.8 Milchsäurefermentation**

Milchsäurebakterien gehören zu den am weitesten verbreiteten Mikroorganismen in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie überhaupt. Im Gegensatz zu Hefen verfügen sie nicht über einen Atmungsstoffwechsel und bilden somit unabhängig von der Anwesenheit von Sauerstoff zu einem Teil Milchsäure (heterofermentativ) oder nur Milchsäure (homofermentativ) aus Kohlenhydraten. Dieser Prozess erhöht die Haltbarkeit der jeweiligen Lebensmittel durch simultanes Absenken des pH-Wertes, daneben besitzt die Milchsäure aber auch nutritive Eigenschaften [184-187].

Neben ihrer Bedeutung als Produzenten von Milchsäure in Lebensmitteln und der damit einhergehenden Haltbarmachung dieser Produkte [188-191] zeichnen sich Milchsäurebakterien ernährungsphysiologisch durch die Eigenschaft aus, dass manche Stämme in der Lage sind, den menschlichen Darm zu kolonisieren. Diese dem Wirt, in diesem Fall dem Menschen, nützlichen Bakterien bilden keinerlei pathogene oder cancerogene Metaboliten, sondern Stoffwechselprodukte, die vom Wirt assimiliert und weitermetabolisiert werden können. In diesem Fall spricht man von probiotischen Keimen. Zwei Eigenschaften der Milchsäurebakterien machen sie hier zu besonders geeigneten Organismen und bieten ihnen auch einen Vegetationsvorteil gegenüber potentiell und

obligat pathogenen Keimen. Zum einen verfügen sie nicht über die Möglichkeit einer kompletten Verstoffwechslung der Kohlenhydrate, sondern sind aufgrund einer unvollständigen Elektronentransportkette lediglich in der Lage kurzkettige Fettsäuren zu bilden, und somit den pH-Wert im Lumen zu senken, was das Wachstum nicht säurebildender Mikroorganismen erschwert, zum anderen verfügen sie über die Fähigkeit Pentosen zu verstoffwechseln, beta-glykosidische Bindungen zu spalten und somit Energielieferanten zu verwenden, die dem menschlichen Stoffwechsel entgehen [192-196].

Nach ihren Stoffwechselwegen unterscheidet man homofermentative und heterofermentative Milchsäurebakterien. Während erstere als einziges Stoffwechselprodukt Laktat aufweisen, entsteht bei der heterofermentativen Milchsäuregärung eine Vielzahl an Sekundärmetaboliten. Die Homofermentation läuft ausgehend von Glucose über Fructose-1,6-Phosphat, Triose-3-Phosphat und Pyruvat zu Laktat, wobei aus einem Glucosemolekül zwei Moleküle Laktat entstehen. Im Gegensatz hierzu verläuft die heterofermentative Milchsäuregärung über Glucose-6-Phosphat, 6-Phosphat-Gluconate, Xylulose-5-Phosphat und von hier entweder zu Acetylphosphat und subsequent beispielsweise Ethanol oder Acetate oder über Triose-3-Phosphat zu Pyruvat [192-194]. Im Pyruvatstoffwechsel der heterofermentativen Milchsäurebakterien können neben Laktat auch weitere Metaboliten entstehen, bedeutsam sind hier für die Nahrungsmittelindustrie CO<sub>2</sub>, Ethanol, Acetat und Diacetyl [197-198]. Die fakultativ heterofermentativen Milchsäurebakterien bilden aus Gluconat CO<sub>2</sub> und sind darüberhinaus in der Lage Acetoin zu bilden.

Milchsäurebakterien sind in der Lage, Mono- und Disaccharide aus ihrer Umgebung in das Zytoplasma aufzunehmen, Oligo- und Polysaccharide müssen extrazellulär gespalten und dann resorbiert werden [199].

Eine weitere Stoffwechseleigenschaft mancher Milchsäurebakterien ist die Fähigkeit, Säuren zu verstoffwechseln, ein Vorgang, der insbesondere bei dem biologischen Säureabbau in der Weinveredelung von Bedeutung ist [200-201].

## **2.9 Geschmacksstabilität von Getränken [202]**

Die Qualität eines Produktes und somit auch eines Getränkes wird durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst und schlägt sich unmittelbar in der Verbraucherakzeptanz eines Produktes nieder. Einer der Hauptfaktoren, durch den sich Getränke auszeichnen und von der Konkurrenz abheben, ist der individuelle Geschmack [203]. Die Hauptherausforderung hinsichtlich des Geschmacks eines Getränkes besteht für den Hersteller darin, diesen während einer möglichst langen Lagerzeit stabil zu erhalten, um dem Konsumenten ein gleichbleibend hochwertiges Produkt zur Verfügung stellen zu können [204-205]. Veränderungen im Geschmacksbild bei potentiell gesundheitsfördernden Produkten werden nicht so negativ wahrgenommen und leichte Geschmacksfehler werden toleriert [206-208] – ein möglicher Vorteil funktioneller Getränke. Die wichtigste Einflussgröße auf die Geschmacksstabilität von Getränken ist das Vorhandensein von freiem Sauerstoff und den korrespondierenden Antagonisten, den Antioxidantien [209], welche bei Zusatz jedoch gekennzeichnet werden müssen, was die Verbraucherakzeptanz eines Produktes negativ beeinflussen kann [210].

Im Getränkebereich haben sich in den letzten Jahren eine Reihe von Forschern mit der Stabilität von Bier befasst [205, 211]. Die Geschmacksstabilität von Bier hängt vornehmlich von dem Vorhandensein von Sauerstoff im fertig abgefüllten Produkt ab [211-217]. Weitere Einflussgrößen sind die thermische Belastung [218-220], der pH-Wert [221-224] sowie die Lagertemperatur [209, 223, 225-226].

In dieser Arbeit wurden die aus dem Brauereibereich bekannten und etablierten Analyseverfahren auf das Gebiet der alternativen Malzgetränke ausgeweitet und auf diese angewandt, da der Großteil der hier analysierten Stoffe und Verbindungen aus dem Malz stammen und somit auch in malzbasierten alkoholfreien Getränken vorhanden sind.



## **3 Material und Methoden**

In diesem Kapitel werden die Methoden vorgestellt, die zum Verständnis der erzielten Ergebnisse notwendig sind und über den in den angehängten Veröffentlichungen beschriebenen Rahmen hinausgehen. Analysemethoden, die offizielle Methoden der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK) e.V. oder der European Brewery Convention (EBC) sind, werden nicht näher beschrieben sondern nur mit der jeweiligen Analysennummer genannt.

### **3.1 Ballaststoffanalytik**

#### **3.1.1 Gesamtarabinoxylan (AX)**

Die Bestimmung des Gesamtarabinoxylan wurde nach der im Anhang beschriebenen modifizierten Methode nach HOUBEN [227] durchgeführt [33, 42, 98].

#### **3.1.2 Wasser extrahierbares Arabinoxylan (WEAX)**

Die Messung des wasser-extrahierbaren Arabinoxylans erfolgte nach der im Anhang vorgestellten [33, 42, 98] modifizierten Methode nach HOUBEN [227].

### **3.1.3 Fructan und Inulin**

Die Fructan- und Inulinmessung erfolgte nach der im Anhang beschriebenen Methode [42, 98, 228]. Hierbei handelt es sich um eine Modifikation der von ANDERSEN et al. beschriebenen Methode [228].

### **3.1.4 beta-Glucan**

Hochmolekulares beta-Glucan wurde mittels Calcofluor nach MEBAK 3.1.4.9 und EBC 4.16.2 bestimmt [229-230].

### **3.1.5 Glucosepolymeranalytik**

Die Bestimmung der enzymatisch hydrolysierbaren Oligo- und Polysaccharide wurde nach einer im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methode durchgeführt.

Hierzu wird 1 ml einer Würze- oder Bierprobe mit dem Enzym Fructozyme L™ (EC 3.2.1.7) der Firma Novozymes (Baegsvard, Dänemark) bei 37 °C für 1 Stunde unter ständigem Schütteln inkubiert und anschließend mittels HPAEC/PAD wie im Anhang beschrieben die Monosaccharidzusammensetzung bestimmt [33, 42, 98].

## **3.2 Vitaminanalytik**

### **3.2.1 Thiaminbestimmung**

Die Messung von Thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>) erfolgte mittels eines Analysenkits der Firma Chromsystems (München, Deutschland) und wurde wie im Anhang beschrieben

durchgeführt [98]. Die Eignung der verwendeten Methode für die Anwendung in Würze und Bier wurde von Gastl (geborene Schütz) et. al gezeigt [231-232].

### **3.2.2 Riboflavinbestimmung**

Die Messung von Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) erfolgte mittels eines Analysenkits der Firma Chromsystems (München, Deutschland) und wurde wie im Anhang beschrieben durchgeführt [98]. Die Eignung der verwendeten Methode für die Anwendung in Würze und Bier wurde von Gastl (geborene Schütz) et. al gezeigt [231-232].

### **3.2.3 Cobalaminbestimmung**

Die Bestimmung des Cobalamingehaltes erfolgte mittels der mikrobiologischen Messmethode der Firma r-Biopharm (Darmstadt, Deutschland). Bierproben wurden direkt analysiert, der B<sub>12</sub>-Gehalt von Malz wurde als wasserextrahierbares B<sub>12</sub> in Kongresswürze bestimmt.

## **3.3 Malz- und Würzeanalytik**

### **3.3.1 Kongressmaisverfahren**

Kongressmaische wurde nach MEBAK 3.1.4.2 und EBC 4.5.1 hergestellt [229-230, 233].

### **3.3.1.1 Extraktgehalt**

Extraktmessungen erfolgten mittels Densitymeter DMA 4100 (AntonPaar, Graz, Österreich) nach MEBAK 3.1.4.2.2 und EBC 4.5.1 und EBC 8.2.2 [229-230, 233].

### **3.3.1.2 pH-Wert**

Der pH-Wert wurde nach MEBAK 3.1.4.2.7 und EBC 8.17 bestimmt [229-230].

### **3.3.1.3 Würzefarbe**

Die Farbe der Kongresswürze wurde nach MEBAK 3.1.4.2.8 und EBC 4.7.2 gemessen [229-230].

### **3.3.1.4 Löslicher Stickstoff**

Löslicher Stickstoff wurde nach MEBAK 3.1.4.5.2.1 und EBC 4.9.1 bestimmt [229-230].

### **3.3.1.5 Freier Aminostickstoff**

Der freie Aminostickstoff (FAN) wurde nach MEBAK 3.1.4.5.5.1 und EBC 8.10 bestimmt [229-230].

### **3.3.1.6 Viskosität**

Viskosität wurde nach MEBAK 3.1.4.4.2 und EBC 8.4 gemessen [229-230].

### **3.3.2 Rohprotein**

Die Bestimmung des Rohproteingehaltes erfolgte mittels der Methode nach Kjeldahl nach MEBAK 1.5.2.1 und EBC 3.3.1 [229-230].

### **3.3.3 Wassergehalt**

Der Wassergehalt der Getreide-, Keim- und Malzproben wurde nach MEBAK 1.5.1.1 und EBC 3.2 mittels Trockenschrank ermittelt [229].

### **3.3.4 Verkleisterungstemperatur**

Die Verkleisterungstemperatur wurde nach der von KESSLER et al. vorgestellten Methode bestimmt [234].

## **3.4 Aromastoffanalytik**

### **3.4.1 Malzaromastoffe**

Die Messung der Malzaromastoffe erfolgte nach der von HERMANN beschriebenen Methode [235].

### **3.4.2 Würzearomastoffe**

Die Messung der Würzearomastoffe erfolgte nach der von LUSTIG beschriebenen Methode [216, 236-240].

### **3.4.3 Alterungskomponenten**

Die Messung der Alterungskomponenten (AK) in frischen und forciert gealterten Getränken erfolgte nach der im Anhang beschriebenen Methode [202, 211, 236-242].

### **3.4.4 Dimethylsulfid (DMS) und Vorstufen**

Die Bestimmung von freiem DMS und seiner Vorstufe S-methyl-methionin (DMS-P) erfolgte nach MEBAK 1.3.1.1 und 1.3.2 [229-230].

## **3.5. *Milchsäuregärungen***

Alle Milchsäurefermentationen erfolgten mit Kulturen aus der lehrstuhleigenen Stammsammlung im mikrobiologischen Labor des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie. Um einen Einfluss von Malzqualität, Wasserqualität, Maisch- und Kochverfahren bei den Verkostungsversuchen auszuschließen, wurden diese Gärungen mit steril ausgemischtem Malzextrakt (Weyermann, Bamberg, Deutschland) durchgeführt [202, 243]. Die Gärungen erfolgten anschließend in temperierten Brutschränken. Die verwendeten Kulturen sind in Tabelle 3.1 aufgeführt.

Tabelle 1 Verwendete Milchsäurebakterien

Stammnummer	Gattung	Stoffwechsel	Vorkommen/Einsatz
TL 5	<i>L. amylolyticus</i>	obligat homofermentativ	Biologische Säuerung in Brauereien
L 1150	<i>L. brevis</i>	obligat heterofermentativ	Starterkultur Sauerkraut; Bierschädling
L 986	<i>L. paracasei</i>	fakultativ heterofermentativ	Probiotika, potentieller Bierschädling in Weißbieren
L 532	<i>L. perolens</i>	fakultativ heterofermentativ	Verderber nicht alkoholischer Getränke (z.B. Orangenlimonade)
L 2	<i>L. lindneri</i>	obligat heterofermentativ	Bierschädling

Die Fermentationen erfolgten bei 48 °C (*L. amylolyticus*) und 28 °C (*L. paracasei*, *L. brevis*, *L. lindneri* und *L. perolens*).

### 3.5.1 Analytik des Gärverlaufes

Im Verlauf der Fermentationen wurden folgende Parameter aufgezeichnet: pH-Wert, titrierbare Gesamtsäure und Osmolalität

Bei ausgewählten Fermentationen wurden darüber hinaus die Würzearomastoffe gemessen.

### 3.5.2 Milchsäurebestimmung

Zur Bestimmung des Milchsäuregehaltes wird die Gesamtsäure titrimetrisch bestimmt und als Milchsäure nach MEBAK 1.10.3 [229] berechnet.

Hierzu wurden 10 ml Probe in ein 100 ml Becherglas pipettiert und mit einem Bunsenbrenner solange erhitzt, bis erste Dampfblasen aufstiegen. Dabei erfolgte die Freisetzung gebundener Säureanhydride. Danach wurde circa 20 ml destilliertes Wasser zur Abkühlung dazugegeben und mit 0,1 N NaOH auf pH 8,10 titriert.

Der Verbrauch an NaOH ist dabei proportional zum Säuregehalt und, im Falle der untersuchten Milchsäuregärungen mit der zeitlichen Zunahme an Milchsäure.

1 ml NaOH entspricht 9,008 mg/10 ml Milchsäure (Messwert  $V_S$ ) [244]. In gleicher Weise wird eine Nullprobe analysiert (Blindwert  $V_B$ ).

Der Gesamtmilchsäuregehalt der Probe berechnet sich dann wie folgt:

$$\text{Milchsäure [mg/l]} = (V_B - V_S) * 9,008 * 100$$

### **3.6 Verkostung alternativer Malzgetränke**

Die sensorische Bewertung der untersuchten Getränke erfolgte durch ein trainiertes und geübtes Verkosterpanel am Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie. Die gealterten Proben wurden nach dem am Lehrstuhl entwickelten Verfahren durch einen Tag Schütteln und vier Tage Warmlagerung bei 40 °C forciert gealtert. Diese Behandlung simuliert eine tatsächliche Lagerzeit von drei Monaten bei den in Deutschland üblichen Bedingungen [202, 211, 216, 241-242].

#### **3.6.1 Kommerzielle Getränke**

Die erworbenen und von Industriepartnern zur Verfügung gestellten Malzgetränke (Malztrunk, Honigmalz u.ä.), alkoholfreien Weißbiere und Getränke auf Basis alternativ fermentierten Malzextraktes wurden nach den Vorgaben der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) für die Bewertung von Bier, sowie nach dem Verfahren der Alterungsverkostung nach EICHHORN sensorisch bewertet [236, 241-242].



### **3.6.2 Milchsauer vergorene Getränke**

Für die Verkostung der am Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie hergestellten Getränke auf Basis milchsauer vergorenen Malzextraktes ein modifiziertes Verkostungsschema verwendet. Dieses wurde um Attribute, die Qualität von Süße und Säure sowie Ratio betreffend, erweitert [202, 243].

## **3.7 Statistische Betrachtung**

### **3.7.1 Statistische Versuchsplanung**

Die Variation der Keimungsparameter bei den Mälzungsversuchen wurde mittels der Software DesignExpert™ 7.0 der Firma Statease (Minneapolis, MN, USA) durchgeführt. Dieses Programm dient dem Design von Experimenten, um die benötigte Anzahl der durchzuführenden Versuche auf ein Minimum zu reduzieren, bei gleichzeitiger Erhöhung der Aussagekraft [33, 98, 148, 245]. Eine ausführliche Beschreibung der Anwendung dieses Programms in der Brau- und Getränkewissenschaft findet sich in der Arbeit von THIELE [240].

Terme mit einem p-Wert von über 0,1 wurden mittels Rückwärtseliminierung entfernt.

### **3.7.2 Bestimmung der Variationskoeffizienten (VK) der Analysen**

Um die Genauigkeit und Qualität der durchgeführten Analysen zu überprüfen, wurden die Variationskoeffizienten ermittelt. Variationskoeffizienten wurden der Wiederholbarkeit vorgezogen, da es sich um die relative Standardabweichung und somit eine dimensionslose Größe handelt [246]. Messungen, die bei Mehrfachbestimmungen in ihrer

Differenz den ermittelten VK der Methode überstiegen, wurden wiederholt oder nicht in die Auswertung einbezogen.

### **3.7.3 Bestimmung von Korrelationen und Sicherheiten**

Korrelationen zwischen verschiedenen Messwerten und Parametern wurden mittels Analyse der r-Werte auf ihre statistische Signifikanz untersucht [247].

### **3.8 Mälzungsversuche**

Die Mälzungsversuche im Rahmen dieser Arbeit wurden in der Kleinmälzungsanlage des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie im 1 Kilogrammmaßstab durchgeführt. Die verwendete Anlage wurde von BURBERG et al. beschrieben [248].

### **3.9 Brauversuche**

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Brauversuche wurden in drei verschiedenen Volumina durchgeführt.

Im Kleinmaßstab wurde die Maischarbeit in programmierbaren Kongressmaisbädern der Firma Dinkelberg (Gablingen, Germany) simuliert. Kochmaischen wurden separat in Glaskolben auf beheizbaren Magnetrührern (Velp Scientifica, Usmate, Italien) behandelt. Ebenso wurde bei Kochversuchen in dieser Größe vorgegangen. Das Maisch- bzw. Würzevolumen betrug hierbei jeweils maximal 500 ml.

Pilotsudversuche wurden an der Pilotbrauanlage des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie durchgeführt. Diese stellt bei atmosphärischer Kochung etwa 50 Liter Ausschlagwürze her [248]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auf den Einsatz des

Maischefilters verzichtet und nur der Läuterbottich verwendet [42]. Die Reproduzierbarkeit der Anlage wurde in der Arbeit von HANKE beschrieben [249].

Proben im Industriemaßstab wurden bei der Bayerischen Staatsbrauerei Weihenstephan (Freising, Deutschland) genommen.

### **3.10 Buchweizendifferenzierung**

#### **3.10.1 Proben**

Geschälter Buchweizen (Ursprung China, Sorte unbekannt) wurde über die Firma Rapunzel Naturkost (Legau, Deutschland) und (Ursprung Tschechien und Polen, Sorten unbekannt) über die Firma Trouw b.v. (Rotterdam, Niederlande) bezogen. Ungeschälte Buchweizenproben (Ursprung Tschechien und Polen, Sorten unbekannt) wurden ebenfalls über die Firma Trouw b.v. bezogen. Die Sorte Lifago, ein ungeschälter tartarischer Buchweizen wurde durch die Deutsche Saatveredelung AG (Lippstadt, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Die Sorten Astra (Herkunft Polen), Lileja (Herkunft Schweiz), Sobena (Herkunft Deutschland) und Lorena (Herkunft Deutschland) wurden durch Herrn Professor Zeller, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung der TU München, zur Verfügung gestellt.

#### **3.10.2 Rohstoffanalytik**

##### **3.10.2.1 Handbonitierung**

Die Handbonitierung der Buchweizenkörner wurde analog der für Gerste beschriebenen Methode nach MEBAK 1.2 und EBC 3.11.2 durchgeführt [229].

### **3.10.2.2 Tausendkorngewicht**

Das Tausendkorngewicht wurde nach MEBAK 1.3.2 und EBC 3.4 bestimmt [229].

### **3.10.2.3 Hektolitergewicht**

Das Hektolitergewicht der Buchweizenproben wurde mittels Reichsgetreidewaage nach MEBAK 1.3.3 bestimmt [229].

### **3.10.2.4 Sortierung**

Die Sortierung wurde nach MEBAK 1.3.1 und EBC 3.11.1 durchgeführt [229].

### **3.10.2.5 Keimenergie und Wasserempfindlichkeit**

Die Bestimmung von Keimenergie und Wasserempfindlichkeit (Pollocktest) erfolgte nach MEBAK 1.4.2.2 beziehungsweise MEBAK 1.4.3 und EBC 3.6.3 (Keimenergie) [229].

### **3.10.3 Polyphenolanalytik**

Die Extraktion der Polyphenole erfolgte nach der im Anhang beschriebenen Methode [250].

### **3.10.3.1 Flavonoide**

Die Messung der Flavonoide erfolgte nach der im Anhang beschriebenen Methode [250]. Die weiteren Responsefaktoren waren  $1,03 \cdot 10^{-5}$  für Chlorogensäure,  $0,99 \cdot 10^{-5}$  für Homoorientin und  $1,2 \cdot 10^{-5}$  für Isovitexin.

Die Identifikation der einzelnen Substanzen erfolgte über die Auswertung der Spektren und anschließende Co-Chromatographie.

### **3.10.3.2 Flavan-3-ole**

Weil es bei der Analyse von Catechinen und Proanthocyanidinen aus phenolreichen Rohextrakten häufig zu Überlagerungen der Flavanole mit Hydroxyzimtsäuren kommt, ist eine Bestimmung durch UV-Detektion bei 280 nm nur begrenzt möglich [251]. Durch die Nachsäulenderivatisierung mit dem selektiven Reagenz *p*-Dimethylaminozimtaldehyd (DMAZA) nach TREUTTER [172, 251-252] können auch die Flavanole in phenolreichen Rohextrakten selektiv und empfindlich detektiert werden. Die Nachweisgrenze von Catechin liegt bei dem hier verwendeten System zwischen 0,5 und 1 ng/ml. Responsefaktoren waren  $1,29 \cdot 10^{-6}$  für Catechin und  $8,91 \cdot 10^{-7}$  für Epicatechin.

Die Identifizierung der Catechine erfolgte mittels Co-Chromatographie und über die jeweiligen Retentionszeiten.

## **3.11 Maischversuche**

Maischversuche wurden im Kongressmaismaßstab nach den Vorschriften der MEBAK durchgeführt. Die verwendeten Maischbäder der Firma Dinkelberg analytics (Gablingen, Deutschland) waren frei programmierbar in Temperatur und Zeitablauf. Kochmaischen wurden wenn nötig separat auf beheizbaren Magnetrührern (Velp, Usmate, Italien) gekocht und anschließend der Restmaische wieder zugebrüht.

Bei Maischversuchen mit Buchweizen kamen außerdem technische Enzyme der Firma Novozymes (Bagsvaerd, Dänemark) zum Einsatz, dies waren die Enzyme Fructozyme L, Ultraflow® Max, Viscozyme L, Celluclast 1,5 L, Carezyme 1000 L und AMG 300 L.

### **3.12 Osmolalität**

Die Osmolalität von Getränken und Lösungen wurde mittels CryoStar 1 der Firma FunkeGerber (Berlin, Deutschland) gemessen. Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte mit destilliertem Wasser und einer 8 %-igen Ethanollösung. Als Vergleich wurde bei der Analytik eine isotonische kommerziell erhältliche Kochsalzlösung mit einer Osmolalität von 300 mosmol/kg mitgemessen. Diese wurde bei einem örtlichen Optikergeschäft erworben.

### **3.13 Getränkeausmischung**

Die in dieser Arbeit betrachteten alternativen Getränke wurden in der Kleinsudanlage des Lehrstuhls ausgemischt. Fruchtsaftkomponenten wurden von der Firma Döhler (Darmstadt, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Die Ausmischung erfolgte gravimetrisch aus carbonisierten Corneliusbehältern.

### **3.14 Pasteurisation**

Die Pasteurisation der fertigen Getränke erfolgte in einem üblichen Wurstkochtopf mit Thermostat der Marke Westfalie Typ 1415 (Hagen, Deutschland).

### **3.15 Geschmacksschwellenwerte**

Geschmacksschwellenwerte wurden nach der EBC Methode 3.19 bestimmt. Als Verkoster standen Mitarbeiter des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I und des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie zur Verfügung.

### **3.16 Rehydrierung durch malzbasierte Getränke**

Um den Einfluss von verschiedenen Getränken auf die Wasseraufnahme und das Trinkverhalten von Ausdauerathleten nach intensiver körperlicher Belastung zu untersuchen, trainierten Freizeitsportler für eine Stunde auf einem Radergometer bei konstanter Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit. Anschließend wurde jeweils ein Getränk zur Verfügung gestellt: in den nächsten zwei Stunden wurde bei geringer körperlicher Aktivität und ohne Nahrungsaufnahme die konsumierte Flüssigkeitsmenge, die durch den Harn verlorene Flüssigkeitsmenge und sonstige Auffälligkeiten registriert.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Teil der Arbeit wird zunächst auf die untersuchten Inhaltsstoffe der funktionellen Getränke und den Einfluss des Mälzungsprozesses, beziehungsweise den individuellen Einfluss der unterschiedlichen Keimungsparameter auf diese eingegangen. Außerdem werden die entwickelten Rohstoffspezifikationen für Buchweizen vorgestellt. In einem zweiten Teil wird das erarbeitete Konzept für die Herstellung alternativer Malzgetränke vorgestellt. Im Falle von Ergebnissen, die in den im Anhang befindlichen Publikationen bereits ausführlich diskutiert wurden, wird auf diese verwiesen. Zum Zweck einer besseren Übersicht werden die Ergebnisse in einer möglichst kompakten Form dargestellt. Ausgewählte Analyseergebnisse beispielsweise von Malzanalysen und Aromastoffmessungen befinden sich in den Veröffentlichungen im Anhang.

### 4.1 Funktionelle Inhaltsstoffe

#### 4.1.1 Gesamtarabinoxylan (AX)

In den Mälzungsversuchen mit verschiedenen Getreidearten konnten keine substantiellen Veränderungen des Gesamtarabinoxylan Gehaltes vom Korn bis in das fertige Malz festgestellt werden [42, 98, 243, 253]. Dieses Ergebnis, dass es im Laufe der Keimung nicht zu einem kompletten Abbau von AX in den Zellwänden kommt, wurde auch in anderen Arbeiten bestätigt. Vielmehr kommt es während des Keimungsprozesses zu einer fortschreitenden Depolymerisierung der zunächst wasserunlöslichen AX-Moleküle [254].

In Mälzungsversuchen mit Weizen, Roggen und Dinkel blieben die AX-Gehalte konstant, bei 5,5 g/100 g TS in Weizen, 7,0 g/100 g TS in Roggen und 10,1 g/100 g TS in Dinkel [42, 98, 253].



## 4.1.2 Wasserextrahierbares Arabinoxylan (WEAX)

Der Anteil an WEAX nimmt im Laufe der Keimung bei allen untersuchten Getreidearten zu. Dieser Prozess geht mit der fortschreitenden Auflösung der Zellwandstrukturen einher. Der Embryo treibt Wurzel und Blattkeim voran und löst die Gerüstsubstanzen, die das Korn nach der Reife schützen, hierbei mehr und mehr auf. Dabei werden die vormals unlöslichen AX aus der Zellwand in niedermolekulare und somit lösliche Bestandteile abgebaut.

Im Gegensatz zu den in der Brauereitechnologie negativ auftretenden  $\beta$ -1,3-1,4-D-Glucanen wirken sich WEAX aber nicht nachteilig auf die Viskosität aus, vielmehr kann bei allen untersuchten Mustern ein negativer Zusammenhang zwischen Viskosität und WEAX beobachtet werden. Im Detail werden dieser Zusammenhang und die Gründe für widersprüchliche Aussagen [40-41, 246, 255-259] im Anhang diskutiert [33, 42].

Der Einfluss des Mälzungsprozesses und der einzelnen Mälzungsparameter wird im Folgenden für jede untersuchte Getreideart beschrieben.

### 4.1.2.1 Dinkel [33, 98]

Der untersuchte Dinkel hatte einen AX-Gehalt von 10,05 % bezogen auf die Korntrockenmasse. Der wasserextrahierbare Anteil lag im ungemälzten Getreide bei 0,5 g/100 g TS und stieg im Laufe einer sechstägigen Keimzeit auf 1,01 g/100 g TS an und verdoppelte sich somit im Keimungsprozess. Schwelken und Darren zeigte keinen Einfluss auf den WEAX-Gehalt von Dinkelmalz. Die Keimungsparameter des Standardverfahrens waren eine Keimgutfeuchte von 45 %, Keimtemperatur von 15 °C und eine Keimdauer von 6 Tagen.

Im Vergleich zu den anderen untersuchten Getreidearten zeigte Dinkel die höchsten AX-Werte, wovon allerdings nur ein geringer Teil durch Wasser extrahierbar war.

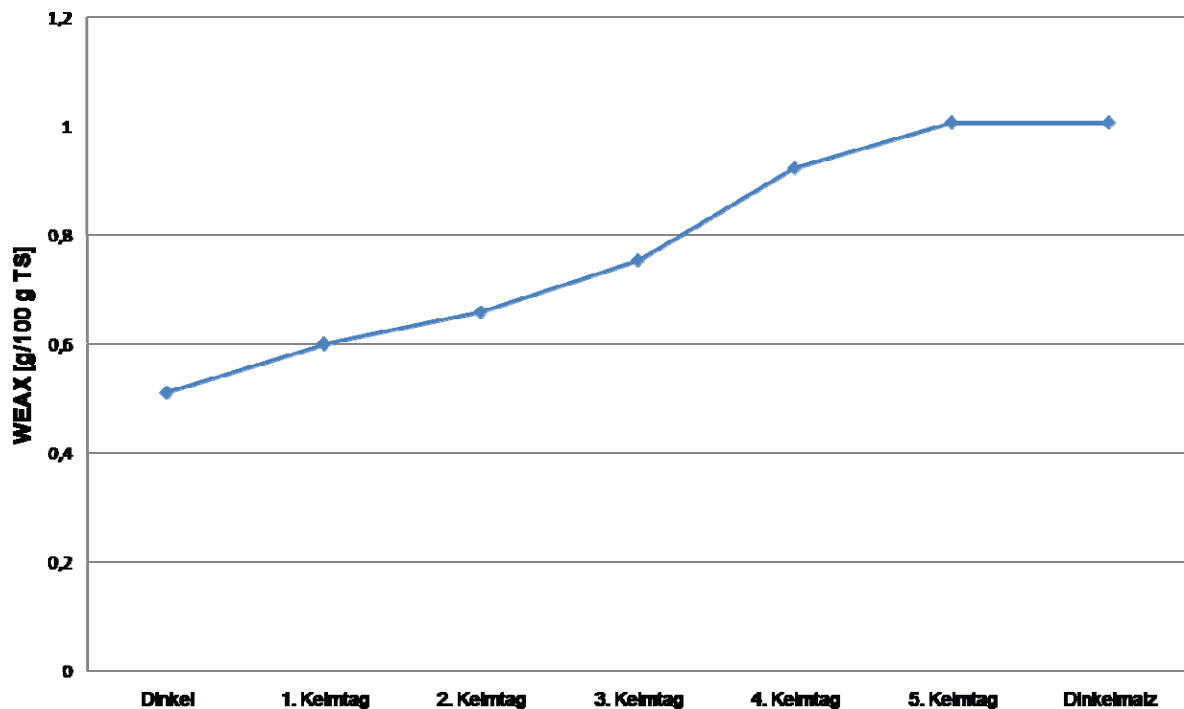


Abbildung 1 WEAX während der Keimung von Dinkel

Die Keimungsparameter und Ergebnisse der Malzanalyse des statistisch variierten Mälzungsversuches sind im Anhang dargestellt [33]. Das verwendete Modell war mit einem p-Wert von 0,0003 signifikant. Der Extrakt der Dinkelmalze lag zwischen 81,9 und 84,7 % TS, die Viskosität zwischen 1,67 und 1,81 mPas und der WEAX-Anteil zwischen 0,76 und 1,28 g/100 g TS. Extrakt und WEAX-Gehalt korrelieren positiv miteinander, wohingegen keinerlei Korrelation, aber eine negative Tendenz zwischen WEAX-Gehalt und Viskosität beobachtet werden konnte. Für Dinkel zeigte sich, dass die Keimtemperatur einen stärkeren Effekt auf die resultierenden WEAX-Gehalte im Malz hatte als Keimzeit und Keimgutfeuchte.

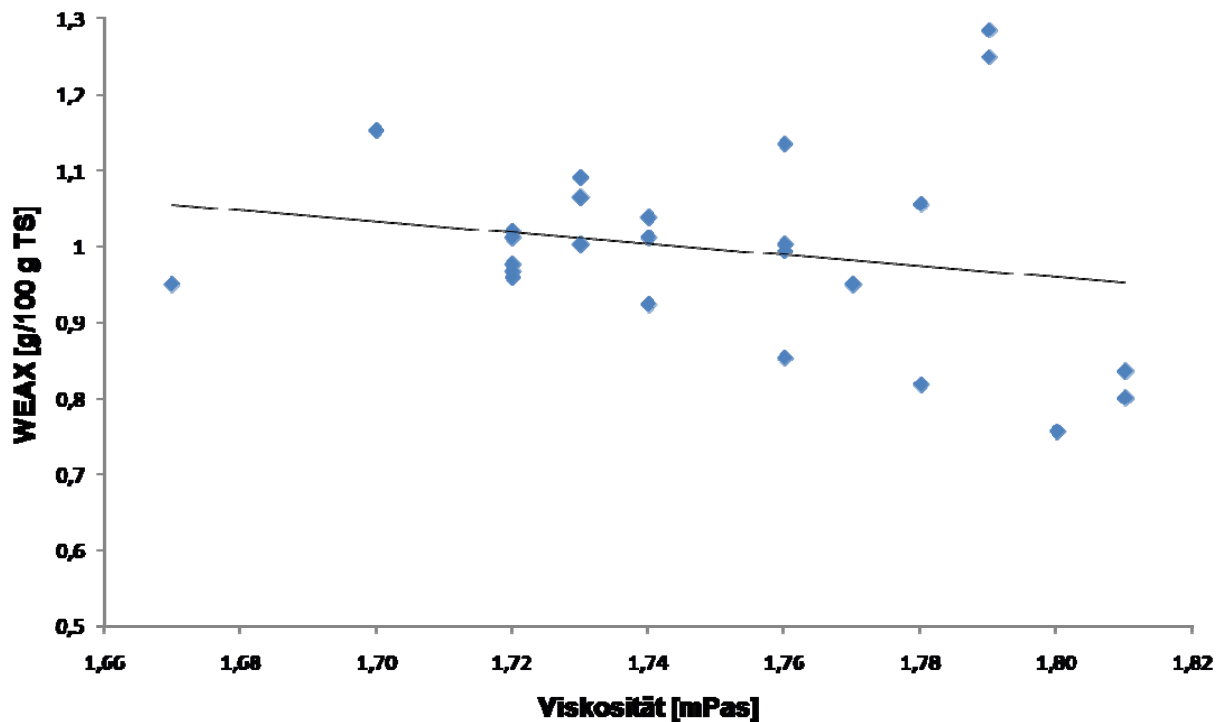


Abbildung 2 Zusammenhang zwischen WEAX und Würzeviskosität bei Dinkelmalz

#### 4.1.2.2 Gerste [42]

Die untersuchten Gerstenmalze hatten Extraktgehalte von 81,2 bis 82,8 % TS, Viskositäten zwischen 1,40 und 1,85 mPas,  $\beta$ -Glucangehalte von 43 bis 1787 mg/l und WEAX Gehalte zwischen 0,76 und 1,13 g/100 g TS. Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0003 signifikant. Den stärksten Einfluss auf den WEAX-Gehalt zeigte dabei die Keimzeit, gefolgt von der Keimgutfeuchte und der Keimtemperatur. Während die mittels Calcofluor gemessenen  $\beta$ -Glucane positiv mit der Viskosität der Würzen korrelierten, zeigte WEAX keinerlei viskositätserhöhende Wirkung, sondern korreliert negativ mit selbiger. Der Extraktgehalt korreliert negativ mit dem  $\beta$ -Glucangehalt und positiv mit dem WEAX-Gehalt. Diese Werte bestätigen, dass der mit der hier angewendeten Methode gemessene  $\beta$ -Glucanwert nur hochmolekulares und somit viskositätsrelevantes  $\beta$ -Glucan [57] wiedergibt, während bei der WEAX-Messung auch sämtliche Abbauprodukte mit kleinen Molekülgrößen erfasst werden. Am Beispiel des Hauptbraugetreides Gerste sieht man, dass die teilweise getroffenen Aussagen zu einer negativen Wirkung von WEAX im

Brauprozess [255, 257] im Gegensatz zu  $\beta$ -Glucanen nicht bestätigt werden können. Auch bei Versuchen mit Membranfiltern konnten keine AX auf den Membranen nachgewiesen werden, lediglich Glucose konnte nach erfolgter Hydrolyse gemessen werden.

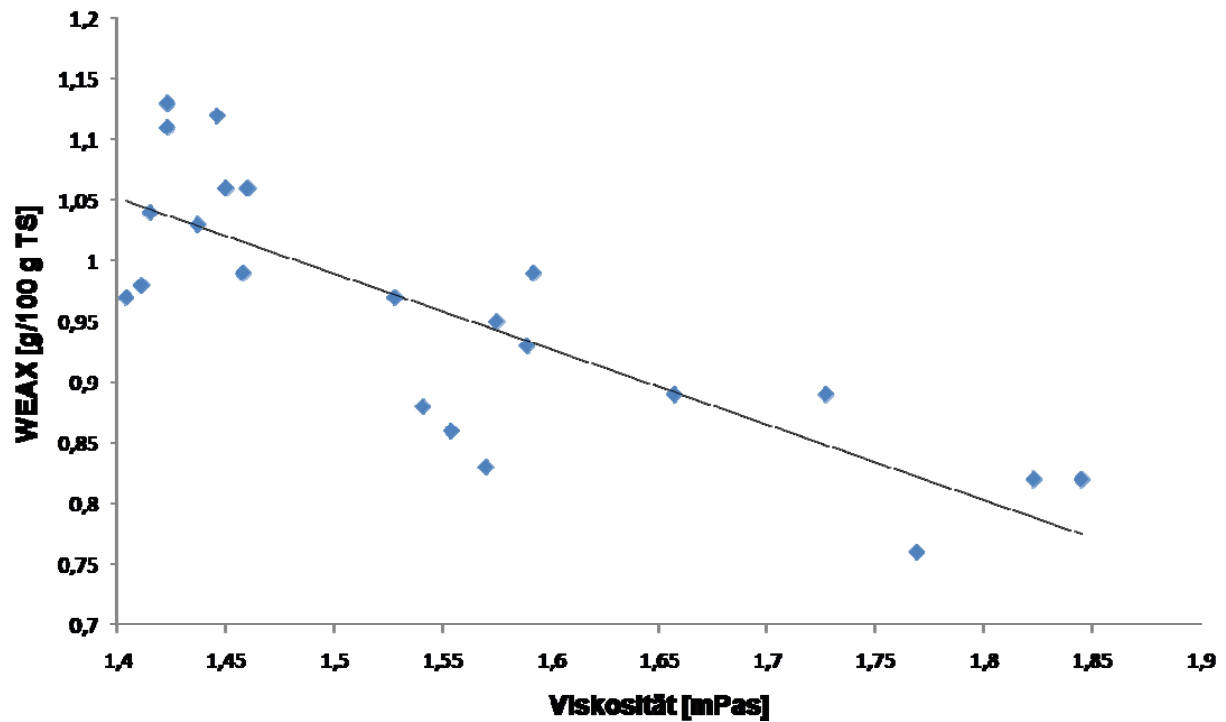


Abbildung 3 WEAX und Viskosität in Gerstenmalzwürzen

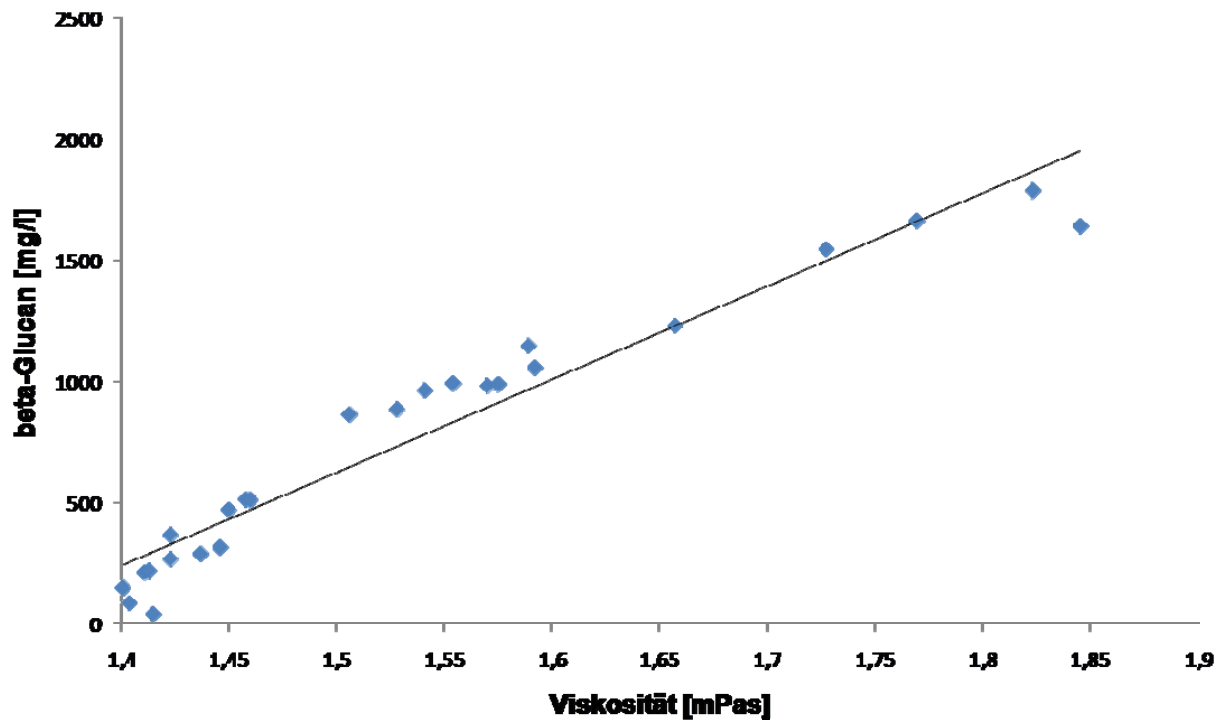


Abbildung 4 beta-Glucan und Viskosität in Gerstenmalzwürzen

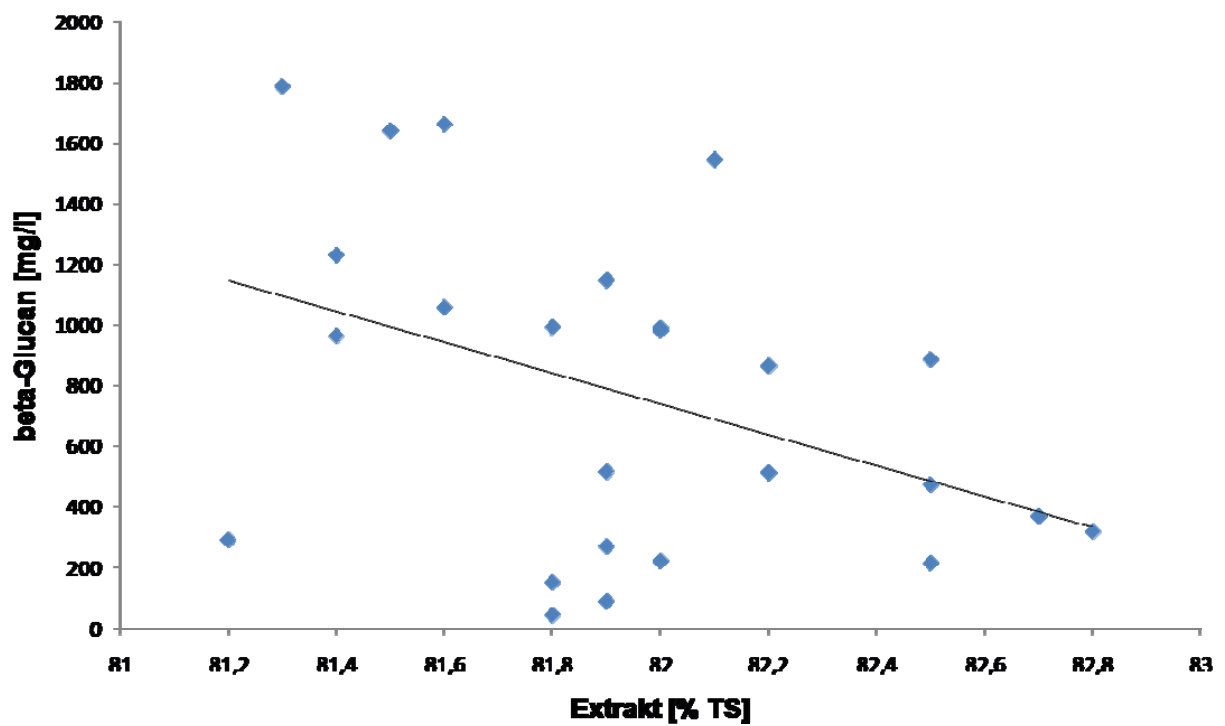


Abbildung 5 Extrakt und beta-Glucan in Gerstenmalzwürzen

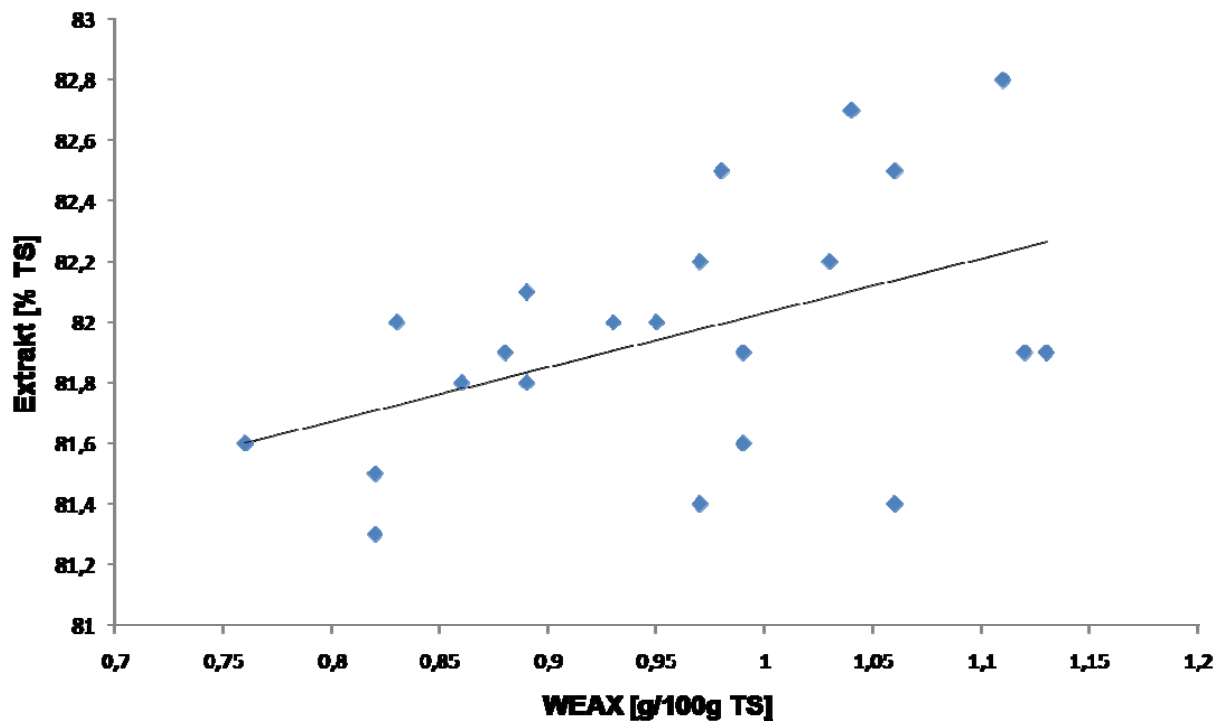


Abbildung 6 Extrakt und WEAX in Gerstenmalzwürzen

#### 4.1.2.3 Hafer

Hafer enthält nur geringe Anteile an AX. In den Mälzungsversuchen konnten keine nennenswerten Gehalte an WEAX gemessen werden.

#### 4.1.2.4 Roggen [33, 42]

Während der Keimung von Roggen wurde in den ersten Keimtagen ein WEAX-Anstieg von 75 % beobachtet, von 1,4 g/100 g TS auf 2,45 g/100 g TS. Ab dem vierten Keimtag bis zum Beginn des Schwelkprozesses blieb dieser Wert konstant. Der Schwelkprozess resultierte in einer leichten Zunahme um 0,1 g/100 g TS. Durch den anschließenden

Darrprozess wurde der WEAX-Gehalt um 0,4 g/100 g TS gesteigert und die finalen Werte in Malz lagen bei 2,9 g/100 g TS. Im Mälzungsprozess von Roggen nahm der WEAX-Gehalt um 107 % zu. Diese Zunahme lässt sich durch eine mögliche thermische Spaltung der Diferulasäurebrücken zwischen den AX-Molekülen des Roggens erklären. Somit gehen vorher unlösliche AX-Moleküle in eine kürzere und somit lösliche Form über. In früheren Versuchen wurden unter anderem deutlich niedrigere Würzeviskositäten bei Roggen als Resultat höherer Abdarrtemperaturen und somit erhöhter thermischer Belastung gefunden [260].

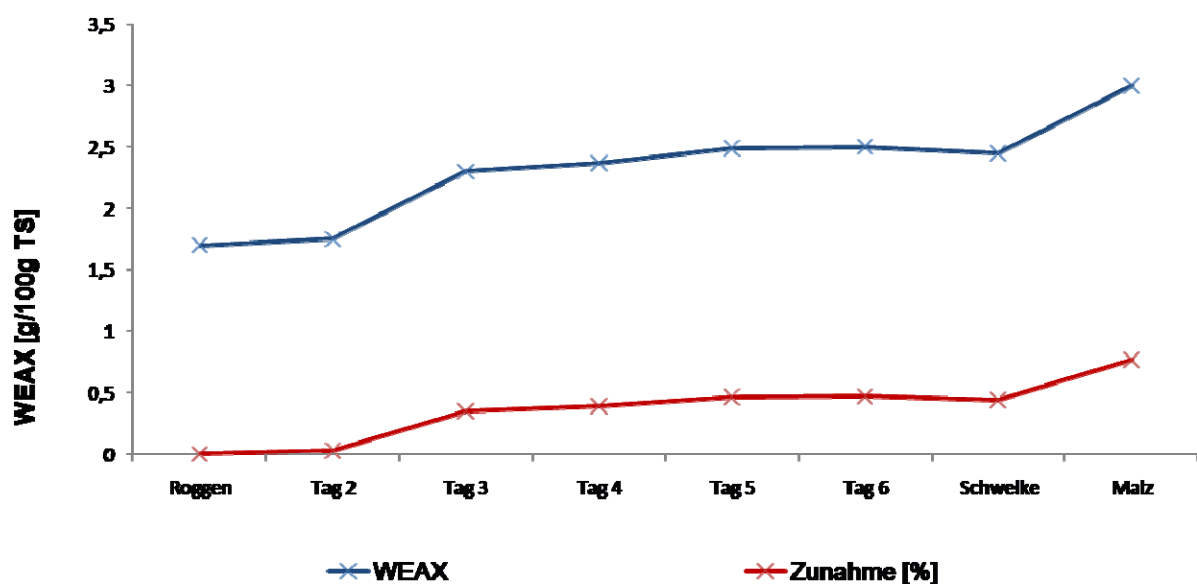


Abbildung 7 WEAX bei der Keimung von Roggen

Das statistische Modell der Roggenmälzung war mit einem p-Wert von 0,0021 signifikant. In den analysierten Roggenmalzen wurden Extraktwerte zwischen 78,3 und 87,3 % TS und WEAX-Werte zwischen 2,38 und 2,92 gemessen. Die Messung der Würzeviskosität war nicht in allen analysierten Proben möglich. Die gemessenen Viskositätswerte lagen zwischen 3,68 und 10,13 mPas. Extraktgehalt und WEAX korrelieren signifikant positiv und Viskosität und WEAX signifikant negativ.

Für Weizenmalze wurde ein statistisch signifikanter Einfluss aller variierten Keimungsparameter gemessen. Den stärksten Einfluss hat hierbei die Keimzeit, gefolgt von Keimtemperatur und Keimgutfeuchte.

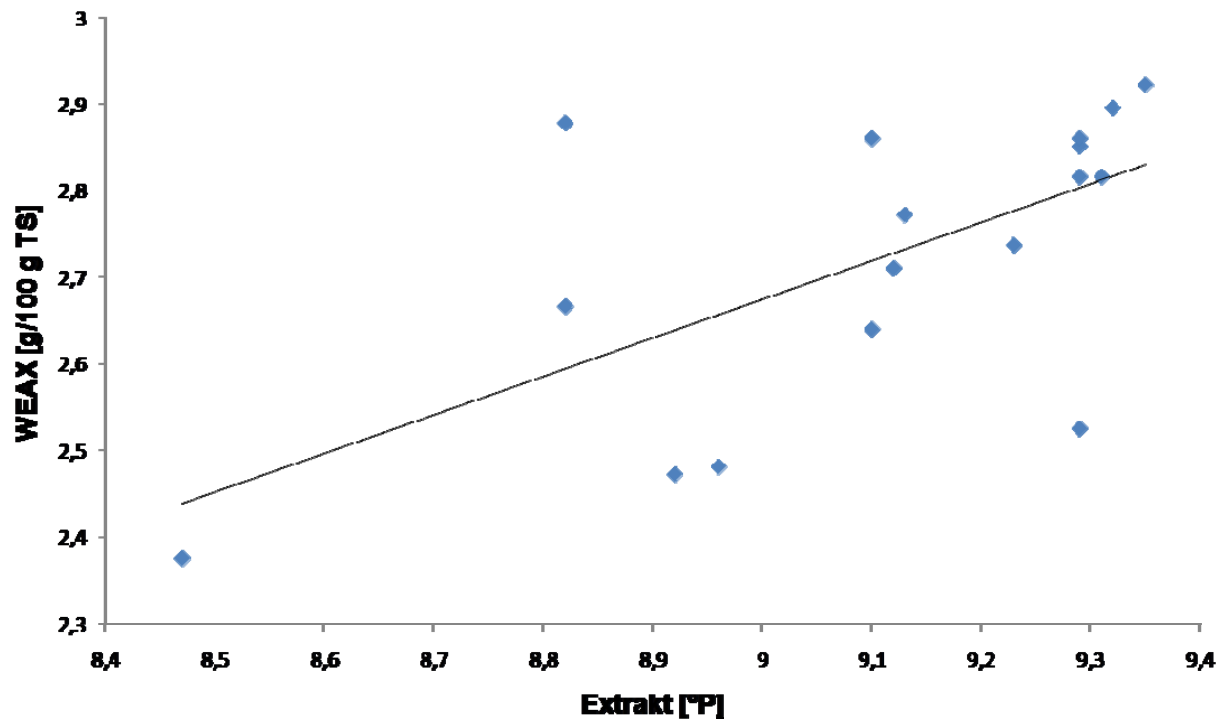


Abbildung 8 Zusammenhang zwischen Extrakt und WEAX bei Roggenmalz



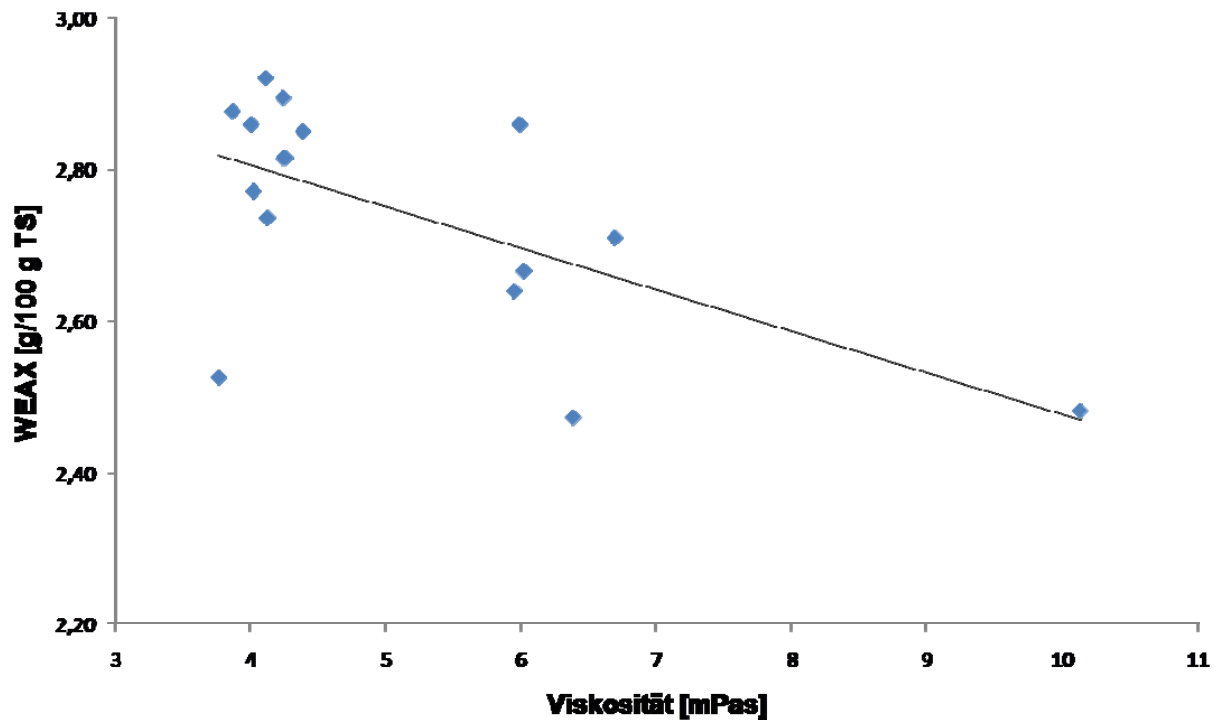


Abbildung 9 Zusammenhang zwischen WEAX und Viskosität bei Roggenmalz

#### 4.1.2.5 Weizen [33, 42]

In Weizen wurde während der Mälzung ein konstanter Anstieg des WEAX-Gehaltes von 0,78 g/100 g TS auf 1,54 g/100 g TS gemessen. Die stärkste Zunahme fand während der ersten Keimtage statt. Schwelk- und Darrprozess zeigten keinen Einfluss.

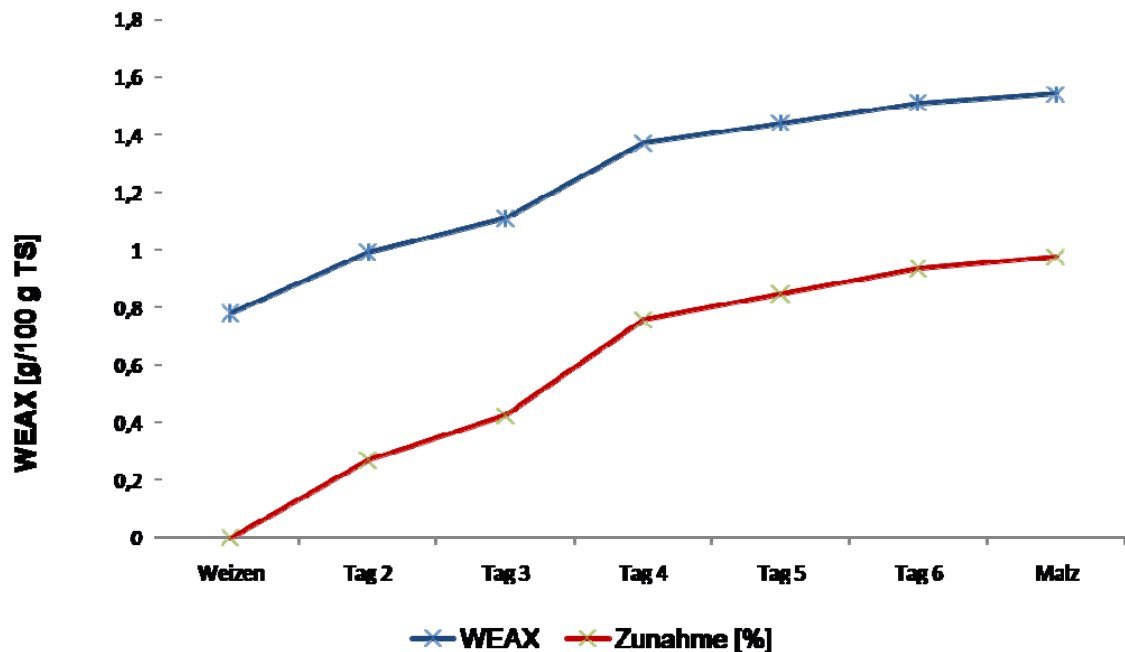


Abbildung 10 Zunahme von WEAX bei der Keimung von Weizen

Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0015 signifikant. Die Weizenmalze hatten Extraktwerte zwischen 84,7 und 86,8 % TS, Würzeviskositäten zwischen 1,64 und 1,86 mPas und WEAX-Gehalte von 1,13 bis 1,58 g/100 g TS. Eine positive Tendenz konnte zwischen Extrakt und WEAX-Gehalt gesehen werden, Viskosität und WEAX-Gehalt korrelieren negativ.

Von den analysierten Keimungsparametern hatte statistisch gesehen lediglich die Keimtemperatur einen signifikanten Effekt auf den resultierenden WEAX-Gehalt. Bei gleicher Keimgutfeuchte bewirkten höhere Temperaturen steigende Werte.

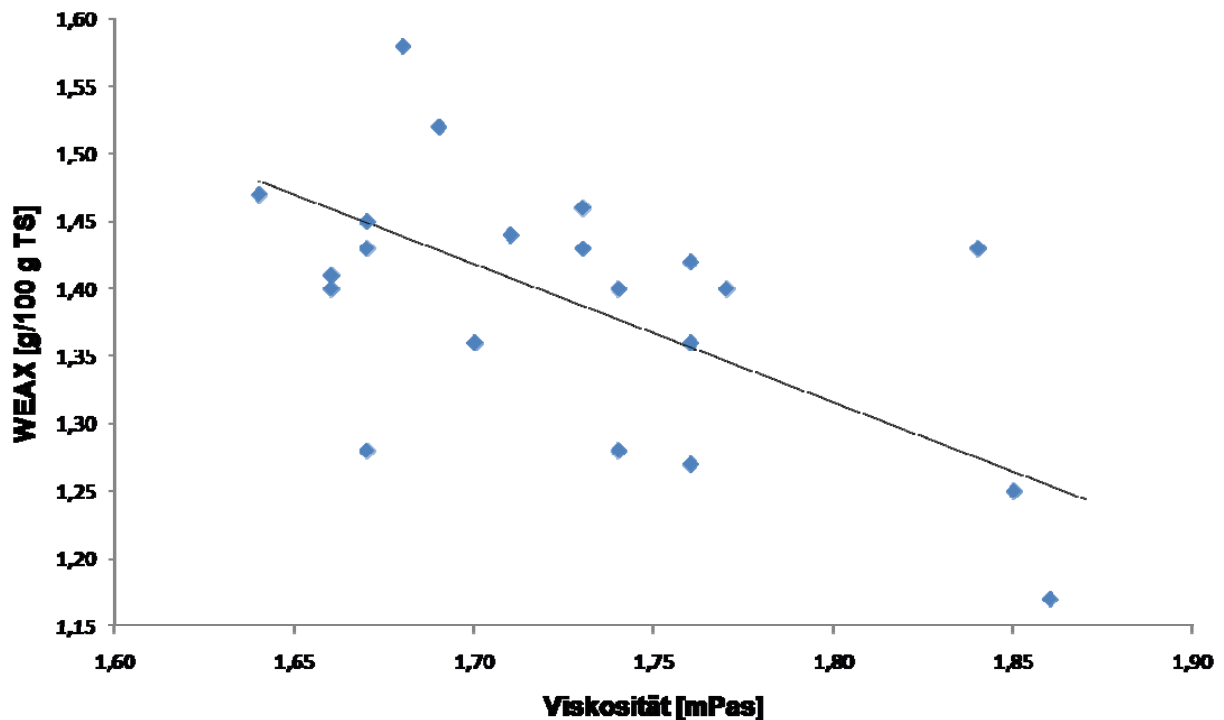


Abbildung 11 Zusammenhang zwischen WEAX und Viskosität bei Weizenmalzwürzen

#### 4.1.3 AX und WEAX im Brauprozess [42]

Zu Beginn des Maischprozesses wurde ein relativ schneller Anstieg des in der Maische gelösten AX gemessen. Anschließend wurden keine nennenswerten Veränderungen des Quotienten aus AX und Extrakt festgestellt. Dieser Quotient wurde als Maßstab genommen, da er bestens die Veränderungen der Würzekonzentrationen darstellt, wie sie im traditionellen Brauprozess, bedingt durch Treberauslaugung und Verdampfung bei der anschließenden Würzekochung auftreten. Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse zeigen, dass es keine Einflussmöglichkeit durch Variation der Maischparameter auf den Gesamt WEAX-Gehalt in Würze gibt. In Malz konnte bei den untersuchten Temperaturen keinerlei arabinosylanlösende Enzymaktivität gezeigt werden. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass xylolytisch wirkende Enzyme noch aktiv sind und die in Lösung befindlichen AX-Moleküle degradieren. Da durch die verwendete Methode jedoch keine Aussage hinsichtlich Molekülgröße und PG gemacht werden kann, war eine solche Wirkung nicht

messbar. In Abbildung 12 ist neben dem gemessenen Extraktverlauf auch der Verlauf an WEAX und das Verhältnis von WEAX zu Extrakt aufgetragen. Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit wurde der WEAX-Gehalt dabei mit 5 multipliziert und der Quotient aus beiden Einheiten mit 50.

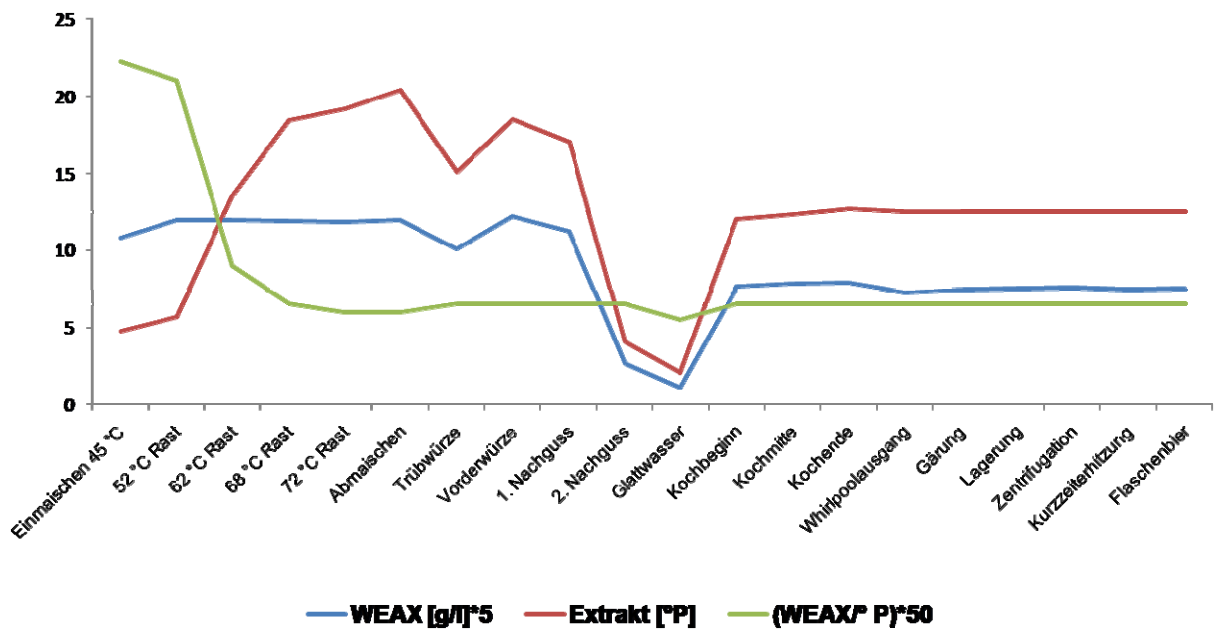


Abbildung 12 WEAX und Extrakt im Brauprozess (Beispiel Weißbier)

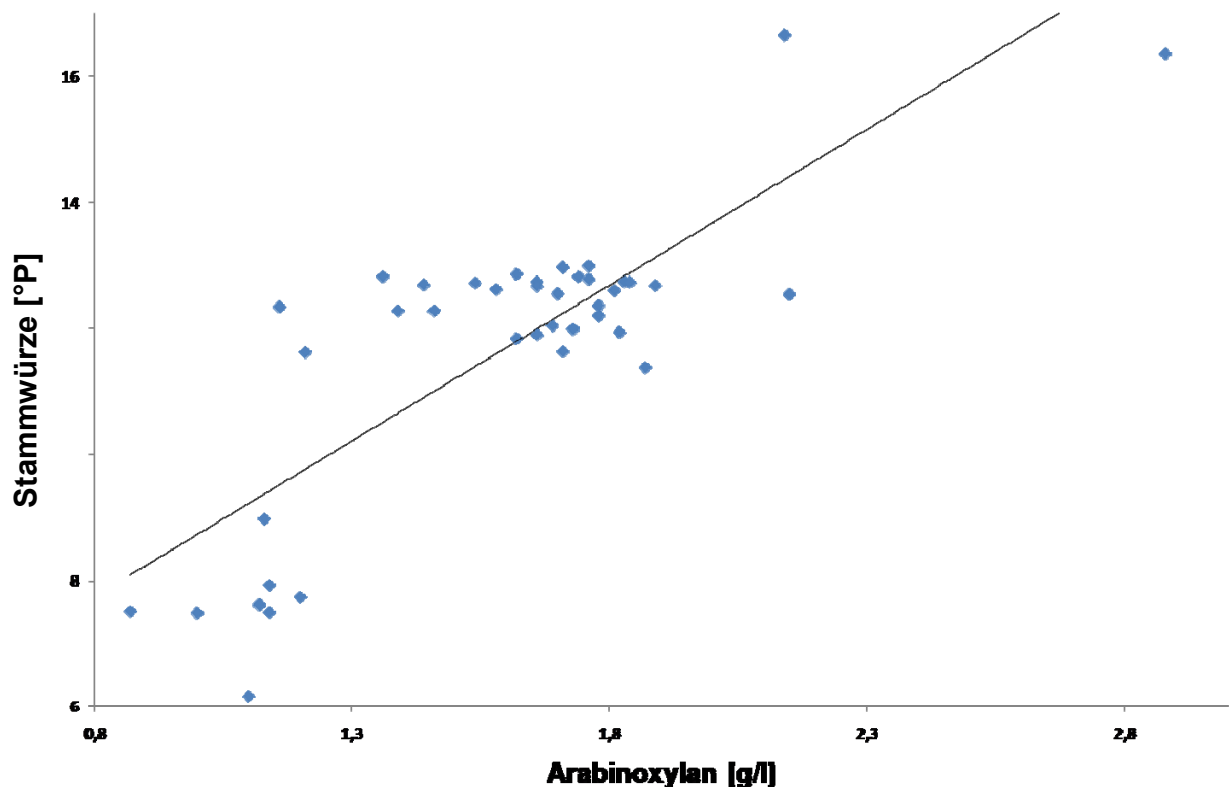


Abbildung 13 Korrelation zwischen Extraktgehalt und WEAX bei deutschen Weißbieren

Aus Abbildung 13 wird ersichtlich, dass der WEAX-Gehalt in handelsüblichen Weißbieren vor allem von der Menge des eingesetzten Malzes abhängt. Des weiteren spielt auch das Verhältnis Weizenmalz zu Gerstenmalz eine Rolle, nicht jedoch das angewandte Herstellungsverfahren abhängt. Zu diesem Ergebnis kam auch eine Studie von Courtin et al. [254].

#### 4.1.4 Fructan

##### 4.1.4.1 Dinkel

In unvermälztem Dinkel konnte ein Fructangehalt von 1,11 g/100 g TS gemessen werden. In den ersten beiden Keimtagen nahm dieser Gehalt ab und stieg anschließend bis auf 140 % des Ausgangswertes, auf 1,75 g/100 g TS, an. Da Fructane Pflanzen primär als

leicht angreifbare Reservekohlenhydrate dienen und mit einer erhöhten Frostverträglichkeit der Pflanzen assoziiert werden [261], erscheint es sinnvoll, dass der auf kargen Böden und in frostigen Regionen gedeihende Dinkel bei nahezu idealen Keimungsbedingungen, wie sie während der Mälzung herrschen, dieses Kohlenhydrat synthetisiert.

#### **4.1.4.2 Gerste**

Bei der Keimung von Gerste konnten ab dem ersten Keimtag erhöhte Werte an freien Zuckern, Glucose, Saccharose, Maltose und Maltotriose gemessen werden. Fructose lag nur in Spuren vor. Der Fructangehalt zeigte über den Keimungsprozess keine signifikanten Veränderungen und lag bei niedrigen Werten von unter 1 g/100 g TS.

#### **4.1.4.3 Roggen**

Im Keimungsprozess von Roggen konnten keine signifikanten Veränderungen des Fructangehaltes festgestellt werden [42, 253].

#### **4.1.4.4 Weizen**

Im Keimungsprozess von Weizen konnten keine aussagekräftigen Unterschiede im Fructangehalt gemessen werden [42, 253].

#### **4.1.4.5 Fructan im Brauprozess**

Ebenso wie WEAX konnte auch auf den Gesamtfructangehalt kein Einfluss des Maisch- und Sudprozesses festgestellt werden. In abgefüllten Bieren konnten jedoch nur Spuren nachgewiesen werden. Fructane werden durch die Brauereihefe verwertet, welche sie mittels des Exoenzyms  $\beta$ -Fructosidase extrazellulär spaltet und die resultierenden

Monosaccharide verstoffwechseln kann. Während einer zehntägigen Gärphase werden so über 90 % der Fructane metabolisiert.

Auch die Würzekochung dürfte einen depolymerisierenden Effekt auf Fructanmoleküle haben. Da die Messmethode für die Quantifizierung der Fructane ebenso wie diejenige für AX und andere Polysaccharide keine Aussagen über die Molekülgröße zulässt, wurde der Einfluss der Kochung exemplarisch an kommerziell erhältlichen Fructanen, Inulin, Oligofructose und als Vergleich Pullulan untersucht. Als Messgröße diente hierbei die Molekülanzahl pro Menge Flüssigkeit, welche als Osmolalität mittels Kryoskopie bestimmt wurde. Während der Kochung der Reinsubstanzen stieg die Osmolalität bei den beiden untersuchten Zuckern stark an.

**Tabelle 2 Veränderung der Osmolalität durch Kochen von Polysacchariden**

Zucker	Konzentration [g/l]	Osmolalität vor der Kochung [mosmol/kg]	Osmolalität nach der Kochung [mosmol/kg]	PG vor der Kochung	PG nach der Kochung
Pullulan	20,0	1,7	3,0	72,4	41
Oligofructose	101,6	126	302,0	4,9	2,0
Inulin	50,0	48	274,0	6,3	1,0
Dahlienulin	12,5	1,4	3,0	55	25,6

#### 4.1.5 Thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>)

Der Einfluss der variierten Keimungsparameter auf den Gehalt an Vitamin B<sub>1</sub> der untersuchten Getreide wird im Folgenden für jedes Getreide individuell diskutiert.

##### 4.1.5.1 Dinkel

In Dinkelmalz wurden wasserextrahierbare Thiamingehalte zwischen 389 und 561 µg/100 g TS gemessen.

Das verwendete Modell war mit einem P-Wert von 0,0001 statistisch signifikant. Den stärksten Einfluss auf den resultierenden Thiamingehalt zeigte dabei die Keimtemperatur, gefolgt von Weichgrad und der Kombination der beiden Parameter. Ein signifikanter Einfluss der Keimzeit konnte für Dinkel nicht festgestellt werden.

Die höchsten Gehalte an Vitamin B<sub>1</sub> wurden bei 45 % maximaler Keimgutfeuchte und 17 °C Keimtemperatur, die niedrigsten bei 45 % maximalem Weichgrad und 15 °C gemessen.

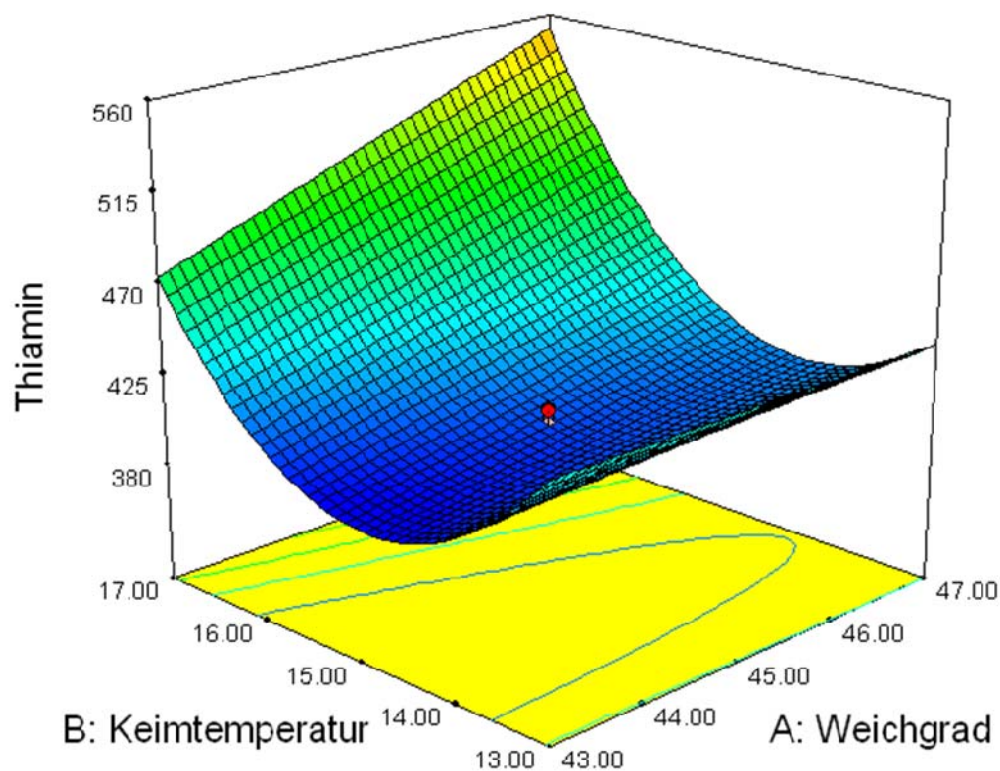


Abbildung 14 von Keimtemperatur und Weichgrad auf den Thiamingehalt von Dinkelmalz ( $R^2=0,774$ )

#### 4.1.5.2 Gerste

In den untersuchten Gerstenmalzen wurden wasserextrahierbare Thiamingehalte zwischen 319 und 371  $\mu\text{g}/100\text{ g TS}$  gemessen.



Das statistische Modell hatte einen p-Wert von 0,0325. Keimtemperatur und Keimzeit zeigten den größten Einfluss auf die resultierenden Thiamingehalte in Gerste, die Keimgutfeuchte hatte keinen bedeutenden Einfluss.

Die höchsten Thiamingehalte wurden bei einer Keimzeit von 7 Tagen, einer maximalen Keimgutfeuchte von 42 % und einer Keimtemperatur von 15 °C, die niedrigsten nach 5 Tagen, einer Temperatur von 12 °C und bei einem Weichgrad von 45 % erreicht.

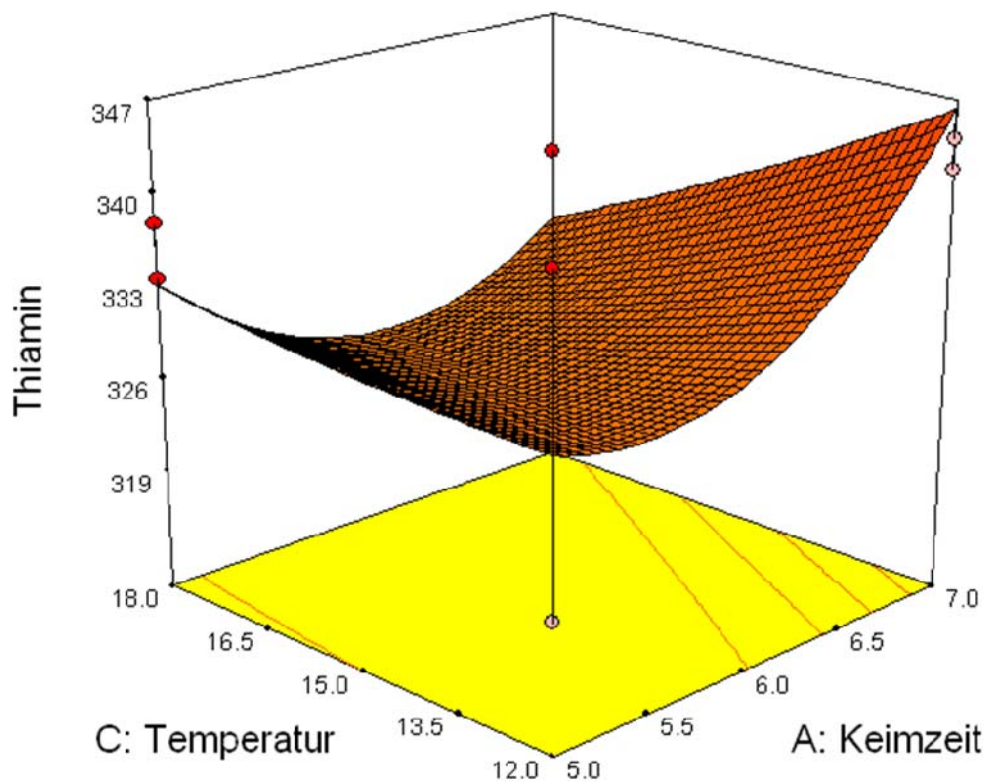


Abbildung 15 Einfluss von Keimtemperatur und Keimzeit auf den Thiamingehalt von Gerstenmalz

#### 4.1.5.3 Hafer

In den untersuchten Hafermalzen wurden Würzethiamingehalte zwischen 100 und 211 µg/100 g TS gemessen.

Das statistische Modell hatte einen p-Wert von 0,0141. Den stärksten Einfluss auf den Gehalt an B<sub>1</sub> in den Würzen zeigte die Keimtemperatur, gefolgt von der Keimzeit.

Der höchste Thiamingehalt wurde bei 5 Tagen Keimzeit, 47 % Keimgutfeuchte und 12 °C Keimtemperatur, der niedrigste nach 6 Tagen, bei 18 °C und 45 % maximalem Weichgrad gemessen.

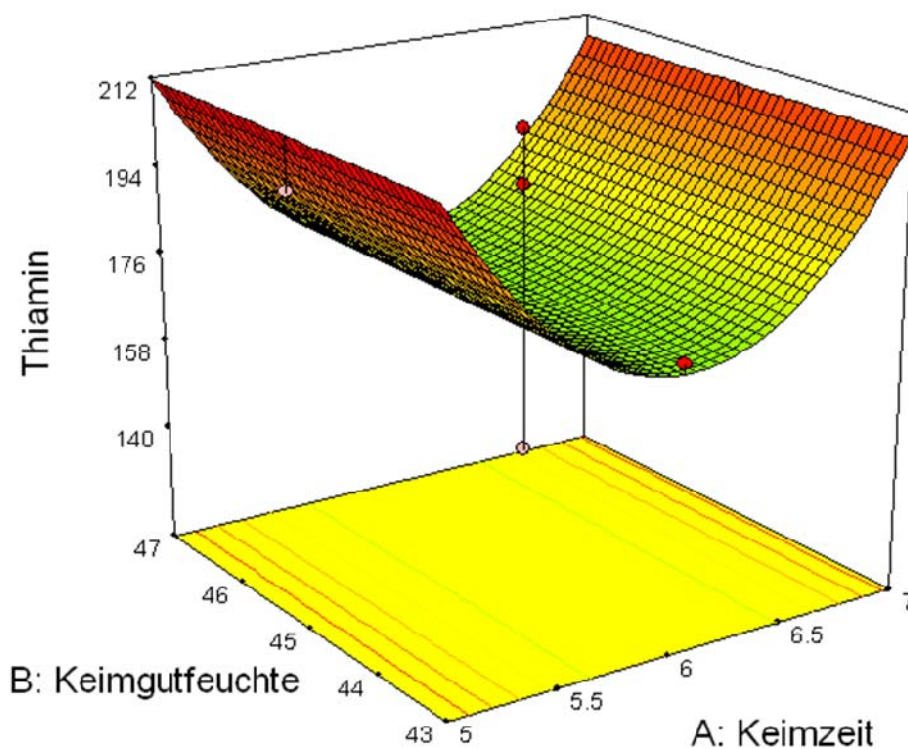


Abbildung 16 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Thiamingehalt von Hafermalz

#### 4.1.5.4 Roggen

In den untersuchten Roggenmalzen wurden Thiamingehalte zwischen 274 und 341 µg/100 g TS gemessen.

Das verwendete Modell war mit einem P-Wert von 0,0001 statistisch signifikant. Alle drei variierten Keimungsparameter zeigen einen signifikanten Einfluss auf die resultierenden

Gehalte an Vitamin B<sub>1</sub>. Der stärkste Einfluss konnte hierbei für die Keimtemperatur, gefolgt von der Keimgutfeuchte und der Keimdauer gemessen werden.

Die höchsten Werte konnten mit den Mälzungsparametern 5 Keimtage, 50 % Keimgutfeuchte und 20 °C Keimtemperatur, die niedrigsten bei 5 Tagen, 40 % maximalem Weichgrad und 10 °C erzielt werden.

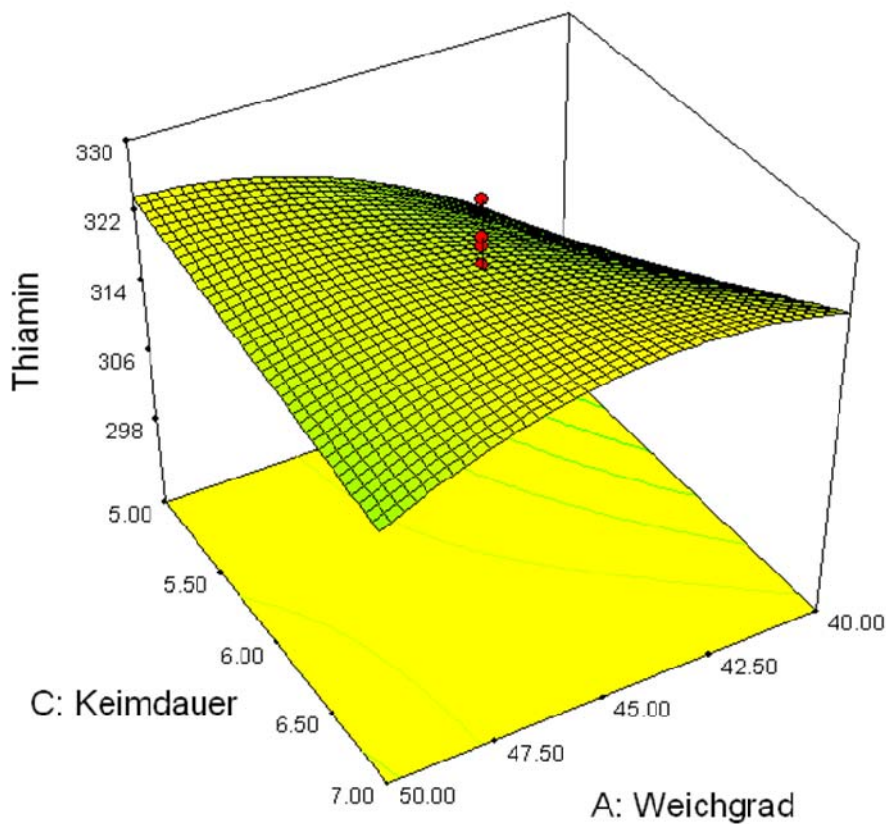


Abbildung 17 Einfluss von Keimdauer und Weichgrad auf den Thiamingehalt von Roggen ( $R^2=0,914$ )

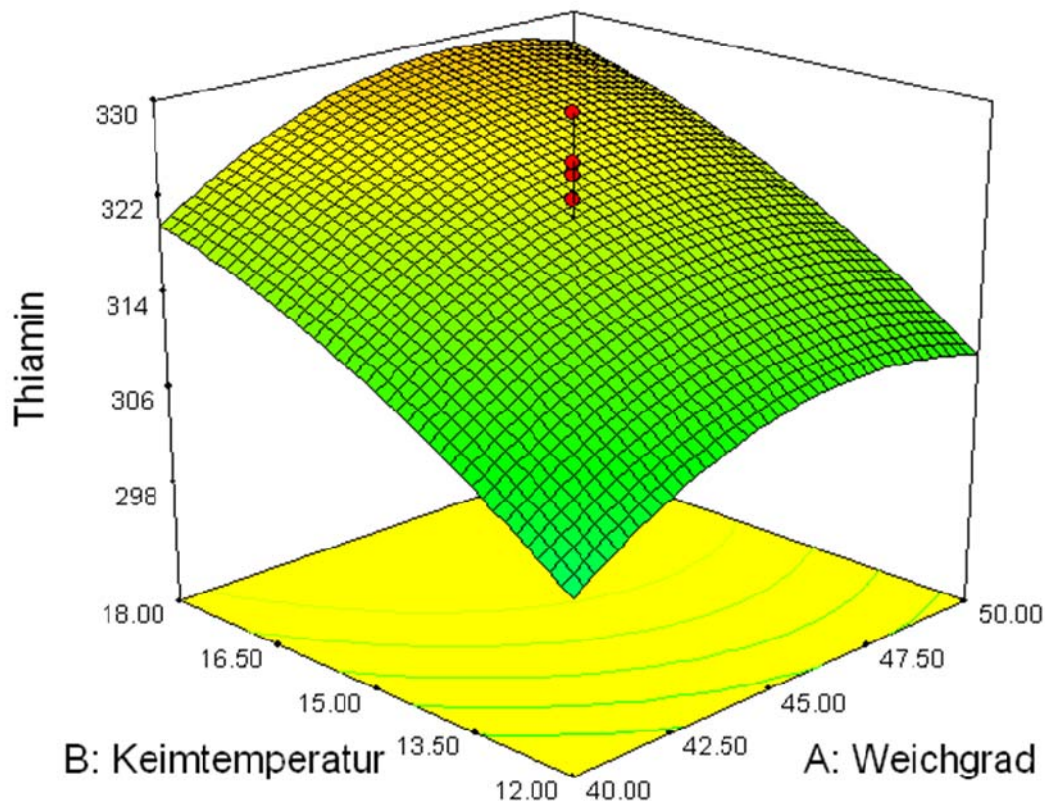


Abbildung 18 Einfluss von Keimtemperatur und Keimgutfeuchte auf den Thiamingehalt von Roggenmalzen ( $R^2=0,914$ )

#### 4.1.5.5 Weizen

In den analysierten Weizenmalzen wurden Thiamingehalte zwischen 337 und 435 g/100 g TS gemessen.

Das verwendete Modell zeigte keinen statistisch signifikanten Einfluss der Mälzungsparameter auf den Vitamin B<sub>1</sub> Gehalt des fertigen Weizenmalzes.

Der höchste Wert wurde bei 12 °C Keimtemperatur, der niedrigste bei 15 °C gemessen. Die Keimzeit war jeweils 6 Tage und die maximale Keimgutfeuchte 45 %.

#### **4.1.5.6 Einfluss des Brauprozesses auf den Thiamingehalt**

Im Brauprozess konnten keine signifikanten Änderungen des Thiamingehaltes der Würze festgestellt werden [262]. Im Laufe der Gärung erfolgte eine rapide Abnahme um bis zu 90 %.

#### **4.1.5.7 Thiamin während der Milchsäuregärung**

Im Gegensatz zur alkoholischen Gärung konnte während milchsaurer Fermentation (*L. amylolyticus*) keine Veränderung des Thiamingehaltes festgestellt werden.

### **4.1.6 Riboflavin**

#### **4.1.6.1 Dinkel**

Während der Keimung von Dinkel konnte eine stetige Zunahme des Riboflavingehaltes von 46 µg/100 g TS auf 152 µg/100 g TS festgestellt werden. Diese Zunahme entspricht einer Steigerung um mehr als 230 % [98, 262].

In den untersuchten Dinkelmalzen wurden Riboflavinkonzentrationen von 118,5 bis 186,4 µg/100 g TS gemessen. Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0001 signifikant. Den stärksten Einfluss auf den resultierenden Riboflavingehalt in Dinkelwürzen zeigte die Keimzeit, gefolgt von der Keimtemperatur.

Die höchsten Riboflavingehalte wurden bei einer Keimzeit von 6 Tagen, einer Keimgutfeuchte von 43 % und einer Keimtemperatur von 15 °C, die niedrigsten nach 5 Tagen Keimung bei einer Temperatur von 13 °C und einem maximalen Weichgrad von 47 % festgestellt.

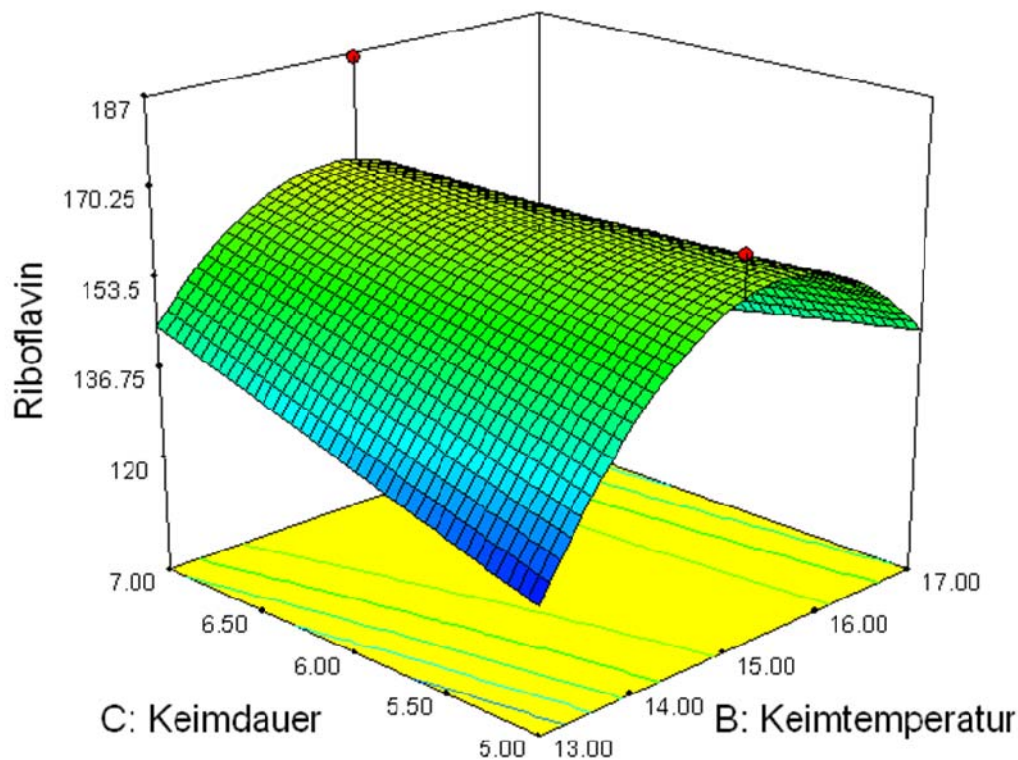


Abbildung 19 Einfluss von Keimdauer und Keimtemperatur auf den Riboflavingehalt von Dinkelmalz ( $R^2=0,672$ )

#### 4.1.6.2 Gerste

In Gerstenmalzwürzen wurden Riboflavingehalte zwischen 91,8 und 180,1  $\mu\text{g}/100\text{ g TS}$  gemessen.

Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0001 signifikant. Alle variierten Keimungsparameter zeigten einen Einfluss auf den resultierenden Riboflavingehalt.

Den stärksten Einfluss zeigte dabei die Keimzeit, gefolgt von Keimtemperatur und Keimgutfeuchte. Die höchsten Werte wurden bei einer Keimzeit von 7 Tagen, einer Keimgutfeuchte von 45 % und einer Keimtemperatur von 18 °C, die niedrigsten nach 5 Tagen mit einem maximalen Weichgrad von 37 % und einer Temperatur von 15 °C gemessen.



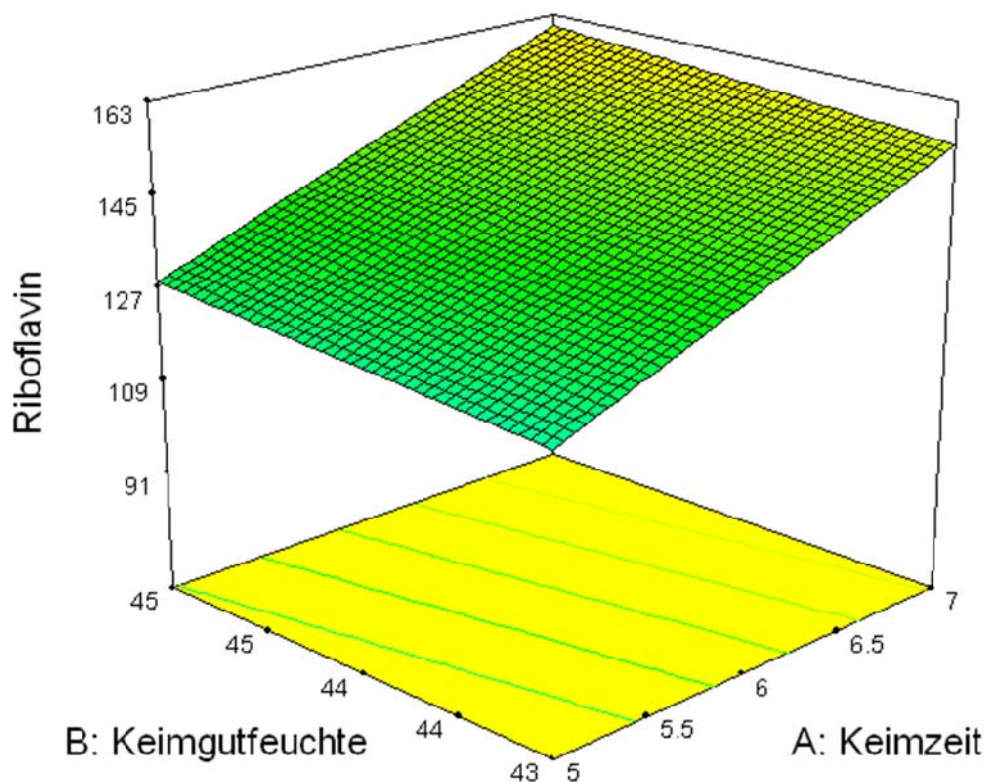


Abbildung 20 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Riboflavingehalt von Gerstenmalz ( $R^2=0,730$ )

#### 4.1.6.3 Hafer

In den analysierten Hafermalzen wurden Riboflavingehalte zwischen 54 und 117  $\mu\text{g}/100 \text{ g}$  TS gemessen.

Das statistische Modell hatte einen p-Wert von 0,0649. Von den untersuchten Keimungsparametern zeigte die Keimtemperatur, gefolgt von der Keimzeit, den stärksten Einfluss auf den resultierenden  $B_2$ -Gehalt der Würzen.

Die höchsten Werte wurden in Malz mit den Keimungsparametern 7 Keimtage, 47 % Keimgutfeuchte und 12 °C und die niedrigsten nach 6 Tagen Keimung, bei 18 °C und einem maximalen Wassergehalt von 45 % gemessen.

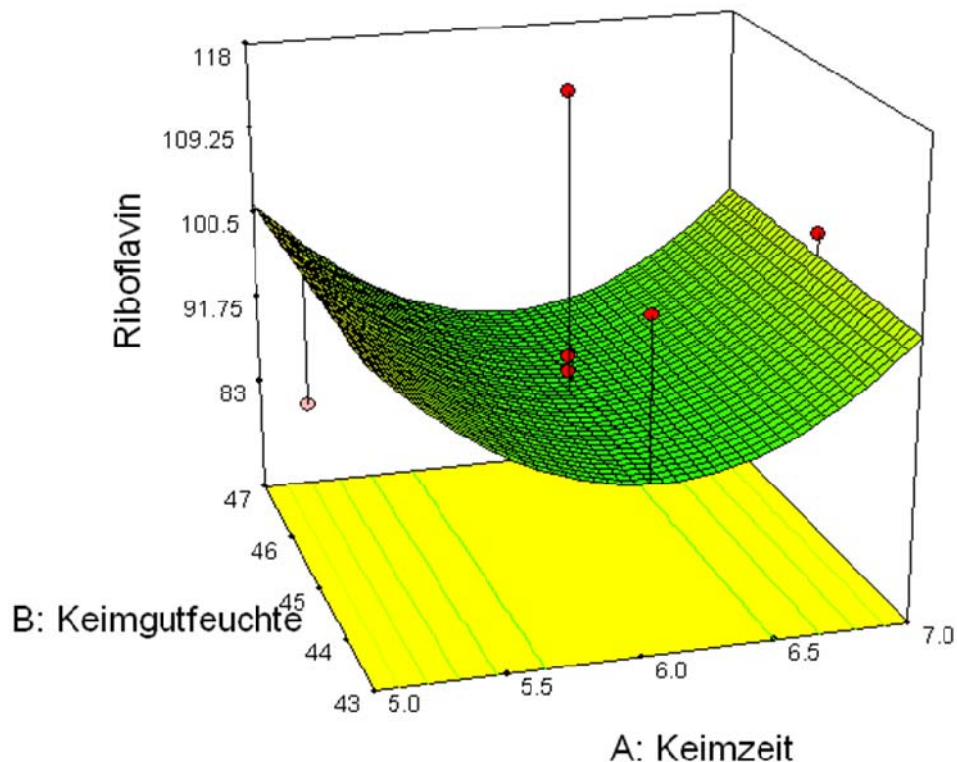


Abbildung 21 Einfluss von Keimgutfeuchte und Keimzeit auf den Riboflavingehalt von Hafermalz

#### 4.1.6.4 Roggen

In den analysierten Roggenwürzen wurden Riboflavingehalte von 102,3 bis 218,7  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  TS gemessen.

Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0001 signifikant. Alle drei Keimungsparameter zeigten einen Einfluss auf den resultierenden Riboflavingehalt. Den stärksten zeigte die Keimgutfeuchte, gefolgt von Keimtemperatur und der Keimdauer.

Die höchsten Werte wurden bei einer Keimzeit von 6 Tagen, einer maximalen Keimgutfeuchte von 55 % und einer Keimtemperatur von 15 °C, die niedrigsten nach 6 Keimtagen bei einer Temperatur von 15 °C und einem Weichgrad von 35 % gemessen.



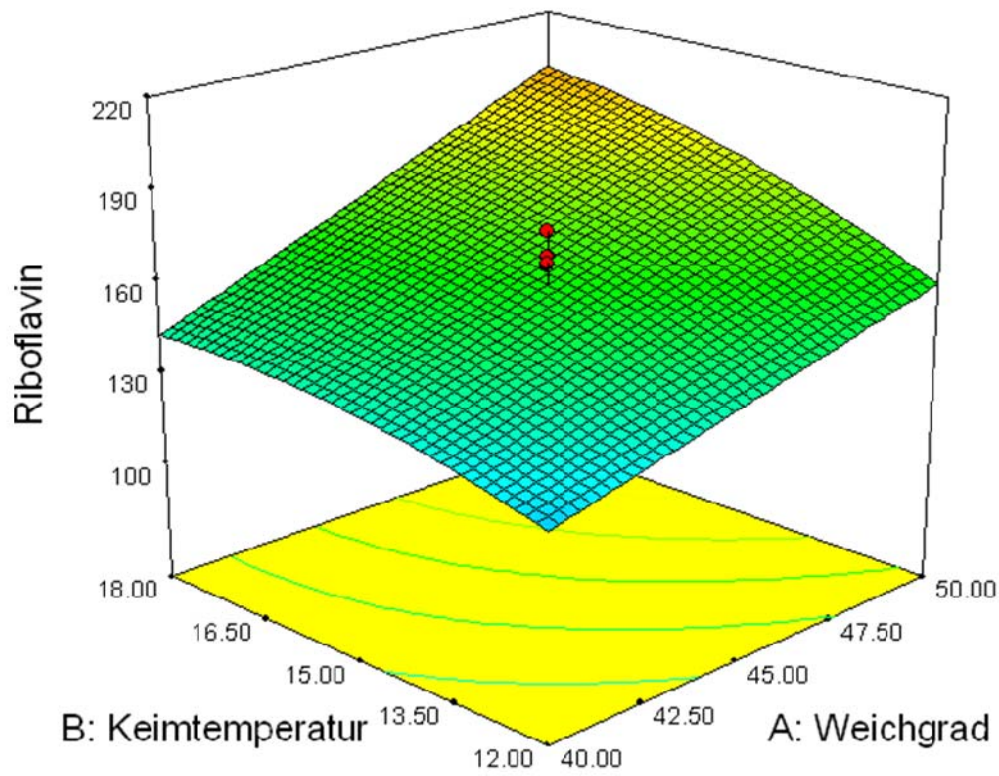


Abbildung 22 Einfluss von Keimtemperatur und Weichgrad auf den Riboflavingehalt von Roggenmalzwürzen ( $R^2=0,904$ )

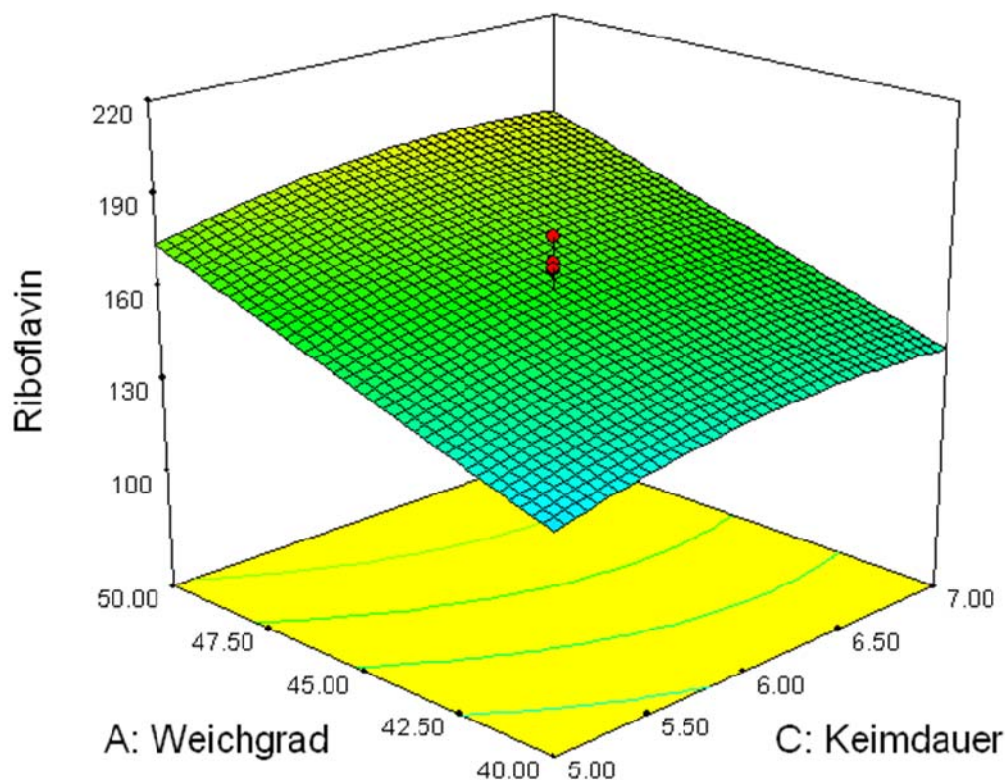


Abbildung 23 Einfluss von Weichgrad und Keimdauer auf den Riboflavingehalt von Roggenmalz ( $R^2=0,904$ )

#### 4.1.6.5 Weizen

In den untersuchten Weizenmalzen wurden wasserextrahierbare Riboflavingehalte zwischen 85 und 167  $\mu\text{g}/100\text{ g TS}$  gemessen.

Das statistische Modell hatte einen p-Wert von 0,0428. Alle variierten Keimungsparameter zeigten einen Einfluss auf den B<sub>2</sub>-Gehalt, den stärksten die Keimdauer, gefolgt von Keimtemperatur und Keimgutfeuchte.

Die höchsten Riboflavinwerte wurden nach 6 Tagen Keimung bei 12 °C und einer Keimgutfeuchte von 45 %, die niedrigsten nach 5 Keimtagen, einer Keimtemperatur von 12 °C und einem maximalen Weichgrad von 42 % gemessen.

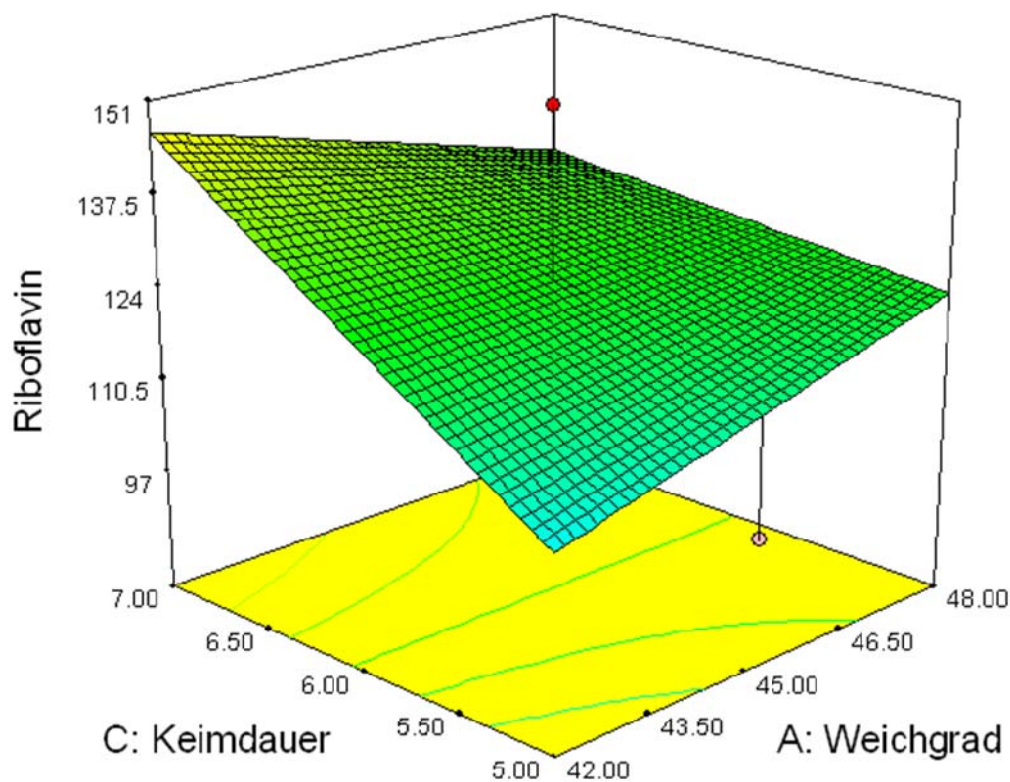


Abbildung 24 Einfluss von Keimdauer und Weichgrad auf den Riboflavingehalt von Weizenmalz

#### 4.1.6.6 Einfluss des Brauprozesses auf den Riboflavingehalt

Im Laufe der Würzekochung konnten keine Veränderungen des Riboflavingehaltes festgestellt werden. Während der Gärung wurden Zunahmen auf 110 bis 125 % festgestellt

#### 4.1.6.7 Einfluss der Milchsäuregärung auf den B<sub>2</sub>-Gehalt

Während der milchsäuren Fermentation (*L. amylolyticus*) konnte ein Abfall der B<sub>2</sub>-Konzentration auf 33 % des Ausgangswertes beobachtet werden.

## 4.1.7 Cobalamin

Vitamin B<sub>12</sub> wurde in dieser Arbeit in Hafermalzen und alkoholfreien Weißbieren gemessen.

### 4.1.7.1 Einfluss der Mälzung

Die Ergebnisse der Cobalaminmessung in Hafermalz und die zugehörigen Keimungsparameter sind in Tabelle 4.2 gezeigt. Es konnte kein aussagekräftiges Modell für einen Zusammenhang zwischen den Keimungsparametern und dem resultierenden B<sub>12</sub>-Gehalt der Malze gefunden werden. Da Cobalamin von Pflanzen weder gebildet noch benötigt wird, ist davon auszugehen, dass das Wachstum von Mikroorganismen während der Keimung auf den Körnern in unterschiedlich starkem Ausmaß stattfindet und die Unterschiede bedingt. Eine gezielte Erhöhung des B<sub>12</sub> Gehaltes von verschiedenen Malzen durch Animpfen mit cobalaminbildenden Starterkulturen erscheint jedoch ein vielversprechender Ansatz zu sein.

**Tabelle 3 Cobalamingehalt von Hafermalzen**

Probe	Keimzeit [Tage]	Keimgutfeuchte [%]	Keimtemperatur [°C]	Cobalamin [ $\mu\text{g}/100 \text{ g TS}$ ]
1	7	43	12	1,62
2	7	43	12	1,38
3	6	45	15	1,38
4	7	47	18	1,26
5	7	47	12	1,53
6	5	43	12	1,56
7	6	45	15	1,38
8	5	43	18	1,17
9	7	43	18	1,14
10	5	47	18	1,41
11	7	45	15	1,20

---

12	5	43	18	1,26
13	5	43	12	1,14
14	6	47	15	1,20

#### 4.1.7.2 Alkoholfreie Weißbiere

In Abbildung 25 ist der Zusammenhang zwischen dem Cobalamingehalt verschiedener alkoholfreier Weißbiere und dem jeweiligen Extraktgehalt dargestellt. Die positive Tendenz zwischen den beiden Parametern zeigt, dass, wie auch bei den WEAX die Menge an verwendetem Malz die primäre Einflussgröße ist, weniger das Produktionsverfahren. Auch dürften bei Cobalamin die Produktionsbedingungen in der Mälzerei und damit verbunden die Keimbelastung der Körner sowie die jahrgangsbedingte Keimbelastung vom Feld eine Rolle spielen. Da in der gezeigten Analyse sowohl Biere, die nach dem Verfahren des „gestoppten Gärers“ hergestellt waren, als auch entalkoholisierte Biere und Biere, die mit gemischten Verfahren hergestellt wurden eingingen, lässt sich ersehen, dass keine Metabilisierung durch die Brauereihefe im Gärprozess stattfindet.

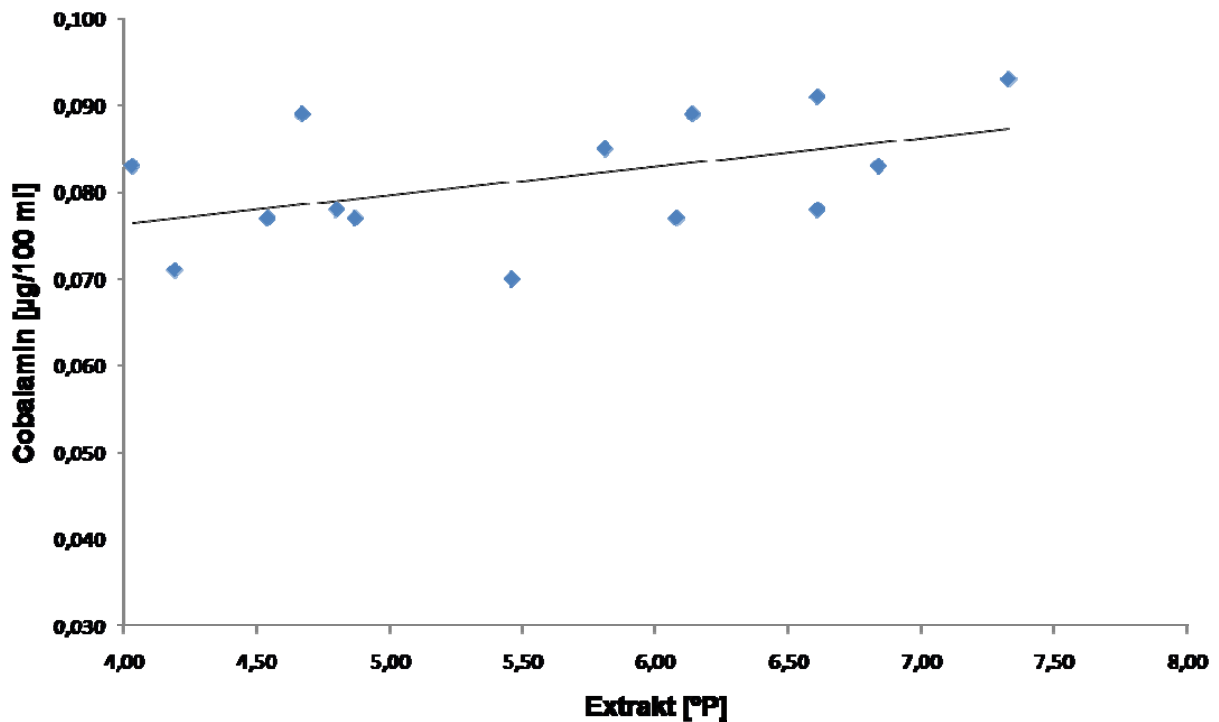


Abbildung 25 Zusammenhang zwischen Cobalamin und Extrakt bei alkoholfreien Weißbieren

## 4.2 Buchweizen

Buchweizen fristet bis heute ein Nischendasein unter den Getreide- und Pseudogetreidesorten. In der Bierherstellung im Geltungsbereich des sogenannten „Deutschen Reinheitsgebotes“ ist die Verwendung von Buchweizen als Rohstoff durch das „Vorläufige Biergesetz“ seit dem 25. März 1952 verboten [263]. Dieses Verbot hat bis heute dafür gesorgt, dass auch für die Malzindustrie Buchweizen nicht von Relevanz war. Aus diesem Grund existieren auch bis heute keine Spezifikationen zur Bewertung verschiedener Buchweizen. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Buchweizensorten mit Saatgutqualität untersucht, mit dem Ziel, solche Spezifikationen zu erstellen. Im Folgenden werden die untersuchten Parameter kurz mit den jeweiligen Analysenwerten dargestellt.

## **4.2.1 Rohstoffdifferenzierung [264]**

### **4.2.1.1 Handbonitierung**

Das ungeschälte Buchweizenkorn ist dunkelbraun, zwischen 4 und 6 mm groß und hat die Form einer Buchecker. Die geschälten Körner sind hellbraun bis beige und 3 bis 4 mm groß.

Die Schalen der untersuchten Proben waren teilweise geöffnet oder leicht beschädigt. Im Ausputz waren zusätzlich kleine, geschälte Körner und fremdes Getreide zu finden. Die geschälten Proben waren größtenteils nur leicht beschädigt. Als Ursache für die geringe Beschädigung der Körner kann der Abrieb während des Schälvorgangs gesehen werden. Ein geringer Teil der Körner war stark beschädigt oder sogar halbiert. Der Keimling war bei den halbierten Körnern meist beschädigt oder nicht vorhanden.

Der Buchweizen hat ein nussiges Aroma. Die Proben haben im gemahlenden Zustand einen sehr intensiven Geruch. Die ungeschälten Körner riechen nach frischem Getreide, während die geschälten einen leicht käsigen Geruch haben.

Das Korn des tatarischen Buchweizens ist länger und schmaler als das des gewöhnlichen Buchweizens. Das Korn ist wie der gewöhnliche Buchweizen zwischen 4 und 6 mm groß. Die Schale ist dunkelbraun bis schwarz.

### **4.2.1.2 Tausendkorngewicht**

Ungeschälte Buchweizen sollten ein Tausendkorngewicht zwischen 25 und 30 g aufweisen. Bei geschälten Chargen sollte dieses zwischen 20 und 22 g liegen. Tartarischer Buchweizen hat ein Tausendkorngewicht von etwa 16 g bezogen auf die Korntrockenmasse.

#### **4.2.1.3 Hektolitergewicht**

Das Hektolitergewicht des tartarischen Buchweizens lag bei 67 kg.

#### **4.2.1.4 Sortierung**

Buchweizen weist höhere Ausputzwerte auf als übliche Getreidearten. Dieser sollte bei einer Sortierung mit einer handelsüblichen Gerstensortiermaschine nicht über 5 % liegen.

#### **4.2.1.5 Verkleisterungstemperatur**

Die Verkleisterungstemperaturen ungeschälter Buchweizen lagen zwischen 68 und 73,2 °C und damit höher als diejenigen der jeweiligen geschälten Muster, die alle Verkleisterungstemperaturen von knapp unter 70 °C aufwiesen. Der untersuchte tartarische Buchweizen zeigte eine Verkleisterungstemperatur von 66,7 °C.

#### **4.2.1.6 Keimenergie und Wasserempfindlichkeit**

Die untersuchten Proben zeigten keinerlei Wasserempfindlichkeit. Von den geschälten Körnern keimten nach 4 Tagen 98 – 100 %, wobei auch halbe Körner auskeimten. Von den ungeschälten Körnern zeigten 80 % nach 4 Tagen sichtbares Keimlingswachstum.



### 4.2.1.6 Rutingehalt

Der Rutingehalt der untersuchten Buchweizensorten variierte zwischen 8,0 und 26,1 mg/100 g TS. Die tartarische Sorte Lifago weist einen Rutingehalt von 1298 mg/100 g TS auf. Im Hinblick auf die ernährungsphysiologische Wirkung von Rutin als potentiell gesundheitsförderlichem Inhaltsstoff in Buchweizen und Buchweizenmalz ist eine Selektierung nach dem Rutingehalt sinnvoll und empfehlenswert.

**Tabelle 4 Rutingehalte verschiedener Buchweizensorten (n.v. = Probe nicht verfügbar)**

Sorte	Herkunft	Rutin geschält [mg/100 g TS]	Rutin ungeschält [mg/100 g TS]
unbekannt	Tschechien	8,0	10,4
unbekannt	Polen	10,5	9,3
unbekannt	China	15,2	n.v.
Lileja	Schweiz	n.v.	16,5
Sobena	Deutschland	n.v.	18,3
Lorena	Deutschland	n.v.	16,8
Astra	Polen	n.v.	26,1
Lifago	Deutschland	n.v.	1298

### 4.2.2 Flavonoide

In einer mehrfachen, statistisch variierten Mälzung wurde die Anreicherung der Flavonoide Rutin, Vitexin, Orientin, Isovitexin und Homoorientin im Mälzungsprozess untersucht und optimierte Parameter definiert [148].

#### 4.2.2.1 Rutin [148]

Der Rutingehalt in den untersuchten Buchweizenmalzen lag zwischen 17,5 und 102,1 mg/100 g TS.

#### **4.2.2.2 Orientin [148]**

Der Orientingehalt in den untersuchten Malzen lag zwischen 1,0 und 80,9 g/100 g TS.

#### **4.2.2.3 Vitexin [148]**

In den untersuchten Malzen wurden Vitexingehalte von 1,0 bis 91,7 mg/100 g TS gefunden.

#### **4.2.2.4 Isovitexin**

In den untersuchten Malzen wurden Isovitexingehalte zwischen 1,2 und 154,7 mg/100 g TS gemessen.

Der höchste Isovitexingehalt wurde nach 6 Keimtagen bei 24 °C und einer resultierenden Keimgutfeuchte von 60 % gefunden, der niedrigste nach 6 Tagen bei 12 °C und einem maximalen Wassergehalt von 54 %.

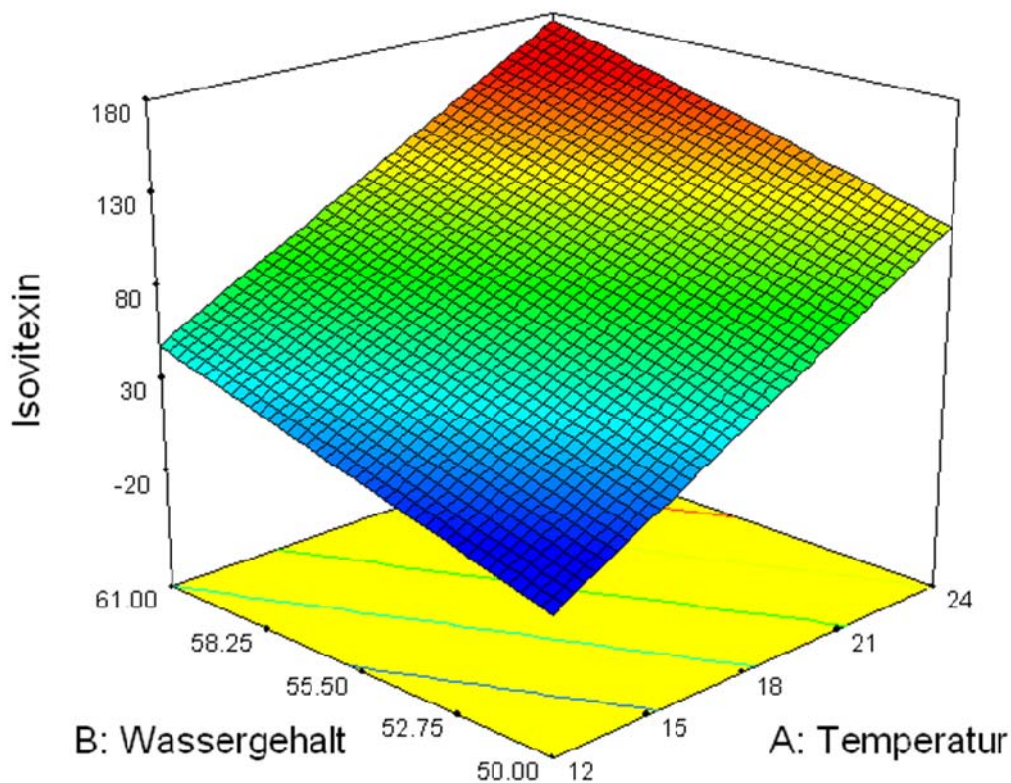


Abbildung 26 Einfluss von Wassergehalt und Temperatur auf den Isovitexingehalt von Buchweizenmalzen ( $R^2=0,919$ )

#### 4.2.2.5 Homoorientin

Die untersuchten Buchweizenmalz wiesen Homoorientingehalte zwischen 1,3 und 140,0 mg/100 g TS auf.

Die höchsten Werte wurden nach 8 Keimtagen bei 18 °C und 61 % Keimgutfeuchte, die niedrigsten nach 6 Tagen bei 12 °C und einem maximalen Weichgrad von 54 % gefunden.

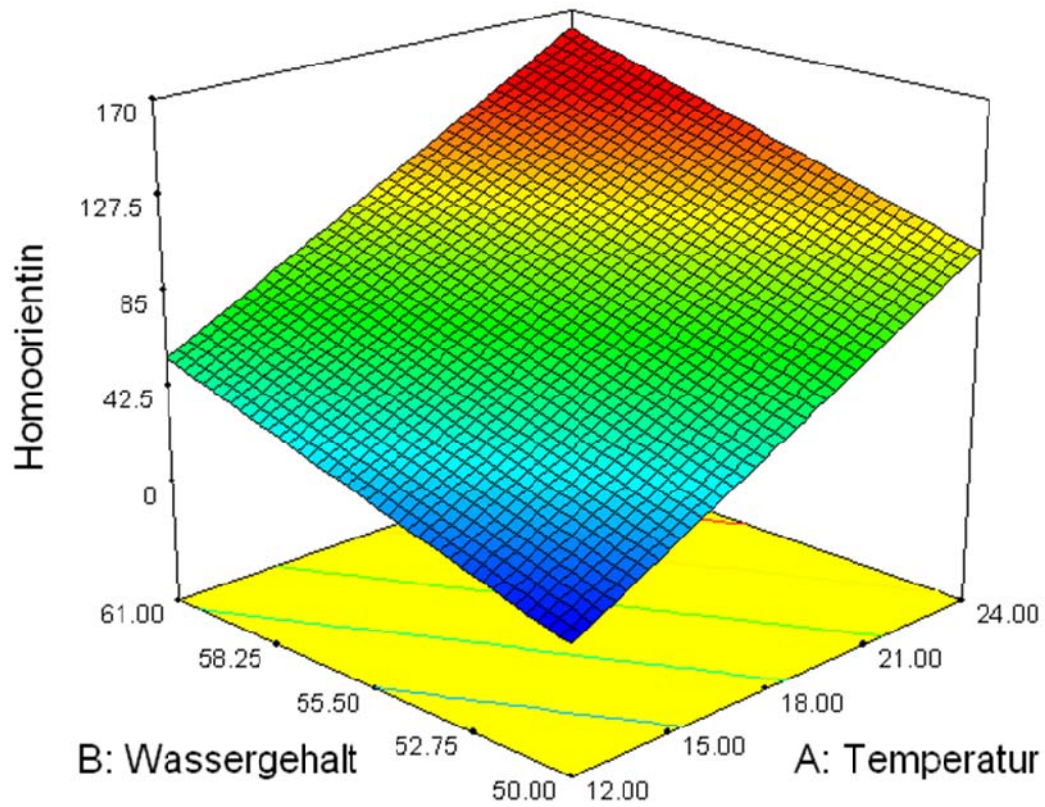


Abbildung 27 Einfluss von Wassergehalt und Temperatur auf den Homooorientingehalt von Buchweizenmalz ( $R^2=0,830$ )

#### 4.2.2.6 Rutin während der Keimung von Buchweizen

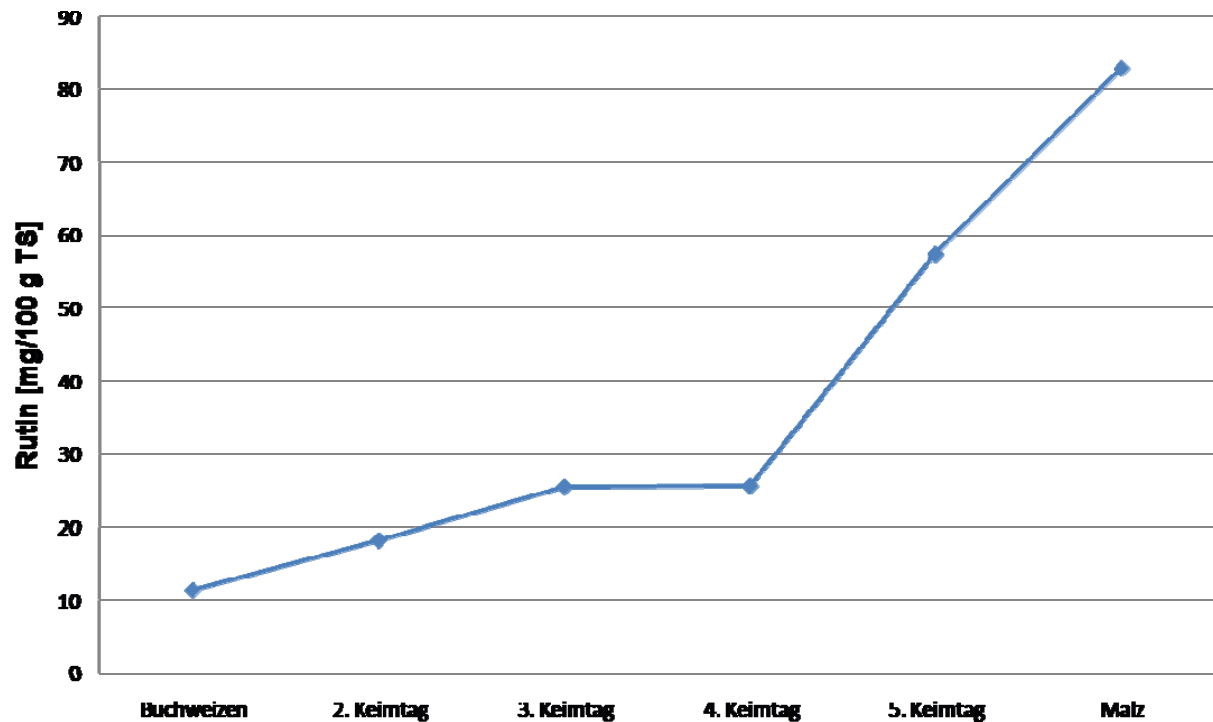


Abbildung 28 Zunahme des Rutingehaltes bei der Vermälzung von Buchweizen

In der Buchweizenkeimung konnte ein zunächst mäßiger und ab dem vierten Keimtag steiler Anstieg der Rutingehalte gemessen werden. Mit die höchsten Gehalte wurden in den abgetrennten Keimlingen gemessen [265].

#### 4.2.3 Flavan-3-ole

##### 4.2.3.1 Catechin

In unvermälztem Buchweizen wurden 2,7 mg/100 g TS Catechin gefunden. In den Buchweizenmalzen lag der Catechingehalt zwischen 8,5 und 17,3 mg/100 g TS.

Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0062 signifikant. Den stärksten Einfluss auf den resultierenden Catechingehalt hatte die Keimtemperatur, gefolgt von der Keimzeit.

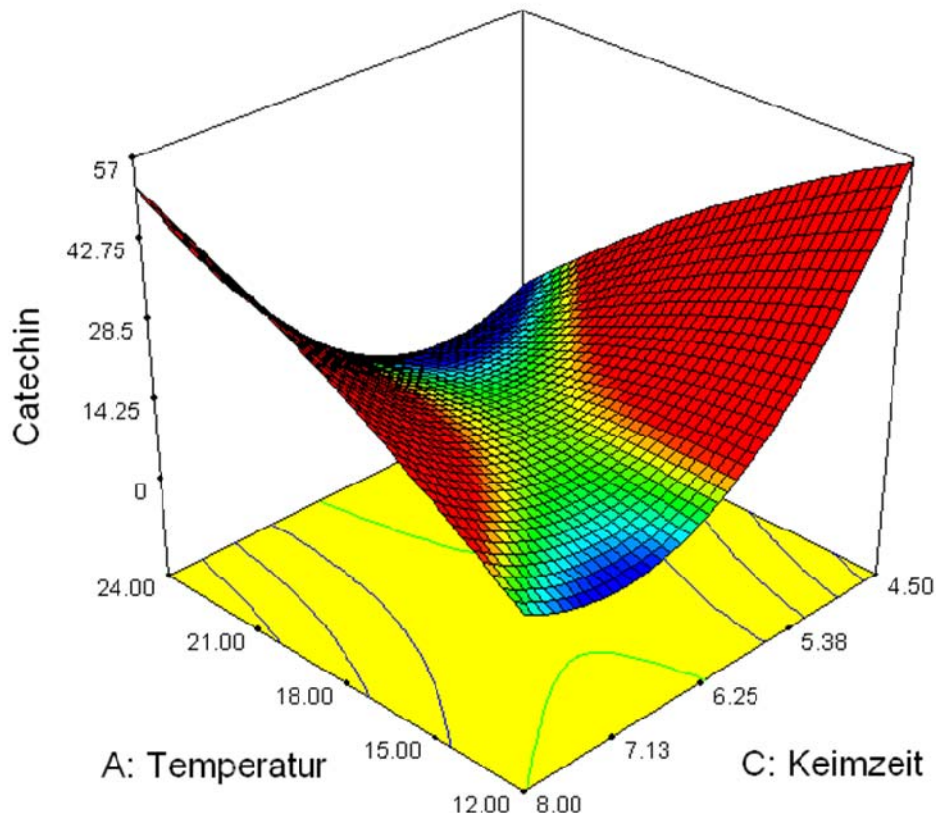


Abbildung 29 Einfluss von Temperatur und Keimzeit auf den Catechingehalt von Buchweizenmalz ( $R^2=0,975$ )

#### 4.2.3.2 Epicatechin

In unvermälztem Buchweizen wurden 13,9 g/100 g TS Epicatechin gefunden. In den vermälzten Proben lag der Gehalt zwischen 10,2 und 38,9 mg/100 g TS.

Das statistische Modell war mit einem p-Wert von 0,0002 signifikant. Den stärksten Einfluss auf den resultierenden Epicatechingehalt hatte die Keimtemperatur, gefolgt von der Keimzeit.

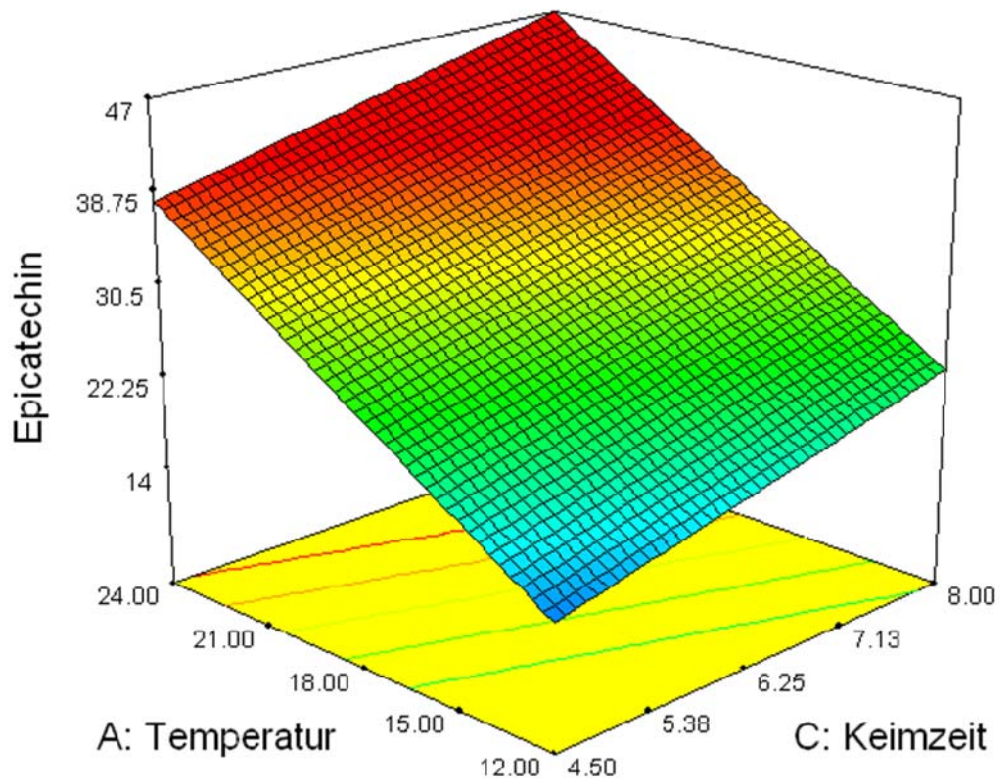


Abbildung 30 Einfluss von Keimtemperatur und Keimzeit auf den Epicatechingehalt von Buchweizenmalzen ( $R^2=0,821$ )

#### 4.2.4 Vitamine

Während der Keimung von Buchweizen wurde ein Thiaminanstieg von 147 auf 173  $\mu\text{g}/100\text{ g TS}$  festgestellt. Der Riboflavingehalt stieg von 0,72 auf 1,41  $\text{mg}/100\text{ g TS}$  an [265].

#### **4.2.5 Maischarbeit**

Buchweizen bildet beim Maischen eine hochviskose, gelartige, schleimartige Flüssigkeit. Durch endogene Enzyme ist diese nicht aufzulösen, allerdings handelt es sich auch nicht um einen mangelnden Stärkeabbau, der über die Jodprobe nachvollziehbar wäre. Bei Verwendung von technischen Enzymen zeigt sich im Labormaßstab, dass eine Zugabe von Amyloglucosidase und beta-glykosidischen Enzymen zumindest eine halbwegs normale Filtrationszeit erlaubt. Allerdings ist ein kompletter Ablauf bei Buchweizen nur selten zu beobachten, es werden jedoch vertretbare Viskositätswerte erreicht und auch der EVG liegt bei Werten über 70 %, was für Buchweizen das anzustrebende Ziel zu sein scheint. Der Einsatz kommerzieller viskositätsvermindernder Enzyme zeigte keine positiven Effekte auf Viskosität und Filtrierbarkeit. Auch eine Zugabe von proteolytischen Enzymen hatte keinen positiven Effekt.

Versuche zur Verarbeitung von Buchweizenmalz in der Brauereitechnologie haben es jedoch bis heute nicht geschafft, eine ausreichend zuverlässige Technologie zu finden um in vertretbarer Zeit Maischen und Würzen herstellen zu können. Weitere Arbeiten auf diesem Gebiet sind erforderlich.

#### ***4.3 Einfluss von Malz und Maischverfahren auf die Osmolalität***

Der Einfluss verschiedener Maischverfahren und Variationen der Malzschüttung auf die resultierenden Würzeparameter wurde untersucht [266]. Bei den untersuchten Malzen wurde eine gute Korrelation zwischen dem Extraktgehalt der Würzen und der resultierenden Würzeosmolalität gefunden. Ein Effekt der verschiedenen Maischverfahren auf die Osmolalität konnte nicht gefunden werden, eine Auswirkung wurde einzig über die Beeinflussung der Extraktgehalte gefunden. Die Auswirkungen der unterschiedlichen Maischverfahren auf löslichen Stickstoff,  $\beta$ -Glucan und freie Zucker war deutlich ausgeprägter als auf den Extraktgehalt und die Osmolalität.



Tabelle 5 Einfluss verschiedener Maischverfahren auf die Kongresswürze

Probe	Osmolalität [mosmol/kg]	$\beta$ -Glucan [mg/l]	Extrakt [% GG]	Lösl. N [mg/l]	$\Sigma$ Zucker [g/l]
Pilsener HK	296,6	455,3	8,85	765,3	63
Pilsener Eyben	304,6	256,2	8,9	772,9	73,5
Pilsener 1 MV	301,4	373,4	8,84	641,9	64,4
Pilsener 2 MV	281,8	431,5	8,57	790,1	50,9
Münchener HK	288,2	293,8	8,83	990,2	60,2
Münchener Eyben	296,6	305,9	8,92	1035,8	64,3
Münchener 1 MV	294,2	331	8,77	986,4	38
Münchener 2 MV	283,1	368,7	8,74	905,2	56,8
Weizenmalz HK	281,5	58,4	9,02	651,3	60
Weizenmalz Eyben	289,6	42,6	9,1	888,3	76,3
Weizenmalz 1 MV	285,8	60,6	9,06	764,3	62,9
Weizenmalz 2 MV	278,2	63,6	9,02	657,5	64,2
Dinkelmalz HK	243,3	170,9	8,1	1186,3	37,8
Dinkelmalz Eyben	240,4	129,2	8,22	1382,9	47,3
Dinkelmalz 1 MV	187,6	185,5	7,61	1387,8	21,3
Dinkelmalz 2 MV	184,1	221,3	7,52	1087,16	21,05

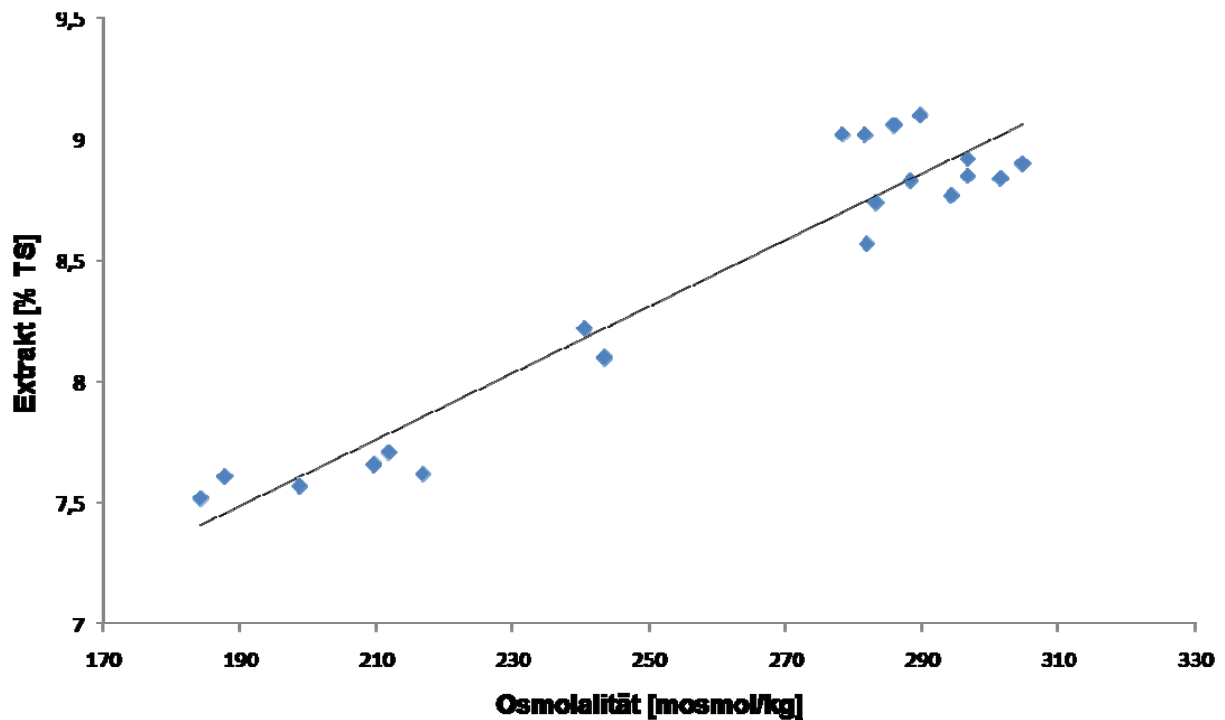


Abbildung 31 Extrakt und Osmolalität ( $R^2 = 0,92$ )

Eine gezielte Beeinflussung der resultierenden Würzeosmolalität ist lediglich über den Extraktgehalt und somit über die Malzschüttung möglich.

Bei Untersuchungen verschiedener Weizenmalze gleicher Sorte und Anbauggebiete konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der einzelnen Mälzungsparameter auf die resultierende Würzeosmolalität festgestellt werden. Einzig die Keimzeit scheint hier einen positiven Einfluss auszuüben, und eine weitgehende Auflösung des Kornes führte zu einer Erhöhung der gemessenen Werte. In den untersuchten Malzen konnte darüber hinaus keine signifikante Korrelation zwischen Extrakt und Osmolalität gemessen werden. Allerdings kann eine positive Tendenz gesehen werden, was die für die verschiedenen Maischverfahren gewonnenen Ergebnisse bestätigt.

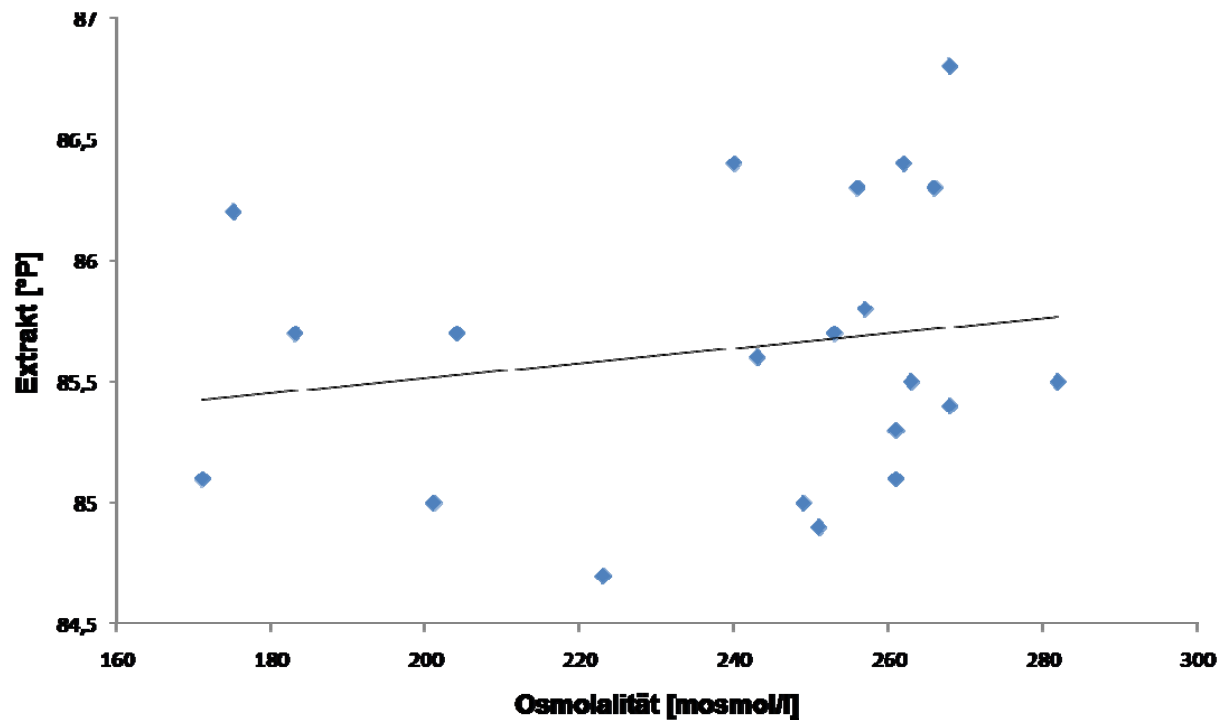


Abbildung 32 Zusammenhang von Osmolalität und Extrakt in verschiedenen Weizenmalzwürzen einer Sorte und Provenienz

Eine Übersicht über die Osmolalität verschiedener Getränke findet sich in Tabelle 6 sowie im Anhang [267].

Tabelle 6 Osmolalität verschiedener Getränke

	Getränk	Osmolalität (in mosmol/kg)
hypotonisch	Freisinger Leitungswasser	8,1
	Cola light	36,6
	Sport Grapefruit	56,6
	Water + X Getränk	188,3
	Sportdrink Kirsche	220,4
	Helles alkoholfrei	231,7
	Weißbier alkoholfrei	236,2
isotonisch	Sportdrink Kirsche	296,0
	Milch 1,5 % Fett	298,7
	Grapefruit-Lemon	300,2
	Sportgetränk Apfel-Kirsche-Zitrone	304,1
	Helles alkoholfrei	309,6

	Fitnessdrink Grapefruit-Zitrone	318,5
	Eistee	322,6
	Biermischgetränk Grapefruit	323,9
hypertonisch	Apfelschorle	379,2
	Apfel-Trauben-Schorle	419,7
	Spezi	483,5
	Cola	569,0
	ACE Saft	576,7
	Orangensaft	656,5
	Berliner Weiße mit Waldmeister	715,7
	Radler	738,7
	Colabier	1001,4
	Pils	1009,7
	Weißbier	1142,4

#### 4.4 Milchsäurefermentation

Im Folgenden werden Milchsäurefermentationen am Beispiel von Malzextrakt, der mit *Lactobacillus amylolyticus* bei 48 °C vergoren wurde, exemplarisch betrachtet.

##### 4.4.1 Gärverläufe

Im Verlauf der Gärungen konnte ein schneller Abfall des pH-Wertes von 5,3 auf 3,5 im Laufe des ersten Tages festgestellt werden. Nach dem siebten Gärtag konnte bei einem pH-Wert von knapp über 3 keine weitere Abnahme mehr gesehen werden, die Gärtätigkeit der Milchsäurebakterien wurde eingestellt. Der finale Milchsäuregehalt in der fermentierten Würze erreichte ein Maximum von unter 10 g/l.

Nach dem anfänglich zu beobachtenden starken pH-Abfall konnte eine signifikante Korrelation zwischen Milchsäuregehalt und dem entsprechenden pH-Wert festgestellt werden. Auch der durch die Gärung bedingte Osmolalitätsanstieg korrelierte signifikant mit den gemessenen Milchsäuregehalten [268].

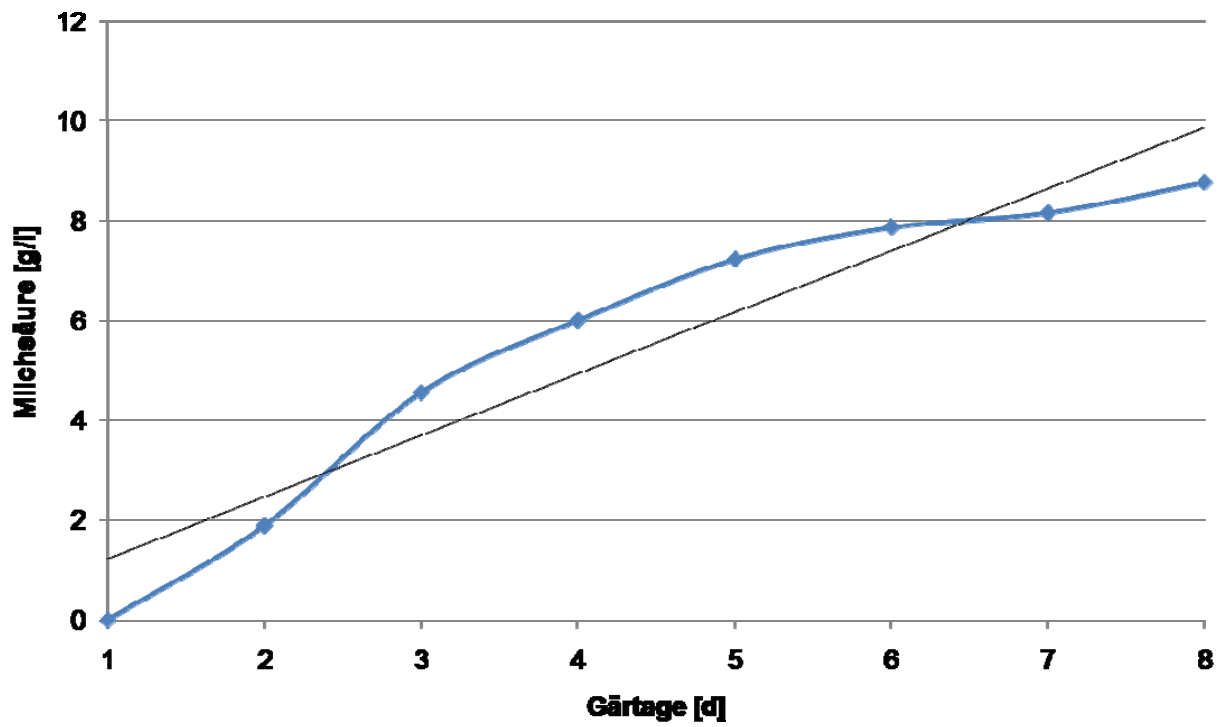


Abbildung 33 Entwicklung des Milchsäuregehaltes während der Gärung

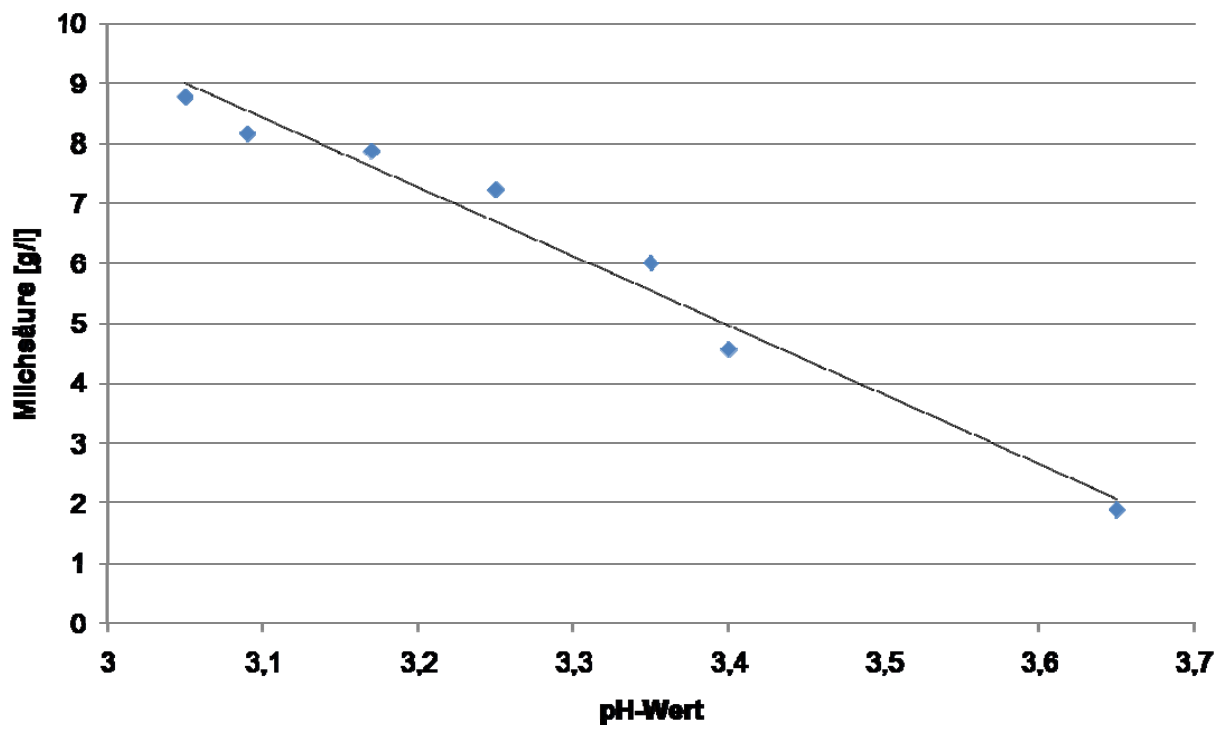


Abbildung 34 Korrelation von Milchsäuregehalt und resultierendem pH-Wert ( $R^2=0,973$ )

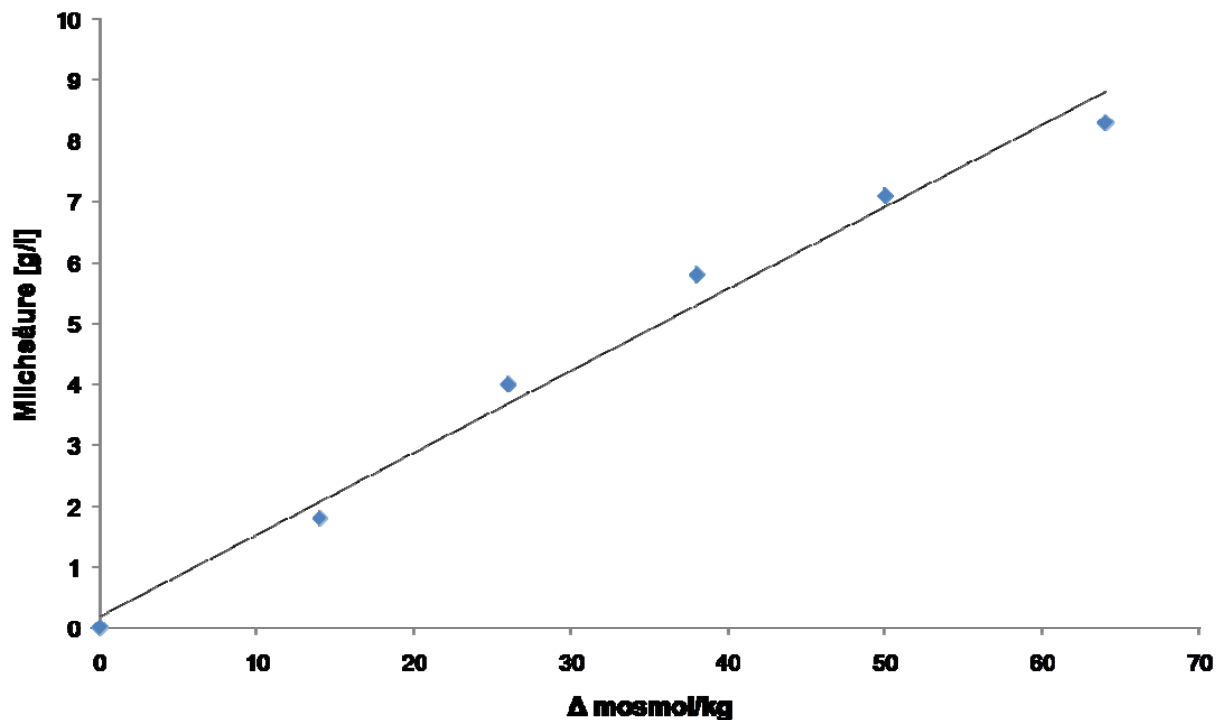


Abbildung 35 von Milchsäuregehalt und resultierendem Osmolalitätsanstieg ( $R^2=0,985$ ) [263]

#### 4.4.2 Würzearomastoffe bei der Milchsäuregärung [269]

Es wurden Würzearomastoffe des frischen, über 16, 40, 64 und 136 Stunden fermentierten Malzextrakts betrachtet. Bei der Auswahl der Substanzen wurde darauf geachtet, die zu wählen, die eine Veränderung zeigen und relevant erscheinen. Bei der vergleichenden Betrachtung der verschiedenen Ansätze fielen gleiche tendenzielle Änderungen auf. Nach der Art der jeweiligen Veränderung der Würzearomastoffe gab es Substanzen, die über die Dauer der Fermentation abnehmen, Substanzen, die zunehmen, aber auch Substanzen, die erst abnehmen, um dann gegen Ende der Fermentation wieder zuzunehmen. Die beiden Substanzen 2-Methylbutanal und 1-Octen-3-ol nahmen kontinuierlich ab. Nach anfänglichen Werten von 158  $\mu\text{g/l}$  wies 2-Methylbutanal gegen Ende Werte von 50,5  $\mu\text{g/l}$  auf. 1-Octen-3-ol nahm von 1,55  $\mu\text{g/l}$  auf 0,45  $\mu\text{g/l}$  ab. Die Konzentrationen der Substanzen Benzaldehyd, 2-Furfural,  $\gamma$ -Nonalacton, 2-Methylbutanol und 1-Pentanol stiegen über die Fermentation kontinuierlich an. Benzaldehyd erreicht nach Anfangswerten

von 6,00 µg/l Werte von 17,5 µg/l. 2-Furfural nimmt von 23 µg/l in der unvergorenen Probe auf 582 µg/l nach 64 h Fermentation und gegen Ende auf 1026,50 µg/l zu. 2-Methylbutanol stieg von Werten bei 4,00 µg/l auf Werte von 30,5 µg/l in der fermentierten Probe an. 1-Pentanol nahm von 2,00 µg/l auf 10,9 µg/l zu.

Die Gehalte an 3-Methylbutanal, 2-Phenylethanal, 2-ac-Furan und die Streckeraldehyde waren erst von einer Abnahme gekennzeichnet, woraufhin eine spätere Zunahme erfolgt. 3-Methylbutanal sank von 166 µg/l auf 27,5 µg/l in der 64 Stunden fermentierten Probe, um dann gegen Ende wieder Werte von 60,5 µg/l zu erreichen. Ähnliche Beobachtungen konnten für den zeitlichen Verlauf von 2-Phenylethanal gemacht werden. Nach einer anfänglichen Abnahme von 109 µg/l auf 27,5 µg/l stieg der Gehalt wieder auf 70,5 µg/l an. Auch die Streckeraldehyde nahmen von einem Anfangswert von 455 µg/l auf 126,5 µg/l, ab, um dann gegen Ende wieder einen Wert von über 190 µg/l zu erreichen. 2-ac-Furan nahm von Konzentrationen von 13 µg/l auf 7,2 µg/l ab, Endwerte waren 12,5 µg/l. In Abbildung 36 wird 2-Furfural, 2-Phenylethanal, 2-Methylbutanal, 3-Methylbutanal und die Summe der Streckeraldehyde, in Abbildung 37 1-Octen-3-ol, 1-Pentanol, 2-Methylbutanol, Benzaldehyd und 2-ac-Furan aufgetragen.

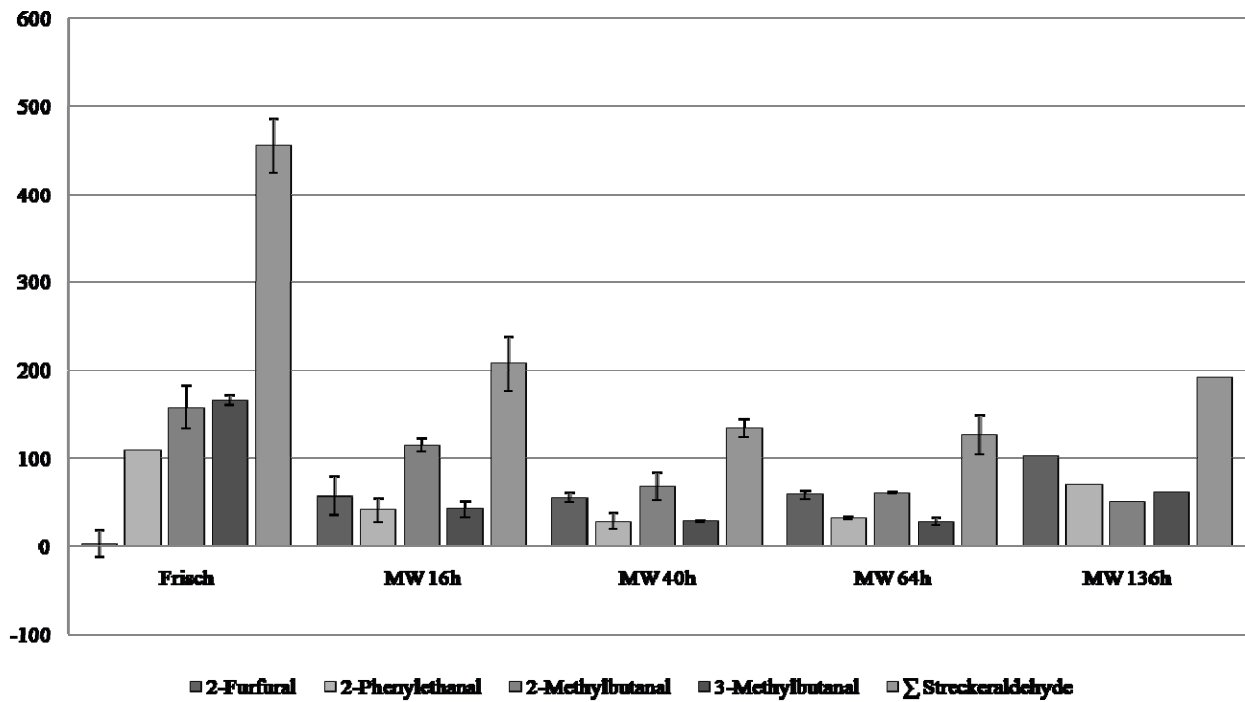


Abbildung 36 Entwicklung der Würzearomastoffe bei der Milchsäurefermentation von Malzextrakt 1

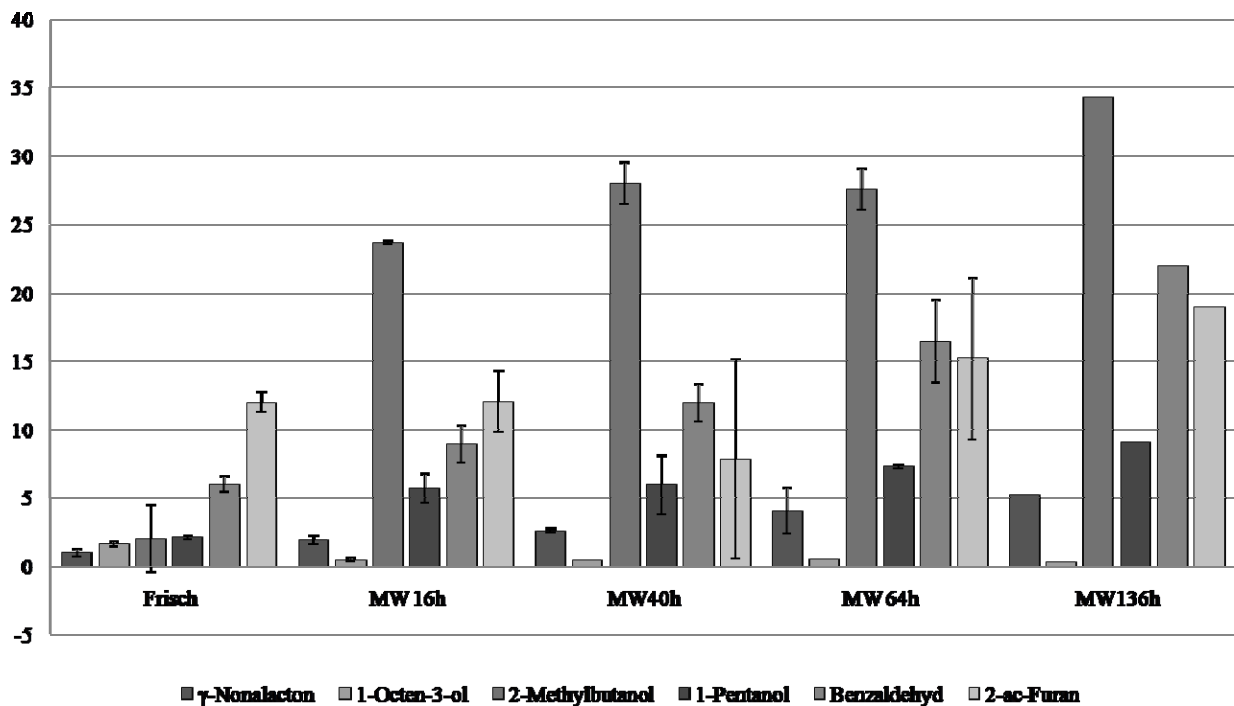


Abbildung 37 Würzearomastoffe bei der Milchsäurefermentation von Malzextrakt 2



In Abbildung 36 kann gesehen werden, dass die Summe der Streckeraldehyde während der Milchsäuregärung in den ersten 64 Stunden deutlich abnimmt, um später wieder einen leichten Anstieg zu erfahren. Diese Reduktion, die auch aus der alkoholischen Gärung bekannt ist, kann auf die Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien zurückgeführt werden. Wenn nach 64 Stunden die Aktivität der Lactobazillen nachlässt, da das pH-Minimum erreicht wird, entstehen aufgrund der thermischen Belastung und der fehlenden Kohlensäureimprägnierung neue Aminosäureabbauprodukte und die Summe der Streckeraldehyde steigt wieder an.

Im Gegensatz dazu kann für Benzaldehyd über die gesamte Gärung eine Zunahme gesehen werden. Benzaldehyd wird wie auch Streckeraldehyde bei thermischer Belastung während der Lagerung von beispielsweise Bier gebildet und dient hier als Indikator für thermische Belastung. Somit ist die Bildung während der Milchsäurefermentation eine klare Konsequenz. Sensorisch ist Benzaldehyd allerdings für alternative malzbasierte Getränke unbedenklich, da es sich als Aromakomponente des Pfirsichs problemlos in das Aromaprofil solcher Getränke einfügt.

#### **4.4.3 Alterungskomponenten in Sauergut [202]**

Bei der Forcierung von reiner Sauergutbasis zeigte sich, dass die aus der Brauerei bekannten Alterungsindikatoren ebenfalls zunehmen. Bedingt durch eine hohe thermische Belastung während der Milchsäurefermentation waren in ungekochtem Sauergut höhere Werte feststellbar als in vergleichbaren Kühlwürze- oder Bierproben.

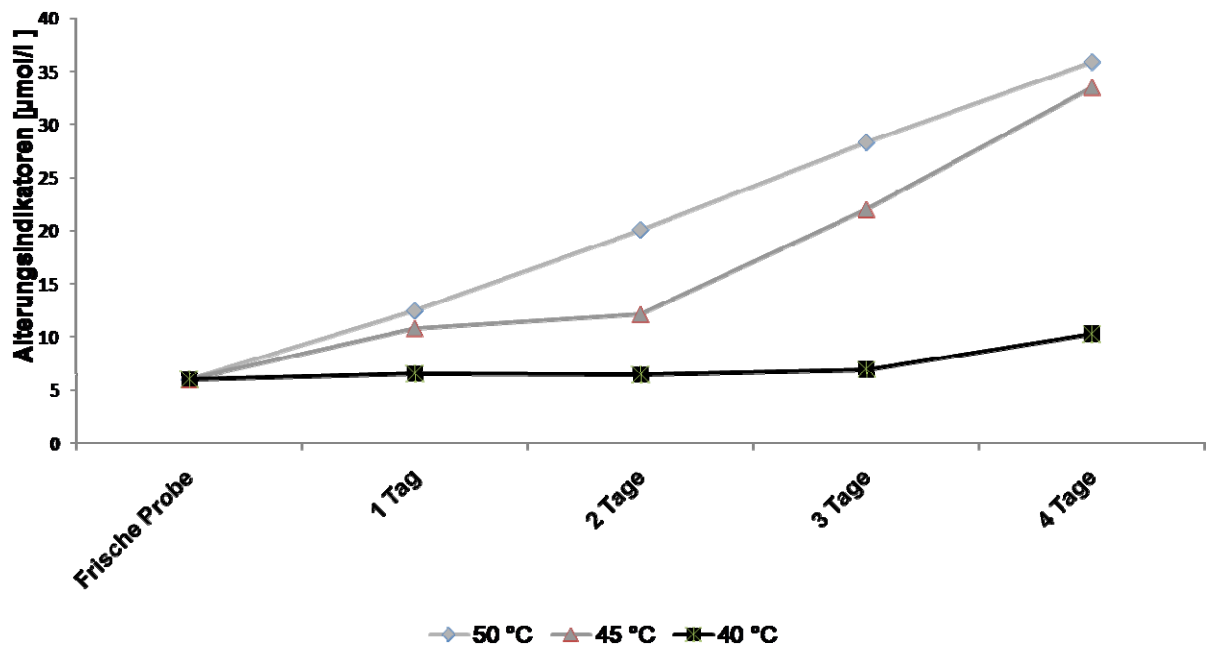


Abbildung 38 Alterungsindikatoren bei der forcierten Alterung von Sauergut

Die aus diesen stofflichen Umsetzungen resultierenden sensorischen Veränderungen zeigen ebenfalls steigende Eindrücke im Bereich Oxidationsgeschmack, sowie schlechtere Bewertungen der Ratio und der Qualität der Säure [202, 269].

#### 4.4.4 Dimethylsulfitausdampfung in Sauergut

Brauereisauergut wird traditionell aus ungehopfter Vorderwürze, welche mit Brauwasser verdünnt wird, hergestellt. Hopfen würde das Wachstum der hierbei verwendeten nicht bierschädlichen Bakterien verhindern. Im Alltag ist darüberhinaus eine komplette Sterilisierung des Sauergutes nicht vonnöten, da es generell vor dem Ende der Würzekochung zugegeben wird, was eine ausreichende Sterilisierung vor dem Kaltbereich der Brauerei garantiert.

Im Bereich alternativer Getränke ist eine Sterilisierung des Sauergutes vor dem finalen Ausmischen zwingend notwendig um insbesondere einen wirksamen Schutz vor bombagenbildenden, gärfähigen Keimen, die bei den hohen Temperaturen der Sauergutgärung wachsen können, zu garantieren.

Neben der Sterilisierung der Würze, Enzyminaktivierung und Extrakteinstellung, von der Hopfenisomerisierung, welche in Sauergut keine Rolle spielt, abgesehen, ist eine der Hauptaufgaben der Würzekochung die Spaltung des S-Methylmethionin (DMS-P) und anschließende Ausdampfung des resultierenden Dimethylsulfits (DMS). Aus der Brauereitechnologie ist bekannt, dass die Spaltung des DMS-P bei niedrigem pH nur verlangsamt abläuft [270]. Um den Effekt des niedrigen pH-Wertes des Sauergutes zu untersuchen, wurde der Einfluss der Kochung auf den DMS-Gehalt normaler Würze im Labormaßstab untersucht. Des Weiteren wurde Würze, welche mit technisch reiner Milchsäure auf einen pH von 3,0 eingestellt worden war, sowie Betriebssauergut mit einem pH von 2,95 für Kochversuche verwendet.

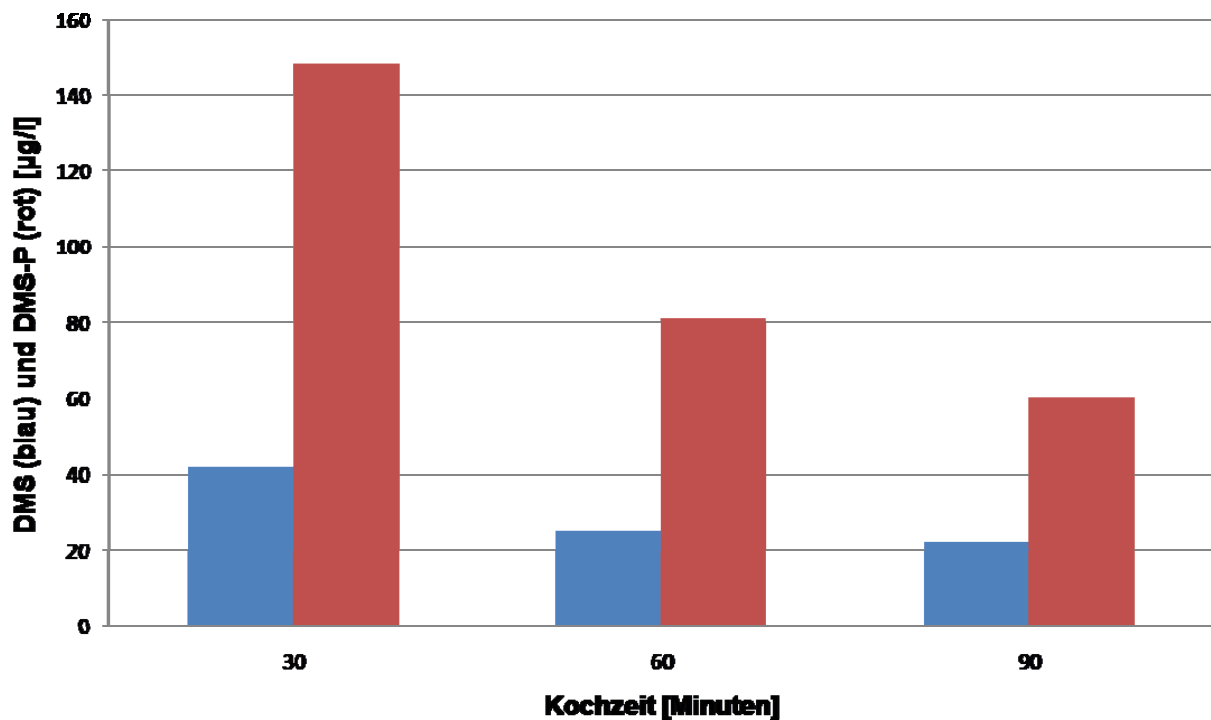


Abbildung 39 DMS und DMS-P bei der Würzekochung

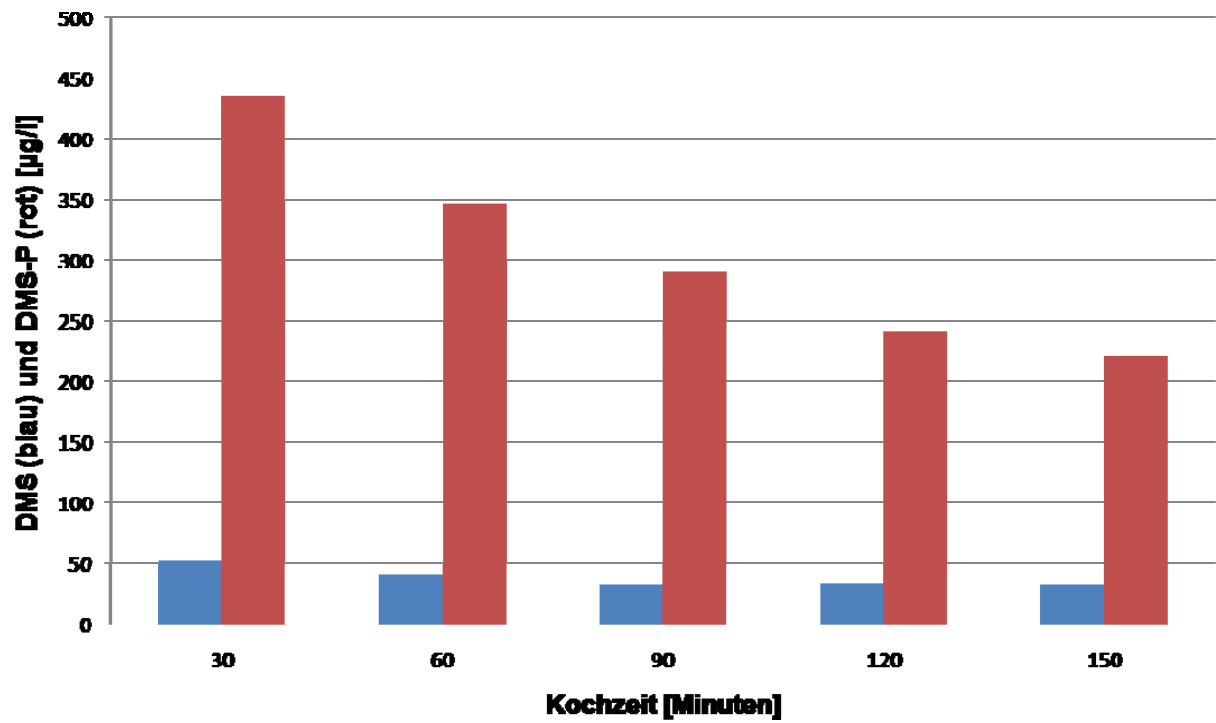


Abbildung 40 DMS und DMS-P bei der Kochung angesäuerter Würste

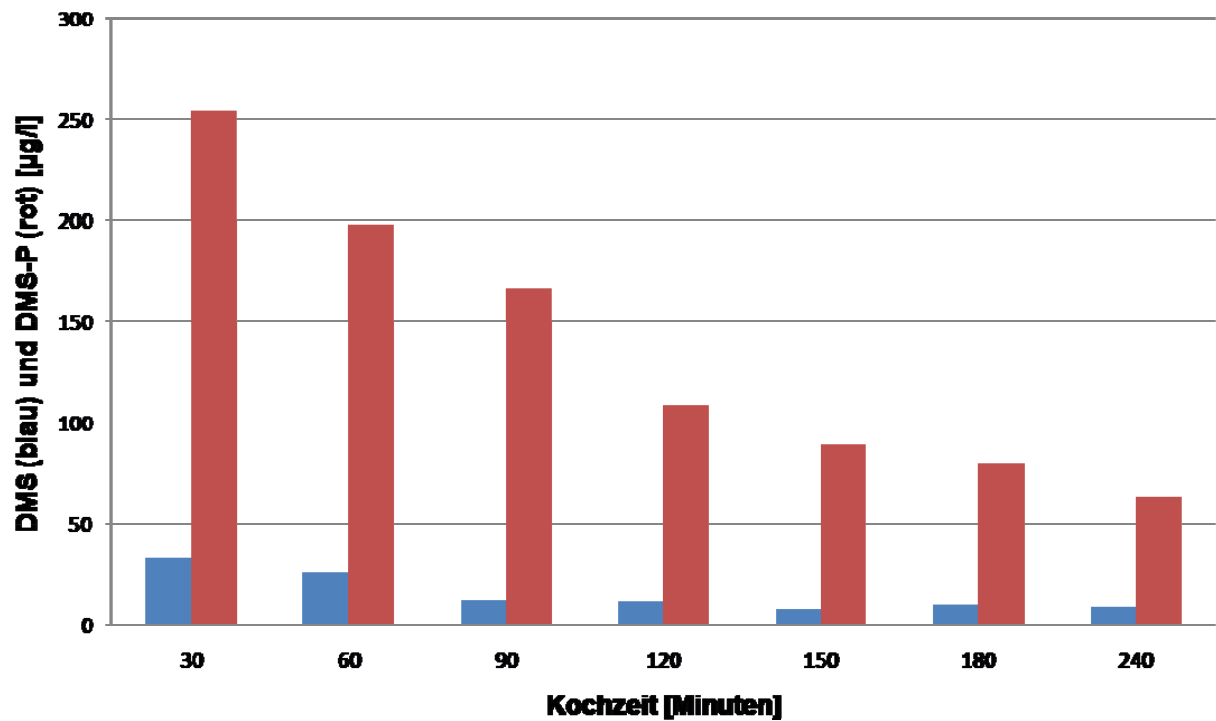


Abbildung 41 DMS und DMS-P bei der Kochung von Sauergut

In allen Kochversuchen wurden bereits nach einer halben Stunde freie DMS-Werte von unter 50 µg/l und somit sensorisch unbedenkliche Konzentrationen [271] gemessen. Bei konventionell gekochter Würze fällt auch der Gesamt-DMS-Gehalt innerhalb von einer Stunde Kochung auf unbedenkliche Werte. Bei einer künstlichen oder natürlichen durch Fermentation erzielten Absenkung des pH-Wertes jedoch liegt zwar das freie DMS auf niedrigem Niveau, aber die Spaltung des Vorgängerproduktes DMS-P geht nur langsam vonstatten. Erst bei Kochzeiten von über zwei Stunden sind für Brauereiwürzen übliche Werte erreichbar [272].

Nach einer Kochzeit von einer Stunde konnten keinerlei beer- oder getränkeschädliche Keime in dem behandelten Sauergut mehr nachgewiesen werden.

In den gezeigten Kochversuchen mit Würze und Sauergut ist die DMS-Ausdampfung bei atmosphärischer Kochung im Kleinmaßstab, wodurch auch ein schneller Austausch der Grenzflächenluft und somit ein zügiger Abtransport der entstehenden DMS-haltigen Brüden garantiert ist, primär von der Spaltung des DMS-P durch die Kochung und nicht von anderen Parametern, wie Durchmischung der Würze, die durch den Magnetrührer garantiert wird, abhängig. Diese Abhängigkeit kann auch aus den Quotienten Gesamt-DMS zu freiem DMS gesehen werden. Dieser Quotient nimmt bei der Kochung der Standardwürze kontinuierlich ab, bleibt aber bei der angesäuerten Würze konstant und nimmt bei der Kochung von Sauergut sogar zeitweise zu. Hieraus wird ersichtlich, dass niedrige pH-Werte nicht nur die Spaltung des DMS-P verlangsamen, sondern vielmehr auch eine langsamere Verdampfung des freien DMS stattfindet.

Bei der Herstellung von sterilem Betriebssauergut ist somit neben der Keimabtötung auch die Spaltung des DMS-P und die Ausdampfung des freien DMS zu beachten und eine ausreichend lange Kochzeit zu wählen. In klassischen atmosphärischen Kochungen sollte eine Kochzeit von bis zu zwei Stunden gewählt werden, welche bei Systemen mit Nachverdampfung entsprechend angepasst werden muss.

Die Gehalte an Würzearomastoffen in gekochtem Sauergut lagen durchweg im Bereich der Durchschnittswerte bei Kühlmitte für normale Bierwürzen. Auch die hohen 2-Furfuralgehalte nach der warmen Sauergutgärung wurden durch die Kochung wieder verringert. Die Summe an Streckeraldehyden liegt eher im oberen Bereich, was auf die vorhergehende Sauergutfermentation zurückzuführen ist. Bieraromastoffe konnten in

gekochtem Sauergut nur in Spuren gemessen werden und generell in Mengen, die teilweise um mehrere Zehnerpotenzen unter den in Bier üblichen Werten lagen.

## 4.5 Getränkeherstellung

### 4.5.1 Ausmischung [267]

In Abbildung 42 ist das Vorgehen zur Ausmischung eines isotonischen Getränkes auf Sauergutbasis exemplarisch dargestellt. In diesem Beispiel wird das gewünschte Mischungsverhältnis der Fruchtcomponenten und weiteren Zutaten mit dem Fermentat eingestellt und anschließend, ausgehend von der erreichten Osmolalität der Mischung, eine weitere Ausmischung mit entsalztem Wasser auf die angestrebte Osmolalität von 290 mosmol/kg durchgeführt [267, 273].

Diese Vorgehensweise erlaubt ein individuelles und schnelles, klar definiertes Reagieren auf etwaig auftredende Schwankungen in der Rohstoffzusammensetzung bei konstanten Sauergut-Saft-Verhältnissen. Aus Abbildung 42 lässt sich ersehen, dass sich das Mischungsverhältnis in Abhängigkeit der Rohstoffzusammensetzung ergibt. Leidglich die Fermentat-Saft-Mischung trägt zur resultierenden Osmolalität bei.

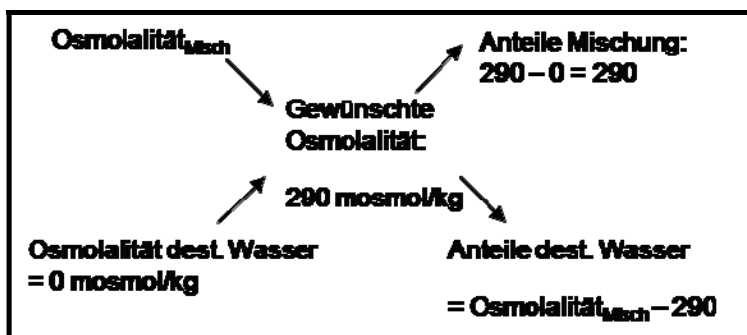


Abbildung 42 Mischungskreuz zur Berechnung der Anteile an destilliertem Wasser und Mischung bei bestimmter Menge Fertiggetränk

#### 4.5.2 Ernährungsphysiologisch positive Zusatzstoffe

Neben dem Einsatz von Sauergut und natürlichen Fruchtsaftanteilen beziehungsweise Fruchtsaftkonzentraten mit den zugehörigen Aromakomponenten, besteht die Möglichkeit weitere Inhaltsstoffe mit einer positiven ernährungsphysiologischen Wirkung solchen Getränken zuzugeben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zum einen Mineralsalze (Jungbunzlauer AG, Ladenburg, Deutschland) im Hinblick auf ihren Einfluss auf die resultierende Getränkeosmolalität untersucht, zum anderen die aus der Molkereitechnologie hinlänglich bekannten und weit akzeptierten Fructane, allen voran Oligofruktose (Consucra, Warcoing, Belgien), hinsichtlich ihrer Löslichkeit und ihres sensorischen Einflusses.

**Tabelle 7 Einfluss von Mineralsalzen auf die Osmolalität [261]**

<b>Mineralsalz</b>	<b>c = 0,5 g/l</b>	<b>c = 1,0 g/l</b>	<b>c = 2,0 g/l</b>
Kaliumcitrat	5,4 mosmol/kg	10,9 mosmol/kg	21,7 mosmol/kg
Kalziumlaktoglukonat	4,1 mosmol/kg	8,4 mosmol/kg	16,7 mosmol/kg
Magnesiumcitrat	2,8 mosmol/kg	5,9 mosmol/kg	12,1 mosmol/kg

Die drei untersuchten Salze zeigten alle einen linearen Zusammenhang mit der resultierenden Osmolalität. Die stärkste Wirkung zeigte dabei Kaliumcitrat ( $C_6H_5K_3O_7 \cdot H_2O$ ) gefolgt von Kalziumlaktoglukonat ( $C_6H_{10}O_6Ca + C_{12}H_{22}O_{14}Ca$ ) und Magnesiumcitrat ( $(C_6H_5O_7)_2Mg_3 \cdot 9 H_2O$ ) [274].

Die Geschmacksschwellenwerte kommerziell erhältlicher Fruktane wurden in verschiedenen Getränken durch Mitarbeiter des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I bestimmt. In allen untersuchten Proben zeigten sich keine sensorischen Wahrnehmungen bei Dosierungen unter 5 g/l. Aromatisierte Getränke zeigten deutlich höhere Geschmacksschwellenwerte [275].

**Tabelle 8 Geschmacksschwellenwerte von Fruktanen in verschiedenen Getränken (n.a. = nicht analysiert) [270]**

<b>Probe</b>	<b>Geschmacksschwelle Inulin</b>	<b>Geschmacksschwelle Oligofruktose</b>
Wasser	5 – 10 g/l	~ 12 g/l
Mineralwasser mit Pfirsicharoma	20 – 25 g/l	~ 20 g/l
Mineralwasser mit Birnenaroma	~ 15 g/l	n.a.
Alkoholfreies Lagerbier	20 – 30 g/l	20 – 30 g/l

Aus den erzielten Werten kann ersehen werden, dass bei einem empfohlenen Einsatz von 4 g/l, um etwaige Komplikationen bei sensiblen Konsumenten zu vermeiden [276] bei keinem Getränk sensorische Veränderungen hervorgerufen werden.

In Lagerversuchen konnte bei einem pH-Wert von knapp über 3,0 kein signifikanter Abbau der dosierten Fruktane festgestellt werden [277]. Somit ist auch ein Einsatz in milchsauer fermentierten Getränken möglich. Die Auswirkungen kommerzieller löslicher Ballaststoffe auf die resultierende Getränkeosmolalität sind in Tabelle 2 dargestellt.

### 4.5.3 Pasteurisation

Lebensmittel mit einem pH-Wert kleiner 5 werden allgemein als begrenzt lagerfähig bezeichnet und Lebensmittel mit einem pH-Wert geringer als 4,5 gelten als geschützt gegen mikrobiellen Verderb durch Sporenbildner und pathogene Keime. Die Milchsäuregärung des Malzextraktes trägt dazu bei, dass das Getränk im pH-Bereich unter 4,5 liegt. Weiterhin wird so ein optimales Milieu für diese Bakterienspezies geschaffen und andere Keime werden verdrängt. Zudem kann durch eine Beaufschlagung mit Kohlenstoffdioxid ein weitgehend anaerobes Milieu geschaffen werden, was ein Wachstum aerober Keime verhindert und zur Haltbarkeit sowie Lagerfähigkeit des Getränkes zusätzlich beiträgt.

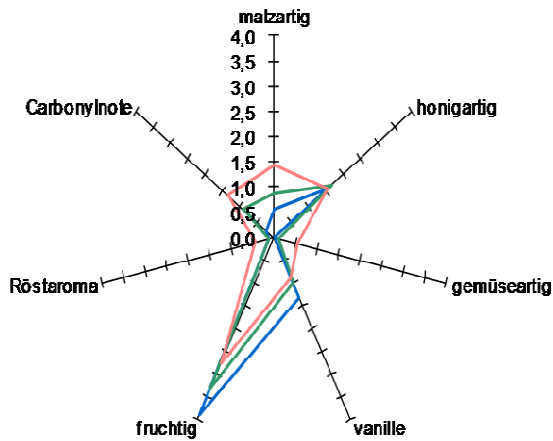
Dennoch können Essig- und unerwünschte Milchsäurebakterien und Schimmelpilze ebenso wie einige Hefen im Getränk überleben und wachsen.

Aus diesen Gründen empfiehlt sich eine Pasteurisation der Getränke, da damit ausreichend sichergestellt werden kann, dass es zu keinerlei Sekundärkontaminationen im Füllerbereich kommen kann, sondern vielmehr eine Entkeimung im Gebinde stattfindet. Eine Beaufschlagung mit 65 Pasteureinheiten nach der Bierformel ( $PE = Z \cdot 1,396^{(T - 60)}$ ) zeigte ausreichenden Schutz [273].



#### 4.5.4 Verkostungen

##### Geruch



##### Geschmack

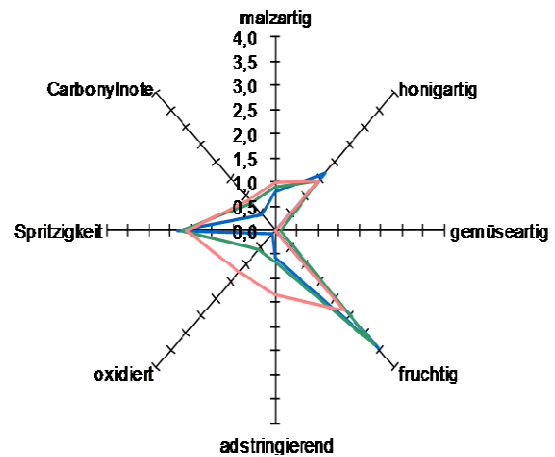


Abbildung 43 Geschmackliche Veränderungen bei einem malzbasierten Sauergetränk mit Pfirsichkonzentrat und Aroma [267]

In Abbildung 43 ist exemplarisch der Effekt von Pasteurisation und forcierter Alterung auf die sensorische Bewertung eines mit einer Pfirsichkomponente hergestellten Getränkes auf Sauergettrinkbasis dargestellt. Es wird deutlich, dass durch Wärmeeinfluss und Forcierung das Fruchtaroma des Getränkes leidet, während die malzartigen Eindrücke ebenso wie die Oxidationsnote zunehmen. Aus diesen und den im Anhang dargestellten Werten [202, 243] lässt sich die Empfehlung ableiten, bei derartigen Getränken unter Berücksichtigung des Pasteurisationseffektes zu arbeiten und die Aromakomponente vor der Pasteurisation erhöht zu dosieren.

#### 4.5.5 Alterungsstabilität [202]

Der Einfluss einer künstlichen Alterung auf verschiedene malzbasierte Getränke wurde über die aus der Brauereianalytik hinlänglich bekannten Analysemethoden erfasst. Neben der sensorischen Bewertung erfolgte eine Bestimmung der Alterungskomponenten mittels GC-FID [202].

Insbesondere die Streckeraldehyde, aber auch die Indikatoren für thermische Belastung zeigten in malzbasierten alkoholfreien Getränken deutlich höhere Werte als in Bieren vergleichbarer Stammwürze. Nikotinsäureethylester hingegen fehlte fast vollständig [202].

#### **4.5.6 Alterungsindex für alternative malzbasierte Getränke und Malztrunk**

In alternativen Malzgetränken wurde zur Beschreibung der Alterung ein neuer Alterungsindex entwickelt. Dieser setzt sich aus den Gehalten an 3-Methylbutanal, 2-Furfural, Benzaldehyd, Phenylacetaldehyde, Hexadienal, Heptanal, Methional und  $\beta$ -Damascenon zusammen[202].

Für Malztrunk besteht dieser Index aus dem Gehalt an 2- und 3-Methylbutanal, Phenylacetaldehyd und Methylfurfural [202]. Dieser Index wurde in einer Marktstudie für 18 deutsche Handelsproben bestätigt [278].

#### **4.5.7 Malzbasierte Getränke bei körperlicher Belastung**

Der Versuch zur Rehydrierungswirkung und zur Verbraucherakzeptanz von verschiedenen Getränken nach intensiver körperlicher Belastung zeigte, dass ein untersuchtes malzbasiertes Getränk in den Punkten Geschmack, Aussehen und Erfrischungswirkung am besten abschnitt, das Sportgetränk jedoch volumenmässig am meisten konsumiert wurde. Nachteilig für kohlenensäurehaltige malzbasierte Erfrischungsgetränke war allerdings in dieser Studie, dass bei 40 % der Teilnehmer Magen-Darm-Probleme gepaart mit Flatulenz und Diarrhoe auftraten. Die durchgeführte Studie zeigt, dass trotz subjektiv guter Erfrischungswirkung bei starkem Flüssigkeitsbedarf beim Konsum karbonisierter malzbasierter Getränke unerwünschte Nebenwirkungen auftreten können und somit ein moderater aber ständiger Konsum unter Belastung zu bevorzugen ist [279]. Eine genaue Untersuchung der Verträglichkeit nach körperlicher Belastung sollte für jedes Getränk separat durchgeführt werden.

## 5 Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse zeigen den Einfluss des Mälzungsprozesses auf den Gehalt an originär nutritiven Inhaltsstoffen, nämlich Ballaststoffen, Vitaminen und Polyphenolen, in Getreide und Pseudogetreide.

Was die Gruppe der löslichen Ballaststoffe betrifft, erlaubt eine gezielte Wahl der Mälzungsparameter Anreicherungerfolge bei wasserextrahierbaren Arabinoxylanen (WEAX) auf über 300 % des Ausgangsgehaltes bei gleichzeitiger Beibehaltung einer ausreichenden prozesstechnischen Verarbeitbarkeit der resultierenden Malze. In allen untersuchten Getreidearten wurde ein negativer Zusammenhang zwischen dem WEAX-Gehalt und der korrespondierenden Würzeviskosität gefunden und ein positiver zwischen WEAX- und Extraktgehalt. Im Brauprozess findet keine Veränderung der Gesamtmenge an WEAX statt. Der WEAX-Gehalt im fertigen Bier wird lediglich durch die Zusammensetzung der Schüttung und die im Malz vorliegenden Gehalte beeinflusst.

Für Fructan wurde bei Dinkel eine Steigerung auf 140 % des Ausgangswertes im Mälzungsprozess festgestellt. Bei den anderen untersuchten Getreidearten blieben die Gehalte konstant. Im fertigen Bier kann Fructan nur in Spuren gefunden werden. Im Laufe der Gärung werden diese löslichen Ballaststoffe, wie Oligofructose und Inulin, durch die Hefe verwertet.

In allen untersuchten Keimproben kann ein signifikanter Einfluss der Mälzungsparameter auf die im Malz vorliegenden Gehalte an wasserextrahierbarem Thiamin und Riboflavin nachgewiesen werden. Alle untersuchten Getreidearten zeigen hierbei ein unterschiedliches Verhalten bei Variationen der Keimungsparameter. Um den finalen wasserextrahierbaren Gehalt gezielt zu beeinflussen, muss auf die jeweiligen Eigenschaften eines Getreides individuell reagiert werden. Der Cobalamingehalt in Malz wird nicht durch die Keimungsparameter beeinflusst. Vitaminmengen in Bier sind bei B<sub>2</sub> und B<sub>12</sub> direkt von der gewählten Schüttung abhängig. Der B<sub>1</sub>-Gehalt in der Ausschlagwürze wird größtenteils durch die Hefe aufgenommen und liegt somit in Bier nicht mehr vor. Die Milchsäuregärung verändert die Vitamingehalte im Fermentat nicht.

Gesundheitspositive Polyphenole in Buchweizen steigen im Laufe des Keimungsprozesses auf über das zehnfache des Ausgangsgehaltes an. Eine gezielte Wahl der Keimungsparameter erlaubt es, optimale Gehalte an mehreren bioaktiven Polyphenolen im fertigen Malz gezielt zu erreichen.

Milchsauer veergorene malzbasierte Getränke erwiesen sich für die mit originär nutritiven Inhaltsstoffen angereicherten Malze als optimale Produkte. Hierbei erwies sich die Lactofermentation mit *Lactobacillus amylolyticus* sowohl technologisch, als auch sensorisch und analytisch als besonders vorteilhaft. Hierbei bauen die Laktobazillen die in der Würze vorhandenen Streckeraldehyde trotz der technologisch bedingt hohen Fermentationstemperaturen (48 °C) ab. Indikatoren für thermische Belastung werden von den Milchsäurebakterien nicht beeinflusst. Anschließende Umsetzungen laufen analog zu den in Bier stattfindenden Prozessen ab. Dabei steigen die aus Inhaltsstoffen des Malzes resultierenden Alterungsindikatoren ebenfalls an.

Der hier entwickelte Alterungsindex für alternative Malzgetränke setzt sich aus den Gehalten an 3-Methylbutanal, 2-Furfural, Benzaldehyd, Phenylacetaldehyd, Hexadienal, Heptanal, Methional und  $\beta$ -Damascenon zusammen. Für Malztrunk besteht dieser Index aus dem Gehalt an 2- und 3-Methylbutanal, Phenylacetaldehyd und Methylfurfural.

Bei der Sterilisierung von Sauergut hat der niedrige pH-Wert keinen Einfluss auf die Ausdampfung von DMS. Die Spaltung des DMS-P zu DMS erfolgt jedoch deutlich verlangsamt.

Für Getränke wurden auch die Bedeutung der Osmolalität und des glykämischen Index als weitere Kriterien für funktionelle Getränke bearbeitet und diskutiert.

Diese Arbeit zeigt das Potential des Mälzungsprozesses ernährungsphysiologisch wertvolle Inhaltsstoffe anzureichern. Außerdem kann der Gehalt an diesen Substanzen durch Variation der Mälzungsparameter gezielt gesteuert werden. In der Produktion alternativer malzbasierter Getränke kann auf existierende Anlagenausstattung in Brauereien zurückgegriffen werden. Prozesstechnologische Arbeitsschritte können an die geänderten Anforderungen angepasst werden. Bestehende Analyseverfahren lassen sich mit geringem Aufwand anpassen und liefern klare Ergebnisse.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse bieten der Praxis wertvolle Alternativen bei der Getränkeherstellung.

## 6. Summary

The results presented in this work show the effectiveness of the malting process to enrich certain bioactive compounds. The substances investigated were dietary fiber, vitamins and polyphenols.

Regarding dietary fiber water-extractable arabinoxylans (WEAX) can be enriched to 300 % of the initial values present in unmalted kernels by choosing suitable malting parameters. All analyzed malts were perfectly suitable for wort production. The influence of WEAX on the resulting wort viscosity was negative in all analyzed samples. A positive correlation could be observed between WEAX and the extract content. In the brewing process the total amount of WEAX remains unchanged. WEAX in beer is only influenced by grist load and the WEAX content of the used malt.

Fructan increases by 40 % during the malting of spelt wheat. In the other cereals no significant changes could be observed. In bottled beer only traces of fructan can be found. During the fermentation process yeast metabolizes the soluble dietary fiber fractions oligofructose and inulin.

Regarding Thiamin and Riboflavin a significant impact of a variation of malting parameters could be measured for all tested cereals. However all cereals reacted individually to changes in malting parameters. To influence the final content of water-extractable thiamin or riboflavin it is essential to take these individual reactions into account. Cobalamin in malt is not influenced by the malting parameters. The content of cobalamin in beer is only influenced by the grist load and composition. Similar observations could be made for the riboflavin content in beer. Thiamin present in cooled wort is mostly metabolized by yeast. Lactic acid fermentation did not show any negative influence on vitamin contents in wort.

Health beneficial polyphenols in buckwheat can be tenfold increased during the malting process. Even polyphenols not present in unmalted kernels can be found in significant amounts in buckwheat malt. By choosing optimum malting parameters the content of several polyphenols can be optimized.

An optimum technology to use these enriched malts is the production of lactic acid fermented alternative malt-based beverages. The usage of *Lactobacillus amylolyticus* in

these lactic acid fermentations proved to be of advantage regarding technological, sensory and analytical parameters. During lactic acid fermentation the lactobacilli degraded the strecker aldehydes initially present in wort despite the high fermentation temperatures of over 48 °C. Indicator substances for thermal treatment were not affected by lactic acid fermentation. Subsequent chemical reactions observed in the fermented wort were similar to those known from beer. The amount of stale flavor compounds formed from malt derived precursor substances increases.

The developed ageing index for alternative malt-based beverages is composed by the levels of 3-methylbutanal, 2-furfural, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, hexadienal, heptanal, methional and  $\beta$ -damascenone. This index is composed of the sum of 2- and 3-methylbutanal, phenylacetaldehyde and methylfurfural for malt beer respectively.

During a sterilization of lactic acid fermented wort the pH has no influence on evaporation of DMS. However the thermal cleavage of DMS-P to DMS is significantly slower.

Furthermore osmolality and the glycaemic index are discussed in this work. Their significance for functional beverages is shown.

In conclusion this work shows the potential of the malting process to enrich health-beneficial compounds. The content of these substances in malt can be influenced by well-directed changes of the malting parameters. Production of alternative malt-based beverages is possible using existing brewing equipment. Process parameters can be adapted to meet the changed requirements. Existing analyzes can be used for alternative products.

The results presented in this work demonstrate a way towards the production of innovative products in the beverage industry.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Helbigk, C., *Disputatio circularis über das Erfurter Bier*, in *Fakultät für Medizin*. 1689, Kurfürstliche Universität Erfurt: Erfurt.
2. Roberfroid, M.B., *Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose*. *British Journal of Nutrition*, 2002. **87**: p. S139-S143.
3. Aggett, P.J., et al., *Passclaim\**. *European Journal of Nutrition*, 2005. **44**(0): p. i5-i30.
4. [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/de/oj/2006/l\\_404/l\\_40420061230de00260038.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/de/oj/2006/l_404/l_40420061230de00260038.pdf). [2006 26.2.2010].
5. Trowell, H.C., *Ischemic heart disease and dietary fiber*. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1972. **25**(9): p. 926-932.
6. Hispley, E.H., *Dietary "fibre" and pregnancy toxemia*. *British Medical Journal*, 1953. **2**(4833): p. 420-422.
7. Craig, S.A.S., J.F. Holden, and M.Y. Khaled, *Determination of polydextrose as dietary fiber in foods*. *Journal of Aoac International*, 2000. **83**(4): p. 1006-1012.
8. Roberfroid, M.B., *Introducing inulin-type fructans*. *British Journal of Nutrition*, 2005. **93**: p. S13-S25.
9. Codex Alimentarius Commission. *Proposals for a definition and methods of analysis for dietary fibre content 2004* [cited 2008 Juni]; Available from: <ftp://ftp.fao.org/codex/ccnfsdu26/nf2603ae.pdf>.
10. Burkitt, D.P., *Epidemiology of Cancer of Colon and Rectum*. *Cancer*, 1971. **28**(1): p. 3-13.
11. Glitso, L.V., et al., *Intestinal degradation in pigs of rye dietary fibre with different structural characteristics*. *British Journal of Nutrition*, 1998. **80**(5): p. 457-468.
12. Champ, M., et al., *Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects*. *Nutrition Research Reviews*, 2003. **16**(1): p. 71-82.
13. Barry, J.L., et al., *Estimation of the Fermentability of Dietary Fiber in-Vitro - a European Interlaboratory Study*. *British Journal of Nutrition*, 1995. **74**(3): p. 303-322.
14. Pool-Zobel, B.L., *Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data*. *British Journal of Nutrition*, 2005. **93**: p. S73-S90.
15. Gibson, G.R., et al., *Selective Stimulation of Bifidobacteria in the Human Colon by Oligofructose and Inulin*. *Gastroenterology*, 1995. **108**(4): p. 975-982.
16. Corradini, C., et al., *High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultra violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin*. *Journal of Chromatography A*, 2004. **1054**(1-2): p. 165-173.
17. Roberfroid, M.B., J.A.E. Van Loo, and G.R. Gibson, *The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products*. *Journal of Nutrition*, 1998. **128**(1): p. 11-19.
18. Grasten, S., et al., *Effects of wheat pentosan and inulin on the metabolic activity of fecal microbiota and on bowel function in healthy humans*. *Nutrition Research*, 2003. **23**(11): p. 1503-1514.
19. Topping, D.L. and P.M. Clifton, *Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides*. *Physiological Reviews*, 2001. **81**(3): p. 1031-1064.
20. Gleib, M., et al., *Both wheat (*Triticum aestivum*) bran arabinoxylans and gut flora-mediated fermentation products protect human colon cells from genotoxic activities of 4-*



- hydroxynonenal and hydrogen peroxide*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006. **54**(6): p. 2088-2095.
21. Beyer-Sehlmeyer, G., et al., *Butyrate is only one of several growth inhibitors produced during gut flora-mediated fermentation of dietary fibre sources*. British Journal of Nutrition, 2003. **90**(06): p. 1057-1070.
  22. Munjal, U., et al., *Fermentation products of inulin-type fructans reduce proliferation and induce apoptosis in human colon tumour cells of different stages of carcinogenesis*. British Journal of Nutrition, 2009. **102**(5): p. 663-671.
  23. Pool-Zobel, B.L. and J. Sauer, *Overview of experimental data on reduction of colorectal cancer risk by inulin-type fructans*. Journal of Nutrition, 2007. **137**(11): p. 2580s-2584s.
  24. Poulsen, M., A.M. Molck, and B.L. Jacobsen, *Different effects of short- and long-chained fructans on large intestinal physiology and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats*. Nutrition and Cancer-an International Journal, 2002. **42**(2): p. 194-205.
  25. Greger, J.L., *Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability*. Journal of Nutrition, 1999. **129**(7): p. 1434S-1435S.
  26. Pedersen, A., B. Sandstrom, and J.M.M. VanAmelsvoort, *The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females*. British Journal of Nutrition, 1997. **78**(2): p. 215-222.
  27. Buddington, R.K., et al., *Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects*. American Journal of Clinical Nutrition, 1996. **63**(5): p. 709-716.
  28. Title 21: Food and Drugs, F.a.D. Administration, Editor. 2009: <http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=b39601aa6d95670faf7f0c388a191312&rgn=div8&view=text&node=21:2.0.1.1.2.5.1.13&idno=21>.
  29. Chandalia, M., et al., *Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus*. New England Journal of Medicine, 2000. **342**(19): p. 1392-1398.
  30. Pins, J.J. and H. Kaur, *A review of the effects of barley beta-glucan on cardiovascular and diabetic risk*. Cereal Foods World, 2006. **51**(1): p. 8-11.
  31. Brown, L., et al., *Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis*. American Journal of Clinical Nutrition, 1999. **69**(1): p. 30-42.
  32. Pereira, M.A., et al., *Dietary fiber and risk of coronary heart disease - A pooled analysis of cohort studies*. Archives of Internal Medicine, 2004. **164**(4): p. 370-376.
  33. Krahl, M., et al., *Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat (*Triticum aestivum* L.), rye (*Secale cereale*) and spelt wheat (*Triticum aestivum* spp. *spelta*)*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2009. **in Press**.
  34. Hartmann, G., M. Piber, and P. Koehler, *Isolation and chemical characterisation of water-extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking*. European Food Research and Technology, 2005. **221**(3-4): p. 487-492.
  35. Vinkx, C.J.A. and J.A. Delcour, *Rye (*Secale cereale* L) arabinoxylans: A critical review*. Journal of Cereal Science, 1996. **24**(1): p. 1-14.
  36. Izydorczyk, M.S. and C.G. Biliaderis, *Influence of Structure on the Physicochemical Properties of Wheat Arabinoxylan*. Carbohydrate Polymers, 1992. **17**(3): p. 237-247.
  37. Han, J.Y., *Structural characteristics of arabinoxylan in barley, malt, and beer*. Food Chemistry, 2000. **70**(2): p. 131-138.

38. Sadosky, P., P.B. Schwarz, and R.D. Horsley, *Effect of arabinoxylans, beta-glucans, and dextrans on the viscosity and membrane filterability of a beer model solution*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2002. **60**(4): p. 153-162.
39. Koizumi, H., Y. Kato, and T. Ogawa, *Barley malt polysaccharides inducing premature yeast flocculation and their possible mechanism*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2008. **66**(3): p. 137-142.
40. Lu, J. and Y. Li, *Effects of arabinoxylan solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt*. Food Chemistry, 2006. **98**(1): p. 164-170.
41. Cach, N. and G. Annemüller, *Ein Beitrag über die Pentosane im Prozeß der Bierherstellung - sind sie wichtig oder technologisch unbedeutend?* Monatsschrift für Brauwissenschaft, 1995. **48**(7/8): p. 232-241.
42. Krahl, M., et al., *Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process*. Quality Assurance and Safety of Crops and Food, 2009. **in Press**.
43. Karpinen, S., et al., *Fructan content of rye and rye products*. Cereal Chemistry, 2003. **80**(2): p. 168-171.
44. Chalmers, J., et al., *Molecular genetics of fructan metabolism in perennial ryegrass*. Plant Biotechnology Journal, 2005. **3**(5): p. 459-474.
45. Korakli, M., et al., *Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food*. European Food Research and Technology, 2003. **217**(6): p. 530-534.
46. Delzenne, N.M., *Oligosaccharides: state of the art*. Proceedings of the Nutrition Society, 2003. **62**(1): p. 177-182.
47. Edney, M.J., D.E. LaBerge, and D.E. Langrell, *Relationships among the beta-glucan contents of barley, malt, malt congress extract, and beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1998. **56**(4): p. 164-168.
48. Aastrup, S. and K. Jorgensen, *Application of the Calcofluor Flow Injection Analysis Method for Determination of beta-glucan in Barley, Malt, Wort, and Beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1988. **46**(3): p. 76-81.
49. Buckow, R., V. Heinz, and D. Knorr, *Effect of high hydrostatic pressure-temperature combinations on the activity of beta-glucanase from barley malt*. Journal of the Institute of Brewing, 2005. **111**(3): p. 282-289.
50. Burkus, Z. and F. Temelli, *Rheological properties of barley beta-glucan*. Carbohydrate Polymers, 2005. **59**(4): p. 459-465.
51. Narziss, L., *Die Technologie der Malzbereitung*. 7th ed. Die Bierbrauerei. 1999, Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 466.
52. Narziss, L., *Abriss der Bierbrauerei*. Vol. 7. 2005, Weinheim: Wiley-VCH.
53. Smart, J., et al., *Relationships Among Wort Beta-Glucan, Malting Conditions, and Malt Analysis*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1993. **51**(3): p. 88-93.
54. Jin, Y.L., et al., *Effect of beta-glucans and process conditions on the membrane filtration performance of beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2004. **62**(3): p. 117-124.
55. Jin, Y.L., et al., *Effects of beta-glucans, shearing, and environmental factors on wort filtration performance*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2004. **62**(4): p. 155-162.
56. Eyben, D. and J. Duthoy, *The Filterability of Wort And Beer*. MBAA Technical Quarterly, 1979. **16**(3): p. 135-141.
57. Bamforth, C.W., *Barley beta-Glucans - Their Role in Malting and Brewing*. Brewers Digest, 1982. **57**(1): p. 22-35.

58. Lusk, L.T., et al., *Barley beta-glucan and beer foam stability*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2001. **59**(4): p. 183-186.
59. Skendi, A., M. Papageorgiou, and C.G. Biliaderis, *Effect of barley beta-glucan molecular size and level on wheat dough rheological properties*. Journal of Food Engineering, 2009. **91**(4): p. 594-601.
60. Bamforth, C.W., *Beer, carbohydrates and diet*. Journal of the Institute of Brewing, 2005. **111**(3): p. 259-264.
61. Ames, N.P. and C.R. Rhymer, *Issues surrounding health claims for barley*. Journal of Nutrition, 2008. **138**(6): p. 1237s-1243s.
62. Shimizu, C., et al., *Effect of high beta-glucan barley on serum cholesterol concentrations and visceral fat area in japanese men - A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial*. Plant Foods for Human Nutrition, 2008. **63**(1): p. 21-25.
63. Keenan, J.M., et al., *The effects of concentrated barley beta-glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolaemic men and women (vol 97, pg 1165, 2007)*. British Journal of Nutrition, 2007. **98**(2): p. 445-445.
64. Bell, S., et al., *Effect of beta-glucan from oats and yeast on serum lipids*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1999. **39**(2): p. 189-202.
65. Jenkins, A.L., et al., *Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes*. European Journal of Clinical Nutrition, 2002. **56**(7): p. 622-628.
66. Howarth, N.C., E. Saltzman, and S.B. Roberts, *Dietary fiber and weight regulation*. Nutrition Reviews, 2001. **59**(5): p. 129-139.
67. Chen, J.Z. and R. Seviour, *Medicinal importance of fungal beta-(1 -> 3), (1 -> 6)-glucans*. Mycological Research, 2007. **111**: p. 635-652.
68. Hassid, W.Z., M.A. Joslyn, and R.M. McCready, *The Molecular Constitution of an Insoluble Polysaccharide from Yeast, Saccharomyces cerevisiae*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **63**(1): p. 295-298.
69. Inouhe, M., et al., *Cell wall metabolism and autolytic activities of the yeast Saccharomyces exiguus*. International Journal of Biological Macromolecules, 1997. **21**(1-2): p. 11-14.
70. Kim, K.S. and H.S. Yun, *Production of soluble beta-glucan from the cell wall of Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme and Microbial Technology, 2006. **39**(3): p. 496-500.
71. Kollar, R., et al., *Architecture of the Yeast-Cell Wall - the Linkage between Chitin and Beta(1-3)-Glucan*. Journal of Biological Chemistry, 1995. **270**(3): p. 1170-1178.
72. Kollar, R., et al., *Architecture of the yeast cell wall - beta(1->6)-glucan interconnects mannoprotein, beta(1-3)-glucan, and chitin*. Journal of Biological Chemistry, 1997. **272**(28): p. 17762-17775.
73. Latge, J.P., *The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell*. Molecular Microbiology, 2007. **66**(2): p. 279-290.
74. Manners, D.J., A.J. Masson, and Patterso.Jc, *Structure of a Beta-(1-3)-D-Glucan from Yeast-Cell Walls*. Biochemical Journal, 1973. **135**(1): p. 19-30.
75. Bässler, K.-H., *Vitamine*. 3. vollständig neu bearbeitete Auflage ed. 1989, Darmstadt: Steinkopff Verlag.
76. Gassmann, B., *Vitamin B-1 - Definition, nutritional physiology, metabolism, recommendations, sources and levels of intake in the Federal Republic of Germany*. Ernährungs-Umschau, 1997. **44**(6): p. 230-233.
77. Williams, R.R. and J.K. Cline, *Synthesis of vitamin B-1*. Journal of the American Chemical Society, 1936. **58**: p. 1504-1505.

78. Bässler, K.-H., W. Fekl, and K. Lang, *Grundbegriffe der Ernährungslehre*. 2. korrigierte Auflage ed. 1975, Berlin: Springer Verlag.
79. Settembre, E., T.P. Begley, and S.E. Ealick, *Structural biology of enzymes of the thiamin biosynthesis pathway*. Current Opinion in Structural Biology, 2003. **13**(6): p. 739-747.
80. Velisek, J. and K. Cejpek, *Biosynthesis of food constituents: Vitamins. 2. Water-soluble vitamins: part 1 - a review*. Czech Journal of Food Sciences, 2007. **25**(2): p. 49-64.
81. Kriek, M., et al., *Thiamine Biosynthesis in *Escherichia coli*: Identification of the Intermediate and By-Product Derived from Tyrosine*<sup>13</sup>. Angewandte Chemie International Edition, 2007. **46**(48): p. 9223-9226.
82. DeMoll, E. and W. Shive, *Determination of the metabolic origin of the sulfur atom in thiamin of by mass spectrometry*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1985. **132**(1): p. 217-222.
83. Tazuya, K., et al., *The Origin of the Sulfur Atom of Thiamin*. Biochimica Et Biophysica Acta, 1987. **924**(1): p. 210-215.
84. Begley, T.P., et al., *Thiamin biosynthesis in prokaryotes*. Archives of Microbiology, 1999. **171**(5): p. 293-300.
85. Spenser, I.D. and R.L. White, *Biosynthesis of Vitamin B-1 (Thiamin): An instance of biochemical diversity*. Angewandte Chemie-International Edition in English, 1997. **36**(10): p. 1033-1046.
86. Bruce, W.R., et al., *Marginal dietary thiamin deficiency induces the formation of colonic aberrant crypt foci (ACF) in rats*. Cancer Letters, 2003. **202**(2): p. 125-129.
87. Blyth, A., *The composition of cows' milk in health and disease*. Journal of the Chemical Society, Transactions, 1879. **35**: p. 530-539.
88. Kuhn, R., P. György, and T. Wagner-Jauregg, *Über eine neue Klasse von Naturfarbstoffen (Vorläufige Mitteilung)*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series), 1933. **66**(2): p. 317-320.
89. Ellinger, P. and W. Koschara, *Über eine neue Gruppe tierischer Farbstoffe (Lyochrome) (III. Mitteil.)*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series), 1933. **66**(9): p. 1411-1414.
90. Karrer, P., et al., *Zur Synthese des Lactoflavins*. Helvetica Chimica Acta, 1935. **18**(1): p. 1435-1448.
91. Powers, H.J., *Riboflavin (vitamin B-2) and health*. American Journal of Clinical Nutrition, 2003. **77**(6): p. 1352-1360.
92. Young, D., *The Biosynthesis of the Vitamins Thiamin, Riboflavin and Folic Acid*. Natural Products Reports, 1986: p. 395-419.
93. Somers, G.F., M.H. Coolidge, and K.C. Hamner, *The Distribution of Thiamine and Riboflavin in Wheat Grains*. Cereal Chemistry, 1945. **22**(4): p. 333-340.
94. Burkholder, P.R. and I. McVeigh, *The increase of B vitamins in germinating seeds*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1942. **28**: p. 440-446.
95. McVeigh, I., *Occurrence and Distribution of Thiamine, Riboflavin, and Niacin in Avena Seedlings*. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 1944. **71**(4): p. 438-444.
96. Ishikawa, H. and S. Usami, *Changes of Flavin Content of Wheat during the Course of Growth*. Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, 1973. **9**(1): p. 43-53.
97. Voss, H. and A. Piendl, *Changes of B-Vitamins during Malting and Vitamin Content of Some American and Canadian Malted Barleys*. MBAA Technical Quarterly, 1978. **15**(4): p. 215-221.

98. Krahl, M., et al., *Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (Triticum aestivum var. spelta)*. BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft), 2008. **61**: p. 170-174.
99. Goepfert, S. and Y. Poirier, *beta-oxidation in fatty acid degradation and beyond*. Current Opinion in Plant Biology, 2007. **10**(3): p. 245-251.
100. Holtman, W.L., et al., *[beta]-oxidation of fatty acids is linked to the glyoxylate cycle in the aleurone but not in the embryo of germinating barley*. Plant Science, 1994. **99**(1): p. 43-53.
101. Leach, W., *Researches on plant respiration IV - The relation between the respiration in air and in nitrogen of certain seeds during germination (b) seeds in which carbohydrates constitute the chief food reserve*. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 1936. **119**(815): p. 507-521.
102. Briggs, W.R. and E. Huala, *BLUE-LIGHT PHOTORECEPTORS IN HIGHER PLANTS*. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 1999. **15**(1): p. 33-62.
103. Salomon, M., et al., *An optomechanical transducer in the blue light receptor phototropin from Avena sativa*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001. **98**(22): p. 12357-12361.
104. Crosson, S. and K. Moffat, *Structure of a flavin-binding plant photoreceptor domain: Insights into light-mediated signal transduction*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001. **98**(6): p. 2995-3000.
105. Meighen, E.A., *Bacterial Bioluminescence - Organization, Regulation, and Application of the Lux Genes*. FASEB Journal, 1993. **7**(11): p. 1016-1022.
106. Okane, D.J. and D.C. Prasher, *Evolutionary Origins of Bacterial Bioluminescence*. Molecular Microbiology, 1992. **6**(4): p. 443-449.
107. Thompson, C.L. and A. Sancar, *Photolyase/cryptochrome blue-light photoreceptors use photon energy to repair DNA and reset the circadian clock*. Oncogene, 2002. **21**(58): p. 9043-9056.
108. Eschenmoser, A., *Organische Naturstoffsynthese heute Vitamin B12 als Beispiel*. Naturwissenschaften, 1974. **61**(12): p. 513-525.
109. Friedman, H.C. and L.M. Cagen, *MICROBIAL BIOSYNTHESIS OF B12-LIKE COMPOUNDS*. Annual Review of Microbiology, 1970. **24**: p. 159-&.
110. Lawrence, J.G. and J.R. Roth, *Evolution of coenzyme B12 synthesis among enteric bacteria: evidence for loss and reacquisition of a multigene complex*. Genetics, 1995. **142**: p. 11-24.
111. Battersby, A., *How nature builds the pigments of life: the conquest of vitamin B12*. Science, 1994. **264**(5165): p. 1551-1557.
112. Blanche, F., et al., *Vitamin B<sub>12</sub>: How the Problem of Its Biosynthesis Was Solved*. Angewandte Chemie International Edition in English, 1995. **34**(4): p. 383-411.
113. Roth, J.R., et al., *Characterization of the cobalamin (vitamin B12) biosynthetic genes of Salmonella typhimurium*. J. Bacteriol., 1993. **175**(11): p. 3303-3316.
114. Duda, J., Z. Pedziwilk, and K. Zodrow, *Studies on the vitamin B12 content of the leguminous plants*. Acta Microbiologica Polska, 1967. **6**: p. 233-238.
115. Peston, J., *Leucine 2,3 aminomutase: a cobalamin-dependent enzyme present in bean seedlings*. Science, 1977. **195**: p. 301-302.
116. Watanabe, F., et al., *Vitamin B12 metabolism in a photosynthesizing green alga Chlamydomonas reinhardtii*. Biochimica Biophysica Acta, 1991. **1075**: p. 36-41.
117. Guest, J., et al., *A methyl analogue of cobamide coenzyme in relation to methionine synthesis by bacteria*. Nature, 1962. **195**: p. 340-342.

118. Dixon, M.M., et al., *The structure of the C-terminal domain of methionine synthase: presenting S-adenosylmethionine for reductive methylation of B12*. Structure, 1996. **4**(11): p. 1263-1275.
119. Drennan, C., et al., *How a protein binds B12: A 3.0 Å X-ray structure of B12-binding domains of methionine synthase*. Science, 1994. **266**(5191): p. 1669-1674.
120. Martens, J.H., et al., *Microbial production of vitamin B-12*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002. **58**(3): p. 275-285.
121. Mancina, F., et al., *How coenzyme B12 radicals are generated: the crystal structure of methylmalonyl-coenzyme A mutase at 2 Å resolution*. Structure, 1996. **4**(3): p. 339-350.
122. Reitzer, R., et al., *Glutamate mutase from Clostridium cochlearium: the structure of a coenzyme B12-dependent enzyme provides new mechanistic insights*. Structure, 1999. **7**(8): p. 891-902.
123. Shibata, N., et al., *A new mode of B12 binding and the direct participation of a potassium ion in enzyme catalysis: X-ray structure of diol dehydratase*. Structure, 1999. **7**(8): p. 997-1008.
124. Hodgkin, D.C., et al., *The Structure of Vitamin B12 I. An Outline of the Crystallographic Investigation of Vitamin B12*. Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences, 1957. **242**(1229): p. 228-263.
125. Hodgkin, D.C., et al., *Structure of Vitamin B12*. Nature, 1956. **178**: p. 64-70.
126. Hodgkin, D.C., et al., *Structure of Vitamin B12*. Nature, 1955. **176**: p. 325-328.
127. Lenhert, P. and D.C. Hodgkin, *Structure of the 5,6-dimethyl-benzimidazolylcobamide coenzyme*. Nature, 1961. **192**: p. 937-938.
128. Rickes, E.L., et al., *Comparative Data on Vitamin B12 from Liver and from a New Source, Streptomyces griseus*. Science, 1948. **108**(2814): p. 634-635.
129. Rickes, E.L., et al., *Crystalline Vitamin B12*. Science, 1948. **107**(2781): p. 396-397.
130. Joosten, E., et al., *Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people [published erratum appears in Am J Clin Nutr 1994 Jul;60(1):147]*. Am J Clin Nutr, 1993. **58**(4): p. 468-476.
131. Allen, L. and J. Casterline, *Vitamin B-12 deficiency in elderly individuals: diagnosis and requirements*. Am J Clin Nutr, 1994. **60**(1): p. 12-14.
132. Lindenbaum, J., et al., *Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population*. Am J Clin Nutr, 1994. **60**(1): p. 2-11.
133. Bronstrup, A., et al., *Effects of folic acid and combinations of folic acid and vitamin B-12 on plasma homocysteine concentrations in healthy, young women*. Am J Clin Nutr, 1998. **68**(5): p. 1104-1110.
134. Delva, M.D., *Vitamin B-12 replacement - To B-12 or not B-12?* Canadian Family Physician, 1997. **43**: p. 917-922.
135. McCADDON, A., C.L. KELLY, and G. TIBBLIN, *Familial Alzheimer's Disease and Vitamin B12 Deficiency*. Age Ageing, 1994. **23**(4): p. 334-337.
136. Aufhammer, W., *Rohstoff Getreide*. 2003, Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
137. Mazza, G. and B. Dave Oomah, *Buckwheat as a Food and Feed*, in *Specialty Grains for Food and Feed*, E. Abdeel-Aal and P.J. Wood, Editors. 2005, American Association of Cereal Chemists: St. Paul.
138. Aufhammer, W., *Getreide- und andere Körnerfruchtarten*. 1998, Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
139. Kim, S.J., et al., *Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (Fagopyrum) sprouts*. Food Chemistry, 2008. **110**(4): p. 814-820.

140. Joshi, B. and R. Rana, *Buckwheat (Fagopyrum esculentum)*, in *Cereals and Pseudocereals*, J. Williams, Editor. 1995, Capman and Hall: London.
141. Aufhammer, W., *Pseudogetreidearten - Buchweizen, Riesmelde und Amarant*. 2000, Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
142. Zeller, F.J., *Buchweizen (Fagopyrum esculentum Moench): Nutzung, Genetik, Züchtung*. Die Bodenkultur, 2001. **52**(3): p. 259-271.
143. Kreft, I., N. Fabjan, and K. Yasumoto, *Rutin content in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) food materials and products*. Food Chemistry, 2006. **98**(3): p. 508-512.
144. Zeller, F.J. and S.L.K. Hsam, *Buchweizen - Die vergessene Kulturpflanze*. Biologie unserer Zeit, 2004. **34**: p. 24-31.
145. Kötter, U., *Chemie der Inhaltsstoffe*, in *Buchweizen: Botanik, Inhaltsstoffe, Analytik, Pharmakologie, Toxikologie, Klinik*, A. Müller and G. Schiebel-Schlosser, Editors. 1998, wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart.
146. Lorenz, K. and W. Dilsaver, *Buckwheat (Fagopyrum-Esculentum) Starch - Physicochemical Properties and Functional-Characteristics*. Starke, 1982. **34**(7): p. 217-220.
147. Geisler, G., *Farbatlas landwirtschaftlicher Kulturpflanzen*. 1991, Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
148. Krahl, M., et al., *Determination of Optimised Malting Conditions for the Enrichment of Rutin, Vitexin and Orientin in Common Buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench)*. Journal of the Institute of Brewing, 2008. **114**(4): p. 294-299.
149. Dietrych-Szostak, D. and W. Oleszek, *Effect of processing on the flavonoid content in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) grain*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999. **47**(10): p. 4384-4387.
150. Holasova, M., et al., *Buckwheat - the source of antioxidant activity in functional foods*. Food Research International, 2002. **35**(2-3): p. 207-211.
151. Quettier-Deleu, C., et al., *Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and flour*. Journal of Ethnopharmacology, 2000. **72**(1-2): p. 35-42.
152. Couch, J.F., J. Naghski, and C.F. Krewson, *Buckwheat as a Source of Rutin*. Science, 1946. **103**(2668): p. 197-198.
153. Jiang, P., et al., *Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species Fagopyrum esculentum, F-tataricum, and F-homotropicum and their protective effects against lipid peroxidation*. Food Research International, 2007. **40**(3): p. 356-364.
154. Aquila, S., et al., *Anti-inflammatory activity of flavonoids from Cayaponia tayuya roots*. Journal of Ethnopharmacology, 2009. **121**(2): p. 333-337.
155. Cos, P., et al., *Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers*. Journal of Natural Products, 1998. **61**(1): p. 71-76.
156. da Silva, E.L., T. Tsushida, and J. Terao, *Inhibition of mammalian 15-lipoxygenase-dependent lipid peroxidation in low-density lipoprotein by quercetin and quercetin monoglucosides*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1998. **349**(2): p. 313-320.
157. Di Carlo, G., et al., *Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs*. Life Sciences, 1999. **65**(4): p. 337-353.
158. Fu, Y.J., et al., *Determination of vitexin and isovitexin in pigeonpea using ultrasonic extraction followed by LC-MS*. Journal of Separation Science, 2008. **31**(2): p. 268-275.
159. Hattori, M., et al., *Metabolism of Homoorientin by Human Intestinal Bacteria*. Journal of Natural Products, 1988. **51**(5): p. 874-878.

160. Hertog, M.G.L., et al., *Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart-Disease - the Zutphen Elderly Study*. Lancet, 1993. **342**(8878): p. 1007-1011.
161. Inglett, G.E., et al., *Phenolic content and antioxidant activity of extracts from whole buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) with or without microwave irradiation*. Food Chemistry. **In Press, Corrected Proof**.
162. Ishii, K., T. Furuta, and Y. Kasuya, *Determination of rutin in human plasma by high-performance liquid chromatography utilizing solid-phase extraction and ultraviolet detection*. Journal of Chromatography B, 2001. **759**(1): p. 161-168.
163. Itagaki, S., et al., *Protective effects of quercetin-3-rhamnoglucoside (rutin) on ischemia-reperfusion injury in rat small intestine*. Food Chemistry, 2010. **118**(2): p. 426-429.
164. Khan, M.M., et al., *Rutin protects the neural damage induced by transient focal ischemia in rats*. Brain Research, 2009. **1292**: p. 123-135.
165. Kim, S.L., S.K. Kim, and C.H. Park, *Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable*. Food Research International, 2004. **37**(4): p. 319-327.
166. Knekt, P., et al., *Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: A cohort study*. British Medical Journal, 1996. **312**(7029): p. 478-481.
167. Lotito, S.B. and B. Frei, *Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon?* Free Radical Biology and Medicine, 2006. **41**(12): p. 1727-1746.
168. Peng, X., et al., *Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexin and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts*. Food Chemistry, 2008. **106**: p. 475-481.
169. Steinberg, F.M., M.M. Bearden, and C.L. Keen, *Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health*. Journal of the American Dietetic Association, 2003. **103**(2): p. 215-223.
170. Watanabe, M. and J. Ayugase, *Anti-stress effects of flavonoids from buckwheat sprouts in mice subjected to restraint stress*. Food Science and Technology Research, 2008. **14**(3): p. 253-260.
171. Yochum, L., et al., *Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women*. American Journal of Epidemiology, 1999. **149**(10): p. 943-949.
172. Olschlager, C., et al., *Identification of galloylated propylarionidins and procyanidins in buckwheat grain and quantification of rutin and flavanols from homostylous hybrids originating from *F esculentum* x *F homotropicum**. Phytochemistry, 2008. **69**(6): p. 1389-1397.
173. Arts, I.C.W., et al., *Catechin intake and associated dietary and lifestyle factors in a representative sample of Dutch men and women*. European Journal of Clinical Nutrition, 2001. **55**(2): p. 76-81.
174. Dueñas, M., et al., *Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin and quercetin*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **51**(2): p. 443-449.
175. El Bedoui, J., et al., *Catechins prevent vascular smooth muscle cell invasion by inhibiting MT1-MMP activity and MMP-2 expression*. Cardiovasc Res, 2005. **67**(2): p. 317-325.
176. Atkins, P.W., *Physikalische Chemie*. 4. Auflage ed. 2006, Weinheim: Wiley-VCH.
177. Krahl, M. and W. Back, *Der glykämische Index von Getränken*. Brauwelt, 2009. **149**(15-16): p. 431-435.
178. Krahl, M., M. Zarnkow, and T. Becker, *Der glykämische Index von Getränken*. Getränkeindustrie, 2009. **63**(12): p. 30-33.



179. Brouns, F. and E. Kovacs, *Functional drinks for athletes*. Trends in Food Science & Technology, 1997. **8**(12): p. 414-421.
180. Klein, H., *Sportgetränke: individuell, optimiert*. Journal für Ernährungsmedizin, 2006. **8**(3): p. 30-38.
181. Jeukendrup, A.E., *Carbohydrate intake during exercise and performance*. Nutrition, 2004. **20**(7-8): p. 669-677.
182. Breves, G., J. Kock, and B. Schröder, *Transport of nutrients and electrolytes across the intestinal wall in pigs*. Livestock Science, 2007. **109**(1-3): p. 4-13.
183. Krahl, M., S. Dold, and T. Becker, *Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung*. Der Weihenstephaner, 2009. **77**(4): p. 128-133.
184. Adolfsson, O., S.N. Meydani, and R.M. Russell, *Yogurt and gut function*. American Journal of Clinical Nutrition, 2004. **80**(2): p. 245-256.
185. Carr, F.J., D. Chill, and N. Maida, *The lactic acid bacteria: A literature survey*. Critical Reviews in Microbiology, 2002. **28**(4): p. 281-370.
186. McKay, L.L. and K.A. Baldwin, *Applications for Biotechnology - Present and Future Improvements in Lactic-Acid Bacteria*. Fems Microbiology Reviews, 1990. **87**(1-2): p. 3-14.
187. Welman, A.D. and I.S. Maddox, *Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges*. Trends in Biotechnology, 2003. **21**(6): p. 269-274.
188. Back, W., *Biologische Säuerung*. Monatsschrift für Brauwissenschaft, 1988. **41**(4): p. 152-155.
189. Narziss, L., W. Back, and M. Leibhard, *Optimierung biologischer Verfahren zur Herstellung von alkoholfreiem Bier mittels geeigneter Kulturen*. Brauwelt, 1989. **45**: p. 2206-2214.
190. Bohak, I., et al., *Lacobacillus amylolyticus sp. nov., Isolated from Beer Malt and Beer Wort*. System. Appl. Microbiology, 1998. **21**: p. 360-364.
191. Pittner, H. and W. Back, *Continuous Production of Acidified Wort for Alcohol Free Beer using immobilized Lactic Bacteria*. MBAA Technical Quarterly, 1995. **32**(3): p. 163-168.
192. Axelsson, L., *Lactic acid bacteria: classification and physiology*, in *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, S. Salminen and A. von Wright, Editors. 1998, Marcel Dekker: New York. p. 1-72.
193. Kandler, O., *Carbohydrate-Metabolism in Lactic-Acid Bacteria*. Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology, 1983. **49**(3): p. 209-224.
194. London, J., *Uncommon Pathways of Metabolism among Lactic-Acid Bacteria*. Fems Microbiology Reviews, 1990. **87**(1-2): p. 103-111.
195. Poolman, B., *Energy Transduction in Lactic-Acid Bacteria*. Fems Microbiology Reviews, 1993. **12**(1-3): p. 125-148.
196. Postma, P.W., J.W. Lengeler, and G.R. Jacobson, *Phosphoenolpyruvate - Carbohydrate Phosphotransferase Systems of Bacteria*. Microbiological Reviews, 1993. **57**(3): p. 543-594.
197. CoccagnBousquet, M., et al., *Physiology of pyruvate metabolism in Lactococcus lactis*. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 1996. **70**(2-4): p. 253-267.
198. Kleerebezem, M., P. Hols, and J. Hugenholtz, *Lactic acid bacteria as a cell factory: rerouting of carbon metabolism in Lactococcus lactis by metabolic engineering*. Enzyme and Microbial Technology, 2000. **26**(9-10): p. 840-848.
199. Kontula, P., et al., *The colonization of a simulator of the human intestinal microbial ecosystem by a probiotic strain fed on a fermented oat bran product: effects on the gastrointestinal microbiota*. Applied Microbiology and Biotechnology, 1998. **50**(2): p. 246-252.

200. Hugenholtz, J., *Citrate Metabolism in Lactic-Acid Bacteria*. Fems Microbiology Reviews, 1993. **12**(1-3): p. 165-178.
201. Kunkee, R.E., *Some Roles of Malic-Acid in the Malolactic Fermentation in Wine-Making*. Fems Microbiology Reviews, 1991. **88**(1): p. 55-72.
202. Krahl, M., et al., *Flavor Stability of Alternative Malt-based beverages*. MBAA Technical Quarterly, 2009. **46**(4).
203. Sega, G., M. Lewis, and M. Woskow, *Evaluation of Beer Flavor Compounds*. Proceedings of the annual meeting of the ASBC, 1967. **25**: p. 156-164.
204. Ahrenst-Larsen, B. and H. Hansen, *Gaschromatographische Untersuchungen über die Geschmacksstabilität von Bier*. Brauwissenschaft, 1963. **16**(10): p. 393-397.
205. Vanderhaegen, B., et al., *The chemistry of beer aging - a critical review*. Food Chemistry, 2006. **95**(3): p. 357-381.
206. Bower, J.A., M.A. Saadat, and C. Whitten, *Effect of liking, information and consumer characteristics on purchase intention and willingness to pay more for a fat spread with a proven health benefit*. Food Quality and Preference, 2003. **14**(1): p. 65-74.
207. Pohjanheimo, T. and M. Sandell, *Headspace volatiles contributing to flavour and consumer liking of wellness beverages*. Food Chemistry, 2009. **115**: p. 843-851.
208. Stein, L.J., et al., *Effects of repeated exposure and health-related information on hedonic evaluation and acceptance of a bitter beverage*. Appetite, 2003. **40**(2): p. 119-129.
209. Back, W., et al., *New research findings on improving taste stability*. Brauwelt International, 1999. **5**(5): p. 394-405.
210. Gruenwald, J., *Novel botanical ingredients for beverages*. Clinics in Dermatology, 2009. **27**(2): p. 210-216.
211. Narziss, L., *Technological Factors of Flavor Stability*. Journal of the Institute of Brewing, 1986. **92**(4): p. 346-353.
212. Clapperton, J.F., *Ribes Flavor in Beer*. Journal of the Institute of Brewing, 1976. **82**(3): p. 175-176.
213. Cullere, L., J. Cacho, and V. Ferreira, *An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(3): p. 876-881.
214. Kaneda, H., et al., *Beer Staling Mechanism*. MBAA Technical Quarterly, 1999. **36**(1): p. 41-47.
215. Lermusieau, G., et al., *Nonoxidative mechanism for development of trans-2-nonenal in beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1999. **57**(1): p. 29-33.
216. Narziss, L., et al., *Untersuchungen zur Beeinflussung der Geschmacksstabilität durch Variation technologischer Parameter bei der Bierherstellung*. Monatsschrift Fur Brauwissenschaft, 1999(11/12): p. 192-206.
217. Shimizu, C., et al., *Factors affecting 5-hydroxymethyl furfural formation and stale flavor formation in beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2001. **59**(2): p. 51-58.
218. De Schutter, D.P., et al., *Characterisation and Quantification of Thermal Load during Wort Boiling*. BrewingScience (Monatsschrift fuer Brauwissenschaft), 2008(7-8): p. 121-134.
219. De Schutter, D.P., et al., *Release and evaporation of volatiles during boiling of unhopped wort*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008. **56**(13): p. 5172-5180.
220. Ogane, O., et al., *Influence of Wort Boiling and Wort Clarification Conditions on Aging-Relevant Carbonyl Compounds in Beer*. MBAA Technical Quarterly, 2006. **43**(2): p. 121-126.

221. Gijs, L., et al., *How low pH can intensify beta-damascenone and dimethyl trisulfide production through beer aging*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50**(20): p. 5612-5616.
222. Grigsby, J., et al., *Studies on the Reactions Involved in the Oxidation of Beer*. Proceedings of the annual meeting of the ASBC, 1972. **30**: p. 87-92.
223. Guyot-Declerck, C., et al., *Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data*. Food Quality and Preference, 2005. **16**(2): p. 157-162.
224. Kaneda, H., et al., *Influence of pH on flavour staling during beer storage*. Journal of the Institute of Brewing, 1997. **103**(1): p. 21-23.
225. Hidalgo, F.J. and R. Zamora, *Strecker-type degradation produced by the lipid oxidation products 4,5-epoxy-2-alkenals*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004. **52**(23): p. 7126-7131.
226. Walters, M.T., A.P. Heasman, and P.S. Hughes, *Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability .2. Extended storage trials*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1997. **55**(3): p. 91-98.
227. Houben, R., C.F. de Ruijter, and K. Brunt, *Determination of the Pentosan Content of Wheat Products by Hydrolysis, Glucose Oxidase Treatment and Analysis by HPAEC/PAD* Journal of Cereal Science, 1997. **26**(1): p. 37-46.
228. Andersen, R. and A. Sorensen, *An enzymatic method for the determination of fructans in foods and food products - Comparison of the results by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection*. European Food Research and Technology, 1999. **210**(2): p. 148-152.
229. MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden Band I*. 4 ed. 2002, Freising-Weihenstephan: Selbstverlag der MEBAK.
230. van Eerde, P., ed. *Analytica-EBC*. 1997, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg.
231. Gastl, M., R. Mezger, and W. Back. *The meaning of water soluble vitamins B1 and B2 in the brewing process measured by HPLC*. in *European Brewery Convention Congress*. 2007. Venice: Hans-Carl Verlag.
232. Schütz, M., R. Mezger, and W. Back, *Vitaminbestimmung in Würze und Bier*. Der Weihenstephaner, 2005. **73**(1): p. 11-16.
233. M J. Fernández, L.M., M. Ruiz-Amil, M. Losada, *Regulation and Function of Pyruvate Kinase and Malate Enzyme in Yeast*. European J. Biochem., 1967.
234. Kessler, M., et al., *Gelatinisation Properties of different Cereals and Pseudocereals*. Monatsschrift für Brauwissenschaft, 2005. **9/10**: p. 82-88.
235. Herrmann, M., et al., *Malt volatile compounds (Part I)*. BrewingScience (Monatsschrift fuer Brauwissenschaft), 2007(07-08): p. 110-116.
236. Eichhorn, P., *Untersuchungen zur Geschmacksstabilität*, in *Fakultät für Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaften*. 1991, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
237. Hermann, M., *Entstehung und Beeinflussung qualitätsbestimmender Aromastoffe bei der Herstellung von Weißbier*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2005, Technische Universität München: Freising.
238. Lustig, S., *Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess*, in *Fakultät für Brauwesen, Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaften*. 1994, Technische Universität München: Freising.

239. Schneeberger, M., *Verwertung von Prozessbieren in der Brauerei*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2006, Technische Universität München: Freising.
240. Thiele, F., *Einfluss der Hefevitalität und der Gärparameter auf die Stoffwechselprodukte der Hefe und auf die Geschmacksstabilität*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2006, Technische Universität München: Freising.
241. Narziss, L., H. Miedaner, and P. Eichhorn, *Studies on taste stability of beer*. *Monatsschrift Fur Brauwissenschaft*, 1999. **52**(5-6): p. 80-85.
242. Narziss, L., H. Miedaner, and P. Eichhorn, *Untersuchungen zur Geschmackstabilität des Bieres (Teil 1)*. *Monatsschrift Fur Brauwissenschaft*, 1999(3/4): p. 49-57.
243. Krahl, M., et al. *Novel malt-based beverages*. in *IBD Africa Section Convention*. 2009. South Africa.
244. MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden Band 4*. 4 ed. 2002, Freising-Weihenstephan: Selbstverlag der MEBAK.
245. Zarnkow, M., et al., *Gluten free beer from malted cereals and pseudocereals*. *Proceedings of the Congress - European Brewery Convention*, 2005: p. 1041-1048.
246. Saulnier, L., N. Peneau, and J.F. Thibault, *Variability in Grain Extract Viscosity and Water-Soluble Arabinoxylan Content in Wheat*. *Journal of Cereal Science*, 1995. **22**(3): p. 259-264.
247. Sachs, L., *Angewandte Statistik*. 11. Auflage ed. 2001, Berlin: Springer Verlag.
248. Burberg, F., M. Zarnkow, and W. Back, *Apparative Möglichkeiten der Malz-, Würze- und Bierbereitung*. *Brauwelt*, 2006. **146**(18): p. 536-539.
249. Hanke, S., *Untersuchungen zum Einfluss der Hopfungstechnologie auf die Geschmacksstabilität und Harmonie untergäriger Biere*, in *Wissenschaftszentrum für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2010, Technische Universität München: Freising.
250. Krahl, M., et al., *Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench)*. *Journal of the Institute of Brewing*, 2009. **114**(4): p. 294-299.
251. Treutter, D., *Chemical-Reaction Detection of Catechins and Proanthocyanidins with 4-Dimethylaminocinnamaldehyde*. *Journal of Chromatography*, 1989. **467**(1): p. 185-193.
252. Treutter, D., et al., *Identification of Flavan-3-Ols and Procyanidins by High-Performance Liquid-Chromatography and Chemical-Reaction Detection*. *Journal of Chromatography A*, 1994. **667**(1-2): p. 290-297.
253. Krahl, M., W. Back, and S. Kreis. *Fructan and Arabinoxylan in Malting and Brewing of Wheat and Rye*. in *31st EBC Congress*. 2007. Venice: Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.
254. Courtin, C.M., et al., *Occurrence of Arabinoxyloligosaccharides and Arabinogalactan Peptides in Beer*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2009. **67**(2): p. 112-117.
255. Li, Y., et al., *Studies on water-extractable arabinoxylans during malting and brewing*. *Food Chemistry*, 2005. **93**(1): p. 33-38.
256. Li, Y. and J. Lu, *Characterisation of the enzymatic degradation of Arabinoxylans in Grist containing wheat malt using response surface Methodology*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2005. **63**(4): p. 171-176.
257. Li, Y., J. Lu, and G.X. Gu, *Control of arabinoxylan solubilization and hydrolysis in mashing*. *Food Chemistry*, 2005. **90**(1-2): p. 101-108.
258. Lu, J., et al., *Effects of molecular weight and concentration of arabinoxylans on the membrane plugging*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005. **53**(12): p. 4996-5002.

259. Schwarz, P.B. and J.Y. Han, *Arabinoxylan Content of Commercial Beers*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1995. **53**(4): p. 157-159.
260. Braun, F., *Mälzungs- und Maischversuche zu Möglichkeiten der technologischen Einflussnahme auf ungünstige Fließeigenschaften bei Roggenmalzwürzen unter besonderer Berücksichtigung des Reinheitsgebotes*, in *Chair for Technology of Brewing I*. 1998, TU München: Freising. p. 67.
261. Crafts-Brandner, S.J., *Fructans and freezing tolerance*. New Phytologist, 2005. **166**(3): p. 708-709.
262. Hagel, C., *Dinkelbier und seine physiologischen Eigenschaften*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2008, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
263. *Biersteuergesetz*. 1952: Bundesgesetzblatt.
264. Haensel, M., *Differenzierung verschiedener Buchweizensorten und Erstellung von Rohstoffspezifikationen für Buchweizen und andere Pseudogetreidearten*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2006, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
265. Müller, A., *Gesundheitspositive Inhaltsstoffe des Buchweizens und ihre Entwicklung während der Mälzung*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2010, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
266. Thormann, J., *Einfluss verschiedener Maischverfahren und Malze auf die Würzeosmolalität*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2010, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
267. Krahl, M., et al., *Isotonie bei Getränken*. Getränkeindustrie, 2007. **2007**(11): p. 30-34.
268. Bakic, K., *Vergleich und Bewertung verschiedener Milchsäurefermentationen von Malzextrakt*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2008, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
269. Stürmer, F., *Weiterentwicklung eines isotonischen Getränkes auf Sauergutbasis*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2009, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
270. Back, P.D.W., *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie*. 2009, Nürnberg: Fachverlag Hans-Carl.
271. Meilgaard, M., *Flavor Chemistry of Beer: Part II: Flavor Threshold of 239 Aroma Volatiles*. MBAA Technical Quarterly, 1975. **12**(3): p. 151-168.
272. Schütz, C., *DMS Ausdampfung und DMS-P Spaltung bei der Kochung von Brauereisauergut*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2010, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
273. Assenheimer, T., *Weiterentwicklung eines isotonischen Getränkes auf Malzbasis*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2009, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
274. Egle, G., *Entwicklung eines Konzeptes für ein isotonisches Getränk auf Malzbasis*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2008, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
275. Krahl, M., et al., *Erwünschter Ballast*. Getränkeindustrie, 2008. **2008**(5): p. 10-13.
276. Rao, V.A., *The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels*. Nutrition Research, 2001. **21**(6): p. 843-848.
277. Hörmann, J., *Validierung einer Methode zur Bestimmung von Fructan mittels HPAEC/PAD*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2008, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.

278. Krahl, M., et al., *Der deutsche Malztrunkmarkt - eine Marktanalyse*. Brauwelt, 2010. **in preparation**.
279. Most, J., *Untersuchungen zur Rehydrierung mit Malzgetränken nach körperlicher Belastung*, in *Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt*. 2009, Technische Universität München: Freising-Weihenstephan.
280. Bosscher, D., M. Van Caillie-Bertrand, and H. Deelstra, *Daily dietary fibre intake of children, 2 to 3 years of age, living in Antwerp, Belgium*. *Nutrition Research*, 2002. **22**(12): p. 1401-1411.
281. Lyly, M., et al., *Influence of oat beta-glucan preparations on the perception of mouthfeel and on rheological properties in beverage prototypes*. *Cereal Chemistry*, 2003. **80**(5): p. 536-541.
282. Sungsoo, C., J. De Vries, and L. Prosky, *Dietary fiber analysis and applications*. 1997, Gaithersburg: AOAC International.
283. Abdelaal, E.S.M., P. Hucl, and F.W. Sosulski, *Compositional and Nutritional Characteristics of Spring Einkorn and Spelt Wheats*. *Cereal Chemistry*, 1995. **72**(6): p. 621-624.
284. Belitz, H.D., W. Seilmeier, and H. Wieser, *The Proteins of (Triticum-Spelta)*. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 1989. **189**(1): p. 1-5.
285. Bonafaccia, G., et al., *Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread*. *Food Chemistry*, 2000. **68**(4): p. 437-441.
286. Oplinger, E.S., et al., *Alternative Field Crops Manual*. 1990: University of Wisconsin, Madison, WI.
287. Ranhotra, G.S., et al., *Baking and Nutritional Qualities of a Spelt Wheat Sample*. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 1995. **28**(1): p. 118-122.
288. Ranhotra, G.S., et al., *Nutrient Composition of Spelt Wheat*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1996. **9**(1): p. 81-84.
289. Kasarda, D.D. and R. D'Ovidio, *Deduced amino acid sequence of an alpha-gliadin gene from spelt wheat (spelta) includes sequences active in celiac disease*. *Cereal Chemistry*, 1999. **76**(4): p. 548-551.
290. Forsell, F. and H. Wieser, *Dinkel und Zöliakie*. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1995. **201**: p. 33-39.
291. Vincentini, O., et al., *Environmental factors of celiac disease: Cytotoxicity of hulled wheat species *Triticum monococcum*, *T-turgidum ssp dicoccum* and *T-aestivum ssp spelta**. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2007. **22**(11): p. 1816-1822.
292. Golda, A., et al., *Thiamine binding and metabolism in germinating seeds of selected cereals and legumes*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004. **42**(3): p. 187-195.
293. Friedrich, W., *Handbuch der Vitamine*. Thiamine. 1987, München, Wien, Baltimore: Urban&Schwarzenberg.
294. Prodanov, M., I. Sierra, and C. Vidal-Valverde, *Influence of soaking and cooking on the thiamin, riboflavin and niacin contents of legumes*. *Food Chemistry*, 2004. **84**(2): p. 271-277.
295. Vidal-Valverde, C., et al., *New functional legume foods by germination: effect on the nutritive value of beans, lentils and peas*. *European Food Research and Technology*, 2002. **215**(6): p. 472-477.
296. Zielinski, H., et al., *The effect of germination process on the superoxide dismutase-like activity and thiamine, riboflavin and mineral contents of rapeseeds*. *Food Chemistry*, 2006. **99**(3): p. 516-520.

297. B. Šebecic, I.V.-D.c., *An improved simple procedure for the determination of thiamine in food*. Die Nahrung, 1986. **30**.
298. Bonafaccia, G., M. Marocchini, and I. Kreft, *Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat*. Food Chemistry, 2003. **80**(1): p. 9-15.
299. Brauer, J., et al. *Producing gluten-free brewing raw materials and beer - more reward at the end of the day for coeliacs?* in *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*. 2005. Prague: Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany.
300. Devi, P.U., et al., *Radiation protection by the Ocimum flavonoids orientin and vicenin: Mechanisms of action*. Radiation Research, 2000. **154**(4): p. 455-460.
301. Hollman, P.C.H., M.G.L. Hertog, and M.B. Katan, *Analysis and health effects of flavonoids*. Food Chemistry, 1996. **57**(1): p. 43-46.
302. Hsu, C.-K., et al., *Improving the antioxidant activity of buckwheat (Fagopyrum tataricum Gaertn) sprout with trace element water*. Food Chemistry, 2008. **108**(2): p. 633-641.
303. Khokhar, S., et al., *A RP-HPLC method for the determination of tea catechins*. Cancer Letters, 1997. **114**(1-2): p. 171-172.
304. Kim, J.H., et al., *The isolation and antioxidative effects of vitexin from Acer palmatum*. Archives of Pharmacal Research, 2005. **28**(2): p. 195-202.
305. Kreis, S., et al. *Beer and innovative (functional) drinks based on malted cereals and pseudo-cereals*. in *30th European Brewery Convention*. 2005. Prague: Fachverlag Hans Carl GmbH.
306. Krkoskova, B. and Z. Mrazova, *Prophylactic components of buckwheat*. Food Research International, 2005. **38**(5): p. 561-568.
307. Li, S.Q. and Q.H. Zhang, *Advances in the development of functional foods from buckwheat*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2001. **41**(6): p. 451-464.
308. Nayak, V. and P.U. Devi, *Protection of mouse bone marrow against radiation-induced chromosome damage and stem cell death by the ocimum flavonoids orientin and vicenin*. Radiation Research, 2005. **163**(2): p. 165-171.
309. Phiarais, B.P.N., H.H. Wijngaard, and E.K. Arendt, *The impact of kilning on enzymatic activity of buckwheat malt*. Journal of the Institute of Brewing, 2005. **111**(3): p. 290-298.
310. Prestamo, G., et al., *Role of buckwheat diet on rats as prebiotic and healthy food*. Nutrition Research, 2003. **23**(6): p. 803-814.
311. Steadman, K.J., et al., *Buckwheat seed milling fractions: Description, macronutrient composition and dietary fibre*. Journal of Cereal Science, 2001. **33**(3): p. 271-278.
312. Sun, T. and C.T. Ho, *Antioxidant activities of buckwheat extracts*. Food Chemistry, 2005. **90**(4): p. 743-749.
313. Undeger, U., et al., *The modulating effects of quercetin and rutin on the mitomycin C induced DNA damage*. Toxicology Letters, 2004. **151**(1): p. 143-149.
314. Vrinda, B. and P.U. Devi, *Radiation protection of human lymphocyte chromosomes in vitro by orientin and vicenin*. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2001. **498**(1-2): p. 39-46.
315. Webster, R.P., M.D. Gawde, and R.K. Bhattacharya, *Protective effect of rutin, a flavonol glycoside, on the carcinogen-induced DNA damage and repair enzymes in rats*. Cancer Letters, 1996. **109**(1-2): p. 185-191.
316. Wijngaard, H.H. and E.K. Arendt, *Optimisation of a mashing program for 100% malted buckwheat*. Journal of the Institute of Brewing, 2006. **112**(1): p. 57-65.

317. Wijngaard, H.H., H.M. Ulmer, and E.K. Arendt, *The effect of germination temperature on malt quality of buckwheat*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2005. **63**(1): p. 31-36.
318. Wijngaard, H.H., H.M. Ulmer, and E.K. Arendt, *The effect of germination time on the final malt quality of buckwheat*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2006. **64**(4): p. 214-221.
319. Wijngaard, H.H., et al., *The effect of steeping time on the final malt quality of buckwheat*. Journal of the Institute of Brewing, 2005. **111**(3): p. 275-281.
320. Zhao, C.Y., et al., *Fast repair of deoxythymidine radical anions by two polyphenols: rutin and quercetin*. Biochemical Pharmacology, 2003. **65**(12): p. 1967-1971.
321. Bengtsson, S., et al., *Content, Structure and Viscosity of Soluble Arabinoxylans in Rye Grain from Several Countries*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1992. **58**(3): p. 331-337.
322. Charalampopoulos, D., et al., *Application of cereals and cereal components in functional foods: a review*. International Journal of Food Microbiology, 2002. **79**(1-2): p. 131-141.
323. Debyser, W., G. Derdelinckx, and J.A. Delcour, *Arabinoxylan and arabinoxylan hydrolysing activities in barley malts and worts derived from them*. Journal of Cereal Science, 1997. **26**(1): p. 67-74.
324. Han, J.Y. and P.B. Schwarz, *Arabinoxylan composition in barley, malt, and beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1996. **54**(4): p. 216-220.
325. Jørgensen, K.G., *Quantification of high molecular weight (1→3),(1→4)- β-D-glucan using Calcofluor complex formation and flow injection analysis. I. Analytical principle and its standardization*. Carlsberg Research Communications 1988. **73**: p. 277-285.
326. Ullrich, S., et al., *Analysis of Beta-Glucans in BARley and Malt: A Comparison of Four Methods*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1991. **49**(3): p. 110-115.
327. Van den Bulck, K., et al., *Isolation of cereal arabinogalactan-peptides and structural comparison of their carbohydrate and peptide moieties*. Journal of Cereal Science, 2005. **41**(1): p. 59-67.
328. Andrewartha, K.A., D.R. Phillips, and B.A. Stone, *Solution Properties of Wheat-Flour Arabinoxylans and Enzymically Modified Arabinoxylans*. Carbohydrate Research, 1979. **77**(Dec): p. 191-204.
329. Cummings, J.H., G.T. Macfarlane, and H.N. Englyst, *Prebiotic digestion and fermentation*. American Journal of Clinical Nutrition, 2001. **73**(2): p. 415s-420s.
330. Debyser, W., G. Derdelinckx, and J.A. Delcour, *Arabinoxylan solubilization and inhibition of the barley malt xylanolytic system by wheat during mashing with wheat wholemeal adjunct: Evidence for a new class of enzyme inhibitors in wheat*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1997. **55**(4): p. 153-156.
331. Dervilly-Pinel, G., et al., *Water-extractable arabinoxylan from pearled flours of wheat, barley, rye and triticale. Evidence for the presence of ferulic acid dimers and their involvement in gel formation*. Journal of Cereal Science, 2001. **34**(2): p. 207-214.
332. Finnie, S.M., A.D. Bettge, and C.F. Morris, *Influence of cultivar and environment on water-soluble and water-insoluble arabinoxylans in soft wheat*. Cereal Chemistry, 2006. **83**(6): p. 617-623.
333. Fischer, M. and A. Bacher, *Biosynthesis of vitamin B-2 in plants*. Physiologia Plantarum, 2006. **126**(3): p. 304-318.
334. Marteau, P., *Prebiotics and probiotics for gastrointestinal health*. Clinical Nutrition, 2001. **20**: p. 41-45.



335. Rantanen, H., et al., *Preparation of arabinoxylobiose from rye xylan using family 10 Aspergillus aculeatus endo-1,4-beta-D-xylanase*. Carbohydrate Polymers, 2007. **68**(2): p. 350-359.
336. Swennen, K., C.M. Courtin, and J.A. Delcour, *Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006. **46**(6): p. 459-471.
337. Van Craeyveld, V., et al., *Structurally Different Wheat-Derived Arabinoxylooligosaccharides Have Different Prebiotic and Fermentation Properties in Rats*. Journal of Nutrition, 2008. **138**(12): p. 2348-2355.
338. Vietor, R.J., A.G.J. Voragen, and S.A.G.F. Angelino, *Composition of Nonstarch Polysaccharides in Wort and Spent Grain from Brewing Trials with Malt from a Good Malting Quality Barley and a Feed Barley*. Journal of the Institute of Brewing, 1993. **99**(3): p. 243-248.
339. Breves, G., J. Kock, and B. Schroder, *Transport of nutrients and electrolytes across the intestinal wall in pigs*. Livestock Science, 2007. **109**(1-3): p. 4-13.
340. Klein, H., B. Lötsch, and M. Ketzer, *Sportgetränke: individuell, optimiert*. Journal für Ernährungsmedizin, 2006. **8**(3): p. 30-38.
341. Jenkins, D.J.A., et al., *Glycemic Index of Foods - a Physiological-Basis for Carbohydrate Exchange*. American Journal of Clinical Nutrition, 1981. **34**(3): p. 362-366.
342. Gretebeck, R.J., K.A. Gretebeck, and T.J. Tittelbach, *Glycemic index of popular sport drinks and energy foods*. Journal of the American Dietetic Association, 2002. **102**(3): p. 415-417.
343. Augustin, L.S., et al., *Glycemic index in chronic disease: a review*. European Journal of Clinical Nutrition, 2002. **56**(11): p. 1049-1071.
344. Raben, A., *Should obese patients be counselled to follow a low-glycaemic index diet? No*. Obesity Reviews, 2002. **3**: p. 245-256.
345. Aguilo-Aguayo, I., et al., *Flavour retention and related enzyme activities during storage of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat*. Food Chemistry, 2009. **116**(1): p. 59-65.
346. Bamforth, C., *pH in Brewing: An Overview*. MBAA Technical Quarterly, 2001. **38**(1): p. 1-9.
347. Barker, R.L., et al., *Liberation of Staling Aldehydes during Storage of Beer*. Journal of the Institute of Brewing, 1983. **89**(6): p. 411-415.
348. Basarova, G., et al., *Veränderungen des Aminosäuregehaltes während der natürlichen Alterung des Bieres*. Monatsschrift Fur Brauwissenschaft, 1999(7/8): p. 112-118.
349. Bohmann, J.J., *Determination of the Aging Behavior of Beer .2. The Behavior of Some Volatile Compounds under Heat-Treatment*. Monatsschrift Fur Brauwissenschaft, 1985. **38**(2): p. 79-85.
350. Buettner, A. and P. Schieberle, *Characterisation of the Most Odor-Active Volatiles in Fresh Hand-Squeezed Juice of Grapefruit (Citrus paradisi Macfayden)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999. **47**(12): p. 5189-5193.
351. Chevance, F., et al., *Investigation of the beta-damascenone level in fresh and aged commercial beers*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50**(13): p. 3818-3821.
352. Cremer, D.R. and K. Eichner, *The reaction kinetics for the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders*. Food Chemistry, 2000. **71**(1): p. 37-43.
353. Eckert, M. and P. Riker, *Overcoming challenges in functional beverages*. Food Technology, 2007. **61**(3): p. 20-+.
354. Gastl, M., et al., *The influence of malt quality and malting technology on the flavour stability of beer*. Monatsschrift Fur Brauwissenschaft, 2006(9-10): p. 163-175.

355. Harayama, K., F. Hayase, and H. Kato, *Contribution to Stale Flavor of 2-Furfuryl Ethyl Ether and Its Formation Mechanism in Beer*. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1995. **59**(6): p. 1144-1146.
356. Igual, M., et al., *Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice*. Food Chemistry, 2009.
357. Isoe, S., Katsumur.S, and T. Sakan, *Synthesis of Damascenone and Beta-Damascone and Possible Mechanism of Their Formation from Carotenoids*. Helvetica Chimica Acta, 1973. **56**(5): p. 1514-1516.
358. Kishimoto, T., et al., *Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(12): p. 4701-4707.
359. Lin, J.M. and R.L. Rouseff, *Characterization of aroma-impact compounds in cold-pressed grapefruit oil using time-intensity GC-olfactometry and GC-MS*. Flavour and Fragrance Journal, 2001. **16**(6): p. 457-463.
360. Meilgaard, M., *Stale Flavour Carbonyls in Brewing*. The Brewers Digest, 1972. **47**(4): p. 48-57.
361. Meilgaard, M., M. Ayma, and J. Ruano, *A Study of Carbonyl Compounds in Beer. IV. Carbonyl Compounds Identified in Heat-Treated Wort and Beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1971. **31**: p. 219-229.
362. Meilgaard, M., C. Dalglish, and J. Clapperton, *Beer Flavor Terminology*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 1979. **37**(1): p. 47-52.
363. Ohloff, G. and S. Firmenich, *Importance of minor components in flavors and fragrances*. Perfumer & Flavorist, 1978. **3**(1): p. 11-22.
364. Piendl, A., *Brewing technology and molecular biology*. Brauwissenschaft, 1969. **22**: p. 175-186.
365. Qian, M. and G. Reineccius, *Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method*. Flavour and Fragrance Journal, 2003. **18**(3): p. 252-259.
366. Saison, D., et al., *Contribution of staling compounds to the aged flavour of lager beer by studying their flavour thresholds*. Food Chemistry, 2009. **114**(4): p. 1206-1215.
367. Vanderhaegen, B., et al., *Influence of the brewing process on furfuryl ethyl ether formation during beer aging*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004. **52**(22): p. 6755-6764.
368. Brand, J., *Über das Vorkommen von Furfurol im Malze, in der Würze und im Bier*. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen, 1898. **21**: p. 255-258.
369. Lintner, C., *Über das Verschwinden des Furfurols bei der Alkoholgärung*. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen, 1910. **33**: p. 457-463.
370. Lintner, C., *Über die Reduktion des Furfurols durch Hefe bei der alkoholischen Gärung*. Hoppe-Seylers Zeitschrift für physikalische Chemie, 1911. **72**: p. 449-454.
371. Shirreffs, S.M., et al., *Rehydration after exercise in the heat: A comparison of 4 commonly used drinks*. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 2007. **17**(3): p. 244-258.
372. Shirreffs, S.M. and R.J. Maughan, *Water turnover and regulation of fluid balance*, in *Sports drinks: basic science and practical aspects*, R.J. Maughan and R. Murray, Editors. 2001, CRC Press: Boca raton, london, New York, Washington. p. 29-43.
373. Leiper, J.B., *Gastric emptying and intestinal absorption of fluids, carbohydrates and electrolytes*, in *Sports Drinks: basic science and practical aspects*, R.J. Maughan and R. Murray, Editors. 2001, CRC Press: Boca Ranton, London, New York. p. 89-128.

374. Rehner, G. and H. Daniel, *Biochemie der Ernährung*. Auflage 2 ed. 2002, Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
375. Mc Ardle, W., F. Katch, and V. Katch, *Exercise physiology: energy, nutrition, and human performance*. edition 5 ed. 2001, Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
376. Maughan, R.J., *Fluid and electrolyte loss and replacement in exercise*, in *Oxford Textbook of Sports Medicine*, M. Harries, et al., Editors. 1994, Oxford University Press: New York, Oxford, Tokyo. p. 82-93.
377. Calbert, J. and D. Mac Lean, *Role of caloric content on gastric emptying in humans*. *Journal of Physiology* 1997. **498**(2): p. 553-559.
378. Hunt, J.N. and D.F. Stubbs, *Volume and Energy Content of Meals as Determinants of Gastric-Emptying*. *Journal of Physiology-London*, 1975. **245**(1): p. 209-225.
379. Klinke, R. and S. Silbernagl, *Lehrbuch der Physiologie*. Auflage 3 ed. 2001, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
380. Löffler, G., P. Petrides, and P. Heinrich, *Biochemie und Pathobiochemie*. Auflage 8 ed. 2007, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
381. Schmidt, R., F. Lang, and G. Thews, *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. Auflage 29 ed. 2005, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
382. Gisolfi, C.V. and S.M. Duchman, *Guidelines for Optimal Replacement Beverages for Different Athletic Events*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1992. **24**(6): p. 679-687.
383. Konopka, P., *Sporternährung*. Vol. Auflage 10. 2006, München: BLV Buchverlag.
384. Shirreffs, S.M., L.E. Armstrong, and S.N. Chevront, *Fluid and electrolyte needs for preparation and recovery from training and competition*. *Journal of Sports Sciences*, 2004. **22**(1): p. 57-63.
385. Merson, S.J., R.J. Maughan, and S.M. Shirreffs, *Rehydration with drinks differing in sodium concentration and recovery from moderate exercise-induced hypohydration in man*. *European Journal of Applied Physiology*, 2008. **103**(5): p. 585-594.
386. Gonzalezalonso, J., C.L. Heaps, and E.F. Coyle, *Rehydration after Exercise with Common Beverages and Water*. *International Journal of Sports Medicine*, 1992. **13**(5): p. 399-406.
387. Maughan, R.J. and J.B. Leiper, *Sodium-Intake and Postexercise Rehydration in Man*. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1995. **71**(4): p. 311-319.
388. Shirreffs, S.M., et al., *Post-exercise rehydration in man: Effects of volume consumed and drink sodium content*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1996. **28**(10): p. 1260-1271.
389. Schedl, H.P., R.J. Maughan, and C.V. Gisolfi, *Intestinal-Absorption during Rest and Exercise - Implications for Formulating an Oral Rehydration Solution (Ors)*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1994. **26**(3): p. 267-280.
390. Fordtran, J.S., et al., *Permeability Characteristics of Human Small Intestine*. *Journal of Clinical Investigation*, 1965. **44**(12): p. 1935-&.
391. Edmonds, C.J., *Salts and Water*, in *Intestinal Absorption*, D. Smyth, Editor. 1974, Plenum Press: London, New York. p. 711-760.
392. Maughan, R.J., *Functional ingredients in sports drinks*, in *Performance functional foods*, D. Watson, Editor. 2003, CRC Press: Boca Ranton, Boston, New York, Washington D.C.
393. Wapnir, R.A. and F. Lifshitz, *Osmolality and Solute Concentration - Their Relationship with Oral Hydration Solution Effectiveness - an Experimental Assessment*. *Pediatric Research*, 1985. **19**(9): p. 894-898.

394. Brouns, F., *Essentials of sports nutrition*. 2nd ed. 2002, Chichester, England: John Wiley & Sons.
395. Nielsen, B., et al., *Fluid Balance in Exercise Dehydration and Rehydration with Different Glucose-Electrolyte Drinks*. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1986. **55**(3): p. 318-325.
396. Rehrer, N.J., et al., *Effects of Electrolytes in Carbohydrate Beverages on Gastric-Emptying and Secretion*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1993. **25**(1): p. 42-51.
397. Maughan, R.J. and S.M. Shirreffs, *Recovery from prolonged exercise: Restoration of water and electrolyte balance*. *Journal of Sports Sciences*, 1997. **15**(3): p. 297-303.
398. Stehle, P., *Sport und Ernährung*, in *Ernährungsmedizin*, H. Biesalski, et al., Editors. 2004, Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York. p. 231-237.
399. Costill, D.L. and K.E. Sparks, *Rapid Fluid Replacement Following Thermal Dehydration*. *Journal of Applied Physiology*, 1973. **34**(3): p. 299-303.
400. Nose, H., et al., *Role of Osmolality and Plasma-Volume during Rehydration in Humans*. *Journal of Applied Physiology*, 1988. **65**(1): p. 325-331.
401. Nose, H., et al., *Involvement of Sodium Retention Hormones during Rehydration in Humans*. *Journal of Applied Physiology*, 1988. **65**(1): p. 332-336.
402. Schek, A., *Top-Leistung im Sport durch bedürfnisgerechte Ernährung*. 2002, Münster: Philippka-Sportverlag.
403. Neumann, G., *Ernährung im Sport*. 2004, Aachen: Meyer & Meyer Sport.
404. Shirreffs, S.M., *Post-exercise rehydration and recovery*, in *Sports drinks: basic science and practical aspects*, R.J. Maughan and R. Murray, Editors. 2001, CRC Press: Boca Raton, London, New York, Washington. p. 183-195.
405. Konopka, P., *Radsport*. 2002, München: BLV Buchverlag.
406. Modiglia, R. and J.J. Bernier, *Absorption of Glucose, Sodium, and Water by Human Jejunum Studied by Intestinal Perfusion with a Proximal Occluding Balloon and at Variable Flow Rates*. *Gut*, 1971. **12**(3): p. 184-&.
407. Sladen, G.E. and A.M. Dawson, *Further Studies on Perfusion Method for Measuring Intestinal Absorption in Man - Effects of a Proximal Occlusive Balloon and a Mixing Segment*. *Gut*, 1970. **11**(11): p. 947-&.
408. Vist, G. and R.J. Maughan, *The effect of glucose and fructose solutions with and without sodium on gastric emptying and blood glucose concentration in man*. *Journal of Physiology*, 1994. **481**(P).
409. Jones, B.J.M., B.E. Higgins, and D.B.A. Silk, *Glucose-Absorption from Maltotriose and Glucose Oligomers in the Human Jejunum*. *Clinical Science*, 1987. **72**(4): p. 409-414.
410. Shi, X.C., et al., *Effects of Carbohydrate Type and Concentration and Solution Osmolality on Water-Absorption*. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1995. **27**(12): p. 1607-1615.
411. Leiper, J.B., F. Brouns, and R.J. Maughan, *The Effect of Osmolality on Water and Solute Absorption from Carbohydrate-Electrolyte Solutions (Ces) in the Human Jejunal Perfusion Model*. *Journal of Physiology-London*, 1994. **479P**: p. P59-P59.
412. Kern, M., *CRC Desk Reference on Sports Nutrition*. 2005, San Diego: Taylor & Francis Group.
413. Baron, K., *Optimale Ernährung des Sportlers*. 2004, Stuttgart: S. Hirzel Verlag.
414. Hill, R.J., L.J.C. Bluck, and P.S.W. Davies, *The hydration ability of three commercially available sports drinks and water*. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 2008. **11**(2): p. 116-123.

## **8 Veröffentlichungsanhang**

### ***8.1 Erwünschter Ballast: Inulin und Oligofructose - lösliche Ballaststoffe als biofunktionelle Getränkesupplementstoffe***

Krahl, M., Hörmann, J., Auer, A., Back, W. and Kreis, S., Erwünschter Ballast.  
*Getränkeindustrie*, 2008, **2008(5)**, 10-13.

# Erwünschter Ballast

## Inulin und Oligofructose – lösliche Ballaststoffe als biofunktionelle Getränkesupplementstoffe

*Inulin und die kürzerkettige Variante Oligofructose werden heutzutage zu immer mehr Nahrungsmitteln zugesetzt und sind insbesondere bereits aus der Molkereindustrie als potenziell gesundheitspositive Supplementstoffe bekannt. Durch ihre ernährungsphysiologisch positiven Eigenschaften wird der Industrie die Entwicklung von Lebensmitteln mit einer ausgewogenen Nährstoffzusammensetzung und einem nachweisbar gesundheitsfördernden Zusatznutzen ermöglicht. Intensive internationale Forschungsarbeiten haben bereits etliche positive Eigenschaften von Inulin und Oligofructose durch Humanstudien belegt.*

Sie stellen damit gut erforschte biofunktionelle Lebensmittelzutaten dar, die in einer breiten Palette von festen Lebensmitteln und Getränken eingesetzt werden können. Je nach Produktzusammensetzung und Herstellungsprozess sind jedoch Verluste an Inulin möglich, vor allem durch ungünstiges Zusammenspiel verschiedener Prozessparameter kann es zur Spaltung der  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1)-verknüpften Fructoseketten kommen.

Als besonders problematisch sind hierbei saure pH-Werte unter 3,0, sowie die Anwendung von Erhitzungsverfahren

(z.B. Pasteurisierung oder Ultra-hocherhitzung) zu sehen. Da der Hersteller jedoch das Vorhandensein der ernährungsphysiologisch wertvollen Getränkebestandteile bis zum Ende der Produkthaltbarkeit garantieren können sollte, ergibt sich hieraus auch die Notwendigkeit einer funktionierenden und möglichst einfachen Analytik.

### Ballaststoffe in der heutigen Ernährung

Dem „European Nutrition and Health Report 2004“ zufolge blieb die Ballaststoffzufuhr in allen europäischen Ländern unter der empfohlenen Tagesdosis von 30 Gramm pro Tag für Erwachsene [1]. Tabelle 1 zeigt, dass die durchschnittliche Ballaststoffaufnahme der weiblichen Bevölkerung geringer ist, als die der männlichen. Diese Beobachtung ist allerdings ausschließlich auf die höhere Energiezufuhr der Männer im Schnitt zurückzuführen.

Bezogen auf die Kalorienaufnahme ist die Ballaststoffaufnahme der weiblichen Bevölkerung deutlich höher [2]. Diese Unterbilanzierung an Ballaststoffen in der heutigen westlichen Ernährung ist einerseits auf einen starken Trend hin zu Fertigprodukten mit einem traditionell geringen Anteil an Ballaststoffen, bedingt durch das Fehlen fast sämtlicher Schalen- und Hülsenanteile, andererseits durch das gesunkene Preisniveau bei Fleischwaren und dem damit stark angestiegenen quasi ballaststofffreien Fleischanteil zurückzuführen.

In den letzten Jahren haben Politik und Gesundheitsverbände verstärkt ver-

sucht, die öffentliche Wahrnehmung auch in Richtung der aktuellen Ballaststoff-Unterbilanzierung zu sensibilisieren, wodurch unter anderem die Bereitschaft der Bevölkerung gestiegen ist, Lebensmittel mit einem erhöhten Anteil an Ballaststoffen zu erwerben.

### Inulin und Oligofructose

Inulin gehört zur Gruppe der Fructane und besteht chemisch betrachtet aus einer linearen Kette von Fructosemolekülen. Die einzelnen Fructofuranosyl-einheiten sind dabei  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1)-glykosidisch verknüpft. Abbildung 1 verdeutlicht die glykosidischen Bindungen zwischen den unterschiedlichen Molekülen und gibt einen Überblick über den chemischen Aufbau von Inulin. Am nicht-reduzierenden Ende befindet sich häufig ein Glucopyranosemolekül (Abbildung 1 links).

Das Kettenende ist dann  $\alpha$ -(2 $\rightarrow$ 1)-glykosidisch mit Glucose verknüpft. Ist eine endständige Glucose vorhanden, hat das Molekül nicht-reduzierende Eigenschaften. Ohne Glucose (Abbildung 1 rechts), wird das Inulinmolekül zu den reduzierenden Kohlenhydraten gezählt.

In Abbildung 1 gibt  $n$  den Polymerisationsgrad oder die Anzahl an  $\beta$ -D-Fructofuranose an. G und F stehen für Glucose und Fructose; folglich ist  $G_{py}F_n$  ein  $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $[\beta$ -D-fructofuranosyl] $_{(n-1)}$ -D-Fructofuranosid;  $F_{py}F_n$  ein  $\beta$ -D-fructopyranosyl- $[\beta$ -D-fructofuranosyl] $_{(n-1)}$ -D-Fructofuranosid. Bei einem Polymerisationsgrad von unter 9 wird von Oligofructose, ansonsten von Inulin gesprochen [5].



Dipl.-Ing.  
Moritz Krahl

Lehrstuhl für Technologie  
der Brauerei I,  
Technische Universität  
München.

### B.Sc. Julia Hörmann

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I,  
Technische Universität München.

### Agnes Auer

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I,  
Technische Universität München.

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

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I,  
Technische Universität München.

### Dr.-Ing. Stefan Kreis

Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark.

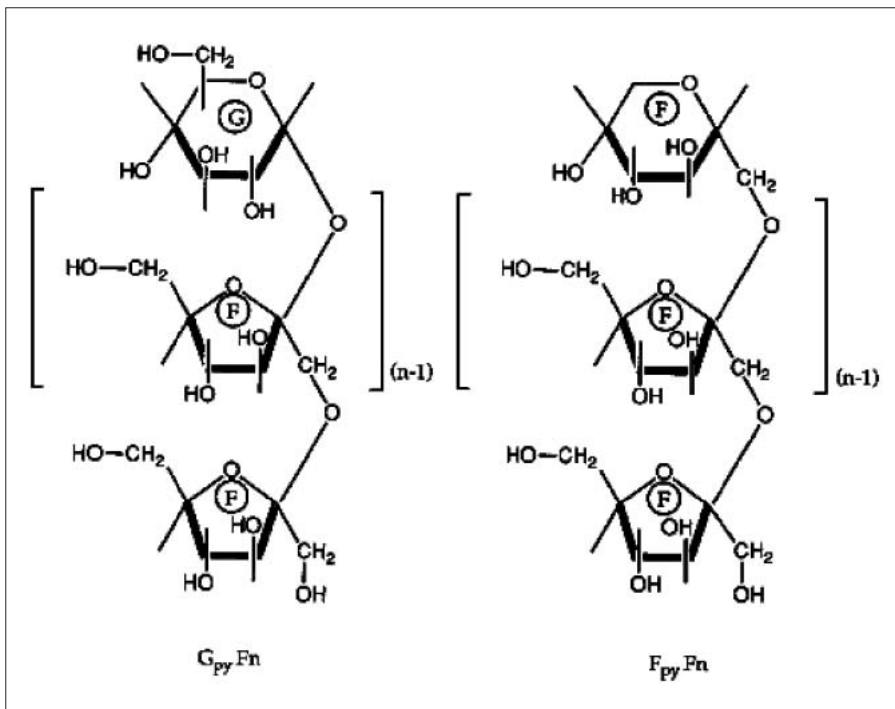


Abbildung 1: Chemische Struktur von inulinartigen Fructanen.

## Ernährungsphysiologische Vorteile von Inulin

Inulin und Oligofructose haben ähnliche ernährungsphysiologische Eigenschaften. Die enthaltenen  $\beta$ -Verknüpfungen können von den im menschlichen Verdauungssystem vorkommenden Enzymen nicht gespalten werden, was dazu führt, dass die Fructosepolymere intakt in den Dickdarm gelangen, erst dort werden sie von den Bakterien der Darmflora fermentiert.

Nach Gibson und Roberfroid [6] wird ein solches Präbiotikum als unverdaulicher Nahrungsbestandteil definiert, der sich günstig auf die Darmgesundheit auswirkt, indem er das Wachstum und/oder die Aktivität einer begrenzten Anzahl von Bakterien im Dickdarm selektiv stimuliert und so die Gesundheit

des Wirts positiv beeinflusst. Präbiotika werden im oberen Verdauungstrakt weder hydrolysiert noch absorbiert und erst im Dickdarm, durch die endogenen Bakterien, vorwiegend Bifidobakterien und Lactobazillen, fermentiert.

Durch die Zufuhr präbiotischer Substanzen wie Inulin kann eine positive Veränderung der Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora erreicht werden, in verschiedenen Studien in vivo und in vitro wurde nachgewiesen, dass Inulin insbesondere von Bifidobakterien fermentiert wird und somit deren Wachstum selektiv stimuliert [6]. Als Grund hierfür wird angenommen, dass diese eine höhere  $\beta$ -Fructosidaseaktivität aufweisen als andere Spezies. Die damit zusammenhängende starke Produktion kurzkettiger Fettsäuren (Butyrat, Propionat, Lactat und Acetat)

verursacht einen Abfall des pH-Wertes im Kolonlumen, was zu einer deutlichen Reduzierung von möglichen pathogenen Mikroorganismen wie Clostridien, Bacteroides und E.Coli führt.

Ein weiterer erwiesener Sekundäreffekt bei der Aufnahme von Inulin ist die Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Calcium, welches normalerweise lediglich zu 30 Prozent aus der Nahrung resorbiert wird. Diese Resorptionsquote wird durch die Absenkung des kolonalen pH-Wertes deutlich erhöht, eine Tatsache, die insbesondere für Osteoporosepatienten erhebliche Vorteile bringt. Da diese Wirkung nicht calciumspezifisch ist konnte auch eine erhöhte Aufnahme anderer Mineralstoffe wie Magnesium und Zink nachgewiesen werden.

Auch das Risiko an Dickdarmkrebs, momentan die zweithäufigste Krebserkrankung weltweit, zu erkranken kann durch die regelmäßige Aufnahme von Inulin und Oligofructose verringert werden. Eine Verminderung karzinogener Effekte durch Fructane konnte bereits in vitro, sowie in Tierexperimenten und in ersten Humanstudien beobachtet werden. Aus den derzeit zur Verfügung stehenden in vitro-Daten lässt sich schlussfolgern, dass vor allem durch das beim Abbau entstehende Butyrat, aber zum Teil auch durch andere komplexe Fermentationsprodukte prä-maligne und entartete Kolonzellen am Wachstum gehindert werden, was eine verminderte Tumorprogression zur Folge hat.

Diese Vermutung unterstützen auch Tierexperimente, sodass man bei lebenslanger Zufuhr von Ballaststoffen, die im Darm die Butyratbildung anregen, davon ausgehen kann, einen kolonkrebsprophylaktischen Effekt zu erreichen. Diese Hypothese gilt es jedoch noch im Rahmen klinischer Untersuchungen und langfristiger Humanstudien nachzuweisen.

Tabelle 1: Ballaststoffaufnahme von Erwachsenen in einigen EU Ländern

Land	männlich [g/d]	weiblich [g/d]
Dänemark	22,0	18,0
Irland	23,2	17,4
Niederlande	24,2	20,2
Finnland	21,8	18,5
GB	18,0	
Deutschland	21	17,7
Spanien	18,4	
Griechenland	18,2	
Frankreich	21,0	17,1

## Inulin und Oligofructose in Getränken

Um die Auswirkung eines Zusatzes der Polyfructosederivate Inulin und Oligofructose auf die sensorische Wahrnehmung von Getränken zu bestimmen, wurde im Rahmen einer Studienarbeit am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I der TU München in Weihenstephan ein Versuch zur Bestimmung der Geschmacksschwellenwerte in Wasser und ausgewählten alkoholfreien Getränken durchgeführt. Diese Geschmacksschwellenwerte wurden nach dem allgemein üblichen Verfahren nach EBC 13.9 in sogenannten Triangel-(Dreiecks-)tests bestimmt.

Die Ballaststoffkonzentrationen wurden hierbei in einem Bereich zwischen 1 g/l



und 30 g/l gewählt, höhere Konzentrationen wurden bei dieser Untersuchung nicht berücksichtigt, da ein höherer Einsatz in Getränken aufgrund einer potenziell abführenden Wirkung, sowie bei manchen Menschen auftretenden Unverträglichkeiten bei übermäßiger Zufuhr von Inulin (> 20 g/l) keinerlei Praxisrelevanz besitzt und somit für diese Studie nicht von Interesse war. Die gefundenen Schwellenwerte sind in Tabelle 2 dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass selbst in Wasser eine sensorisch differenzierte Wahrnehmung erst ab einer Ballaststoffkonzentration von etwa 10 g/l erfolgt, welche in aromatisierten Mineralwässern und alkoholfreiem Lagerbier, bedingt durch hier vorkommende maskierende Effekte erst ab Konzentrationen von über 15 g/l zu beobachten sind.

Man nimmt an, dass bei einem realistischen Verzehr ballaststoffsupplementierter Lebensmittel eine Aufnahme von 5 bis 10 g/d nicht überschritten werden sollte, was immerhin einer Erhöhung der Durchschnittsaufnahme in westlichen Ländern von 50 bis 100 Prozent entspricht, woraus sich eine optimale Zugabe von 4 bis 5 g/l ergibt. Allerdings sind auch niedrigere Zugaben bereits physiologisch wirksam, so konnte in Humanstudien ein positiver Effekt bereits bei Aufnahmen von 1 g/d durch eine erhöhte H<sub>2</sub>-Exhalation festgestellt werden [3].

Höhere Zugaben erscheinen momentan nicht ratsam, da hierdurch die Gefahr von Blähungen und leichtem „Darmunwohlsein“ bei Konsumenten steigen kann, welche zwar gesundheitlich völlig unbedenklich sind, jedoch das allgemeine Wohlbefinden des Konsumenten beeinträchtigen können und sich somit negativ auf den Getränkeabsatz auswirken.

## Analytik

Um den tatsächlichen Gehalt an Polyfructosederivaten in Getränken zu bestimmen, ist es notwendig eine schnelle und zuverlässige Analytik derselben zur Verfügung zu haben. Das Problem, welches hierbei auftritt, ist, dass selbige weder durch die klassische Rohfaseranalytik, noch durch die Ausfällung löslicher Ballast-

**Tabelle 2: Geschmacksschwellenwerte von Inulin und Oligofruktose**

Probe	Geschmacksschwelle Inulin	Geschmacksschwelle Oligofruktose
Wasser	5 – 10 g/l	~ 12 g/l
Mineralwasser mit Pfirsicharoma	20 – 25 g/l	~ 20 g/l
Mineralwasser mit Birnenaroma	~ 15 g/l	nicht bestimmt
Alkoholfreies Lagerbier	20 – 30 g/l	20 – 30 g/l

stoffe nach AOAC Methode 993.19 erfasst werden können und deshalb auch lange Zeit nicht den Ballaststoffen zugeordnet wurden [4].

Bedingt durch die variable Kettenlänge der einzelnen Polysaccharide ist es außerdem nicht möglich diese inhomogene Stoffgruppe direkt zu analysieren. Hier hat sich nun in den letzten Jahren eine Bestimmung der durch enzymatische Hydrolyse mittels Fructanase® oder Inulinase®, einem aus *Aspergillus niger* gewonnenen Enzym (EC-Nummer 3.2.1.7), welches die Hydrolyse  $\beta$ -(2-1)-Bindungen katalysiert, resultierenden Monosaccharide mittels Photometer (AOAC-Methode 997.08) beziehungsweise HPAEC/PAD durchgesetzt.

Die Messung mittels HPAEC/PAD, wie sie am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I durchgeführt wird, hat zwar den Nachteil des höheren apparativen Aufwandes, welcher jedoch durch eine höhere Messgenauigkeit und einen höheren Probendurchsatz wettgemacht wird. Auch die Wiederholbarkeit der Analyse ist ein Vorteil dieser Methode, weshalb sie nach Möglichkeit bevorzugt werden sollte.

## Perspektiven

Der Zusatz von Inulin und Oligofruktose zu Getränken bietet die Chance, Produkte mit in der Bevölkerung bereits allgemein als gesundheitspositiv anerkannten Supplementstoffen auf den Markt zu bringen, was neben den positiven ernährungsphysiologischen Effekten für den Konsumenten dem Produzenten solcher Produkte die

Möglichkeit verschafft, seine Außen- darstellung positiv zu beeinflussen. Da die Geschmacksschwelle für diese Stoffe sehr hoch liegt, besteht zudem die Möglichkeit des Zusatzes auch in Getränken mit einem relativ niedrigen Kohlenhydratgehalt ohne eine sensorische Veränderung der Produkte befürchten zu müssen.

## Danksagung

Diese Arbeit wurde durch den Fonds Inbev-Baillet Latour gefördert, des Weiteren einen herzlichen Dank an die Georg Breuer GmbH für die Bereitstellung der Ballaststoffe. □

## Referenzen:

- [1] Bosscher, D.; Van Caillie-Bertrand, M.; Deelstra, H.: Daily dietary fibre intake of children, 2 to 3 years of age, living in Antwerp, Belgium. In: Nutrition Research 22 (2002), Nr. 12, S. 1401 bis 1411
- [2] Lyly, M.; Salmenkalio-Marttila, M.; Suortti, T.; Autio, K.; Poutanen, K.; Lahteenmaki, L.: Influence of oat beta-glucan preparations on the perception of mouthfeel and on rheological properties in beverage prototypes. In: Cereal Chemistry 80 (2003), Nr. 5, S. 536 bis 541
- [3] Rao, V. A.: The prebiotic properties of oligofruktose at low intake levels. In: Nutrition Research 21 (2001), Nr. 6, S. 843 bis 848
- [4] Roberfroid, M. B.: Functional foods: concepts and application to inulin and oligofruktose. In: British Journal of Nutrition 87 (2002), Nr. S. 139 bis 143
- [5] Roberfroid, M. B.: Introducing inulin-type fructans. In: British Journal of Nutrition 93 (2005), Nr. S. S. 13 bis S. 25
- [6] Roberfroid, M. B.; Van Loo, J. A. E.; Gibson, G. R.: The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. In: Journal of Nutrition 128 (1998), Nr. 1, S. 11 bis 19



**8.2 Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*)**

Krahl, M.,Hagel, C.,Zarnkow, M.,Back, W. and Kreis, S., Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*). *BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft)*, 2008, **61**, 169-173.

M. Krahl, C. Hagel, M. Zarnkow, W. Back and S. Kreis

# Changes of the Content of Water-soluble Bioactive Compounds during the Malting Process of Spelt Wheat (*Triticum aestivum var. spelta*)

Spelt wheat (*Triticum aestivum var. spelta*), a hexaploid variety of the genus *Triticum* is a cereal closely related to common wheat (*Triticum aestivum*). The major non-starchy carbohydrates in spelt wheat are arabinoxylans and fructans. Furthermore spelt wheat is known to contain relatively high levels of thiamine and riboflavin, two vitamins from the B-group. In this work the influence of a standard malting process on the content of these four bioactive compounds was studied. The amount of water-extractable arabinoxylan increased significantly during the malting process, as well as the water-extractable riboflavin content. The fructan concentration in the analysed samples showed a slight increase and thiamine levels staid stable.

Descriptors: spelt wheat, Arabinoxylan, malting, Thiamine, Riboflavin, Fructan, dietary fibre

## 1 Introduction

Nowadays the worldwide nutrition is mainly based on only three cereals, wheat, rice and corn; they contribute over 75 % to the worlds starch production. At the same time diseases caused by wrong or unbalanced diet are becoming problematic in western countries. In this regard the enrichment or conservation of bioactive compounds in the malting process with the objective to provide their beneficial health effects to the consumer is a very important field.

Spelt (*Triticum aestivum var. spelta*), a hexaploid sub-species of common wheat [1], is an ancient bread cereal that is still grown in Europe and some other regions of the northern hemisphere [2]. The use of spelt in cooking and baking has been a tradition in Europe, particularly in parts of Germany, Switzerland and South Tyrol where it was widely used in many grain based foods [3]. The spelt wheat grain is a covered kernel cereal, the glumes are harvested with the kernel [2] and has to be peeled prior to further processing in the malting or food industry. Spelt wheat demonstrates a higher resistance to environmental factors like poorly drained, low-fertility soils than common wheat and can be cultivated in harsh ecological conditions, without the use of pesticides [4]. A fact which makes spelt wheat suitable for organic farming. During the

20<sup>th</sup> century the acreage of spelt wheat was continuously dropping. Due to a growing number of food intolerances against wheat, apart from celiac disease, spelt wheat is now being rediscovered in Europe and North America [5]. Formerly it has been suggested that spelt wheat may not trigger the gluten-intolerance reaction in patients suffering from celiac disease because it might lack gluten but several studies negated this suggestion [3] [6] [7] [8] [9]. Previous studies indicated that spelt wheat is higher in vitamin and mineral content than common wheat used for bread making [3]. The average protein content of spelt wheats has shown to be significantly higher than that of common wheats [6] [4].

The malting of spelt wheat especially for baking purposes has gained in importance in the last years in Germany. Additionally there has also been a developing market for beer made of spelt wheat. Consequently the relevance of malted spelt as a raw material for the food and beverage production is growing.

Arabinoxylans are a part of the natural occurring dietary fibres in the plant kingdom. The chemical structure of arabinoxylan is based on a chain of linear  $\beta(1-4)$ -D-xylopyranose units, which can be substituted with  $\alpha$ -L-arabinofuranose in the O-2 or the O-3 position or both [10]. Arabinoxylans in the cell wall are partly cross-linked by diferulic acid bridges and possibly other condensation products of ferulic acid [11], which may complicate their solubilisation. The content of water-extractable arabinoxylan (WEAX) increases during the germination in the malting process, as the cell walls are being degraded [12]. The solubility of arabinoxylan also increases with a higher degree of arabinose substitution.

Among plant carbohydrates, arabinoxylans are non-digestible ingredients, which are not degraded or absorbed in the stomach or in the small intestine and reach the colon intact [13]. There they are fermented to a large extend, especially the water-extractable part, by the large bowel microflora to lactic acid and short chain fatty acids (SCFA). These can be absorbed and metabolised by the host. Associated with this is the prebiotic effect of soluble dietary

---

Authors: M. Krahl, C. Hagel, M. Zarnkow, W. Back, Technische Universität München, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany (e-mail: Moritz.Krahl@wzw.tum.de); S. Kreis, Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark

Tables see Appendix

---

fiber, which has been shown to result in enhanced concentrations of probiotics such as *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in the colon lumen [14]. SCFA like propionate, butyrate or lactate are the end-products of probiotic carbohydrate fermentation. They are used as an energy source by the colonic epithelial cells [15], as well as they have a beneficial effect on human liver cells. Especially butyrate is an important factor in maintaining normal functions in colonocytes and a protective agent against colon cancer [16]. By decreasing the pH of the colon contents SCFA also prevent the growth of pathogenic bacteria [15]. The lower pH in the colon in combination with the SCFA significantly increases the mineral absorption, especially of calcium and magnesium from the gut. The calcium absorption decreases when people are aging. So the relative increase in absorption induced by soluble dietary fiber gets more important for elder population groups [17]. This is of course of even more interest for people suffering from osteoporosis.

Fructans are  $\beta$ -D-linked polymers of fructose. Approximately 15 % of higher plants store fructans [18]. Fructans can be stored in plants in high concentrations as an alternative to starch. The substrate of fructan biosynthesis is sucrose. Chemically cereal fructans are a linear carbohydrate material consisting mainly, if not exclusively, of  $\beta$ (2-1)-fructosyl-fructose linkages. A starting  $\alpha$ -D-glucose moiety is mostly present but not necessary [17]. Plant fructans generally show a degree of polymerisation (DP) less than 50, although some have been shown to exceed 200 [19]. Fructans are divided into inulin, fructooligosaccharides (FOS) and neosugars. Long-chained polymers with a DP greater than 30 are referred to as inulin. FOS have a DP of up to 10, and FOS with a DP of 3–5 are called neosugars [20]. These oligosaccharides are food products with interesting nutritional properties. The extent of resistance to enzymatic reactions occurring in the upper part of the gastrointestinal tract allows fructans to become colonic nutrients, as some bacterial species express specific hydrolases and are able to convert these sugars into short-chain fatty acids and/or gases by fermenting them [21].

Thiamine and riboflavin are two vitamins of the B-group. Thiamine or vitamin B1 is an essential coenzyme in the carbohydrate metabolism. It is a constituent of all living cells and acts as a cofactor for many other key enzymes as well [22]. Insufficient supply may lead to interferences in the citric acid cycle, glycolysis and pentose phosphate cycle for example [23]. The recommended daily uptake is 1.0–1.3 mg for adults. Riboflavin or vitamin B2 is an essential coenzyme in the protein metabolism. The recommended daily uptake for adults is 1.2–1.6 mg. The most important sources for vitamin B1 and B2 in the human nutrition are vegetables, legumes and whole-grain products [24].

The aim of this work was to study the changes of these bioactive compounds in the malting process with the objective to provide their health-beneficial attributes to consumers. The results of this study will give useful information for optimising their content in spelt wheat through malting. The focus of this work was the water-soluble amount arabinoxylan, riboflavin, thiamine and fructan in malted spelt wheat. These compounds could be found in wort and any beverages derived from it and thus contribute to the nutrition.

## 2 Materials and Methods

### 2.1 Samples

The spelt wheat sample has been obtained from a commercial organic farmer in Nördlingen, Germany harvested in 2007. The protein content of the used spelt wheat sample was 13.5 % (N x 6,25) dry mater, water content was 9.5 % and the germination energy was 96 %.

### 2.2 Malting

Malting was done in a pilot scale malting facility. The degree of steeping was 45 %, the germination temperature 15 °C and the germination time was 7 days.

Withering was done at 50 °C for 14 hours and kilning one hour at 60 °C, one hour at 70 °C and one hour at 80 °C.

Samples were taken each day after steeping during the malting process, freeze dried, milled and stored at –18 °C until the analyses were done.

### 2.3 Carbohydrate Analysis

The separation of the carbohydrates Arabinose (Roth, Germany), fructose, glucose and xylose (Sigma-Aldrich, Germany) was done on a high-performance anion-exchange chromatography system with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD) from Dionex. The analysed samples were injected using an AS 50 autosampler, the pump system used was a GP 40 Pump. Separation of monosaccharides was done using a CarboPac 10 analytical column and detection by an ED 50 detector, all from Dionex.

Eluent A was 250 mM NaOH (Baker, Germany) and eluent B was water. The flow-rate was 0.25 ml/min and the injection volume 2.5  $\mu$ l. Monosaccharides were separated by isocratic elution (20 min, 5 % A). Adjacent polysaccharides and starch was removed from the column (35 min, 80 % A). The column was re-equilibrated subsequently (20 min, 5 % A). The potential during the detection of the monosaccharides was programmed from +0.1 (t = 0–0.4 s) to –2 (t = 0.41–0.42 s) to 0.6 (t = 0.43–0.44 s) and finally –0.1 (t = 0.44–0.5 s). Integration of the resulting signal was done from t = 0.2–0.4 s

### 2.4 Determination of total (AX) and water-extractable (WEAX) arabinoxylan

The analysis of AX and WEAX have been carried out similar to the method presented by *Houben et al* [25], with slight modifications. Due to a better separation of the monosaccharides glucose and xylose by the CarboPack 10 column, the treatment with glucoseoxidase was not necessary in the modified method. For the determination of the total AX content the samples were milled in a laboratory hammer mill (Laboratory Mill 3100, Danfoss). Then 0.1 g of the sample was dispersed in 4.0 mL of distilled water and 4.0 mL of 4 M HCl and hydrolysed for 60 minutes in boiling water in a normal laboratory screw-cap test tube. The samples were cooled to room temperature and 4.0 mL of 4.0 M NaOH was

added to neutralise the samples. Subsequently the concentration of monosaccharides was measured by HPAEC/PAD.

The amount of water-extractable arabinoxylan was determined by adding 1.5 mL of water to 0.1 g of milled sample. After stirring at 65 °C for approximately 60 minutes and subsequent centrifugation, 1.0 mL of the supernatant was removed, hydrolysed and neutralised as described above.

Prior to analysis by HPAEC/PAD the chloride ions were removed using OnGuard II Ag cartridges from Dionex. The contents of AX and WEAX were calculated as the sum of the pentose sugars arabinose and xylose multiplied by 0.88 to correct for anhydro monosaccharides [25]. All analysis were carried out in duplicate. The coefficient of variation was less than 2 %.

### 2.5 Determination of fructan

The analysis of the fructan content of the samples was done according to the AOAC Method 999.03 with the modifications presented by *Andersen et al.* [26] and with some further slight modifications. For the extraction of fructan 0.1 g finely ground grist of each sample were mixed with 1.5 mL of water and stirred at 80 °C for about 60 minutes. Following centrifugation the amount of monosaccharides was measured.

In the enzymatic step 0.1 mL of Inulinase (EC 3.2.1.7, Novozymes, Denmark) was added to 0.2 mL of the supernatant and stirred at 37 °C for 60 minutes. Subsequently the resulting monosaccharides were measured.

The amount of fructan in the sample was calculated by subtracting the amount of fructose and the calculated amount of fructose formerly bound in sucrose measured before the enzymatic treatment from the total fructose analysed after the enzymatic step. In this study the possibly present final glucose moieties were not taken into account because fructans were calculated as dietary fibre and the final glucose lacks prebiotic properties. All analysis were carried out in duplicate. The coefficient of variation was less than 2 %.

### 2.6 Determination of thiamine and riboflavin

The determination of thiamine and riboflavin was done using the whole-blood test kits from Chromsystems (Germany). These kits proved to be suitable for beer, wort and aqueous extracts from malt because no interference with other substances occurred during the analysis.

The chromatographic separation of the samples was done on an Agilent 1100 system equipped with Chemstation software.

Thiamine and Riboflavin for the calibration of the system were obtained from Sigma-Aldrich (Germany).

For the vitamin extraction from the samples, 100 mg of finely ground spelt grist were weighed accurately into Eppendorf vials, extracted with 1.5 ml water at 45 °C for 1 hour, centrifuged and analysed following the instructions for the whole blood analysis.

All analysis were carried out in duplicate. The coefficient of variation was less than 4 % for both methods.

## 3. Results and discussion

### 3.1 Arabinoxylan

The total arabinoxylan content of the spelt wheat used in this study was 10.05 % in the raw material. During the malting process only a slight increase up to 10.24 % could be observed. As the embryo is not producing arabinoxylans during germination but breaking down the cell wall constituents and catabolising the non-starchy cell wall polysaccharides and considering the variation coefficient, this slight increase is of no statistical significance. Water-extractable arabinoxylan in the unmalted grains was 0.51 % dry matter or 5.1 % of the total arabinoxylan content. During malting the water-extractable arabinoxylan content increased up to 1.01 % of the total kernel weight equivalent to 9.7 % of the total arabinoxylans. The results for each day of the malting process are shown in Table 1.

In comparison to wheat the percentage of water-extractable arabinoxylan in the spelt-wheat kernel and malt was relatively low although the increase of about 100 % during the malting process is similar to the increase observed in wheat and rye [12].

### 3.2 Fructan

The fructan content in the spelt wheat grains prior to the malting process was 1.11 %. During the germination the fructan content decreased at the beginning of the pregermination phase and increased again in the following days. The amount of fructan in the kilned malt reached 1.75 % or 140 % of the original value. The fructan content increased 40 % during the malting process. The results for each day of the malting process are shown in Table 2.

A possible explanation for this development could be the fact that plants store fructans as a reserve carbohydrate which helps them during cold and harsh weather conditions. For example a high fructan content in plant storage carbohydrates is associated with better freezing tolerance [27]. In the pregermination phase the embryo could use the easily accessible fructans and possibly rebuild them later when the energy supply is kept up by hydrolysed starch.

### 3.3 Thiamine

The development of the thiamine concentration during the malting process is shown in Table 3. The concentration of thiamine after kilning is 395 µg/100 g and thus 16 % lower than the concentration in the unmalted grains. The thiamine content in spelt wheat found in this study was 470 µg/100 g and is comparable to previously measured values which varied from 330 µg/100g to 520 µg/100g [3] [28] [5]. The losses during the malting process might be caused by the essential role of thiamine in the energy metabolism of carbohydrates. Thiamine seems to be used by the embryo during growth. Previous studies obtained similar results for beans, lentils and peas [29].

### 3.4 Riboflavin

The Riboflavin concentration in the unmalted spelt wheat was significantly lower than those previously reported [3][28][5]. The development of the B2 content in the kernels during the malting process is shown in table 3. The amount of riboflavin measured after kilning was 340 % of the original measured vitamin content. The concentrations augmented from the beginning of the germination. In contrast to the human metabolism plants apparently do not need riboflavin during their respiration and carbohydrate metabolism or to build up significant levels during respiration. During the germination of rapeseed, beans, lentils and peas an increase of the riboflavin levels was reported earlier [29][30].

## 4 Conclusion

This work shows that malting may be an effective way to enrich and preserve water-soluble bioactive compounds in spelt wheat. During malting of spelt wheat the amount of fructan increased by 40 %, the water-extractable arabinoxylans by 100 % and the riboflavin content by 240 %. In this study only the level of thiamine decreased by 16 %. Through optimised malting conditions it might even be possible to obtain better results for the enrichment of these and possibly other health beneficial natural substances. The resulting malts can be used as raw materials for several purposes in the food and beverage industry as for example for the production of beer, bread, breakfast cereals and many more.

## 5 Acknowledgement

This work was supported by the Fond InBev-Baillet Latour. The spelt wheat samples were donated by Mr. Rau, Nördlingen, Germany.

## 6 References

1. Belitz, H. D.; Seilmeier, W. and Wieser, H.: The Proteins of (Triticum-Spelta). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 1989, **189**, (1), pp. 1-5.
2. Oplinger, E. S.; Oelke, E. A.; Kaminski, A. R.; Kelling, K. A.; Doll, J. D.; Durgan, B. R. and Schuler, R. T.: *Alternative Field Crops Manual*. University of Wisconsin, Madison, WI: 1990.
3. Ranhotra, G. S.; Gelroth, J. A.; Glaser, B. K. and Lorenz, K. J.: Baking and Nutritional Qualities of a Spelt Wheat Sample. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 1995, **28**, (1), pp. 118-122.
4. Bonafaccia, G.; Galli, V.; Francisci, R.; Mair, V.; Skrabanja, V. and Kreft, I.: Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread. *Food Chemistry* 2000, **68**, (4), pp. 437-441.
5. Abdelaal, E. S. M.; Hucl, P. and Sosulski, F. W.: Compositional and Nutritional Characteristics of Spring Einkorn and Spelt Wheats. *Cereal Chemistry* 1995, **72**, (6), pp. 621-624.
6. Ranhotra, G. S.; Gelroth, J. A.; Glaser, B. K. and Stallknecht, G. F.: Nutritional profile of three spelt wheat cultivars grown at five different locations. *Cereal Chemistry* 1996, **73**, (5), pp. 533-535.
7. Kasarda, D. D. and D'Ovidio, R.: Deduced amino acid sequence of an alpha-gliadin gene from spelt wheat (spelta) includes sequences active in celiac disease. *Cereal Chemistry* 1999, **76**, (4), pp. 548-551.
8. Forsell, F. and Wieser, H.: Dinkel und Zöliakie. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 1995, **201**, (1), pp. 33-39.
9. Vincentini, O.; Maialetti, F.; Gazza, L.; Silano, M.; Dessi, M.; De Vincenzi, M. and Pogna, N. E.: Environmental factors of celiac disease: Cytotoxicity of hulled wheat species *Triticum monococcum*, *T-turgidum* ssp *dicoccum* and *T-aestivum* ssp *spelta*. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007, **22**, (11), pp. 1816-1822.
10. Hartmann, G.; Piber, M. and Koehler, P.: Isolation and chemical characterisation of water-extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking. *European Food Research and Technology* 2005, **221**, (3-4), pp. 487-492.
11. Vinkx, C. J. A. and Delcour, J. A.: Rye (*Secale cereale* L) arabinoxylans: A critical review. *Journal of Cereal Science* 1996, **24**, (1), pp. 1-14.
12. Krahl, M.; Back, W. and Kreis, S.: In Fructan and Arabinoxylan in Malting and Brewing of Wheat and Rye, 31st EBC Congress, Venice, 2007; Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany: Venice, 2007; pp. 1216-1223.
13. Corradini, C.; Bianchi, F.; Matteuzzi, D.; Amoretti, A.; Rossi, M. and Zanoni, S.: High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultra violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin. *Journal of Chromatography A* 2004, **1054**, (1-2), pp. 165-173.
14. Pool-Zobel, B. L.: Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *British Journal of Nutrition* 2005, **93**, Suppl. 1, pp. S73-S90.
15. Grasten, S.; Liukkonen, K. H.; Chrevatidis, A.; El-Nezami, H.; Poutanen, K. and Mykkanen, H.: Effects of wheat pentosan and inulin on the metabolic activity of fecal microbiota and on bowel function in healthy humans. *Nutrition Research* 2003, **23**, (11), pp. 1503-1514.
16. Topping, D. L. and Clifton, P. M.: Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews* 2001, **81**, (3), pp. 1031-1064.
17. Roberfroid, M. B.: Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition* 2005, **93**, pp. S13-S25.
18. Karppinen, S.; Myllymaki, O.; Forsell, P. and Poutanen, K.: Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chemistry* 2003, **80**, (2), pp. 168-171.



19. Chalmers, J.; Lidgett, A.; Cummings, N.; Cao, Y. Y. and Forster, J.: Spangenberg, G.: Molecular genetics of fructan metabolism in perennial ryegrass. *Plant Biotechnology Journal* 2005, **3**, (5), pp. 459-474.
20. Korakli, M.; Hinrichs, C.; Ehrmann, M. A. and Vogel, R. F.: Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food. *European Food Research and Technology* 2003, **217**, (6), pp. 530-534.
21. Delzenne, N. M.: Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society* 2003, **62**, (1), pp. 177-182.
22. Golda, A.; Szyniarowski, P.; Ostrowska, K.; Kozik, A. and Rapala-Kozik, M.: Thiamine binding and metabolism in germinating seeds of selected cereals and legumes. *Plant Physiology and Biochemistry* 2004, **42**, (3), pp. 187-195.
23. Friedrich, W.: *Handbuch der Vitamine*. Urban&Schwarzenberg: München, Wien, Baltimore, 1987.
24. Prodanov, M.; Sierra, I. and Vidal-Valverde, C.: Influence of soaking and cooking on the thiamin, riboflavin and niacin contents of legumes. *Food Chemistry* 2004, **84**, (2), pp. 271-277.
25. Houben, R.; deRuijter, C. F. and Brunt, K.: Determination of the pentosan content of wheat products by hydrolysis, glucose oxidase treatment and analysis by HPAEC/PAD. *Journal of Cereal Science* 1997, **26**, (1), pp. 37-46.
26. Andersen, R. and Sorensen, A.: An enzymatic method for the determination of fructans in foods and food products – Comparison of the results by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *European Food Research and Technology* 1999, **210**, (2), pp. 148-152.
27. Crafts-Brandner, S. J.: Fructans and freezing tolerance. *New Phytologist* 2005, **166**, (3), pp. 708-709.
28. Ranhotra, G. S.; Gelroth, J. A.; Glaser, B. K. and Lorenz, K. J.: Nutrient Composition of Spelt Wheat. *Journal of Food Composition and Analysis* 1996, **9**, (1), pp. 81-84.
29. Vidal-Valverde, C.; Frias, J.; Sierra, I.; Blazquez, I.; Lambein, F.; Kuo, Y. H.: New functional legume foods by germination: effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *European Food Research and Technology* 2002, **215**, (6), pp. 472-477.
30. Zielinski, H.; Frias, J.; Piskula, M. K.; Kozłowska, H.; Vidal-Valverde, C.: The effect of germination process on the superoxide dismutase-like activity and thiamine, riboflavin and mineral contents of rapeseeds. *Food Chemistry* 2006, **99**, (3), pp. 516-520.

*Received 11 September, 2008, accepted 08 October, 2008*

## Appendix

**Table 1** Arabinoxylans during the malting of spelt wheat

Sample	Arabinoxylan [% DM]	WEAX [% DM]
Unmalted spelt wheat	10.05	0.51
3 <sup>rd</sup> day	10.24	0.66
4 <sup>th</sup> day	10.00	0.75
5 <sup>th</sup> day	10.14	0.92
6 <sup>th</sup> day	10.39	1.01
Malt	10.24	1.01

**Table 2** Fructan during the malting of spelt wheat

Sample	Fructan [% DM]
Unmalted spelt wheat	1.11
3 <sup>rd</sup> day	0.99
4 <sup>th</sup> day	1.22
5 <sup>th</sup> day	1.31
6 <sup>th</sup> day	1.75
Malt	1.84

**Table 3** Thiamine and riboflavin during the malting of spelt wheat

Sample	Thiamine [ $\mu\text{g}/100\text{ g DM}$ ]	Riboflavin [ $\mu\text{g}/100\text{ g DM}$ ]
Unmalted spelt wheat	419.7	45.9
3 <sup>rd</sup> day	465.5	63.7
4 <sup>th</sup> day	464.0	89.7
5 <sup>th</sup> day	448.0	110.8
6 <sup>th</sup> day	445.4	126.8
Malt	395.2	152.2

**8.3 Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)**

Krahl, M., Back, W., Zarnkow, M. and Kreis, S., Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Journal of the Institute of Brewing*, 2009, **114(4)**, 294-299.

# Determination of Optimised Malting Conditions for the Enrichment of Rutin, Vitexin and Orientin in Common Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)

M. Krahl<sup>1,3</sup>, W. Back<sup>1</sup>, M. Zarnkow<sup>1</sup> and S. Kreis�<sup>2</sup>

## ABSTRACT

J. Inst. Brew. 114(4), 294–299, 2008

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is known to be an excellent source of polyphenols. In this study, common dehulled buckwheat was malted and the changes in the flavonoid content of the kernels were measured. In order to determine optimum malting conditions for the enrichment of rutin (quercetin-3-rutinoside), vitexin (apigenin-8-glucosid) and orientin (luteolin-8-glucosid), malting parameters were varied according to a statistical model. Using this central composite design helped to determine optimum parameters. Numerical optimised malting parameters were a germination temperature of 22°C and a germination time of 7 days and the resulting moisture content in the kernels was 61%. Using these parameters the calculated rutin content increased from 13.8 mg/100 g (d.w.b. [dry weight basis]) to 105 mg/100 g (d.w.b.). Vitexin and orientin could not be found in the unmalted kernels and concentrations in malt reached 87 g/100 g (d.w.b.) for orientin and 96 mg/100 g (d.w.b.) for vitexin.

**Key words:** Buckwheat, malting, orientin, polyphenols, rutin, vitexin.

## INTRODUCTION

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is an annual melliferous crop. For many years cultivation of buckwheat declined, but recent interest in old, traditional and also functional and healthy foods has led to resurgence in its cultivation. Buckwheat belongs to the pseudocereals along with amaranth and quinoa<sup>14</sup>. Buckwheat has been cultivated since at least 1,000 BC and is mainly grown in the northern hemisphere<sup>15</sup> especially in China, Canada, the USA and the former Soviet Union. The most popular buckwheat product is noodles. These are consumed primarily in China, Japan and Italy<sup>8</sup>. As food intolerances, especially against wheat products, are becoming a severe

problem in the western world, underutilized grains such as buckwheat<sup>21</sup> are of special interest. Because of its very hard hulls, buckwheat must be peeled prior to consumption. The embryo is not affected by the peeling process. The buckwheat plant is a very good source of polyphenols and particularly of flavonoids. The six major flavonoids in buckwheat are rutin, quercetin, orientin, homoorientin, vitexin and isovitexin. Dehulled buckwheat contains only rutin and isovitexin, but all six flavonoids can be found in the hulls<sup>5</sup>. The rutin content in the hulls is superior to the content in the dehulled kernel<sup>20</sup>. Nevertheless, the antioxidant activity of dehulled buckwheat seeds is higher when compared with other cereals and pseudocereals<sup>6</sup>. The dominant polyphenol in buckwheat is rutin and buckwheat can be described as an excellent dietary source of rutin<sup>3,9</sup>. Due to their high content of flavonoids, buckwheat products are associated with health-beneficial nutrition<sup>1,19</sup>.

Rutin has a gastroprotective effect<sup>13</sup> and in human lymphocytes rutin has displayed protective effects against DNA damage<sup>25,26,33</sup>. It is also a protective agent against carcinogenesis<sup>27</sup>. Due to its antioxidative, anti-inflammatory and anti-hypertensive properties, rutin is of increasing interest for the food industry<sup>12</sup>.

Orientin provides protection against DNA<sup>26</sup> and bone marrow damage<sup>16</sup>. It inhibits free radical formation through radical scavenging and thus acts as a protective agent in the body<sup>4</sup>.

Little clinical data is available for vitexin. Vitexin can be effectively used for the protection of UV-induced adverse skin reactions<sup>11</sup>.

Flavonoids play an important role in reducing the risk of the formation of a number of ageing diseases such as cancer and coronary heart disease<sup>7,10</sup>. Also the total cholesterol levels are reduced by a higher consumption of flavonoids<sup>19</sup>.

An additional positive effect of a high flavonoid content in food is the antioxidant activity and thus the potential to replace artificial antioxidants<sup>22</sup>.

In recent years, a number of works on malting and brewing with buckwheat have been performed. Wijngaard et al.<sup>29,30,31</sup> have determined optimised malting conditions for common buckwheat with hull. The same group has also published works about the enzymatic activity and mashing and brewing trials with hulled buckwheat<sup>17,18,28</sup>.

<sup>1</sup>Technische Universität München, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany.

<sup>2</sup>Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark.

<sup>3</sup>Corresponding author. E-mail: Moritz.Krahl@wzw.tum.de.



The malting process of dehulled buckwheat has been described by Kreis et al.<sup>13</sup> and Zarnkow et al.<sup>32</sup> They suggest a steeping time of 120 sec per day and 60 sec for half days. The proposed kilning regime was 17 h at 50°C, 1 h at 60°C and 5 h at 65°C<sup>13</sup>.

All published data for buckwheat shows very high viscosities. The value for hulled buckwheat was 2.22 mPa × s. Dehulled buckwheat showed even higher viscosities between 3.51 and 3.97 mPa × s.

The objective of this work was to determine the optimum malting conditions to enrich bioactive polyphenols in dehulled buckwheat. Malts with an optimised content of these substances could be a health-beneficial ingredient for functional foods. Due to the high viscosities reported from other malting trials, with hulled and dehulled buckwheat, utilisation of the optimised malts for wort and beverage production was not the aim of this work.

## MATERIALS AND METHODS

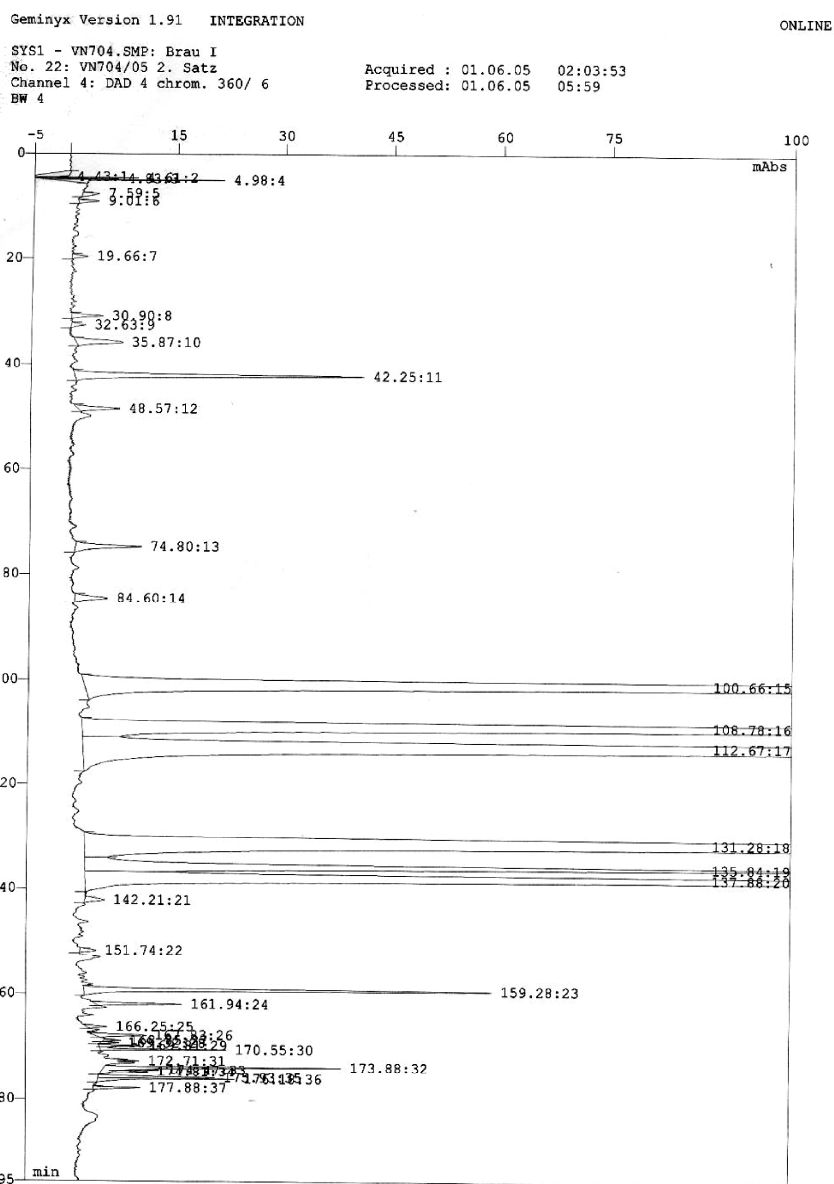
### Samples

Dehulled buckwheat was obtained from a commercial supplier in Germany (Rapunzel Naturkost AG, Legau, Germany). The buckwheat used was organically grown in China. The sample had a germination energy of more than 97%. The protein content was 15.5% d.w.b. (dry weight base), water content was 12.5% and the 1,000-kernel weight of the dehulled samples was 20.5 g.

### Determination of the flavonoids by HPLC

The determination of the flavonoids in the malted buckwheat samples was conducted according to the method established by Treutter et al.<sup>23,24</sup>

Samples were finely ground in a laboratory hammer mill (Laboratory Mill 3100, Danfoss). The flavonoids



**Fig. 1.** HPLC Chromatogram (360 nm) of buckwheat flavonoids, orientin at 109.23 min, vitexin at 117.87 min and rutin at 146.60 min.

were extracted by adding 500  $\mu\text{L}$  of 80% aqueous methanol containing 0.02 mg/mL flavone (Roth, Germany) as internal standard to 100 mg of powder. Extraction was carried out in a cooled ultrasonic water bath at 7°C for 30 min. After centrifugation, the supernatant was removed and evaporated. Subsequently the residue was redissolved in 100  $\mu\text{L}$  of 80% aqueous methanol. A 10  $\mu\text{L}$  aliquot of the sample was injected for analysis. The HPLC equipment used consisted of an autosampler (Gilson Abimed Modell 231), two pumps (Kontron Modell 422) and a diode array detector (Bio Tek Kontron 540). Separation was conducted using a Hypersil ODS column (250  $\times$  4 mm, I.D., 3  $\mu\text{m}$  particle size). Eluent A consisted of 5% formic acid in water and eluent B was methanol, gradient grade. The gradient profile (% B in A) used was: 0–5 min, isocratic, 5% B; 5–15 min, 5–10% B; 15–30 min, isocratic 15% B; 30–50 min, 10–15% B; 50–70 min, isocratic, 15% B; 70–85 min, 15–20% B; 85–95 min, isocratic, 20% B; 95–110 min, 20–25% B; 110–140 min, 25–30% B; 140–160 min, 30–40% B; 160–175 min, 40–50% B; 175–190 min, 50–90% B. The flow was 0.5 ml/min.

The flavonols rutin, orientin and vitexin were detected at 360 nm.

Quantification was done based on response factors using the internal standard method. Response factors were  $2.23 \times 10^{-5}$  for rutin,  $1.1 \times 10^{-5}$  for orientin and  $1.2 \times 10^{-5}$  for vitexin<sup>24</sup>. Fig. 1 shows an HPLC chromatogram of buckwheat flavonoids.

### Experimental design and statistical analysis

The experimental design was created using DesignExpert™ version 7.0 software (StatEase Ltd, Minneapolis,

MN, USA). The central composite design consisted of five central and eight non-central points. The numeric factors were germination time and germination temperature<sup>32</sup>.

The obtained data was analysed using analysis of variance (ANOVA). Optimum malting parameters were calculated using numeric optimisation.

### Malting

Malting was conducted in a pilot scale malting facility. The malting parameters are shown in Table I and Table II. Buckwheat (1,000 g) was steeped twice a day for 120 sec. This steeping regime was used to prevent bursting of the dehulled kernels. The germination took place in tempered climate chambers, which guaranteed a constant air humidity to avoid desiccation of the germinating kernels.

Withering was done at 50°C for 17 h, kilning 1 h at 60°C and 5 h at 65°C.

## RESULTS

The results of the first malting trial are shown in Table III. Rutin levels varied from 11.7 to 76.1 mg/100 g (d.w.b.), orientin from 0.2 to 60.5 mg/100 g (d.w.b.) and vitexin from 0.1 to 54.0 mg/100 g (d.w.b.). The experiment showed strong differences between the different buckwheat malts, with an increase of the rutin content from 8% to +595%. As some malts did not show mentionable changes in the flavonoid content, these malting parameters were not used for the second trial. Sample 13 showed heavy mouldering and was not analyzed. Because of the results of the first trial, no replications were conducted. Malt four, with the largest increase, was used as the central point of the statistical design for the second malting trial. The malting conditions were chosen using DesignExpert 7.0 software. The suggested malting parameters were adjusted to the technical possibilities of the used pilot scale malting facility. In this malting trial (different from the first malting trial) due to technical reasons, the germination temperature was 18°C instead of the original 19°C. The average germination time was extended (4.5–8 days compared to 2.5–6 days) and thus the average moisture content was higher (50–61% compared with 42–62%). The germination temperature was not changed, only the maximum temperature of 27°C was reduced to a maximum of 24°C to avoid mouldering.

**Table I.** Malting parameters of the first malting trial.

Sample number	Germination time (days)	Germination temperature (°C)	Resulting moisture content (%)
1	4	8	48.5
2	2.5	11	43.9
3	5.5	11	54.7
4	6	19	61.7
5	4	19	46.0
6	4	19	46.5
7	4	19	47.0
8	4	19	47.1
9	4	19	47.5
10	2	19	39.8
11	2.5	27	42.2
12	5.5	27	45.4

**Table II.** Malting parameters of the second malting trial.

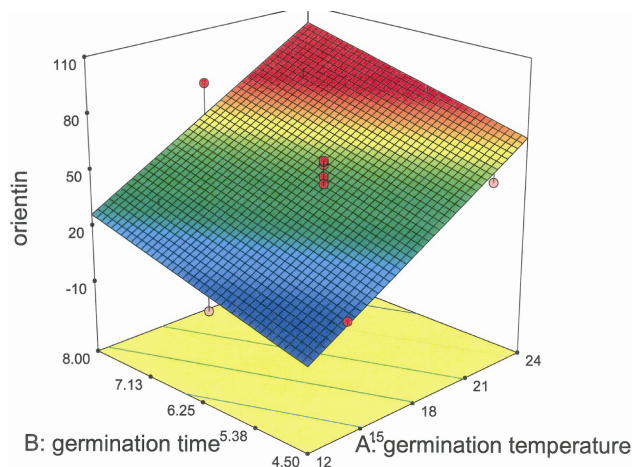
Sample number	Germination time (days)	Germination temperature (°C)	Resulting moisture content (%)
13	6	12	53.9
14	7.5	14	55.3
15	4.5	14	50.3
16	8	18	61.1
17	6	18	55.2
18	6	18	54.8
19	6	18	56.1
20	6	18	55.8
21	6	18	55.8
22	4	18	50.4
23	4.5	22	51.2
24	7.5	22	58.6
25	6	24	59.5

**Table III.** Flavonoid contents of the first malting trial.

Sample number	Rutin content (mg/100 g [d.w.b.])	Orientin content (mg/100 g [d.w.b.])	Vitexin content (mg/100 g [d.w.b.])
1	12.1	0.2	0.1
2	11.7	0.2	0.1
3	13.4	0.4	0.3
4	76.1	60.5	54.0
5	39.8	45.3	39.4
6	42.0	36.9	30.5
7	40.5	38.9	33.2
8	35.0	37.5	31.7
9	40.5	49.5	42.3
10	16.0	2.0	2.0
11	19.9	14.3	17.4
12	35.5	28.1	37.8

**Table IV.** Flavonoid contents of the second malting trial.

Sample number	Rutin content (mg/100 g [d.w.b.])	Orientin content (mg/100 g [d.w.b.])	Vitexin content (mg/100 g [d.w.b.])
13	17.5	1.0	1.0
14	36.5	12.6	11.0
15	32.5	9.0	7.9
16	96.8	80.9	77.5
17	76.4	56.5	56.7
18	78.0	58.7	56.1
19	64.6	50.2	47.6
20	71.2	46.4	44.2
21	74.0	58.0	57.3
22	40.8	21.1	20.7
23	71.5	51.1	57.8
24	78.9	71.3	78.7
25	102.1	73.0	91.7



**Fig. 2.** RSM model for the influence of germination time and temperature on the orientin content of buckwheat malt;  $R^2 = 0.801$ .

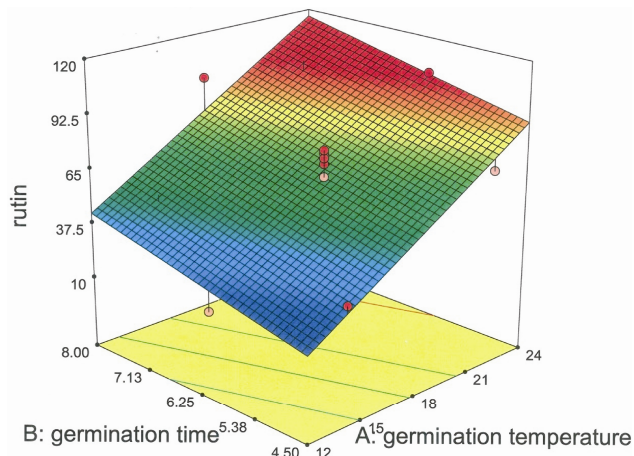
The analytical data from the second experimental series is displayed in Table IV. Rutin content reached a maximum of 102.1 mg/100 g (d.w.b.), orientin 80.9 mg/100 g (d.w.b.) and vitexin 91.7 mg/100 g (d.w.b.). The second trial confirmed the results of the first trial as the central points had similar flavonol levels as malt four.

The statistical analyses of the results are shown as 3-D surface model graphs in Figs. 2–4. The statistical significance on a 95% confidence level (Model fit  $R^2$ ) for the analysed flavonoids was 0.891 for vitexin, 0.801 for orientin and 0.785 for rutin. For all three analysed flavonoids, the germination temperature played a more important role than the germination time.

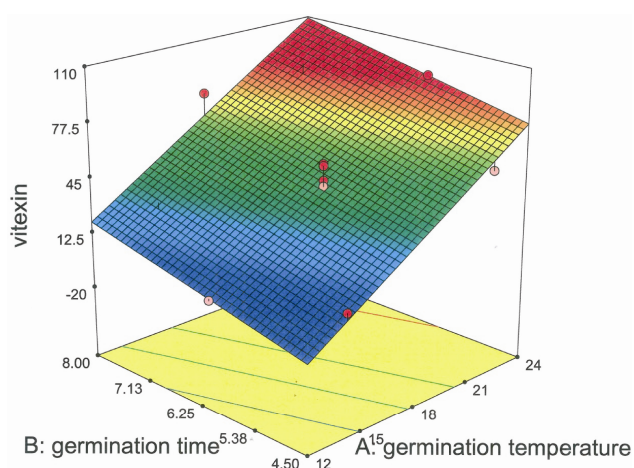
Numerical optimisation of the experimental data suggests a germination temperature of 24°C and a germination time of 6.5 days. The calculated amounts of flavonoids in this model are 105 mg/100 g (d.w.b.) for rutin, 87 mg/100 g (d.w.b.) for orientin and 96 mg/100 g (d.w.b.) for vitexin.

This model was verified in a duplicate malting and the resulting rutin content in the malt was 99.8 mg/100 g (d.w.b.).

Previous publications about dehulled buckwheat showed that the most problematic criteria in malt analysis were viscosity and saccharification time<sup>13</sup>. The obtained malts were analysed in regard to these two parameters. None of the produced malts reached complete saccharification during congress mashing. Normal filtration was not possible,



**Fig. 3.** RSM model for the influence of germination time and temperature on the rutin content of buckwheat malt;  $R^2 = 0.785$ .



**Fig. 4.** RSM model for the influence of germination time and temperature on the vitexin content of buckwheat malt;  $R^2 = 0.891$ .

so all samples had to be centrifuged. Viscosity of the obtained supernatants was between 3.6 and 4.5 mPa × s and thus partly even higher than reported previously<sup>13,32</sup>.

## DISCUSSION

The results of this work showed that the final concentration of rutin, orientin and vitexin in malted buckwheat depends of the germination temperature, as well as the germination time. The influence of the temperature is more important than the germination time. However the germination temperature is limited because of the hazard of mould growth. At temperatures above 24°C the grains started to moulder. Lower temperatures during germination can be compensated by prolonged duration of germination. As usual in the malting process, a compromise between the enrichment of the bioactive flavonoids on the one hand and the occurring malting losses had to be made. If the resulting malts are to be used in the production of beverages, final rutin levels of about 70–80 mg/100 g (d.w.b.) should be sufficient, as commercially available rutin (Sigma-Aldrich, Germany), in our trials, had a solubility in water of less than 100 mg/L. The de-

hulled buckwheat malts had a very high viscosity and could not be filtered in the normal manner. If beer or non-alcoholic beverages are to be produced from such malt, the use of technical enzymes appears to be inevitable unless the malt is only used to a very small extent. Brauer et al.<sup>2</sup> showed a possible approach to the production of alcoholic beverages based on sucrose with only a 5% of buckwheat adjunct.

It can be concluded that malting is an effective process to enrich functional flavonoids in buckwheat. Through de-novo synthesis, even flavonoids not present in buckwheat grain such as orientin and vitexin are found in the malted kernels.

Flavonoid-rich buckwheat malt can be used as a raw material for the brewing and beverage industry, as well as for other functional foods. For example, Swiss muesli could contribute to healthier nutrition if buckwheat malt was added.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Fonds InBev-Baillet Latour. The authors would like to thank Dr. Carolin Ölschläger for her help with the HPLC analysis.

#### REFERENCES

1. Bonafaccia, G., Marocchini, M. and Kreft, I., Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*, 2003, **80**(1), 9-15.
2. Brauer, J., Walker, C., Booer, C., Faulkner, A. and Willmer, T., Producing gluten-free brewing raw materials and beer—more reward at the end of the day for coeliacs? Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Prague. Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany. CD-ROM, 2005, pp. 919-924.
3. Couch, J. F., Naghski, J. and Krewson, C. F., Buckwheat as a source of rutin. *Science*, 1946, **103**(2668), 197-198.
4. Devi, P. U., Ganasoundari, A., Vrinda, B., Srinivasan, K. K. and Unnikrishnan, M. K., Radiation protection by the Ocimum flavonoids orientin and vicenin: Mechanisms of action. *Radiation Research*, 2000, **154**(4), 455-460.
5. Dietych-Szostak, D. and Oleszek, W., Effect of processing on the flavonoid content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, **47**(10), 4384-4387.
6. Holasova, M., Fiedlerova, V., Smrcinova, H., Orsak, M., Lachman, J. and Vavreinova, S., Buckwheat - the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International*, 2002, **35**(2-3), 207-211.
7. Hollman, P. C. H., Hertog, M. G. L. and Katan, M. B., Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 1996, **57**(1), 43-46.
8. Hsu, C.-K., Chiang, B.-H., Chen, Y.-S., Yang, J.-H. and Liu, C.-L., Improving the antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) sprout with trace element water. *Food Chemistry*, 2008, **108**(2), 633-641.
9. Jiang, P., Burczynski, F., Campbell, C., Pierce, G., Austria, J. A. and Briggs, C. J., Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. *Food Research International*, 2007, **40**(3), 356-364.
10. Khokhar, S., Venema, D., Hollman, P. C. H., Dekker, M. and Jongen, W., A RP-HPLC method for the determination of tea catechins. *Cancer Letters*, 1997, **114**(1-2), 171-172.

11. Kim, J. H., Lee, B. C., Kim, J. H., Sim, G. S., Lee, D. H., Lee, K. E., Yun, Y. P. and Pyo, H. B., The isolation and antioxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*. *Archives of Pharmacol Research*, 2005, **28**(2), 195-202.
12. Kim, K. H., Lee, K. W., Kim, D. Y., Park, H. H., Kwon, I. B. and Lee, H. J., Optimal recovery of high-purity rutin crystals from the whole plant of *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) by extraction, fractionation, and recrystallization. *Bioprocess Technology*, 2005, **96**(15), 1709-1712.
13. Kreis, S., Zarnkow, M., Kessler, M., Burberg, F., Krahl, M., Back, W. and Kurz, T., Beer and innovative (functional) drinks based on malted cereals and pseudo-cereals. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Prague. Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany. CD-ROM, 2005, pp. 925-932.
14. Krkoskova, B. and Mrazova, Z., Prophylactic components of buckwheat. *Food Research International*, 2005, **38**(5), 561-568.
15. Li, S. Q. and Zhang, Q. H., Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2001, **41**(6), 451-464.
16. Nayak, V. and Devi, P. U., Protection of mouse bone marrow against radiation-induced chromosome damage and stem cell death by the ocimum flavonoids orientin and vicenin. *Radiation Research*, 2005, **163**(2), 165-171.
17. Phiarais, B. P. N., Wijngaard, H. H. and Arendt, E. K., The impact of kilning on enzymatic activity of buckwheat malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, **111**(3), 290-298.
18. Phiarais, B. P. N., Wijngaard, H. H. and Arendt, E. K., Kilning conditions for the optimization of enzyme levels in buckwheat. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2006, **64**(4), 187-194.
19. Prestamo, G., Pedrazuela, A., Penas, E., Lasuncion, M. A. and Arroyo, G., Role of buckwheat diet on rats as prebiotic and healthy food. *Nutrition Research*, 2003, **23**(6), 803-814.
20. Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J. C., Bailleul, F. and Troitin, F., Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, **72**(1-2), 35-42.
21. Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E. and Obendorf, R. L., Buckwheat seed milling fractions: Description, macronutrient composition and dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 2001, **33**(3), 271-278.
22. Sun, T. and Ho, C. T., Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 2005, **90**(4), 743-749.
23. Treutter, D., Chemical-reaction detection of catechins and proanthocyanidins with 4-dimethylaminocinnamaldehyde. *Journal of Chromatography*, 1989, **467**(1), 185-193.
24. Treutter, D., Santosbuelga, C., Gutmann, M. and Kolodziej, H., Identification of flavan-3-ols and procyanidins by high-performance liquid-chromatography and chemical-reaction detection. *Journal of Chromatography A*, 1994, **667**(1-2), 290-297.
25. Undeger, U., Aydin, S., Basaran, A. A. and Basaran, N., The modulating effects of quercetin and rutin on the mitomycin C induced DNA damage. *Toxicology Letters*, 2004, **151**(1), 143-149.
26. Vrinda, B. and Devi, P. U., Radiation protection of human lymphocyte chromosomes in vitro by orientin and vicenin. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2001, **498**(1-2), 39-46.
27. Webster, R. P., Gawde, M. D. and Bhattacharya, R. K., Protective effect of rutin, a flavonol glycoside, on the carcinogen-induced DNA damage and repair enzymes in rats. *Cancer Letters*, 1996, **109**(1-2), 185-191.
28. Wijngaard, H. H. and Arendt, E. K., Optimisation of a mashing program for 100% malted buckwheat. *Journal of the Institute of Brewing*, 2006, **112**(1), 57-65.
29. Wijngaard, H. H., Ulmer, H. M. and Arendt, E. K., The effect of germination temperature on malt quality of buckwheat. *Journal*

- of the American Society of Brewing Chemists*, 2005, **63**(1), 31-36.
30. Wijngaard, H. H., Ulmer, H. M. and Arendt, E. K., The effect of germination time on the final malt quality of buckwheat. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2006, **64**(4), 214-221.
31. Wijngaard, H. H., Ulmer, H. M., Neumann, M. and Arendt, E. K., The effect of steeping time on the final malt quality of buckwheat. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, **111**(3), 275-281.
32. Zarnkow, M., Kessler, M., Burberg, F., Kreis, S. and Back, W., Gluten free beer from malted cereals and pseudocereals. Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Prague. Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany. CD-ROM, 2005, 1041-1048.
33. Zhao, C. Y., Shi, Y. M., Wang, W. F., Jia, Z. J., Yao, S. D., Fan, B. T. and Zheng, R. L., Fast repair of deoxythymidine radical anions by two polyphenols: rutin and quercetin. *Biochemical Pharmacology*, 2003, **65**(12), 1967-1971.

(Manuscript accepted for publication December 2008)

#### **8.4 Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process**

Krahl, M., Müller, S., Zarnkow, M., Back, W. and Becker, T., Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process. *Quality Assurance and Safety of Crops and Food*, 2009, **1(4)**, 246-255.

## ORIGINAL ARTICLE

**Arabinoxylan and fructan in the malting and brewing process**

M. Krahl, S. Müller, M. Zarnkow, W. Back &amp; T. Becker

Technische Universität München, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Freising-Weißenstephan, Germany

**Keywords**arabinoxylan;  $\beta$ -glucan; brewing; dietary fibre; fructan; malting.**Correspondence**

M. Krahl, Technische Universität München, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Weißenstephaner Steig 20, 85354 Freising-Weißenstephan, Germany.  
 Email: moritz.krahl@wzw.tum.de

Received 10 June 2009; revised 17 August 2009; accepted 4 September 2009

doi:10.1111/j.1757-837X.2009.00035.x

**Abstract**

**Introduction** Soluble dietary fibre is of interest in the malting and brewing process for at least two reasons. In the past, brewers feared them because of possible lautering and filtration problems, and thus a prolonged production time of wort and beer. On the other hand, they have beneficial attributes for colonic and consumer's overall health and are a fermentable part of dietary fibre in the human diet. As diseases caused by poor diet or malnutrition are becoming a severe problem in Western countries, interest in health-beneficial compounds like dietary fibre are of growing interest in the diet. **Objectives** In this work, the influence of the malting and brewing process on the content of soluble dietary fibre in malt, wort and beer derived from it was investigated. **Methods** Arabinoxylan was measured by HPAEC/PAD after acidic hydrolysis. Fructan was determined subsequent to enzymatic digestion  $\beta$ -glucan was analysed using calcoflour. Malt and beer analysis were carried out following the methods outlined in MEBAK and EBC. The amount of water-extractable arabinoxylan (WEAX) rapidly increased during malting whereas the brewing and fermentation process showed no influence on the WEAX content in the finished beer. The amount of fructan in most of the investigated cereals was not affected by malting and wort production but decreased to < 10% of the initial amount during fermentation. An analysis of 40 German wheat beer samples from different breweries showed arabinoxylan contents ranging from 0.87 up to 2.88 g l<sup>-1</sup>. The arabinoxylan content correlated very well with the original gravity. **Conclusion** The amount of malt used in beer production and the grist load seems to be the key factors for the arabinoxylan content of the bottled beer. Only negligible amounts of fructans were found in beer, although fructans were present in wort. Higher arabinoxylan contents did not result in increased viscosity of wort and beer.

**Introduction**

Today, nutrition worldwide is mainly based on only three cereals, wheat, rice and corn. Together, they contribute over 75% to the world's starch production (FAO, 2009). At the same time, diseases caused by a wrong or unbalanced diet are becoming a severe problem in Western countries. In this regard, the enrichment of bioactive compounds in the malting process with the objective of providing beneficial health effects for consumers is a possible approach to a healthier nutrition. Water-soluble dietary fibre like arabinoxylans (AX), fructans and  $\beta$ -glucans are such cereal

components. They can be delivered to the consumer as breakfast cereals, beer or as a part of malt-based beverages, which can be produced using traditional brewing equipment. With the use of alternative fermentation techniques like lactic acid fermentation or fermentation with *Gluconobacter* spp., new non-alcoholic malt-based beverages can be produced. Such beverages are an excellent source of the so-called 'good carbs' (Bamforth, 2005). A number of countries worldwide have already authorized health claims on products containing soluble dietary fibre originating from cereals (Ames & Rhymer, 2008).

The food industry is directing new product development towards the area of functional foods and functional food ingredients, due to the consumer demand for healthier foods. Cereals can be used as sources of non-digestible carbohydrates, which besides promoting several beneficial physiological effects, can also selectively stimulate the growth of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* present in the colon. These bacteria act as prebiotics (Charalampopoulos *et al.*, 2002).

A high intake of dietary fibre, particularly of the soluble type, improves glycaemic control, decreases hyperinsulinaemia and lowers plasma lipid concentrations in patients with type 2 diabetes (Chandalia *et al.*, 2000). Consumption of soluble fibre fractions reduces low-density lipoprotein cholesterol (Brown *et al.*, 1999; Pins & Kaur, 2006) and is inversely correlated with the risk of coronary heart disease (Pereira *et al.*, 2004).

AXs are a part of natural-occurring dietary fibres in the plant kingdom. The chemical structure of AX is based on a chain of linear  $\beta(1-4)$ -D-xylopyranose units, which can be substituted with  $\alpha$ -L-arabinofuranose in the O-2 or the O-3 position or both (Hartmann *et al.*, 2005). AXs in the cell wall are partly cross-linked by diferulic acid bridges and possibly other condensation products of ferulic acid (Vinkx & Delcour, 1996), which may complicate their solubilization (Izydorczyk & Biliaderis, 1992). The solubility of AX increases with a higher degree of arabinose substitution or a shorter chain length of the xylan backbone (Hartmann *et al.*, 2005).

Fructans are  $\beta$ -D-linked polymers of fructose. Approximately 15% of the higher plants store fructans (Karppinen *et al.*, 2003). Fructans can be stored in plants in high concentrations as an alternative to starch. The substrate of fructan biosynthesis is sucrose. Chemically, cereal fructans are linear carbohydrates consisting mainly, if not exclusively, of  $\beta(2-1)$ -fructosyl-fructose linkages. A starting  $\alpha$ -D-glucose moiety is mostly present but not necessary (Roberfroid, 2005). Plant fructans generally show a degree of polymerization (DP) < 50, although some have been shown to exceed 200 (Chalmers *et al.*, 2005). Fructans are divided into inulin and fructo-oligosaccharides (FOS). Long-chained polymers with a DP > 30 are referred to as inulin, and FOS have a DP of up to 10 (Korakli *et al.*, 2003). These oligosaccharides are food products with interesting nutritional properties. The extent of resistance to enzymatic reactions occurring in the upper part of the gastrointestinal tract allows fructans to become colonic nutrients, as some bacterial species express specific hydrolases and are able to convert these sugars into short-chain fatty acids (SCFA) and/or gases by fermenting them (Delzenne, 2003).

Among plant carbohydrates, AXs and fructans are non-digestible ingredients, which are not degraded or absorbed in the stomach or in the small intestine and reach the colon

intact (Corradini *et al.*, 2004). There they are fermented to a large extent (Glitsko *et al.*, 1998) by the large bowel microflora to lactic acid and SCFA. Water-extractable AXs (WEAXs) and FOS appear to be more easily fermented than inulin and due to the increase in the faecal butyrate concentration, have even more favourable effects on colonic health (Grasten *et al.*, 2003). Associated with this is the prebiotic effect of soluble dietary fibre, which has been shown to result in enhanced concentrations of probiotics such as *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in the colon lumen (Pool-Zobel, 2005). SCFA like propionate, butyrate or lactate are the products of probiotic carbohydrate fermentation. These can be absorbed and metabolized by the host. They are used as an energy source by the colonic epithelial cells (Grasten *et al.*, 2003), as well as they have a beneficial effect on human liver cells. Butyrate is an especially important factor in maintaining normal functions in colonocytes and a protective agent against colon cancer (Topping & Clifton, 2001). SCFA have been shown to inhibit the growth of tumour cells, induce glutathione S-transferases and protect cells from genotoxic activity of 4-hydroxynonenal (Glei *et al.*, 2006).

By decreasing the pH of the colon, SCFA also prevent the growth of pathogenic bacteria (Grasten *et al.*, 2003). The lower pH in the colon in combination with the SCFA significantly increases mineral absorption, especially of calcium, magnesium and zinc from the gut (Greger, 1999). Calcium absorption decreases when people age. Hence, the relative increase in absorption induced by soluble dietary fibre gets more important for elder population groups (Roberfroid, 2005). This better absorption rate of calcium from food is of course of even more interest for people suffering from osteoporosis.

In the brewing process, WEAXs have been associated with some undesirable effects, such as complicating filtration and lautering (Han, 2000; Sadosky *et al.*, 2002). Additionally, there might also be a contribution of WEAXs to the phenomenon of premature yeast flocculation (Koizumi *et al.*, 2008). In particular, wheat adjuncts decreased filterability and increased wort viscosity in some studies (Sadosky *et al.*, 2002; Lu & Li, 2006). However, this observation could not be made for 40 malted wheat samples harvested from 2006 to 2008. No correlation could be found between WEAXs and the resulting wort viscosity (Burburg *et al.*, 2008).

## Materials and methods

### Samples

All cereal samples were obtained from commercial seed breeders in Germany and were of good malting quality



according to industrial standard requirements. The germination energy was above 96%. Protein content was 12.8% dry weight base (d.w.b.) in wheat, 10.4% d.w.b. in rye and 10.5% d.w.b. in barley, respectively. The analysed beer samples were purchased in Germany from local bottle stores. Wheat and barley malt for pilot-scale brewing trials were purchased from a commercial supplier (Weyermann, Bamberg, Germany). Rye malt was produced in the pilot-scale malting facility of the institute. Industrial samples from the brewing process were taken from a medium-sized Bavarian brewery. Wort samples were cooled immediately after drawing to stop any ongoing reactions, centrifuged and stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  until analysis.

## Malting

Malting was carried out in a pilot-scale malting facility. One kilogramme of each sample was steeped 2 days and the final degree of steeping was reached during the third day of germination. Germination occurred in tempered climate chambers from Viessmann (Hof, Germany), which guaranteed a constant air humidity of  $> 95\%$  to avoid desiccation of the germinating kernels.

Standard malting parameters were 45% moisture content, a germination temperature of  $15^{\circ}\text{C}$  and a germination

period of 6 days. The malting parameters of the barley trial are shown in Table 1. Withering of all malts was performed at  $50^{\circ}\text{C}$  for 14 h, kilning 1 h at  $60^{\circ}\text{C}$ , 1 h at  $70^{\circ}\text{C}$  and 1 h at  $80^{\circ}\text{C}$  for wheat and rye and 3 h at  $80^{\circ}\text{C}$  for barley, respectively. Samples from the malting process were collected each day after steeping was finished, freeze-dried and stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  until analysis.

## Pilot brewing

The brewing trials were conducted in a 60 L pilot-scale brewing plant. The grist load consisted of 60% wheat malt and 40% barley malt. Barley malt was used to guarantee a sufficient amount of husks for a satisfactory lautering process. After infusion mashing, the mash was separated from spent grain using a lauter tun and boiled for 60 min. After separation of the hot break and subsequent wort cooling, fermentation occurred in cylindrical fermentation tanks. The initial cell count was  $5 \times 10^6$  cells of top fermenting yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The fermentation temperature was  $21^{\circ}\text{C}$  and storage occurred at  $5^{\circ}\text{C}$  for 2 weeks.

In the pilot-scale brewing plant, samples could be drawn at any time from the brewing process. In the industrial-scale brewery, sample drawing during mashing was not possible due to technical reasons. To stop any enzymatic or thermal reaction, samples were cooled immediately after drawing in ice water, centrifuged and stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  until analysis.

**Table 1** Malting parameters of the statistical malting trial

Sample	Moisture content (%)	Germination temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Germination time (days)
1	37	15	5
2	45	18	5
3	39	12	5
4	39	18	5
5	39	18	5
6	45	12	5
7	45	12	5
8	39	12	5
9	37	15	7
10	45	18	7
11	45	12	7
12	45	12	7
13	45	18	7
14	42	15	7
15	37	15	8
16	37	18	8
17	42	12	8
18	42	15	8
19	42	15	8
20	39	15	8
21	42	18	8
22	42	15	8

## Experimental design and statistical analysis

The experimental design was created using the software for the design of experiments (DoE) DesignExpert™ version 7.0 (StatEase Ltd., Minneapolis, MN, USA). The numeric factors of the response surface methodology applied were germination time, degree of steeping and germination temperature (Zarnkow *et al.*, 2005).

The data obtained were analysed using analysis of variance.

## Determination of total AX and WEAX in malt, wort and beer

The analysis of AX and WEAX have been carried out similar to the method presented by Houben *et al.* (1997), with minor modifications. Owing to better separation of the monosaccharides glucose and xylose by the CarboPack PA 10 column from Dionex (Sunnyvale, CA, USA), a treatment with glucose oxidase was not necessary in the modified method. For the determination of the total AX content, the samples were milled in a laboratory hammer mill

(Laboratory Mill 3100, Danfoss, Esslingen, Germany). Then, 0.1 g of the sample was dispersed in 4.0 mL of distilled water and 4.0 mL of 4 M HCl and hydrolysed for 60 min in boiling water in a normal laboratory screw-cap test tube. The samples were cooled to room temperature and 4.0 mL of 4.0 M NaOH was added to neutralize the samples. Subsequently, the concentration of monosaccharides was measured by a high-performance anion-exchange chromatography system with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD).

The amount of WEAX was determined in congress wort, which was produced according to the MEBAK and EBC standard method (MEBAK 3.1.4.2, EBC 4.5.1.) (Eerde, 1998; Anger, 2006). Congress wort was used because it is the most common method for malt analysis. All other parameters analysed in this work were also measured in congress wort. Previous trials (data not shown) had showed no influence of the method of mashing on the resulting content of WEAXs in wort. After cooling and subsequent filtration, 3.0 mL of the wort obtained were hydrolysed with 3.0 mL of 4.0 N HCl in a boiling water bath and neutralized as described above. Before analysis by HPAEC/PAD, the chloride ions were removed using OnGuard II Ag cartridges from Dionex. The contents of AX and WEAX were calculated as the sum of the pentose sugars arabinose and xylose multiplied by 0.88 to correct for anhydromonosaccharides (Houben *et al.*, 1997). All analyses were carried out in duplicate. The coefficient of variation was < 2%.

AX in beer samples measured after the removal of carbon dioxide according to the procedure used for wort.

At the same time, the arabinogalactan peptide (AGP) concentration in wort can be measured by the commonly used method (Courtin *et al.*, 2009). AGP has an arabinose content of 0.7 (Van den Bulck *et al.*, 2005); hence, the AGP content in wort can be calculated by the galactose content of the hydrolysed sample. For AGP, the factors 0.88 (pentose sugar) and 0.9 (hexose sugar) were used to correct for the incorporation of water during hydrolysis. AGP can be calculated as 1.516 times the galactose content. This value slightly underestimates because of the peptide moiety representing approximately 4% of the AGP molecular weight (Courtin *et al.*, 2009). In this study, the arabinose values for the calculation of WEAX were corrected for arabinose formerly bound in AGP.

### Determination of fructan

The analysis of the fructan content of the samples was performed according to the method presented by Andersen & Sorensen (1999) with some further modifications. For the

extraction of fructan, 0.1 g finely ground grist of each sample were mixed with 1.5 mL of water and stirred at 80 °C for 60 min. Following centrifugation, the resulting amount of monosaccharides was measured.

In the enzymatic step, 0.1 mL of inulinase (EC 3.2.1.7, Novozymes, Bagsvaerd, Denmark) was added to 0.2 mL of the supernatant and stirred at 37 °C for 60 min. Subsequently, the resulting monosaccharides were measured.

The amount of fructan in the sample was calculated by subtracting the amount of fructose and the calculated amount of fructose formerly bound in sucrose measured before the enzymatic treatment from the total fructose analysed after the enzymatic step. In this study, final glucose moieties were not taken into account. Only the amount of fructose polymers in the samples was measured. If the possible presence of final glucose moieties are taken into account, the true fructan values might be higher. All analyses were carried out in duplicate. The coefficient of variation was < 2%.

### Carbohydrate analysis

The separation of the carbohydrate monomers arabinose (Roth, Karlsruhe, Germany), fructose, glucose, sucrose and xylose (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Germany) was performed using HPAEC/PAD from Dionex. The analysed samples were injected using an AS 50 autosampler; the pump system used was a GP 40 pump. Separation of monosaccharides was carried out using a CarboPac 10 analytical column and detection by an ED 50 detector, all from Dionex.

Eluent A was 250 mM NaOH (Baker, Deventer, The Netherlands) and eluent B was water. The flow rate was 0.25 mL min<sup>-1</sup> and the injection volume was 2.5 µL. Monosaccharides were separated by isocratic elution (20 min, 5% A). Adjacent polysaccharides and starch were removed from the column (35 min, 80% A). The column was re-equilibrated subsequently (20 min, 5% A). The potential during the detection of the monosaccharides was programmed from +0.1 ( $t=0-0.4$  s) to -2 ( $t=0.41-0.42$  s) to 0.6 ( $t=0.43-0.44$  s) and finally -0.1 ( $t=0.44-0.5$  s). Integration of the resulting signal was performed from  $t=0.2$  to 0.4 s.

### Malt analysis

Malt analysis was performed according to the methods outlined in MEBAK and Analytica – EBC. The malt extract was determined using an Anton Paar Alcolyzer (Anton Paar, Graz, Austria) following the MEBAK method 3.1.4.2.2 (EBC 8.2.2). Water content was analysed by the MEBAK method

3.1.4.1 (EBC 4.2) and protein content by the MEBAK method 3.1.4.5.1.1 (EBC 4.3.1). Wort viscosity was measured using a rolling ball viscosimeter AMWn-Automated Micro Viscometer (Anton Paar) at 20 °C according to the MEBAK method 3.1.4.4.2 (EBC 4.8). The  $\beta$ -glucan content was measured using flow injection analysis with calcofluor in a Skalar analytical system (Breda, the Netherlands) according to the MEBAK method 4.1.4.9.2 (EBC 4.16.2) (Eerde, 1998; Anger, 2006).

## Results and discussion

### AXs and fructans during the malting process

Total AX and WEAX were measured every day during the malting of wheat (*Triticum aestivum*) and rye (*Secale cereale*). Total AXs were 5.5 g/100 g d.w.b. in wheat and 7.0 g/100 g d.w.b. in rye, respectively. The initial WEAX content was 0.78 g/100 g d.w.b. in the wheat sample and 1.4 g/100 g d.w.b. in the unmalted rye. Figure 1 shows the development of the WEAX content during the malting processes for wheat and rye. In wheat during standard malting, the WEAX content increased during the entire germination process. The final WEAX level was 1.54 g/100 g d.w.b. Withering and kilning had no discernable effect. The strongest increase was observed in the first days of germination. At the same time, the increase in WEAX became less pronounced. The WEAX content increased 97% during the entire malting process. DAXS increased from 14% to 28%. The arabinose/xylose ratio decreased from 0.74 to 0.63 during the malting process of wheat.

In rye during the first days of germination, an increase of 75% to 2.45 g/100 g d.w.b. could be observed. From day 4 until the start of the withering process, no further increase

could be seen. The WEAX content even slightly decreased. Preliminary trials had shown a significant influence of withering and kilning on the WEAX content of rye. Because of this observation, additional samples were drawn after withering before the starting of the kilning process. Withering showed a small effect; the WEAX content rose by 0.1 g/100 g d.w.b. Kilning, however, had a remarkable effect as the WEAX content increased by 0.4 resulting in 2.9 g/100 g d.w.b. in the malted rye. This is probably due to a cleaving of diferulic acid bridges present in AXs through heat during the kilning process. Thus, WEAX fragments are liberated from the cell walls. This possibility is supported by the fact that rye malts with very high kilning temperatures show significantly lower viscosities than malts kilned at lower temperatures (Braun, 1998). Standard malting of rye resulted in an increase of the WEAX content of 107%. The final DAXS was 41% compared with 20% before malting. The arabinose/xylose ratio in rye WEAX decreased from 0.86 to 0.67 during malting.

Barley was malted according to the statistical malting scheme presented in Table 1. The results of the malt analysis are shown in Table 2. Using response surface methodology, the influence of the malting parameters on the resulting attributes can be calculated. The responses analysed in this work were AX content ( $R^2 = 0.788$ ),  $\beta$ -glucan content ( $R^2 = 0.953$ ) and extract content ( $R^2 = 0.723$ ). In the brewing industry, soluble fibre is often believed to increase wort viscosity and thus to result in prolonged lautering and filtration time (Eyben & Duthoy, 1979; Bamforth, 1982; Edney *et al.*, 1998; Jin *et al.*, 2004a, b). Figure 2 shows the highly significant correlation (statistical significance 99.9%;  $R = 0.968$ ;  $n = 25$ ) between the  $\beta$ -glucan content of congress wort and the resulting wort viscosity. In previously

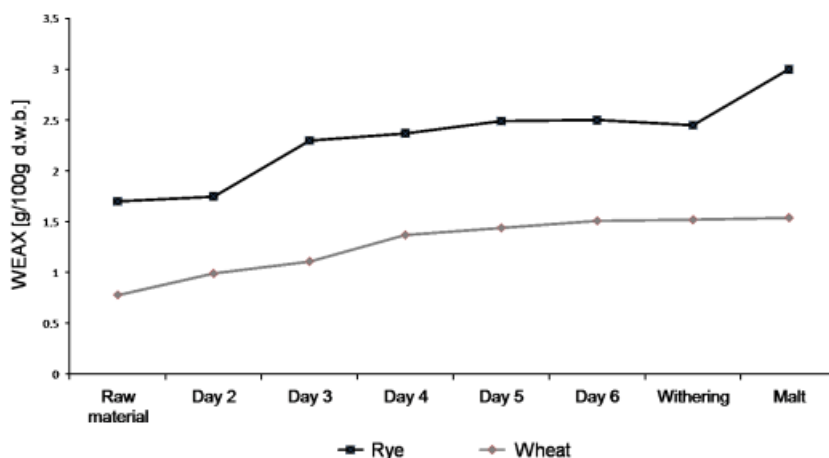


Figure 1 Water-extractable arabinoxylan (WEAX) during the malting of wheat and rye.

published papers, AXs have been associated with the same difficulties in the brewing process as  $\beta$ -glucans (Han & Schwarz, 1996; Li *et al.*, 2005; Lu & Li, 2006). Figure 3 shows the significant, negative correlation between WEAX and viscosity (statistical significance 99.9%;  $R = 0.812$ ;  $n = 22$ ). Extract levels in the malted barley samples varied between 81.2% and 82.8% d.w.b. Congress wort viscosity ranged from 1.404 to

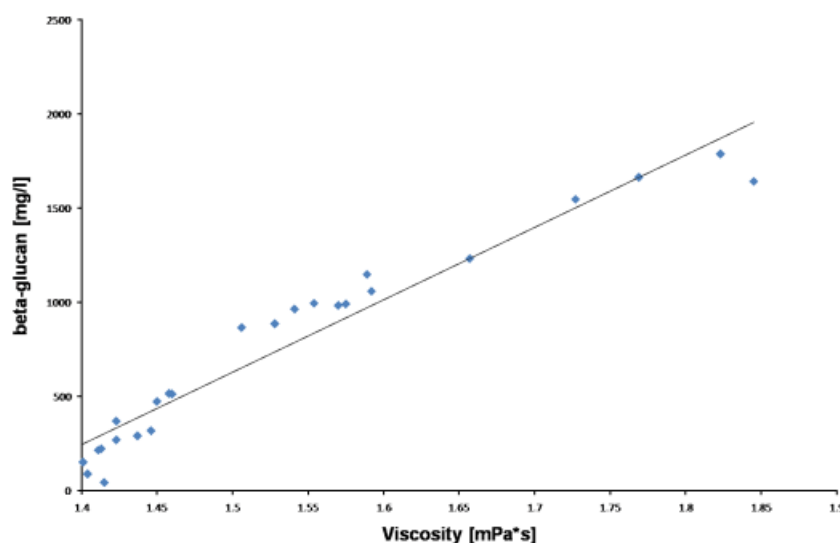
1.845 mPa s. The analysed  $\beta$ -glucan levels ranged from 1.787 to 0.043 g L<sup>-1</sup>. The lowest WEAX content was measured in sample 1 with 0.76 g/100 g d.w.b. and the highest in sample 11 with 1.13 g/100 g d.w.b. Arabinose/xylose ratios of the analysed samples were between 0.59 and 0.65 and thus in the range reported by Debyser *et al.* (1997). The results found in this work strongly support the negative impact of  $\beta$ -glucans on the brewing process. The relationship between WEAX and viscosity published earlier could not be confirmed. The negative correlation found supports the results of Saulnier *et al.* (1995). This is due to the further breakdown of the AX resulting in shorter chain lengths and a lower degree of polymerization in a more intensified malting process (Courtin *et al.*, 2009). Smaller molecules are of less relevance for the resulting wort viscosity. Previous work supports the theory of different effects on viscosity by AXs of different chain lengths and degree of arabinose substitution (Bengtsson *et al.*, 1992). The method used to determine WEAX in this study does not provide information about molecular mass and structure of the WEAX molecules.

The differing effects of the two soluble dietary fibre fractions  $\beta$ -glucan and WEAX can be explained by the different methods of analysis. The method used for quantification of AXs in this work is measuring all of the AX polymers present in the sample. The degrees of polymerization, molecular size or weight are of no importance for this method. In contrast, flow injection analysis with calcofluor only detects  $\beta$ -glucan molecules with a molecular weight of  $> 10^4$  kDa (Jorgensen, 1988; Ullrich *et al.*, 1991). Thus, only the fractions of relevance for the resulting wort viscosity are measured. Smaller degradation products of  $\beta$ -glucan are not detected.

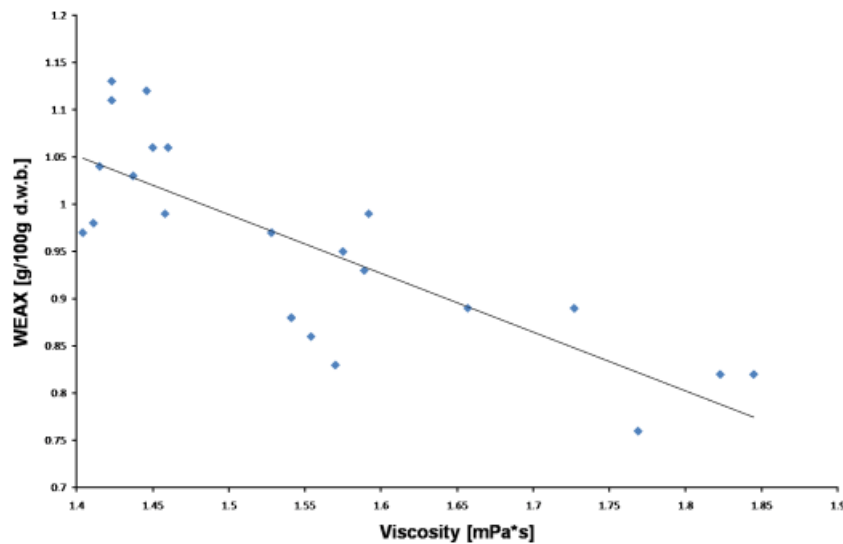
**Table 2** Results of the malt analysis of the statistical malting trial

Sample	Extract (% d.w.b.)	Viscosity (mPa s)	$\beta$ -glucan (g L <sup>-1</sup> )	WEAX (g/100 g d.w.b.)
1	81.6	1.769	1.663	0.76
2	82.5	1.411	0.215	0.98
3	81.5	1.845	1.641	0.82
4	81.8	1.554	0.994	0.86
5	82	1.57	0.983	0.83
6	82	1.575	0.990	0.95
7	82.1	1.727	1.546	0.89
8	81.3	1.823	1.787	0.82
9	81.9	1.589	1.148	0.93
10	81.9	1.404	0.089	0.97
11	82.7	1.423	0.369	1.13
12	82.8	1.446	0.318	1.12
13	81.8	1.415	0.043	1.04
14	81.9	1.423	0.269	1.11
15	81.4	1.657	1.231	0.88
16	81.6	1.592	1.058	0.99
17	82.5	1.528	0.886	0.97
18	81.9	1.458	0.516	0.99
19	82.2	1.46	0.513	1.06
20	81.4	1.541	0.964	0.88
21	81.2	1.437	0.291	1.02
22	82.5	1.45	0.473	1.06

d.w.b., dry weight base; WEAX, water-extractable arabinoxylan.



**Figure 2** Correlation between  $\beta$ -glucan and viscosity.



**Figure 3** Correlation between water-extractable arabinoxylan (WEAX) and viscosity.

The model used was significant. *P*-values for the three analysed responses were 0.0001 or lower. Terms showing a *P*-value higher than 0.1 were removed by the use of backward elimination. According to the model, the extract content of malted barley is mainly influenced by moisture content and germination time. Germination temperature was of less importance. The  $\beta$ -glucan levels are strongly influenced by germination temperature and germination time but the moisture content also had a significant but lower impact. This supports the thesis that a more intensive germination always results in lower  $\beta$ -glucan levels (Narziss, 1999). In barley, only moisture content and germination time showed a significant impact on the resulting WEAX content. In the model used, the germination temperature did not influence the resulting WEAX levels in malt.

The fructan content in the analysed samples measured after hot water extraction showed no impact of the malting process or of a variation of the malting parameters. The wheat sample contained 0.98 g/100 g d.w.b., the rye sample 3.0 g/100 g d.w.b. and the barley sample 0.75 g/100 g d.w.b., respectively. This observation can be explained by the fact that fructans in contrast to  $\beta$ -glucans and AX are not a part of the cereal cell walls but reserve carbohydrates. In harsh environmental conditions, fructans are used by plants and are associated with freezing tolerance (Crafts-Brandner, 2005). The conditions of the malting process are supposed to be good growing conditions for the embryo; hence, starch is being degraded for the necessary energy supply. As no major changes in the fructan were observed, the authors believe the method used measuring only the fructose poly-

mers in the samples and thus estimating the real amount of fructan as suitable.

### AXs and fructans during the brewing process

To determine the influence of the brewing process on the AX content, the parameters original gravity and AX content were analysed during mashing (pilot scale), lautering, wort boiling (pilot and industry scale), fermentation, storage and bottling (industry scale). In order to describe the changes during the process, the quotient between WEAX and original gravity was used. The results are shown in Table 3. At the beginning of the mashing process, the WEAX content is increasing fast. After the sample drawn during the 52 °C rest, no further changes can be seen. Maximum WEAX levels were reached a long time before original gravity reached maximum values. During lautering and wort boiling, WEAX levels are directly linked to original gravity. The quotient is constant. Only after second sparging is the quotient getting lower. Hence, the lixiviation is more pronounced for extract than WEAX, which seems to be entirely in solution. The same observation was made during fermentation, storage, centrifugation, flash pasteurization and bottling.

In analysed beer samples, only traces of fructan were found although cooled wort produced from fructan-rich malts contained up to 2 g L<sup>-1</sup> of fructose polymers. In order to determine the fate of fructan, enriched wort was fermented. During fermentation > 90% of the fructans present in the wort were fermented by the yeast (data not shown).

**Table 3** WEAX during the brewing process

Process step	WEAX (g L <sup>-1</sup> )	Original gravity (°P)	WEAX/ original gravity
Mashing in 45 °C	2.16	4.77	0.45
52 °C hold	2.40	5.66	0.42
62 °C hold	2.40	13.54	0.18
68 °C hold	2.38	18.42	0.13
72 °C hold	2.37	19.2	0.12
Final mash pumping	2.40	20.4	0.12
End of pilot scale brewing			
Trub wort	2.01	15.08	0.13
First wort	2.44	18.48	0.13
First sparging	2.25	17.02	0.13
Second sparging	0.53	4.07	0.13
Last running	0.22	2.08	0.11
Start of wort boiling	1.53	12.03	0.13
Mid of wort boiling	1.56	12.36	0.13
End of wort boiling	1.58	12.68	0.13
After whirlpool	1.45	12.55	0.13
Fermentation	1.49	12.55	0.13
Storage	1.50	12.55	0.13
Centrifugation	1.51	12.55	0.13
Flash pasteurization	1.49	12.55	0.13
Bottled beer	1.50	12.55	0.13

WEAX, water-extractable arabinoxylan.

### AX content of commercial beers

Table 4 shows the results of the analysis of 40 commercially available wheat beers from Germany. In order to guarantee a wide spectrum of different brews, all kinds of wheat beers were chosen. Non-alcoholic, light, pale and dark as well as strong beers were analysed with regard to original gravity, alcohol content and AX content. Original gravity ranged from 6.17 to 16.65°P, alcohol content from 0.43% to 7.07% alcohol by volume and AXs from 0.87 to 2.88 g L<sup>-1</sup>. Arabinose/xylose ratios in the analysed beer samples were between 0.69 and 0.80. Figure 4 shows the positive correlation between original gravity and AX content of the analysed beers (statistical significance 99.9%;  $R = 0.810$ ;  $n = 40$ ). This correlation supports the findings recently published by Courtin *et al.* (2009).

### Conclusions

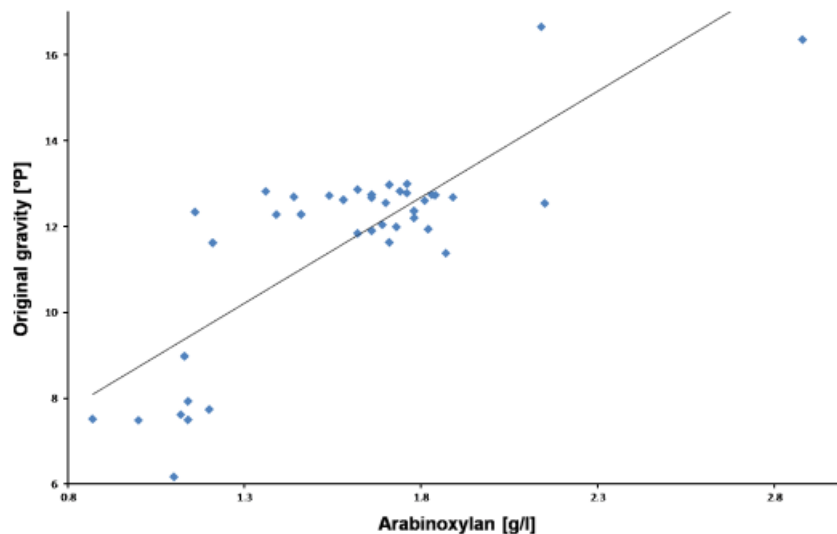
It can be concluded that the AX content in beer is only influenced by the choice of raw materials and not by the mashing or brewing process or the brewing equipment used. No changes in the AX content could be observed after the end of the malting process. The malting process has a significant influence on the amount of WEAXs in malt, and thus in beer and malt-based beverages made of it. By varying

**Table 4** Results of the analysis of 40 commercial German wheat beers

Sample	WEAX (g L <sup>-1</sup> )	Original gravity (°P)	Alcohol content (% ABV)
1	1.62	12.86	5.33
2	1.12	8.98	3.61
3	1.36	12.82	5.47
4	1.16	12.34	5.61
5	1.54	12.72	5.43
6	1.44	12.69	5.62
7	1.66	12.67	5.54
8	0.87	7.52	3.16
9	1.70	12.55	5.14
10	1.21	11.62	5.11
11	1.71	12.97	5.51
12	1.66	12.74	5.34
13	2.14	16.65	7.07
14	1.13	7.93	3.27
15	1.76	12.99	5.62
16	1.76	12.78	5.61
17	1.20	7.74	3.24
18	1.89	12.68	5.57
19	1.46	12.28	5.29
20	1.39	12.28	5.06
21	1.74	12.82	5.50
22	1.83	12.74	5.58
23	1.12	7.62	3.19
24	1.66	11.90	5.13
25	1.82	11.94	5.30
26	1.69	12.04	5.26
27	1.78	12.20	5.29
28	1.87	11.38	4.91
29	1.14	7.50	3.13
30	1.62	11.84	5.13
31	1.81	12.60	5.39
32	1.10	6.17	0.43
33	1.71	11.63	5.07
34	1.00	7.49	3.14
35	1.84	12.73	5.56
36	1.74	11.99	5.17
37	1.78	12.36	5.32
38	2.15	12.54	5.29
39	1.58	12.62	5.60
40	2.88	16.35	6.27

WEAX, water-extractable arabinoxylan; ABV, alcohol by volume.

the malting parameters moisture content and germination time, it is possible to influence the WEAX content of barley malts. As WEAX and viscosity were correlated negatively, there is no reason to use malts with low WEAX content. Especially in the production of alternative fermented beverages, soluble dietary fibre might be a valuable health-beneficial bioactive compound. Fructans are present to the same extent in malt as in un-malted cereals but are fermented by the yeast. However, they are potential functional components present in novel malt-based drinks.



**Figure 4** Correlation between original gravity and arabinoxylan in commercial beer samples.

## Acknowledgement

This work was supported by the Fond InBev-Baillet Latour.

## References

- Ames N.P., Rhymer C.R. (2008) Issues surrounding health claims for barley. *Journal of Nutrition*, **138**, 1237s–1243s.
- Andersen R., Sorensen A. (1999) An enzymatic method for the determination of fructans in foods and food products – comparison of the results by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *European Food Research and Technology*, **210**, 148–152.
- Anger H.-M. (2006). *Brautechnische Analysenmethoden*. Freising, Selbstverlag der MEBAK.
- Bamforth C.W. (1982) Barley beta-Glucans – their role in malting and brewing. *Brewers Digest*, **57**, 22–35.
- Bamforth C.W. (2005) Beer, carbohydrates and diet. *Journal of the Institute of Brewing*, **111**, 259–264.
- Bengtsson S., Andersson R., Westerlund E., Aman P. (1992) Content, structure and viscosity of soluble arabinoxylans in rye grain from several countries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **58**, 331–337.
- Braun F. (1998) *Mälzungs- und Maischversuche zu Möglichkeiten der technologischen Einflussnahme auf ungünstige Fließigenschaften bei Roggenmalzwürzen unter besonderer Berücksichtigung des Reinheitsgebotes*. Diploma thesis, TU München.
- Brown L., Rosner B., Willett W.W., Sacks F.M. (1999) Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, **69**, 30–42.
- Burberg F., Hartmann K., Gastl M., Zarnkow M., Krahl M., Back W. (2008) Qualitätsbrauweizen – Ergebnisse der Kleinmälzung der Sortenbetrachtung 2007. *Brauwelt*, **148**, 1030–1034.
- Chalmers J., Lidgett A., Cummings N., Cao Y.Y., Forster J., Spangenberg G. (2005) Molecular genetics of fructan metabolism in perennial ryegrass. *Plant Biotechnology Journal*, **3**, 459–474.
- Chandalia M., Garg A., Lutjohann D., Von Bergmann K., Grundy S.M., Brinkley L.J. (2000) Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, **342**, 1392–1398.
- Charalampopoulos D., Wang R., Pandiella S.S., Webb C. (2002) Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **79**, 131–141.
- Corradini C., Bianchi F., Matteuzzi D., Amoretti A., Rossi M., Zanoni S. (2004) High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultra violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 165–173.
- Courtin C.M., Broekaert W.F., Swennen K., Aerts G., Van Craeyveld V., Delcour J.A. (2009) Occurrence of Arabinoxyloligosaccharides and Arabinogalactan Peptides in Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **67**, 112–117.
- Crafts-Brandner S.J. (2005) Fructans and freezing tolerance. *New Phytologist*, **166**, 708–709.
- Debyser W., Derdelinckx G., Delcour J.A. (1997) Arabinoxylan and arabinoxylan hydrolysing activities in barley malts and worts derived from them. *Journal of Cereal Science*, **26**, 67–74.
- Delzenne N.M. (2003) Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society*, **62**, 177–182.
- Edney M.J., Laberge D.E., Langrell D.E. (1998) Relationships among the beta-glucan contents of barley, malt, malt congress extract, and beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **56**, 164–168.
- Eerde P.V. (1998). *Analytica-EBC*. Nürnberg, Fachverlag Hans Carl.

- Eyben D., Duthoy J. (1979) The filterability of wort and beer. *MBAA Technical Quarterly*, **16**, 135–141.
- FAO. (2009) Top production – world – 2007. 14 August 2009. Available at <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- Glei M., Hofmann T., Kuster K., Hollmann J., Lindhauer M.G., Pool-Zobel B.L. (2006) Both wheat (*Triticum aestivum*) bran arabinoxylans and gut flora-mediated fermentation products protect human colon cells from genotoxic activities of 4-hydroxynonenal and hydrogen peroxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 2088–2095.
- Glitso L.V., Brunsgaard G., Hojsgaard S., Sandstrom B., Knudsen K.E.B. (1998) Intestinal degradation in pigs of rye dietary fibre with different structural characteristics. *British Journal of Nutrition*, **80**, 457–468.
- Grasten S., Liukkonen K.H., Chrevatidis A., El-Nezami H., Poutanen K., Mykkanen H. (2003) Effects of wheat pentosan and inulin on the metabolic activity of fecal microbiota and on bowel function in healthy humans. *Nutrition Research*, **23**, 1503–1514.
- Greger J.L. (1999) Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *Journal of Nutrition*, **129**, 1434S–1435S.
- Han J.Y. (2000) Structural characteristics of arabinoxylan in barley, malt, and beer. *Food Chemistry*, **70**, 131–138.
- Han J.Y., Schwarz P.B. (1996) Arabinoxylan composition in barley, malt, and beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **54**, 216–220.
- Hartmann G., Piber M., Koehler P. (2005) Isolation and chemical characterisation of water-extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking. *European Food Research and Technology*, **221**, 487–492.
- Houben R., Deruijter C.F., Brunt K. (1997) Determination of the pentosan content of wheat products by hydrolysis, glucose oxidase treatment and analysis by HPAEC/PAD. *Journal of Cereal Science*, **26**, 37–46.
- Izydorczyk M.S., Biliaderis C.G. (1992) Influence of Structure on the Physicochemical Properties of Wheat Arabinoxylan. *Carbohydrate Polymers*, **17**, 237–247.
- Jin Y.L., Speers R.A., Paulson A.T., Stewart R.J. (2004a) Effect of beta-glucans and process conditions on the membrane filtration performance of beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **62**, 117–124.
- Jin Y.L., Speers R.A., Paulson A.T., Stewart R.J. (2004b) Effects of beta-glucans, shearing, and environmental factors on wort filtration performance. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **62**, 155–162.
- Jorgensen K.G. (1988) Quantification of high molecular-weight (1-3)(1-4)-beta-D-glucan Using Calcofluor complex-formation and flow-injection analysis .I. Analytical principle and its standardization. *Carlsberg Research Communications*, **53**, 277–285.
- Karppinen S., Myllymaki O., Forssell P., Poutanen K. (2003) Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chemistry*, **80**, 168–171.
- Koizumi H., Kato Y., Ogawa T. (2008) Barley malt polysaccharides inducing premature yeast flocculation and their possible mechanism. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **66**, 137–142.
- Korakli M., Hinrichs C., Ehrmann M.A., Vogel R.F. (2003) Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food. *European Food Research and Technology*, **217**, 530–534.
- Li Y., Lu H., Gu G.X., Shi Z.P., Mao Z.G. (2005) Studies on water-extractable arabinoxylans during malting and brewing. *Food Chemistry*, **93**, 33–38.
- Lu J., Li Y. (2006) Effects of arabinoxylan solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt. *Food Chemistry*, **98**, 164–170.
- Narziss L. (1999). *Die Technologie der Malzbereitung*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Pereira M.A., O'reilly E., Augustsson K., Fraser G.E., Goldbourt U., Heitmann B.L., Hallmans G., Knekt P., Liu S.M., Pietinen P., Spiegelman D., Stevens J., Virtamo J., Willett W.C., Ascherio A. (2004) Dietary fiber and risk of coronary heart disease – A pooled analysis of cohort studies. *Archives of Internal Medicine*, **164**, 370–376.
- Pins J.J., Kaur H. (2006) A review of the effects of barley beta-glucan on cardiovascular and diabetic risk. *Cereal Foods World*, **51**, 8–11.
- Pool-Zobel B.L. (2005) Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *British Journal of Nutrition*, **93**, S73–S90.
- Roberfroid M.B. (2005) Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, **93**, S13–S25.
- Sadosky P., Schwarz P.B., Horsley R.D. (2002) Effect of arabinoxylans, beta-glucans, and dextrans on the viscosity and membrane filterability of a beer model solution. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **60**, 153–162.
- Saulnier L., Peneau N., Thibault J.F. (1995) Variability in grain extract viscosity and water-soluble arabinoxylan content in wheat. *Journal of Cereal Science*, **22**, 259–264.
- Topping D.L., Clifton P.M. (2001) Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, **81**, 1031–1064.
- Ullrich S., Clancy J., Cuti J., Tompkins C. (1991) Analysis of beta-glucans in barley and malt: a comparison of four methods. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, **49**, 110–115.
- Van Den Bulck K., Swennen K., Loosveld A.M.A., Courtin C.M., Brijs K., Proost P., Van Damme J., Van Campenhout S., Mort A., Delcour J.A. (2005) Isolation of cereal arabinogalactan-peptides and structural comparison of their carbohydrate and peptide moieties. *Journal of Cereal Science*, **41**, 59–67.
- Vinkx C.J.A., Delcour J.A. (1996) Rye (*Secale cereale* L.) arabinoxylans: a critical review. *Journal of Cereal Science*, **24**, 1–14.
- Zarnkow M., Kessler M., Burberg F., Kreisz S., Back W. (2005) Gluten free beer from malted cereals and pseudocereals. *Proceedings of the Congress – European Brewery Convention* 1041–1048.



**8.5 Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat (*Triticum aestivum* L.), rye (*Secale cereale*) and spelt wheat (*Triticum aestivum* spp. *spelta*)**

Krahl, M., Zarnkow, M., Back, W. and Becker, T., Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat (*Triticum aestivum* L.), rye (*Secale cereale*) and spelt wheat (*Triticum aestivum* spp. *spelta*). *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2010, **68(1)**, 34-40.

# Determination of the Influence of Malting Parameters on the Water-Extractable Arabinoxylan Content of Wheat (*Triticum aestivum*), Rye (*Secale cereale*), and Spelt Wheat (*Triticum aestivum* spp. *spelta*)

M. Krahl,<sup>1</sup> M. Zarnkow, W. Back, and T. Becker, *Technische Universität München, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Freising-Weihenstephan, Germany*

## ABSTRACT

Water-extractable arabinoxylans (WEAX) are an interesting component of malted cereals for two reasons. On the one hand, they have beneficial attributes for the colonic and overall health of consumers and are a fermentable component of dietary fiber in the human diet. On the other hand, they have a negative impact on the production process of malt-based beverages. In this study, the influence of the malting parameters germination temperature, germination time, and moisture content on the resulting WEAX content of malts produced from wheat (*Triticum aestivum*), rye (*Secale cereale*), and spelt wheat (*T. aestivum* spp. *spelta*) was investigated. The malting parameters were varied according to a design of experiment (DOE) approach (central composite design), and their influence on WEAX content was analyzed using a DOE software package (Design-Expert 7). WEAX levels ranged from 2.38 to 2.92 g/100 g (dry weight basis [dwb]) in malted rye ( $R^2 = 0.914$ ), 0.76 to 1.28 g/100 g (dwb) in malted spelt wheat ( $R^2 = 0.823$ ), and 1.13 to 1.58 g/100 g (dwb) in malted wheat ( $R^2 = 0.815$ ). In rye and wheat, WEAX correlated negatively with wort viscosity, and a negative tendency was observed for spelt wheat.

Keywords: Arabinoxylan, Malting, Rye, Spelt wheat, Wheat

## RESUMEN

Arabinoxilanos de agua extraíble (WEAX) son un componente interesante de cereales malteados, por dos razones. Por un lado, tienen atributos beneficiosos para la salud del colon y la salud en general de los consumidores y son un componente de fibra dietética fermentable en la dieta humana. Por otra parte, tienen un impacto negativo en el proceso de producción de bebidas a base de malta. En este trabajo, la influencia de parámetros del malteado como la temperatura de germinación, tiempo de germinación y contenido de humedad en el contenido WEAX resultante de malta producido a partir de trigo (*Triticum aestivum*), centeno (*Secale cereale*), y trigo escanda (*T. aestivum* spp. *spelta*) fue investigado. Los parámetros de malteado fueron variados de acuerdo a un diseño de experimentos (DOE) de enfoque (diseño central compuesto), y su influencia en el contenido WEAX se analizaron con un paquete de software del DOE (Design-Expert 7). WEAX niveles variaron desde 2.38 a 2.92 g/100 g de base (peso en seco [dwb]) en el centeno malteado ( $R^2 = 0.914$ ), 0.76 a 1.28 g/100 g (dwb) en trigo escanda malteada ( $R^2 = 0.823$ ), y 1.13 a 1.58 g/100 g (dwb) en trigo malteado ( $R^2 = 0.815$ ). En el centeno y el trigo, WEAX correlacionó negativamente con la viscosidad del mosto, y una tendencia negativa se observó para el trigo escanda.

Palabras claves: Arabinoxilano, Centeno, Malteado, Trigo, Trigo escanda

Today, worldwide nutrition is based primarily on three cereals: wheat, rice, and corn. Together these cereals make up more than 75% of the world's starch production. At the same time, diseases caused by unhealthy or unbalanced diets are becoming a severe

problem in Western countries. As a result, enrichment with bioactive compounds during the malting process, with the objective of providing beneficial health effects to the consumer, is of growing interest.

The food industry is directing new product development toward the area of functional foods and functional food ingredients due to consumer demand for healthier foods. Cereals can be used as sources of nondigestible carbohydrates that, in addition to promoting several beneficial physiological effects, can also selectively stimulate the growth of probiotic bacteria (*Lactobacilli* and *Bifidobacteria*) in the colon (8). A high intake of dietary fiber, particularly soluble fiber, has been shown to improve glycemic control, decrease hyperinsulinemia, and lower plasma lipid concentrations in patients with type 2 diabetes (7).

Arabinoxylans (AX) are dietary fibers that occur naturally in plants. The chemical structure of AX is based on a chain of linear  $\beta$ -(1-4)-D-xylopyranose units, which can be substituted with  $\alpha$ -L-arabinofuranose in the O-2 or O-3 position or both (25). AX in the cell wall are partly cross-linked by diferulic acid bridges and possibly other condensation products of ferulic acid (49), which may complicate their solubilization. The water-extractable arabinoxylan (WEAX) content increases as cell walls are degraded during germination during the malting process (31). The solubility of AX increases with a higher degree of arabinose substitution (25) or when the xylan backbone has a shorter chain length.

AX are nondigestible carbohydrates that are not degraded or absorbed in the stomach or small intestine and, thus, reach the colon intact (9). In the colon, they are fermented to a large extent, especially the water-extractable component (20), by the large bowel microflora and converted into lactic acid and short chain fatty acids (SCFA). WEAX appear to be more easily fermented than inulin and, due to the increase in fecal butyrate concentration, may have favorable effects on colonic health (21,40,44,47). In addition, the prebiotic effect of soluble dietary fiber has been shown to result in enhanced concentrations of probiotics such as *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in the colon lumen (38). SCFA such as propionate, butyrate, and lactate are the products of probiotic carbohydrate fermentation and can be absorbed and metabolized by the host. They are used as an energy source by the colonic epithelial cells (21) and have a beneficial effect on human liver cells. Butyrate, especially, is an important factor in maintaining normal functions in colonocytes and is a protective agent against colon cancer (45). SCFA have been shown to inhibit the growth of tumor cells, induce glutathione S-transferases, and protect cells from the genotoxic activity of 4-hydroxynonenal (19).

By decreasing the pH of the colon, SCFA also prevent the growth of pathogenic bacteria (21). The lower pH in the colon in combination with the SCFA significantly increases mineral absorption, especially calcium, magnesium, and zinc, from the gut (22). Calcium absorption decreases as people age. Therefore, the relative increase in absorption induced by soluble dietary fiber becomes increasingly important for the elderly (41). A better calcium ab-

<sup>1</sup> Corresponding author. E-mail: Moritz.Krahl@wzw.tum.de

sorption rate from foods is even more important for people suffering from osteoporosis.

During the malting process, the amount of WEAX has been shown to increase throughout the entire germination period. Standard malting parameters (15°C germination temperature, 6-day germination time, and 45% moisture content) resulted in an increase of 100% for spelt wheat, from 0.8% (dry weight basis [dwb]) in unmalted kernels to 1.6% (dwb) in malted kernels (32). Similar observations were made for wheat (increase of 95%) and rye (increase of 35–100%) (31).

WEAX can have undesirable effects on the brewing process, such as complicating filtration and lautering (23,42), and may also contribute to the phenomenon of premature yeast flocculation (30). In particular, wheat adjuncts have been found to decrease filterability and increase wort viscosity (35). However, this observation could not be made for 40 malted wheat samples harvested from 2006 to

2008, and no correlation could be found between WEAX and resulting wort viscosity (6). No impact on the brewing process due to the amount of WEAX was found. The content generally correlated well with original gravity and, thus, was mainly dependant on the amount of malt used (10,33). Grain-derived endoxylanases showed a negligible effect on WEAX levels in wort (13). In barley malt, WEAX levels from 0.49 to 0.69 g/100 g (dwb) and AX levels between 6.40 and 6.93 g/100g (dwb) have been reported (12). WEAX levels found in wort from malted barley were as high as 3 g/L (48).

In this study, three cereals, wheat (*Triticum aestivum*), spelt wheat (*T. aestivum* spp. *spelta*), and rye (*Secale cereale*), have been analyzed regarding the influence of malting parameters on their WEAX content. Although malted wheat is a common raw material used in brewing, the other two are seldom used. Wheat was chosen for this study because it is an excellent source of WEAX (1,14,18,25,35, 43). Although the other two cereals are less well known in the brew-

**TABLE I**  
Malting Parameters and Malt Analysis of the Wheat Malting Trial<sup>a</sup>

Sample	Moisture Content (%)	Germination Temperature (°C)	Germination Time (days)	Extract (% , dwb)	Viscosity (mPa·sec)	WEAX (g/100 g, dwb)
1	48	12	5	84.7	1.85	1.25
2	42	18	5	84.9	1.76	1.42
3	45	15	5	85.8	1.76	1.36
4	42	18	5	85	1.73	1.43
5	42	12	5	85	1.86	1.17
6	48	18	5	85.7	1.71	1.44
7	48	12	5	85.1	1.87	1.134
8	42	12	5	85.1	1.84	1.43
9	48	18	5	86	1.74	1.40
10	45	15	6	86	1.68	1.58
11	45	12	6	85.7	1.77	1.40
12	48	15	6	86.2	1.69	1.52
13	42	15	6	85.6	1.73	1.46
14	45	18	6	85.5	1.67	1.45
15	45	15	6	86.4	1.70	1.36
16	42	12	7	86.4	1.74	1.28
17	48	18	7	85.5	1.64	1.47
18	42	18	7	85.3	1.67	1.43
19	42	12	7	86.3	1.76	1.27
20	42	18	7	85.4	1.67	1.28
21	45	15	7	86.3	1.66	1.40
22	48	18	7	85.7	1.66	1.41
23	48	12	7	86.8	1.73	1.46

<sup>a</sup> dwb = dry weight basis; WEAX = water-extractable arabinoxylans.

**TABLE II**  
Malting Parameters and Malt Analysis of the Rye Malting Trial<sup>a</sup>

Sample	Moisture Content (%)	Germination Temperature (°C)	Germination Time (days)	Extract (% , dwb)	Viscosity (mPa·sec)	WEAX (g/100 g, dwb)
1	45	15	8	86.5	3.68	2.86
2	40	10	7	84.7	5.95	2.64
3	50	10	7	86.7	4.38	2.85
4	40	20	7	84.7	5.99	2.86
5	50	20	7	81.9	3.86	2.88
6	45	15	6	86.7	4.0	2.86
7	45	15	6	87.3	4.11	2.92
8	45	15	6	87	4.24	2.90
9	55	15	6	86.7	3.76	2.53
10	45	15	6	86.1	4.12	2.74
11	35	15	6	78.3	NM	2.38
12	45	15	6	86.7	4.24	2.82
13	45	15	6	86.9	4.35	2.82
14	50	20	5	85	4.02	2.77
15	40	10	5	83.3	10.13	2.48
16	50	10	5	82.9	6.38	2.47
17	40	20	5	84.9	6.69	2.71
18	45	15	4	81.8	6.02	2.67

<sup>a</sup> dwb = dry weight basis; WEAX = water-extractable arabinoxylans; and NM = not measurable.

ing industry due to the high viscosity of rye wort (4,14,49) and limited worldwide acreage of spelt wheat (39), because both cereals are closely related to wheat and possess high amounts of AX (14) they were also chosen for this study.

## MATERIALS AND METHODS

### Samples

All samples were obtained from commercial seed breeders in Germany and were of good malting quality according to industrial standard requirements. Spelt wheat was provided by Saaten Union and wheat and rye by AHB Agrarhandel. Germination energy was >96%. Protein content was 12.8% (dwb) in wheat, 10.4% (dwb) in rye, and 14.4% (dwb) in spelt wheat. The total AX content in the samples was 9.8 g/100 g (dwb) in spelt wheat, 5.1 g/100 g (dwb) in wheat, and 8.3 g/100 g (dwb) in rye and, thus, in the usual range reported by other researchers (12,47).

### Malting

Malting was done in a pilot-scale malting facility. The malting parameters are shown in Tables I–III. One kilogram of each sample was steeped for 2 days, and the final degree of steeping was reached during the third day of germination. The initial steeping temperature was 15°C for all samples. With the beginning of the second day of germination, each sample was steeped in the climate chamber, and the temperature of the steeping water was the same as the temperature in the chamber. Germination took place in tempered climate chambers from Viessmann, which guaranteed a constant air humidity higher than 70% to avoid desiccation of the germinating kernels. Withering was done at 50°C for 14 hr, and kilning was done for 1 hr at 60°C, 1 hr at 70°C, and 1 hr at 80°C.

### Experimental Design and Statistical Analysis

The experimental design was created using Design-Expert version 7.0 software (StatEase Ltd.). The numeric factors were germination time, degree of steeping, and germination temperature (50). The obtained data were analyzed using analysis of variance.

### Determination of Total AX and WEAX

Analyses of AX and WEAX were carried out similarly to the method described by Houben et al (26), with minor modifications. Due to a better separation of the monosaccharides glucose and xylose by the column (CarboPack PA 10, Dionex), treatment with glucose oxidase was not necessary in the modified method. For determination of the total AX content, the samples were milled in a laboratory hammer mill (Laboratory Mill 3100, Danfoss). Next, 0.1 g of sample was dispersed in 4.0 mL of distilled water and 4.0 mL of 4M HCl and hydrolyzed for 60 min in boiling water in a normal laboratory screw-cap test tube. The samples were cooled to room temperature, and 4.0 mL of 4.0M NaOH was added to neutralize the samples. Subsequently, the concentration of monosaccharides was measured by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD).

The amount of WEAX was determined in Congress wort that was produced according to standard methods (MEBAK 3.1.4.2 and EBC 4.5.1) (2,16). Congress wort was used because it is the most common method for malt analysis. All other parameters analyzed in this work were also measured in Congress wort. Previous trials showed no influence of the method of mashing on the resulting WEAX content in wort. After cooling and subsequent filtration, 3.0 mL of the obtained wort was hydrolyzed with 3.0 mL of 4.0N HCl in a boiling water bath and neutralized as described above. Prior to analysis by HPAEC/PAD, the chloride ions were removed using cartridges (OnGuard II Ag, Dionex). The AX and WEAX contents were calculated as the sum of the pentose sugars arabinose and xylose multiplied by 0.88 to correct for anhydro monosaccharides (26). All analyses were carried out in duplicate. The coefficient of variation was <2%.

### Carbohydrate Analysis

The separation of the carbohydrate monomers arabinose (Roth) and fructose, glucose, and xylose (Sigma-Aldrich) was done on an HPAEC/PAD system (Dionex). The analyzed samples were injected using an autosampler (AS 50, Dionex) and pump system (GP 40,

TABLE III  
Malting Parameters and Malt Analysis of the Spelt Wheat Malting Trial<sup>a</sup>

Sample	Moisture Content (%)	Germination Time (days)	Germination Temperature (°C)	Extract (% dwb)	Viscosity (mPa·sec)	WEAX (g/100 g dwb)
1	47	7	13	83	1.74	0.92
2	47	7	13	83.1	1.72	0.96
3	47	5	13	81.9	1.80	0.76
4	47	5	13	82.6	1.81	0.80
5	45	6	13	83.8	1.76	0.85
6	43	7	13	83.7	1.72	0.97
7	43	7	13	82.2	1.77	0.95
8	43	5	13	82.9	1.81	0.84
9	43	5	13	82.6	1.78	0.82
10	47	6	15	83.7	1.73	1.00
11	45	6	15	84	1.73	1.06
12	45	6	15	83.4	1.74	1.01
13	45	6	15	84.2	1.72	1.02
14	45	5	15	83.3	1.79	1.28
15	45	7	15	83.4	1.79	1.25
16	43	6	15	83.1	1.70	1.15
17	47	7	17	83.2	1.72	0.98
18	47	7	17	84.7	1.67	0.95
19	47	5	17	82.8	1.72	1.01
20	47	5	17	83.6	1.73	1.09
21	45	6	17	83.9	1.76	1.14
22	43	7	17	82.6	1.76	0.99
23	43	7	17	83.6	1.78	1.06
24	43	5	17	83.4	1.76	1.00
25	43	5	17	84.2	1.74	1.04

<sup>a</sup> dwb = dry weight basis; WEAX = water-extractable arabinoxylans.

Dionex). Monosaccharides were separated using an analytical column (CarboPac PA 10, Dionex) and detector (ED 50, Dionex).

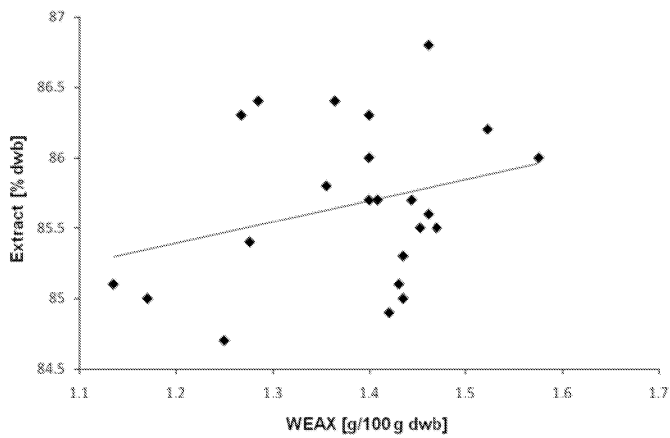
Eluent A was 250 mM NaOH (Baker) and eluent B was water. The flow rate was 0.25 mL/min, and the injection volume 2.5  $\mu$ L. Monosaccharides were separated by isocratic elution (20 min, 5% eluent A). Adjacent polysaccharides and starch were removed from the column (35 min, 80% eluent A). The column was reequilibrated subsequently (20 min, 5% eluent A). The potential during detection of monosaccharides was programmed from +0.1 (time  $[t] = 0-0.4$  sec) to -2 ( $t = 0.41-0.42$  sec) to 0.6 ( $t = 0.43-0.44$  sec) to, finally, -0.1 ( $t = 0.44-0.5$  sec). Integration of the resulting signal was done from  $t = 0.2-0.4$  sec.

### Malt Analysis

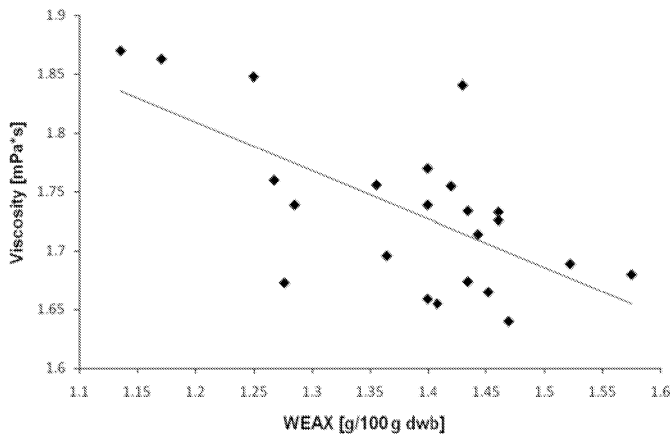
Malt analysis was performed according to the procedures outlined in MEBAK and EBC methods (2,16). The malt extract was measured using an analyzer (Alcolyzer, Anton Paar) according to MEBAK method 3.1.4.2.2 (EBC 8.2.2). Water content was analyzed according to MEBAK method 3.1.4.1 (EBC 4.2) and protein content according to MEBAK method 3.1.4.5.1.1 (EBC 4.3.1). Wort viscosity was measured using a falling ball viscometer (AMWn automated microviscometer, Anton Paar) at 20°C according to MEBAK method 3.1.4.4.2 (EBC 4.8) (2,16).

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the malt analysis for extract, viscosity, and WEAX are shown in Tables I-III. AX contents did not change during the



**Fig. 1.** Correlation between water-extractable arabinoxylans (WEAX) and extract content in wheat malt ( $r = 0.287$ ). dwb = dry weight basis.

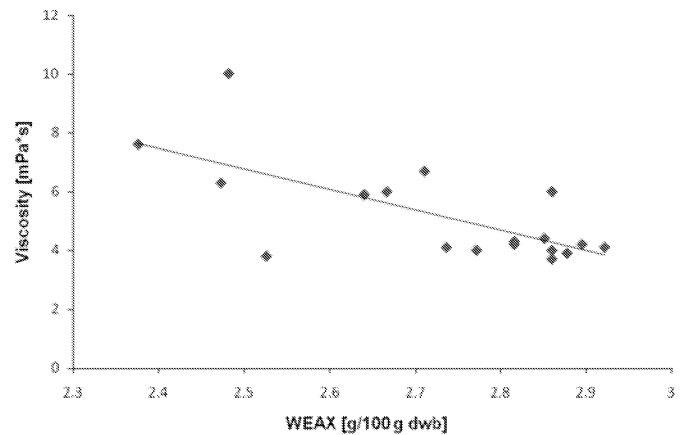


**Fig. 2.** Correlation between water-extractable arabinoxylans (WEAX) and viscosity in wheat malt ( $r = -0.648$ ). dwb = dry weight basis.

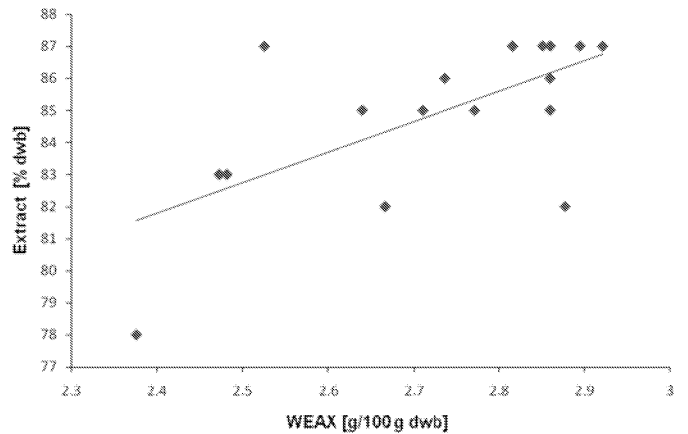
malting process (data not shown). This observation confirmed previously reported results (31-33). The analyzed wheat samples had extract levels between 84.7 and 86.8% (dwb), wort viscosity ranging from 1.64 to 1.86 mPa·sec, and WEAX content ranging from 1.13 to 1.58 g/100 g (dwb). Correlations between WEAX content and extract and between WEAX content and viscosity are shown in Figures 1 and 2, respectively. In both cases, only a poor correlation can be seen. No correlation existed between WEAX and the extract content of analyzed wheat malt samples. However, a positive tendency was observed. A significant negative correlation (statistical significance 99.9%) was found between viscosity and WEAX content.

Extract levels in the analyzed malted spelt wheat samples varied between 81.9 and 84.7% (dwb), and viscosity ranged from 1.67 to 1.81 mPa·sec. The lowest WEAX content was measured in sample 3 (0.76 g/100 g [dwb]) and the highest amount in sample 14 (1.28 g/100 g [dwb]). A positive correlation was found between WEAX and extract (statistical significance 95%). No correlation was found between WEAX and viscosity (data not shown); however, the tendency was negative.

The analyzed samples of malted rye had extract levels ranging from 78.3 to 87.3%. The WEAX content in these samples varied from 2.38 to 2.92 g/100 g (dwb). Measurement of wort viscosity was not possible in all analyzed samples. Sample 11 could not be measured at all, and samples 9, 15, and 16 could be measured only after prior centrifugation, because standard filtration lasted longer than 2 hr. The measured viscosities were between 3.68 and 10.13 mPa·sec. The correlations (statistical significance 99%) be-



**Fig. 3.** Correlation between water-extractable arabinoxylans (WEAX) and viscosity in rye malt ( $r = -0.689$ ). dwb = dry weight basis.



**Fig. 4.** Correlation between water-extractable arabinoxylans (WEAX) and extract in rye malt ( $r = 0.641$ ). dwb = dry weight basis.

tween WEAX content and viscosity and between WEAX content and extract in malted rye is shown in Figures 3 and 4, respectively. Both were significantly correlated—WEAX and viscosity negatively and WEAX and extract positively.

The results for all of the cereal samples analyzed in this study do not support the relationship found between WEAX content and wort viscosity in earlier published reports (24,34,35). Only a negative tendency can be seen in this study, which supports the findings of Saulnier et al (43). This is due to a further breakdown of AX, which resulted in shorter chain lengths under more intense malting process conditions. Smaller molecules seemed to be of less relevance for the resulting wort viscosity. This is supported by the positive trend seen between WEAX and extract content in the analyzed malt samples. A previously published study (4) supports the theory of different effects on viscosity by AX with different chain lengths and degrees of arabinose substitution. However, the method used to determine the amount of WEAX in this study does not provide information about the molecular mass and structure of the WEAX molecules. Courtin et al (10) found that WEAX in wort and beer had a degree of polymerization (DP) between 19 and 61. This indicates that WEAX that end up in wort and beer are extensively cleaved and present as arabinoxylo-oligosaccharides.

The differing effects of the two soluble dietary fiber fractions,  $\beta$ -glucan and WEAX, can be explained by the different methods of analysis used. The method used for quantification of AX in the current study measures all AX polymers present in the sample. The DP, molecular size, and molecular mass are of no importance for this method. In contrast, flow injection analysis with Calcofluor detects only  $\beta$ -glucan molecules with a molecular mass greater than  $10^4$  kDa (29,46). Thus, only fractions of relevance for the resulting wort viscosity are measured, and smaller degradation products of  $\beta$ -glucan are not detected. This difference in the methods of analysis explains the different effects that were found for wort viscosity. Although the high-DP  $\beta$ -glucan measured by flow injection analysis can be linked directly to problems in the brewing process (3,15,17,27,28), no correlation was found between the total amount of WEAX and such problems.

Three-dimensional surface models for the three analyzed cereals are shown in Figures 5–7. In the analyzed wheat samples, WEAX increased with higher moisture content during germination if the germination temperature was lower than 15°C and decreased if a higher germination temperature was used. At the same

moisture content, a higher germination temperature resulted in higher WEAX levels. From 5 to 6 days of germination, WEAX levels increased significantly and decreased if a longer germination time was chosen. In spelt wheat, the highest WEAX levels were measured after germination at 15°C and with a moisture content of 45%. Germination temperature had a more pronounced effect than germination time and moisture content. When the germination temperature was higher than 15°C, the WEAX content decreased slightly. In rye, the WEAX content increased with higher germination temperature and longer germination time. The effect of germination time was more pronounced than that of temperature. A moisture content of 45% resulted in the highest WEAX levels.

All three models were significant. *P* values were 0.0015 for wheat, 0.0003 for spelt wheat, and 0.0021 for rye. In the models, terms showing a *P* value >0.1 were removed using backward elimination. In wheat, only germination temperature had a statistically significant impact on the resulting WEAX content. Germination time

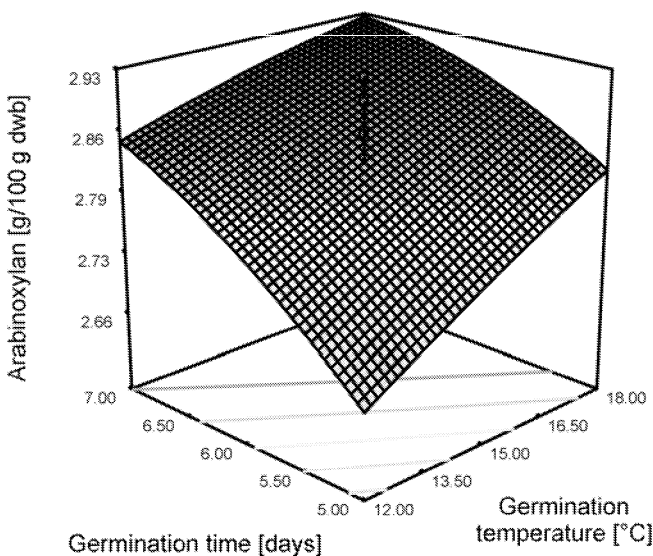


Fig. 5. Influence of germination time and temperature on the water-extractable arabinoxylan content of malted rye. dwb = dry weight basis.

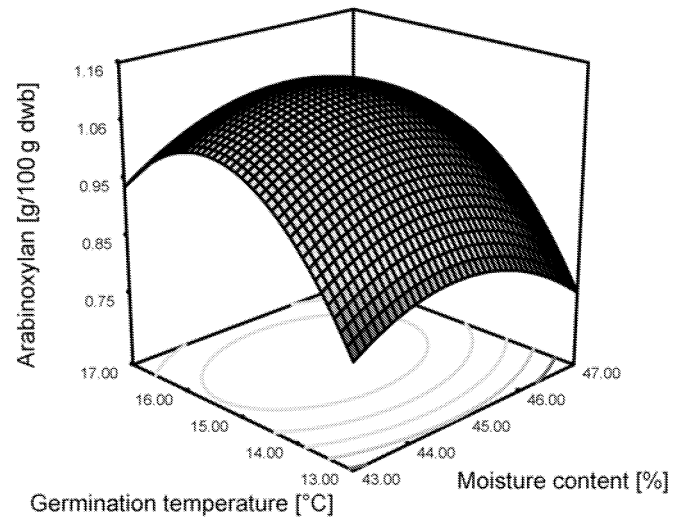


Fig. 6. Influence of germination temperature and moisture content on the water-extractable arabinoxylan content of malted spelt wheat. dwb = dry weight basis.

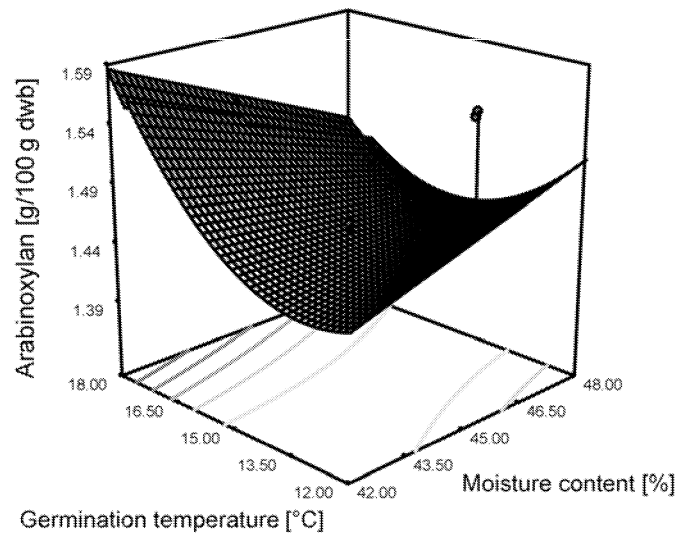


Fig. 7. Influence of germination temperature and moisture content on the water-extractable arabinoxylan content of malted wheat. dwb = dry weight basis.

and moisture content did not influence WEAX content significantly, according to the model. Only in combination with germination temperature could a significant influence be found. The main influence on wort viscosity was calculated for germination time. In the spelt wheat trial, backward elimination showed a significant influence of germination temperature and the combination of germination temperature and time. Viscosity in wort from malted spelt wheat was mainly influenced by germination temperature, followed by germination time and moisture content. In the malting process of rye, a significant influence was found for all malting parameters. Germination time had the strongest effect, followed by germination temperature and moisture content. Rye wort viscosity was mainly influenced by moisture content, followed by germination time and temperature.

From a nutritional point of view, WEAX result in the same bifidogenic effects as fructooligosaccharides (FOS) and inulin (47). Nondigestible oligosaccharides have been shown to cause undesirable effects such as abdominal pain, eructation (belching), bloating stomach, and gut cramps in some patients (11,36,37,44). Up to now, no guidelines for a daily consumption of WEAX have been published, but values published for the consumption of FOS might be used (40). Clinical trials showed that consumption of 14 g of FOS per day caused a significantly higher degree of discomfort from flatulence and other gastrointestinal symptoms. No intestinal adaptation could be observed over time (37). Buddington et al (5) showed that consumption of 4 g of FOS per day resulted in beneficial changes in the fecal flora. A content of 4 g of WEAX can be found in approx. 160 g of malted rye, 290 g of malted wheat, and 400 g of malted spelt wheat. If these malts are being used in the production of beverages, approx. 1 L of a beverage made from malted rye (12°P, brewhouse yield approx. 85%), 1.7 L of a beverage made from wheat malt, and 2.4 L of a beverage made from malted spelt wheat would contain 4 g of WEAX. The high transfer rate of WEAX from malted cereals into wort and, thus, beverages is supported by the findings of Courtin et al (10). A study by Corradini et al (9) showed that WEAX levels in wort and beer were mainly dependent on the amount of malt used. Promotion of health claims for alcoholic beverages is not possible in most countries; therefore, the use of such malts in the production of non-alcoholic beverages is a potential application area. New beverages offering the beneficial attributes of WEAX to consumers could be created using alternative fermentation techniques such as lactic acid fermentation.

## CONCLUSIONS

The results obtained in this work show that there is no need to be afraid to use malt-derived WEAX in the brewing process. Neither lautering difficulties nor filtration problems in the brewing process are related solely to the presence of AX. If well-modified malts are used, the impact of WEAX on wort viscosity can be negligible. However, problems in the production chain may occur if under-modified malts are used and WEAX with a high molecular mass is present. It is possible to influence WEAX content in the three investigated cereals through variations in malting parameters. When malted, all three cereals investigated showed different behaviors concerning WEAX content. It can be concluded that cereals react differently to changes in malting parameters, and the effect of such changes must be analyzed for each cereal separately. The results indicate malts containing high levels of WEAX are suitable for the production of beverages and food products and can be a valuable part of a health-promoting and balanced diet.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Fond InBev-Baillet Latour.

## LITERATURE CITED

- Andrewartha, K. A., Phillips, D. R., and Stone, B. A. Solution properties of wheat-flour arabinoxylans and enzymically modified arabinoxylans. *Carbohydr. Res.* 77:191-204, 1979.
- Anger, H.-M. *Brautechnische Analysemethoden Band Rohstoffe*. Selbstverlag der MEBAK, Freising, Germany, 2006.
- Bamforth, C. W. Barley  $\beta$ -glucans—Their role in malting and brewing. *Brew. Dig.* 57:22-35, 1982.
- Bengtsson, S., Andersson, R., Westerlund, E., and Aman, P. Content, structure and viscosity of soluble arabinoxylans in rye grain from several countries. *J. Sci. Food Agric.* 58:331-337, 1992.
- Buddington, R. K., Williams, C. H., Chen, S. C., and Witherly, S. A. Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 63:709-716, 1996.
- Burberg, F., Hartmann, K., Gastl, M., Zarnkow, M., Krahl, M., and Back, W. Qualitätsbrauweizen—Ergebnisse der Kleinmälzung der Sortenbetachtung 2007. *Brauwelt* 148:1030-1034, 2008.
- Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., von Bergmann, K., Grundy, S. M., and Brinkley, L. J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 342:1392-1398, 2000.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S., and Webb, C. Application of cereals and cereal components in functional foods: A review. *Int. J. Food Microbiol.* 79:131-141, 2002.
- Corradini, C., Bianchi, F., Matteuzzi, D., Amoretti, A., Rossi, M., and Zanoni, S. High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultra violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin. *J. Chromatogr. A* 1054:165-173, 2004.
- Courtin, C. M., Broekaert, W. F., Swennen, K., Aerts, G., Van Craeyveld, V., and Delcour, J. A. Occurrence of arabinoxylo-oligosaccharides and arabinogalactan peptides in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 67:112-117, 2009.
- Cummings, J. H., Macfarlane, G. T., and Englyst, H. N. Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:415s-420s, 2001.
- Debyser, W., Derdelinckx, G., and Delcour, J. A. Arabinoxylan and arabinoxylan hydrolysing activities in barley malts and worts derived from them. *J. Cereal Sci.* 26:67-74, 1997.
- Debyser, W., Derdelinckx, G., and Delcour, J. A. Arabinoxylan solubilization and inhibition of the barley malt xylanolytic system by wheat during mashing with wheat wholemeal adjunct: Evidence for a new class of enzyme inhibitors in wheat. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 55:153-156, 1997.
- Dervilly-Pinel, G., Rimsten, L., Saulnier, L., Andersson, R., and Aman, P. Water-extractable arabinoxylan from pearled flours of wheat, barley, rye and triticale: Evidence for the presence of ferulic acid dimers and their involvement in gel formation. *J. Cereal Sci.* 34:207-214, 2001.
- Edney, M. J., LaBerge, D. E., and Langrell, D. E. Relationships among the  $\beta$ -glucan contents of barley, malt, malt Congress extract, and beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 56:164-168, 1998.
- European Brewery Convention. *Analytica-EBC*. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany, 1998.
- Eyben, D., and Duthoy, J. The filterability of wort and beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 16:135-141, 1979.
- Finnie, S. M., Bettge, A. D., and Morris, C. F. Influence of cultivar and environment on water-soluble and water-insoluble arabinoxylans in soft wheat. *Cereal Chem.* 83:617-623, 2006.
- Glei, M., Hofmann, T., Kuster, K., Hollmann, J., Lindhauer, M. G., and Pool-Zobel, B. L. Both wheat (*Triticum aestivum*) bran arabinoxylans and gut flora-mediated fermentation products protect human colon cells from genotoxic activities of 4-hydroxynonenal and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* 54:2088-2095, 2006.
- Glitso, L. V., Brunsgaard, G., Hojsgaard, S., Sandstrom, B., and Knudsen, K. E. B. Intestinal degradation in pigs of rye dietary fibre with different structural characteristics. *Br. J. Nutr.* 80:457-468, 1998.
- Grasten, S., Liukkonen, K. H., Chrevatidis, A., El-Nezami, H., Poutanen, K., and Mykkanen, H. Effects of wheat pentosan and inulin on the metabolic activity of fecal microbiota and on bowel function in healthy humans. *Nutr. Res.* 23:1503-1514, 2003.

22. Greger, J. L. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *J. Nutr.* 129:1434S-1435S, 1999.
23. Han, J. Y. Structural characteristics of arabinoxylan in barley, malt, and beer. *Food Chem.* 70:131-138, 2000.
24. Han, J. Y., and Schwarz, P. B. Arabinoxylan composition in barley, malt, and beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 54:216-220, 1996.
25. Hartmann, G., Piber, M., and Koehler, P. Isolation and chemical characterisation of water-extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking. *Eur. Food Res. Technol.* 221:487-492, 2005.
26. Houben, R., deRuijter, C. F., and Brunt, K. Determination of the pentosan content of wheat products by hydrolysis, glucose oxidase treatment and analysis by HPAEC/PAD. *J. Cereal Sci.* 26:37-46, 1997.
27. Jin, Y. L., Speers, R. A., Paulson, A. T., and Stewart, R. J. Effect of  $\beta$ -glucans and process conditions on the membrane filtration performance of beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 62:117-124, 2004.
28. Jin, Y. L., Speers, R. A., Paulson, A. T., and Stewart, R. J. Effects of  $\beta$ -glucans, shearing, and environmental factors on wort filtration performance. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 62:155-162, 2004.
29. Jorgensen, K. G. Quantification of high molecular-weight (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan using Calcofluor complex-formation and flow-injection analysis: I. Analytical principle and its standardization. *Carlsberg Res. Commun.* 53:277-285, 1988.
30. Koizumi, H., Kato, Y., and Ogawa, T. Barley malt polysaccharides inducing premature yeast flocculation and their possible mechanism. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 66:137-142, 2008.
31. Krahl, M., Back, W., and Kreis, S. Fructan and arabinoxylan in malting and brewing of wheat and rye. (CD) *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 31:1216-1223, 2007.
32. Krahl, M., Hagel, C., Zarnkow, M., Back, W., and Kreis, S. Changes in the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*). *Brew. Sci. (Monatsschr. Brauwiss.)* 61:170-174, 2008.
33. Krahl, M., Müller, S., Back, W., and Kreis, S. Arabinoxylan (Pentosan) in der Malz- und Bierbereitung. *Brauwelt Int.* 148:248-252, 2008.
34. Li, Y., Lu, H., Gu, G. X., Shi, Z. P., and Mao, Z. G. Studies on water-extractable arabinoxylans during malting and brewing. *Food Chem.* 93:33-38, 2005.
35. Lu, J., and Li, Y. Effects of arabinoxylan solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt. *Food Chem.* 98:164-170, 2006.
36. Marteau, P. Prebiotics and probiotics for gastrointestinal health. *Clin. Nutr.* 20:41-45, 2001.
37. Pedersen, A., Sandstrom, B., and VanAmelsvoort, J. M. M. The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females. *Br. J. Nutr.* 78:215-222, 1997.
38. Pool-Zobel, B. L. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: Review of experimental and human data. *Br. J. Nutr.* 93:S73-S90, 2005.
39. Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Glaser, B. K., and Lorenz, K. J. Nutrient composition of spelt wheat. *J. Food Compos. Anal.* 9:81-84, 1996.
40. Rantanen, H., Virkki, L., Tuomainen, P., Kabel, M., Schols, H., and Tenkanen, M. Preparation of arabinoxylobiose from rye xylan using family 10 *Aspergillus aculeatus* endo-1,4- $\beta$ -D-xylanase. *Carbohydr. Polym.* 68:350-359, 2007.
41. Roberfroid, M. B. Introducing inulin-type fructans. *Br. J. Nutr.* 93:S13-S25, 2005.
42. Sadosky, P., Schwarz, P. B., and Horsley, R. D. Effect of arabinoxylans,  $\beta$ -glucans, and dextrans on the viscosity and membrane filterability of a beer model solution. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 60:153-162, 2002.
43. Saulnier, L., Peneau, N., and Thibault, J. F. Variability in grain extract viscosity and water-soluble arabinoxylan content in wheat. *J. Cereal Sci.* 22:259-264, 1995.
44. Swennen, K., Courtin, C. M., and Delcour, J. A. Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46:459-471, 2006.
45. Topping, D. L., and Clifton, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.* 81:1031-1064, 2001.
46. Ullrich, S., Clancy, J., Cuti, J., and Tompkins, C. Analysis of  $\beta$ -glucans in barley and malt: A comparison of four methods. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 49:110-115, 1991.
47. Van Craeyveld, V., Swennen, K., Dornez, E., Van de Wiele, T., Marzorati, M., Verstraete, W., Delaet, Y., Onagbesan, O., Decuyper, E., Buysse, J., De Ketelaere, B., Broekaert, W. F., Delcour, J. A., and Courtin, C. M. Structurally different wheat-derived arabinoxylooligosaccharides have different prebiotic and fermentation properties in rats. *J. Nutr.* 138:2348-2355, 2008.
48. Vietor, R. J., Vorgen, A. G. J., and Angelino, S. A. G. F. Composition of nonstarch polysaccharides in wort and spent grain from brewing trials with malt from a good malting quality barley and a feed barley. *J. Inst. Brew.* 99:243-248, 1993.
49. Vinkx, C. J. A., and Delcour, J. A. Rye (*Secale cereale* L.) arabinoxylans: A critical review. *J. Cereal Sci.* 24:1-14, 1996.
50. Zarnkow, M., Kessler, M., Burberg, F., Kreis, S., and Back, W. Gluten free beer from malted cereals and pseudocereals. (CD) *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* 30:1041-1048, 2005.



## **8.6 Der glykämische Index von Getränken**

Krahl, M. and Back, W., Der glykämische Index von Getränken. *Brauwelt*, 2009, **149(15-16)**, 431-435.

# Der Glykämische Index von Getränken

**MASSTAB BLUTZUCKER** | In den letzten Jahren haben durch Fehl- und Überernährung induzierte Erkrankungen in den westlichen Industrienationen, aber auch in den sich entwickelnden Wohlstandsschichten in aufstrebenden Entwicklungs- und Schwellenländern, wachsendes Interesse erfahren und sich zu einem ernstzunehmenden Problem im Gesundheitsbereich entwickelt. Eine Vielzahl von Konzepten soll hier Abhilfe schaffen. Eines der bekanntesten ist der auf der Kohlenhydratzusammensetzung des betrachteten Lebensmittels basierende Glykämische Index.

**NACH JAHRHUNDERTELANGEM KAMPF** gegen Mangelernährung und unzureichende Versorgung mit Makronährstoffen wie Kohlenhydraten, Proteinen und Fett haben die technologischen Fortschritte in Agrar-, Lebensmittel- und Konsumgüterindustrie und der damit verbundene vereinfachte Zugang zu hoch aufbereiteten und erschwinglichen Lebensmitteln zu einer Überversorgung mit diesen Majorcomponenten geführt. Um den hieraus resultierenden ernährungsbasierten Zivilisationskrankheiten wie Adipositas, der sogenannten Altersdiabetes Diabetes Mellitus Typ II, Bluthochdruck, Gicht und kardiovaskulären Erkrankungen vorzubeugen, wurden in den letzten Jahren eine Vielzahl von Konzepten entwickelt, mit dem vorrangigen Ziel, ernährungsbewussten Konsumenten Leitfäden an die Hand zu geben, wie eine gesündere Ernährung erreicht werden kann.

**Autoren:** Dipl.-Ing. Moritz Krahl, Univ. Prof. Dr.-Ing. Werner Back, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München, Freising

## Das Konzept des Glykämischen Index (GI)

Die durch die Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate werden nach erfolgter Magenpassage im menschlichen Darm zu einem Großteil aktiv oder passiv resorbiert. Zunächst werden komplexe Kohlenhydrate, Polysaccharide, Amylose, Amylopektin, Dextrine und Di- und Oligosaccharide durch Speichelenzyme, das saure Magenumgebung und die Enzyme des Intestinaltraktes in ihre Monosaccharidbausteine gespalten. Der Anteil der nichtresorbierbaren Kohlenhydrate in der Nahrung ist zum einen durch den Gehalt an löslichen und nichtlöslichen Ballaststoffen, zum anderen durch die Bildung resistenter Stärke, das heißt von Stärkemolekülen, die durch Verarbeitungsprozesse für die menschlichen Verdauungsenzyme unangreifbar werden, beispielsweise Kartoffelstärke bei nochmaligem Erhitzen, bestimmt. Die bedeutsamsten Monosaccharide in der menschlichen Ernährung sind Glucose (Traubenzucker, ein Monomer der Stärke, der Maltose und des Maltodextrin), Galactose (zusammen mit Glucose Monomer der Lactose, dem Milchzucker) und Fructose (Fruchtzucker, zusammen mit Glucose Monomer der Saccharose). Von diesen können Glucose und Galactose aktiv aus dem Darmlumen resorbiert werden, während die Fructoseresorption rein passiv vonstatten geht. Das membrangebundene

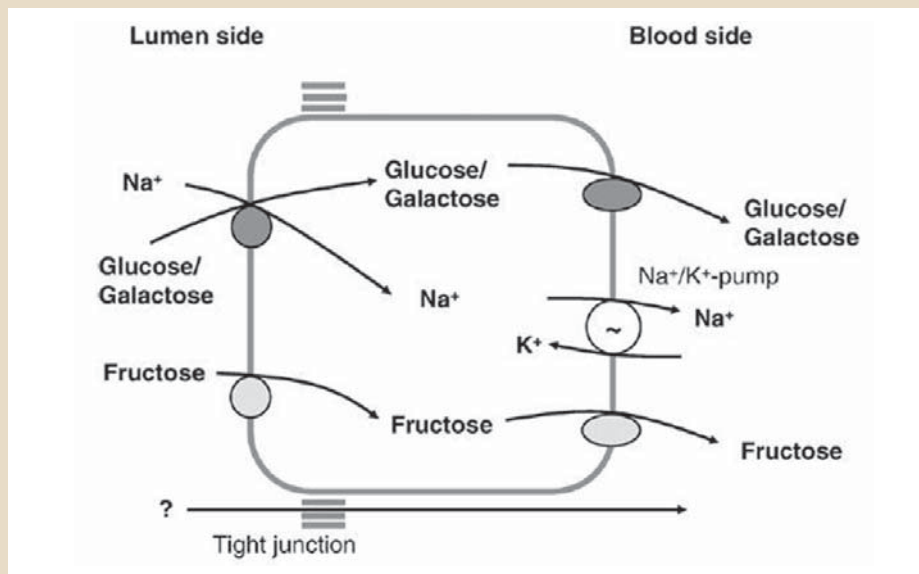
SGLT-1 (Sodium Based Glucose Transporter) Transportprotein ist das Transportsystem für Glucose und Galaktose, ein Natrium-Glucose-Cotransporter, welches ein Glucosemolekül oder respektive ein Galaktosemolekül in Kombination mit zwei Natriumionen in die Epithelzelle transportiert. Dieses System arbeitet akkumulierend, die Glucosekonzentration in der Zelle kann das Zehnfache der Konzentration im Darmlumen erreichen. Die treibende Kraft hierbei ist die niedrige intrazelluläre Natriumkonzentration. Das SGLT-1 Protein ist ein sekundär aktiver Transporter, der durch die basolaterale Natrium/Kalium ATPase angetrieben wird. Stöchiometrisch betrachtet bewirkt dabei die Hydrolyse zweier ATP-Moleküle den Transport dreier Glucosemoleküle in die Epithelzellen. Intrazellulär akkumulierte Glucose wird anschließend mit GLUT-2 vermittelter, erleichterter Diffusion in die Blutbahn abgegeben. Glucosetransporter (GLUT-2, GLUT-5) sind transmembranäre Transportproteine, die den Transport von Glucose durch die Zellmembran katalysieren. Der Konzentrationsgradient von Glucose stellt in diesem Fall die für den Transport benötigte Energie bereit (Abb. 1) [1-4].

Die Aufnahme der Fructose erfolgt passiv durch erleichterte Diffusion mit GLUT-5, ei-

## GLYKÄMISCHER INDEX VERSCHIEDENER LEBENSMITTEL UND ZUCKER

Kohlenhydratquelle	GI
Maltose	110
Glucose	100
Kartoffeln	60-80
Weißbrot	70
Kürbis	70
Saccharose	66
Lactose	46
Banane	45
Linsen und Hülsenfrüchte	30
Vollmilchschokolade	25
Fructose	20

Tab. 1



**Abb. 1 Aktiver Symport von Natrium-Ionen und der Monosaccharide Glucose und Galaktose. Fructose wird passiv mittels GLUT-2 und/oder GLUT-5 durch die Membran transportiert [1]**

nem spezifischen Transporter für Fructose, entlang eines Konzentrationsgradienten, und somit deutlich langsamer.

Der Glykämische Index gibt in der Humanernährung die blutzuckersteigernde Wirkung der mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate an (Tab. 1). Ermittelt wird der GI rein experimentell, indem eine Gruppe von Probanden in möglichst kurzer Zeit, maximal jedoch etwa einer Viertelstunde, eine Portion des zu testenden Lebensmittels auf nüchternen Magen zu sich nimmt, in welcher 50 g verwertbare Kohlenhydrate enthalten sind. Im Anschluss wird die resultierende Entwicklung des postprandialen Blutzuckerspiegels über eine definierte Zeit von zwei Stunden im Kapillarblut gemessen und in einem Diagramm gegen die Zeit aufgetragen. Als Referenz wird eine Messung der Entwicklung des Blutzuckerspiegels nach erfolgter Aufnahme von 50 g Glucoselösung oder Weißbrot verwendet. Diese Referenzsubstanzen erhalten den Wert 100. Der GI eines Lebensmittels wird aus dem Quotienten der Fläche unter der Blutglucosekonzentration nach Aufnahme des Lebensmittels und der Fläche unter der Blutglucosekonzentration nach Konsum der Referenzsubstanz errechnet, wobei dieser Quotient mit 100 multipliziert wird [5]. Ein GI mit Glucose als Referenzsubstanz kann durch Division mit dem Faktor 1,3 ungefähr in den in Amerika üblichen Weißbrotstandard umgerechnet werden. Ein GI von 50 sagt somit aus, dass die postprandiale Blutglucoseantwort nach dem Konsum eines Kohlenhydrates nur halb so groß ist,

wie die nach dem Konsum des Referenzlebensmittels [6]. 50 g Kohlenhydrate sind enthalten in:

- 100 g Weißbrot;
- 128 g Vollkornbrot;
- 259 g Pommes frites;
- 330 g Trauben;
- 480 ml Cola;
- 500 g Äpfel;
- 825 g Ananas;
- 833 g gekochten Karotten;
- 1000 g Kürbis.

Der GI, den die vorhandenen Kohlenhydrate eines Lebensmittels aufweisen und damit auch der GI des betrachteten Lebensmittels, hängt von mehreren Faktoren ab.

#### Aufbau der Kohlenhydrate

Der Aufbau der Kohlenhydrate ist eine wichtige Kenngröße. Durch den passiven Resorptionsvorgang und die anschließende Umwandlung in Glucose in der Leber liegt der GI von Fructose lediglich bei etwa 20. Somit sinkt der GI einer jeden Kohlenhydratmischung, die Fructosebestandteile enthält. Zum Beispiel ist der GI des Glucose-Fructose-Dimers Saccharose der Mittelwert der Einzelsubstanzen, um das Hydrolysewasser korrigiert, und beträgt somit etwa 66. Auch der Aufbau von Glucosepolymeren wie Stärke ist von Bedeutung: So kann Amylose wegen ihrer linearen Molekülstruktur schlechter durch die menschlichen Verdauungsenzyme gespalten werden als das verzweigte Amylopektin, welches relativ rasch hydrolysiert und resorbiert wird. Aus diesem Grund unterscheidet sich der GI

verschiedener Reissorten mit unterschiedlichem Gehalt an Amylose und Amylopektin und kann zwischen 25 und 85 variieren.

#### Ballaststoffe

Ein Vorkommen von Ballaststoffen in den betreffenden Lebensmitteln senkt den GI. Insbesondere unlösliche Ballaststoffe beschränken die Angreifbarkeit der Kohlenhydrate und verzögern deren Resorption.

#### Eiweißstrukturen

Ähnlich wie Ballaststoffe beschränken auch Eiweißstrukturen die Angreifbarkeit der Nahrungskohlenhydrate, indem sie diese einschließen und den menschlichen Verdauungsenzymen den Zugang erschweren.

#### Proteine, Fette, Ballaststoffe

Proteine, Fette und Ballaststoffe beeinflussen je nach Zusammensetzung die Dauer der Magenpassage. Wird die Magenentleerung verzögert, so erfolgt auch eine Verzögerung der Blutglucoseantwort. Für das entsprechende Lebensmittel wird ein niedrigerer GI ermittelt, als es Aufbau und Struktur der Kohlenhydrate vermuten lassen würden.

#### GI abhängig von Bedürfnissen

Ob der GI eines Lebensmittels als gut oder schlecht angesehen wird, hängt stark von den jeweiligen Bedürfnissen des Verbrauchers ab. So benötigen Leistungssportler unter extremen körperlichen Belastungen eine schnelle Energieversorgung, um ihre Leistungsfähigkeit aufrechterhalten zu können und zugleich die körpereigenen Glycogenreserven zu schonen. Vor der Belastung hingegen sollten Lebensmittel mit einem mittleren GI verzehrt werden, da diese über einen längeren Zeitraum Glucose in das Blut abgeben können und dadurch zu einer stetigen Versorgung des Körpers mit Energie beitragen. Auf der anderen Seite wird ein hoher GI in zahlreichen Diätatgebern (Glyx-Diät, Montignac-Methode, Logi-Methode) mit einer raschen Gewichtszunahme verbunden. Diese Interpretation beruht auf dem raschen Anstieg des Blutglucosespiegels und der damit verbundenen erhöhten Ausschüttung an Insulin, wodurch wiederum die Speicherung in Fettzellen und als Glycogen angeregt wird. Ein starker Anstieg des Blutzuckerspiegels und der daraus resultierende schnelle Abbau werden unter anderem mit vermehrten Hungerattacken in Verbindung gebracht. Auch wird der

dauerhafte Konsum von Lebensmitteln mit einem hohen GI mit einem erhöhten Risiko, an Diabetes Mellitus Typ II zu erkranken, assoziiert [7]. Ob allerdings eine Ernährung mit geringem GI für adipöse Patienten die richtige Wahl ist, wird kontrovers diskutiert. Bisher durchgeführte klinische Studien ergeben kein einheitliches Bild [8].

### ■ Probleme des GI

Der GI eines Lebensmittels korreliert in keiner Weise mit dem Kaloriengehalt desselben und ist daher als alleinige Kenngröße in einer Diät nicht ausreichend.

Der GI vergleicht nicht verzehrbliche Portionen miteinander, sondern Portionen, die jeweils 50 g Kohlenhydrate enthalten, zum Beispiel enthalten 100 g Weißbrot genauso viel Kohlenhydrate wie 1 kg Kürbis.

Der GI ist ein theoretisches Maß, welches lediglich Auskunft über individuelle Lebensmittel gibt, nicht jedoch über eine Kombination verschiedener Lebensmittel. Der GI einer kompletten Mahlzeit mit Getränken, wie auch die Auswirkung verschiedener Zubereitungs- und Verarbeitungsarten, ist

bei Kenntnis der GI-Werte der einzelnen Zutaten nicht berechenbar.

Verschiedene Testpersonen reagieren individuell und auch tages- und tageszeitabhängig auf identische Lebensmittel. Hierdurch werden Vergleiche von Messungen zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen und Personen unterschiedlicher ethnischer Herkunft erschwert, wenn nicht sogar unmöglich.

### ■ Der GI von Getränken

Bei einer Betrachtung hinsichtlich des Glykämischen Index lassen sich Getränke grob in drei Kategorien einteilen. Die erste Kategorie beinhaltet Getränke mit einem hohen Zuckergehalt, gepaart mit Aromen und Genusssäuren, die klassischen Limonaden und Brausen. In diesen Getränken ist der GI fast ausschließlich von der bei der Produktion getroffenen Zuckerauswahl abhängig. Somit ist bei Kenntnis der Zuckerzusammensetzung eine Kalkulation des GI möglich und aufgrund der tageszeit-, tages- und personenabhängigen Schwankungen bei der klinischen Messung allemal ein proba-

tes Mittel, um die Blutglucoseantwort auf den Konsum eines solchen Getränkes adäquat zu beschreiben.

In die zweite Kategorie fallen natürliche Getränke mit einem relativ hohen Zucker- und Extraktgehalt wie Obstsaften, Smoothies, Milch und Joghurtgetränke. Diese weisen eine komplexere Kohlenhydratzusammensetzung auf, da sie unter anderem Reservekohlenhydrate aus den jeweiligen Früchten enthalten. Außerdem liegt ein nennenswerter Anteil an Proteinen, Ballaststoffen, bioaktiven Polyphenolen und teilweise Fett vor, wodurch zum einen die Resorbierbarkeit und enzymatische Hydrolyse der Kohlenhydrate erschwert, zum anderen die Magenentleerung verzögert werden kann. Beides führt in der Folge zu einem verzögerten Anstieg des Blutzuckerspiegels. Bei solchen Getränken lässt sich der GI nicht mit Sicherheit aus dem Gehalt an Mono- und Disacchariden berechnen. Hier sind klinische Studien zur Verifikation angebracht, insbesondere bei Rohstoffen, die neben Mono- und Disacchariden komplexere wasserlösliche Reservekohlenhydrate beinhalten. Bei derartigen

## ZUCKERGEHALTE VERSCHIEDENER GETRÄNKE MIT BERECHNETEN UND RECHERCHIERTEN GI-WERTEN

Probe	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Saccharose [g/l]	Summe Zucker[g/l]	GI berechnet	GI Internet	Portion pro 50 g [l]
Multivitaminsaft	22,78	49,11	26,69	98,58	50,9	47*	0,51
Rotwein lieblich	14,01	14,06	0	28,07	59,9	k.A.	1,78
Sportgetränk	32,01	0	0	32,01	100	95*	1,56
Probioticdrink	2,98	11,08	51,9	65,96	59,8	46*	0,76
Orangendirektsaft	21,87	24,04	36,02	81,93	61,5	(45-56)	0,61
Gemüsesaft	9,69	10,27	1,78	21,74	59,4	43* (15)	2,30
ACE-Trunk	37,01	38,83	23,1	98,94	60,6	k.A.	0,51
Apfelsaft aus Konzentrat	18,42	56,62	22,77	97,81	45,7	44* (48-50)	0,51
Cola	16,53	16,69	50,3	83,52	63,5	63* (100)	0,60
Colamix	19,7	20,2	49,8	89,7	63,1	68* (63-78)	0,56
Orangensaft aus Konzentrat	21,21	23,44	31,74	76,39	61,3	53* (45-56)	0,65
Sangria	27,89	24,09	0	51,98	62,9	k.A.	0,96
Wasser plus X	8,75	30,88	1,23	40,9	38,5	k.A.	1,22
Kindergetränk blau	9,16	11,01	31,33	51,5	62,2	k.A.	0,97
Vollbier hell	0,2	0,15	0,1	0,45	65,8	(110)	111,11

Tab. 2

Säften und Getränken kann es nötig sein, die Matrixeinflüsse, die Wirkung der höhermolekularen Polysaccharide, deren genaue Zusammensetzung oftmals unbekannt ist, sowie die Hydrolysegeschwindigkeit im menschlichen Intestinaltrakt zu bestimmen.

Die dritte Gruppe stellen Getränke mit vergleichsweise niedrigen und zum Teil vernachlässigbaren Kohlenhydratgehalten dar. In diese Gruppe fällt der größte Teil der alkoholisch fermentierten Getränke. Sie weisen nur noch einen niedrigen Gehalt an niedermolekularen Zuckern auf, da diese durch Hefen im Prozessschritt der alkoholischen Gärung in Alkohol umgewandelt wurden. In den Getränken der dritten Kategorie ist eine näherungsweise Berechnung des GI aus den gleichen Gründen, wie sie bereits für die zweite Kategorie genannt wurden, nicht durchführbar. Auch klinische Studien sind hier nicht ohne Kompromisse möglich. Denn das Flüssigkeitsvolumen von zum Teil mehreren Litern, welches zur Aufnahme von 50 g Kohlenhydraten in einer Viertelstunde konsumiert werden müsste, ist nicht vertretbar, von dem in alkoholischen Getränken enthaltenen Alkohol ganz abgesehen. Ein denkbarer Ansatz wäre hier, Kohlenhydrate und andere nicht flüchtige Bestandteile durch Wasserentzug, beispielsweise durch Gefriertrocknung, zu konzentrieren und anschließend den GI des Konzentrates zu messen. Das Problem bei einer solchen Herangehensweise besteht jedoch darin, dass sich sowohl die Magenent-

leerung bei einer höheren Feststofffracht verzögert als auch Resorptions- und enzymatische Vorgänge nur bedingt vergleichbar sind, wenn eine signifikante Menge an Wasser und Alkohol im Vergleich zu dem Originalgetränk fehlen. Somit gibt der GI des Konzentrates zwar Aufschluss über die Blutzuckerwirkung der nicht flüchtigen Bestandteile, nicht jedoch über die genaue Blutzuckerwirkung des ursprünglichen Getränkes.

### ■ Untersuchungen

Am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I wurden 13 alkoholfreie und zwei alkoholhaltige Getränke aus dem Lebensmitteleinzelhandel auf ihren Gehalt an Mono- und Disacchariden untersucht. Dies geschah mit der hauseigenen Methode zur Zuckermessung per HPAEC/PAD. In Tabelle 2 sind die Analysenwerte für Glucose, Fructose und Saccharose sowie der Zuckergehalt in Gramm pro Liter dargestellt. Aus diesen Zuckern wurde der GI-Wert des jeweiligen Getränkes errechnet. Die Formel hierzu lautet:

$$\text{GI} = (100 \cdot \text{Glu} + 20 \cdot \text{Fru} + 66 \cdot \text{Sac}) / \text{Gesamtzuckergehalt}$$

Glu = Glucosegehalt [g/l]

Fru = Fructosegehalt [g/l]

Sac = Saccharosegehalt [g/l]

Den errechneten Werten wurden, soweit verfügbar, Messergebnisse der University of Sydney gegenübergestellt, die auf ihrer Ho-

mepage ([www.glycemicindex.com](http://www.glycemicindex.com)) eine Datenbank für GI-Werte betreibt; diese sind mit \* gekennzeichnet. Die Werte, welche im deutschsprachigen Internet gefunden wurden, sind in Klammern angegeben. Bei den untersuchten Getränken ist eine relativ gute Übereinstimmung zwischen den errechneten und den in Sydney klinisch gemessenen Werten feststellbar. Vorhandene Unterschiede relativieren sich, wenn man berücksichtigt, dass die Messwerte für in Australien verfügbare Getränke ermittelt wurden und somit zusätzlich Unterschiede in der genauen Zuckerzusammensetzung im Vergleich zu den in Deutschland erworbenen Getränken zu erwarten sind. Der im Internet gefundene GI von Gemüsesaft ist angesichts der gemessenen Zuckerwerte wie auch der in Sydney gemessenen Werte mit 15 als unrealistisch anzusehen. Es wurde nicht nach Gemüseart differenziert, selbst reiner Tomatensaft weist einen GI von 30 auf. In den untersuchten Limonaden und Brausen sowie in Orangen- und ACE-Saft und Rotwein waren Glucose- und Fructosekonzentration jeweils fast gleich hoch, sodass für die niedermolekularen Zucker solcher Getränke ein pauschaler GI zwischen 60 und 66 angegeben werden kann, abhängig von der vorliegenden Saccharosekonzentration. Getränke mit Fructosesüßung und Apfelsaft besitzen aufgrund der passiven Resorption der Fructose und dem daraus resultierenden verlangsamten Anstieg der postprandialen Blutglucosekonzentration einen niedrigeren GI.



Der Glykämische Index von Bier und die Informationen, die darüber im deutschsprachigen Internet verfügbar sind, scheinen mehr eine Glaubensfrage zu sein, als auf wissenschaftlich fundierten Erklärungen und Erkenntnissen zu beruhen. Unisono wird der GI des Bieres hier mit dem Rekordwert von 110 angegeben „...am schlimmsten ist das Bier...“ (<http://www.wissenswertes.at/index.php?id=glykaemischer-index>). Dieser Wert wird mit einem angeblich extrem hohen Maltosegehalt im fertigen Bier begründet. Maltose als Disaccharid besteht aus zwei Glucosemolekülen, und es entstehen in der Tat aus 100 Gramm Maltose nach Spaltung und Addition des hierzu notwendigen Anhydrowassers 110 Gramm Glucose. Maltose hat also tatsächlich einen GI von 110, aber Bier?

Im endvergorenen Bier liegen bekanntlich weder Maltose noch andere niedermolekulare Zucker vor. Der vorhandene Restextrakt hat sowohl dem enzymatischen Angriff im Maischprozess, als auch der Verstoffwechslung durch die Hefe standgehalten und hier ist nicht von einer schnellstmöglichen Spaltung im Intestinaltrakt und somit einer schnellen Resorption auszugehen. Einer der Ursprünge dieses leider weit verbreiteten Irrtums über den GI von Bier ist in dem Buch „The South Beach Diet“ von Dr. Arthur

Agatston zu sehen, welcher unter anderem behauptete, Bier wäre reich an Zuckern und insbesondere an Maltose. Was oder wer Dr. Agatston zu dieser Aussage bewog, ist leider nicht bekannt. Was hingegen als gesichert angesehen werden kann, ist die Tatsache, dass der GI der im Bier noch enthaltenen Kohlenhydrate gerade bei hochvergorenen Bieren, bei Diät- und amerikanischen Light-Bieren deutlich unter 100 liegt. Auch wird nicht auf die negative Korrelation zwischen Alkoholgehalt eines Lebensmittels und der Blutglucoseantwort eingegangen.

Im Gegensatz zu Angaben über den vermeintlich hohen GI von Bier war es leider nicht möglich, Angaben über den GI von Wein zu erhalten. Jedoch darf als sicher gelten, dass gerade Weine mit einem beachtlichen Restzuckergehalt, wie liebliche oder Eisweine, eine stärkere Auswirkung auf den Blutzuckerspiegel haben als Bier.

Im Gegensatz zu Bier dürften Malzgetränke und alkoholfreie Biere, die nach dem Verfahren des „gestoppten Gärens“ hergestellt werden, bedingt durch hohe Zucker- und Dextringehalte einen für Getränke vergleichsweise hohen GI aufweisen, was bei einer entsprechenden Markpositionierung als Sportlergetränke oder Energielieferanten selbstverständlich kein Nachteil sein darf. Eine Tatsache, die bereits lange bekannt

ist, wurden doch früher Nährbiere speziell für Schwangere, Stillende und Kranke eingebracht, um diese mit leicht verfügbarer Energie zu versorgen.

#### ■ Ausblick

Die meisten zucker gesüßten Getränke unterscheiden sich nicht durch ihren GI, der durchgehend im Bereich von 60 bis 66 liegt, sondern lediglich durch den Zuckergehalt. Ausnahmen stellen Diät- und andere fructosegesüßte Getränke dar sowie Saftgetränke mit einem natürlich hohen Fructoseanteil, deren GI-Werte

niedriger sind. Sportgetränke mit dem Ziel einer schnell verwertbaren Zuckerversorgung sollten möglichst komplett Glucose oder leicht hydrolysierbare Glucosepolymere wie Maltose oder Maltodextrin als Zuckerbestandteile enthalten.

Generell sollten Getränke als eminente Bestandteile der Humanernährung in eine Diät mit einbezogen und ihre Auswirkungen in Bezug auf Kohlenhydratzufuhr berücksichtigt werden. Bei dem Konsum von Bier und anderen alkoholischen Getränken ist es im Rahmen einer Diät sicher sinnvoller, das Augenmerk auf den Kaloriengehalt des Getränkes zu richten, als auf den Gehalt an resorbierbaren Kohlenhydraten. Bier darf mit Sicherheit auch in einer kohlenhydratarmen Diät eine wertvolle Bereicherung des Speiseplanes darstellen. ■

#### ■ Literatur

1. Breves, G.; Kock, J.; Schroder, B.: Transport of nutrients and electrolytes across the intestinal wall in pigs. In: *Livestock Science* 109, 2007, Nr. 1-3, S. 4-13.
2. Brouns, F.; Kovacs, E.: Functional drinks for athletes. In: *Trends in Food Science & Technology* 8, 1997, Nr. 12, S. 414-421.
3. Jeukendrup, A. E.: Carbohydrate intake during exercise and performance. In: *Nutrition* 20, 2004, Nr. 7-8, S. 669-677.
4. Klein, H.; Lötsch, B.; Ketzner, M.: Sportgetränke: individuell, optimiert. In: *Journal für Ernährungsmedizin* 8, 2006, Nr. 3, S. 30-38.
5. Jenkins, D. J. A.; Wolever, T. M. S.; Taylor, R. H.; Barker, H.; Fielden, H.; Baldwin, J. M.; Bowling, A. C.; Newman, H. C.; Jenkins, A. L.; Goff, D. V.: Glycemic Index of Foods – a Physiological-Basis for Carbohydrate Exchange. In: *American Journal of Clinical Nutrition* 34, 1981, Nr. 3, S. 362-366.
6. Gretebeck, R. J.; Gretebeck, K. A.; Tittebach, T. J.: Glycemic index of popular sport drinks and energy foods. In: *Journal of the American Dietetic Association* 102, 2002, Nr. 3, S. 415-417.
7. Augustin, L. S.; Franceschi, S.; Jenkins, D. J. A.; Kendall, C. W. C.; La Vecchia, C.: Glycemic index in chronic disease: a review. In: *European Journal of Clinical Nutrition* 56, 2002, Nr. 11, S. 1049-1071.
8. Raben, A.: Should obese patients be counselled to follow a low-glycaemic index diet? No. In: *obesity reviews* 3, 2002, Nr. S. 245-256.

# Newsletter

## Highlights aus dem aktuellen BRAUWELT International-Newsletter

- ❑ „Netherlands“ – The perils of trying to do good
- ❑ „Finland“ – Hard landing
- ❑ „United Kingdom“ – Beware of ‘passive drinking’
- ❑ „China“ – No, it’s not called protectionism

Der englischsprachige BRAUWELT International-Newsletter liefert monatlich die neuesten Branchen-News aus dem Ausland auf einen Blick!

Als BRAUWELT-Abonnent erhalten Sie automatisch den BRAUWELT-Newsletter (3x/Monat) + **jetzt auch den BRAUWELT International-Newsletter (1x/Monat) zur Ansicht.**

Sie haben bislang noch keinen Newsletter erhalten? Dann schicken Sie einfach Ihre Mailadresse (mit Ihrer Kundennummer) an [theiss@hanscarl.com](mailto:theiss@hanscarl.com)!

## ***8.7 Flavor Stability of Alternative Malt-based Beverages***

Krahl, M., Zarnkow, M., Stürmer, F. and Becker, T., Flavor Stability of Alternative Malt-based beverages. *MBAA Technical Quarterly*, 2009, **46(4)**.

# Flavor Stability of Alternative Malt-based Beverages

Moritz Krahl, Martin Zarnkow, Felicitas Stürmer, and Thomas Becker

Technische Universität München, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany.

## ABSTRACT

In recent years the market share for alternative malt-based beverages has grown as consumers look for alternative, new, and refreshing products. To date, however, no information has been gathered about the flavor stability of such beverages. In this work, stale flavor compounds in commercial and pilot-scale malt-based beverages were analyzed and compared with appropriate sensory results. The study showed that the aging of flavored malt-based beverages can be described by changes in the contents of 3-methylbutanal, 2-furfural, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, hexadienal, heptanal, methional, and  $\beta$ -damascenone, with an index increase from 4.097  $\mu\text{mol/L}$  in fresh samples to 4.899  $\mu\text{mol/L}$  in aged samples. The aging indicator value determined for novel malt-based beverages was confirmed in pilot-scale lactic acid-fermented beverages. In unfermented malt beers, the aging process can be described by the sum of the Strecker aldehydes 2- and 3-methylbutanal and phenylacetaldehyde and the thermal indicator methylfurfural. During simulated aging, an increase of 181 nmol/L was observed.

**Keywords:** flavor stability, malt-based beverage, stale flavor

## SÍNTESIS

La participación de bebidas alternas basadas en malta en el mercado ha crecido debido al deseo de los consumidores por productos nuevos refrescantes. No existía hasta ahora ningún estudio sobre la estabilidad sensorial de estas bebidas. En este estudio se analizaron, y se relacionaron con resultados sensoriales, los compuestos saborizantes envejecidos de bebidas a base de malta, tanto comerciales como de planta piloto. Los resultados demuestran que el envejecimiento de estas bebidas se relacionan con cambios en los contenidos de 3-metilbutanal, 2-furfural, benzaldehído, fenilacetaldéhidido, hexadienal, heptanal, metional, y  $\beta$ -damascenona, aumentando el índice de 4.097  $\mu\text{mol/L}$  a 4.899  $\mu\text{mol/L}$  en muestras envejecidas. El valor del indicador de envejecimiento determinado sobre la base de bebidas novedosas a base de malta, fue confirmado por bebidas elaboradas en planta piloto por fermentación de ácido láctico. En bebidas con malta pero no fermentadas, el proceso de envejecimiento se relaciona con la suma de los aldehídos Stecker 2- y 3-metilbutanal y fenilacetaldéhidido junto con el indicador térmico metilfurfural. Se observó un aumento de 181 nmol/L con un envejecimiento simulado.

**Palabras claves:** bebidas basadas en malta, estabilidad sensorial, sabor envejecido

## Introduction

The food industry is directing new product development toward the area of functional foods and functional food ingredients due to increasing consumer demand for healthier foods (18). Natural substances are generally preferred over chemical ones and are seen as healthy. Beverages are one of the fastest growing segments of the functional and organic food market. Functional beverages have been launched as fortified water, tea, and dairy products and fruit juices (25) and, in recent years, as organic malt-based beverages.

The quality of a beverage is normally defined by a combination of factors that are important for consumer acceptance of an item. One of the factors distinguishing a product from its

competitors is flavor (56). The main quality problem associated with malt-based beverages is the change in chemical composition that occurs during storage (2,59). However, the negative impact of flavor changes may be less pronounced for alternative malt-based beverages. Previous studies showed that consumers are willing to pay more for such products (8) and that off-flavors were regarded less negatively in functional beverages (53,58).

Flavor stability is influenced by a variety of factors. The most important factors are oxygen uptake (and the resulting oxidation of beverage constituents) and thermal treatment during production and storage. Optimal availability of antioxidants can reduce the influence of oxygen uptake on flavor (3). However, oxidation of reducing substances does cause chemical changes in the composition of a beverage and its flavor. In the production of organic and functional beverages, the use of chemical antioxidants (which must be labeled) may be viewed negatively by consumers (25) and should be avoided.

Potentially troublesome compounds also may be formed in beverages during processing or as they age during storage (13). In recent years, much research has been done regarding the flavor stability of the world's best known malt-based beverage—beer (48,59). The flavor stability of beer depends mainly on the oxygen content in the packaged product (13,15,35,38,48,49,57). In addition, thermal treatment of wort (16,17,50), pH (23,24,26,36), and storage temperature (3,26,30,61) have been shown to significantly influence flavor stability.

Moritz Krahl attained the German *Abitur* (A-level certificate) in 2000, after which he began studying brewing and beverage technology at the Technical University of Munich at Weihenstephan. In 2005 he graduated with a Dipl.-Ing. degree and has since been working as a doctoral student at the Chair for Technology of Brewing I at Weihenstephan.

E-mail: Moritz.Krahl@wzw.tum.de

Based on a paper presented at the 122nd Anniversary Convention of the Master Brewers Association of the Americas, La Quinta, CA, October 2009.



One important stale flavor component found in beer is *trans*-2-nonenal. It is responsible for the so-called “cardboard” flavor, which is one of the most common off-flavors in aged beer (23,24,29,47,55). Concentrations of *trans*-2-nonenal in beer can reach up to 10-fold its threshold value (45). *trans*-2-Nonenal is already present at subthreshold concentrations in barley and wort (5). Another contributor to the flavor of aged beer, mainly described in Belgian beers, is  $\beta$ -damascenone (23,32,55), which has a “honey” or “baked apple” flavor (50).  $\beta$ -Damascenone levels have been shown to increase up to 35-fold during storage and aging of beer (12). Although  $\beta$ -damascenone is present in high concentrations in wort after boiling, it is degraded during the fermentation process, and only very low concentrations can be found in fresh beer (12,37). During storage, it is released by acidic hydrolysis of glycosides, and levels increase with lower pH (23). A lower pH value accelerates most of the oxidation processes involved in stale flavor development in beer (4,24,26,36).

Stale flavor compounds also have been described that are only found at subthreshold levels in beer. These compounds demonstrate a clear relationship between their concentration and changes in flavor (3). Such compounds result from Strecker degradation of amino acids present in beer to their corresponding aldehydes (6,14,22), acidic catalyzed glycoside hydrolysis (23), and lipid degradation products (22). Precursor substances are generated through thermal processing (16,50). Indicators of thermal treatment are nicotinic acid ethyl ester, 2-furfural, methylfurfural,  $\gamma$ -nonalactone, and heptanal (3,49,60). Indicators of oxygen uptake in bottled beer are 3-methylbutanal, phenylethanal, benzaldehyde, and 2-methylbutanal. All of these substances have been found to increase in beer during the aging process (7,49). Table 1 gives an overview of the stale flavor compounds analyzed, their flavor impression, molecular mass, molecular formula, and flavor thresholds.

In contrast to beer, there has been little research done concerning changes in the flavor perception of other beverages, except for wine. Some studies have been published on selected fruits and fruit extracts, such as strawberry (1), grapefruit (10,31), and lemon oil (39). Little information exists regarding stale flavor compounds or indicator substances and their relationship to thermal treatment, oxidation, and aging.

In recent years, a number of novel, innovative beverages have been launched. Due to growing consumer awareness of the negative impact of poor nutrition in Western countries, novel drinks based on natural raw materials have attracted growing interest. Malted grains and natural fruit juices are especially suitable for the production of such beverages, as they are generally considered positive, health-promoting food ingredients (25). Malt beer, the second alternative malt-based beverage analyzed in this study, has a long tradition in Germany. In the past, low-alcohol and nonalcoholic malt-based beers have been used for the nutrition of pregnant and lactating women, children, and weak people (62). Today these beverages are produced from water, malt, inverted sugar syrup, caramel color, hops, and CO<sub>2</sub>. Pale products produced without caramel color also exist.

In this study the authors investigated the flavor stability of novel malt-based beverages. The indicator substances, and subsequent changes in flavor described above, result from malt-derived precursors (48,59). These substances were investigated relative to their ability to describe the changes in flavor of alternative malt-based beverages.

## Materials and Methods

### Samples

Malt-based beverages were purchased commercially in Bavaria, Germany. Three beverages were flavored with elderberry and one beverage with cranberry-elderberry. Four beverages were malt beers. All beverages were bottled in glass except for the elderberry-flavored beverage, which was filled in a plastic bottle. Additionally, pilot-scale lactic acid-fermented beverages were produced at the institute (Technische Universität München). The beverage ingredients were gluconobacter-fermented wort, sugar, natural flavor, and natural aroma compounds. The malt beer was a product made from unfermented hopped wort, with sugar adjuncts and caramel color.

### Beverage Production

To produce standardized wort for lactic acid fermentations, unhopped malt extract (Weyermann) was used. The extract was diluted with boiling distilled water to an original gravity of 7%.

**Table 1.** Analyzed stale flavor compounds

Compound	Flavor impression	Molecular mass (Da)	Molecular formula	Flavor threshold <sup>a</sup>
2-Methylbutanal	Banana, medicinal, fruity	86.14	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	1.25 ppm
3-Methylbutanal	Banana, apple, cherry	86.14	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	0.6 ppm
Methional	Mashed potato	104.17	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> OS	0.25 ppm
Benzaldehyde	Almond, cherrystone	106.1	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	2 ppm
Hexanal	Bitter, vinous	106.16	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	0.35 ppm
Heptanal	Vinous, bitter, unpleasant	114.19	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	0.075 ppm
2-Furfural	Paper, husk	96.08	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	150 ppm
2-Acetylfuran	Almond, burnt, phenolic, pyrazole	110.11	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	80 ppm
$\gamma$ -Nonalactone	Coconut	156.22	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	No data
$\beta$ -Damascenone	Fruity-flowery, honey, apple	190.28	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O	0.009 ppb (in water) <sup>b</sup>
( <i>E</i> )-2-Nonenal	Cardboard, stale	140.22	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	0.00011 ppm
2-Propionylfuran	No data	124.14	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	No data
Ethyl phenylacetate	Roses, honey, sweetish	164.20	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	3.8 ppm
Ethyl nicotinate		151.16	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	No data
Diethylsuccinate		174.20	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	No data
2-Phenylacetaldehyde	Hyacinth, lilac	120.15	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	1.6 ppm
Methyl furfural	Almond, burnt	110.11	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	20 ppm
Hexadienal	Green <sup>c</sup>	94.11	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	No data

<sup>a</sup> Meilgaard (46).

<sup>b</sup> Ohloff and Firmenich (51).

<sup>c</sup> Qian and Reineccius (54).

Boiling water was used to ensure maximum microbiological safety. Other sterilization methods, such as autoclaving, were not suitable because of their negative impact on the resulting flavor. Fermentation was performed using *Lactobacillus* spp. at 50°C for 3 days. The obtained fermentation product was mixed with concentrated grapefruit, pineapple, and peach juices and the appropriate flavor extracts (Döhler).

### Sample Treatment

Fresh samples were stored at 4°C. Aging of beverages was simulated by 1 day of shaking at room temperature followed by storage at 40°C for 5 days. The simulated aging process corresponded to a natural aging of approx. 3–4 months (12,26,42). To achieve maximum oxidation, air was blown into the samples, and they were stored at 50°C for 1 week. The lactic acid-fermented wort was aged at 40, 45, or 50°C for 4 days after 1 day of shaking. All samples were subsequently stored at 4°C until further analysis.

### Sensory Evaluation

Sensory evaluation was done by a panel of 10 trained professional tasters. Tested attributes included aroma, taste, palate fullness, carbonization, and stale flavor. All attributes were rated from 0 to 5, where 0 indicated no sensory impression. Stale flavor was rated according to the scheme introduced by Eichhorn (19). A fresh product was rated with 1. The maximum value for this attribute was 4, which described a strongly aged beverage. Acceptance was rated with values from 100 to 0%, which described the acceptability of the stale flavor of a beverage.

### Beverage Analysis

pH was measured with a commercial pH meter (WTW), according to MEBAK method 2.17 (EBC method 8.17). Lactic acid concentration was determined by titration, according to MEBAK method 1.10.3. Original gravity was analyzed using a density meter (DMA 4500, Anton Paar), according to MEBAK method 2.13.2.3 (EBC 9.4). Color was analyzed using a photometer (DR 5000, HachLange), according to MEBAK method 2.16.2 (EBC 9.6) (21,43,44).

Volatile stale flavor compounds were analyzed by gas chromatography–flame ionization detection (GC-FID) and concentrated through steam distillation (K-314, Büchi Labortechnik). To 200 mL of cooled sample and 5 mL of ethanol p.a. was added 1 mL of internal standard (heptanoic acid methyl ester, Sigma-Aldrich). The sample was distilled into an ice-cooled 100-mL volumetric flask and stored at 4°C until further analysis. Subsequently, 80 mL of distilled sample, 20.8 g of sodium chloride, and 1 mL of dichloromethane (Riedel-de Haen) were placed in a centrifuge tube, shaken for 30 min (Turbula shaker, Willy A. Bachhofen), and centrifuged at 0°C at 2,400 rpm for 15 min (Heraeus Megafuge 1.0 R, Thermo Scientific). The supernatant was removed, and the methylenchloride pearl was pipetted into a GC vial and reduced to approx. 150 µL with nitrogen. The obtained extract (3 µL) was injected into the gas chromatogram.

GC analysis was done using a gas chromatograph (Hewlett Packard 5890 Series II Plus, Agilent Technologies) with an automatic sampler (Hewlett Packard 7673 A, Agilent). The following substances were analyzed: 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methional, benzaldehyde, 2-phenylacetaldehyde, hexanal, heptanal, 2-furfural, 2-acetylfuran,  $\gamma$ -nonalactone,  $\beta$ -damascenone, (*E*)-2-nonenal, 2-propionyl-furan, ethyl phenylacetate, ethyl methylnicotinate, diethylsuccinate, 2-phenylacetaldehyde, methylfurfural, and hexadienal.

The total amount of Strecker aldehydes was calculated as the sum of 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, methional, benzaldehyde, and 2-phenylacetaldehyde. The amount of indicator compounds for oxidation was calculated as the sum of 3-methylbutanal, benzaldehyde, and 2-phenylacetaldehyde. The total amount of stale flavor compounds was calculated as the sum of 3-methylbutanal, 2-furfural, methylfurfural, benzaldehyde, 2-phenylacetaldehyde, diethylsuccinate, ethyl phenylacetate, 2-acetylfuran, 2-propionyl furan, and  $\gamma$ -nonalactone (63).

The coefficient of variation for the analyses used was less than 4%. Analyses were carried out in duplicate. The results of the GC-FID analysis are given in nano- or micromoles per liter, as it is thought that the utilization of molar amounts of substances may provide a better understanding of the amounts of educts and precursors converted during aging.

**Table 2.** Stale flavor compounds in flavored malt-based beverages

Compound	Avg. in fresh beverage (µg/L)	Avg. in aged beverage (µg/L)	Avg. in oxidized beverage (µg/L)	Avg. in fresh beverage (nmol/L)	Avg. in aged beverage (nmol/L)	Avg. in oxidized beverage (nmol/L)
2-Methylbutanal	7.3	6.6	9.8	85	77	114
3-Methylbutanal	14.7	15.9	24.2	171	185	281
2-Furfural	278	279	832.8	2,893	2,904	9,659
Methylfurfural	45.3	51.8	44.3	411	470	402
Benzaldehyde	2.4	3.5	5.0	23	33	47
Phenylacetaldehyde	24.1	29.6	46.5	201	246	387
Hexadienal	43.7	86.5	54.8	464	919	582
Hexanal	7.5	5.1	5.4	71	48	51
Heptanal	9.9	11.7	12.3	89	103	108
Methional	26	51.8	62	250	497	585
( <i>E</i> )-2-Nonenal	1.3	1.7	0.4	9	12	3
Diethylsuccinate	4.3	5.3	2.6	25	30	15
Ethyl nicotinate	10.5	4.6	2.5	69	30	17
Ethyl phenylacetate	0.8	0.9	9.6	5	6	59
2-Acetylfuran	17	17.5	17	154	159	154
2-Propionylfuran	1.1	Trace	1.9	9	Trace	15
$\beta$ -Damascenone	1.7	2.4	3.0	9	13	16
$\gamma$ -Nonalactone	4.0	3.0	2.8	26	19	18
Strecker aldehydes	326.5	334.6	918.3	706	1,005	1,377
Oxidation indicators	41.2	49	58.8	394	464	715
Stale flavor compounds	374.7	389	969.7	3,832	4,052	11,038

## Results and Discussion

### Novel Malt-based Beverages

pH values between 2.9 and 3.5 were measured in the commercial flavored beverages. Color varied between 8 and 17 EBC. Extract levels ranged from 6.8 to 7.2. Forced aging had no significant influence on these attributes (data not shown). Small differences occurred, but no consistent trend could be seen.

The average value for aroma, taste, and palate fullness for fresh samples was 4.3. Carbonation was rated as 4.4 by the panel. In forced-aged samples, aroma (avg. 3.8) and taste (avg. 3.7) were rated lower, while palate fullness and carbonation were judged only a little lower. The perceived stale flavor impression in aged samples was rated as 1.7, and average acceptance of the aged samples was 70% (data not shown). These results clearly show that the investigated novel malt-based beverages underwent measurable changes during forced aging, but acceptance was still higher than 60% and, thus, in a good range. Losses in olfactory and taste attributes were remarkable in all analyzed samples.

The average values for the analyzed stale flavor compounds based on GC-FID analysis of novel malt-based beverages are shown in Table 2. Based on the values shown in Table 2, it can be concluded that not all substances that are suitable for the measurement of chemical changes in beer can be weighted equally for the analyzed malt-based beverages. Simulated aging showed the highest effect on the concentrations of hexadienal (+455 nmol/L), phenylacetaldehyde (+46 nmol/L), heptanal (+16 nmol/L), and methional (+248 nmol/L). Addition of oxygen resulted in a 3.3-fold increase in 2-furfural from 2,893 to 9,659 nmol/L. Aldehydes derived from Strecker degradation increased: methional by 346 nmol/L, 2-methylbutanal by 29 nmol/L, and 3-methylbutanal by 110 nmol/L. Formation of Strecker aldehydes in the samples was limited by the availability of the free amino acids methionin (methional), leucin (2-methylbutanal), and isoleucin (3-methylbutanal), because only a small amount (<2%) of malt was used in the production process. No consistent tendency was found for autoxidation products of fatty acids. Heptanal and hexadienal increased during

simulated aging and after oxygen uptake. Hexanal content was lower after both treatments, and *trans*-2-nonenal increased during forced aging, although levels were lower in oxidized samples. There were only small differences found in the amounts of total Strecker aldehydes, oxidation indicators, and stale flavor compounds between fresh and aged samples. A strong increase was observed, however, between untreated and oxidized samples.

To describe changes during simulated aging more appropriately, a new method was implemented. Only substances that increased during simulated aging and after oxidation were included in the calculation. The amount of stale flavor indicators in novel malt-based beverages was calculated as the sum of 3-methylbutanal, 2-furfural, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, hexadienal, heptanal, methional, and  $\beta$ -damascenone. The calculated average amount of aging indicators was 4.097  $\mu$ mol/L in fresh samples, 4.899  $\mu$ mol/L in forced aged samples, and 11.675  $\mu$ mol/L in oxidized samples.

### Malt Beer Samples

Malt beer had a pH value of approx. 4.4 and a color value of 90 EBC. Original gravity was approx. 12°P, and there was no change in value after forced aging. Aging resulted in lower scores for aroma and taste (−0.7), and mouthfeel and palate fullness (−0.4). Stale flavor score increased to 1.7, and acceptance was 76%. The forced aged samples differed from the fresh samples, but stale flavor perception was not strong or offensive.

Table 3 shows a comparison of the stale flavor compounds measured in a traditional German-style lager beer and the analyzed malt beers. Because malt beer contains higher levels of extracts and stale flavor precursors, it is not discussed with the novel malt-based beverages analyzed. In beer, all detected and quantified compounds, except phenylacetate, increased during simulated aging. Oxidation resulted in a further increase, but some substances, such as methional and methylfurfural, decreased due to further reactions. Most analyzed substances increased during forced aging of the malt beer. The highest increase was observed for 2- and 3-methylbutanal, 2-furfural, methylfurfural, and phenylacetaldehyde. The influence of added oxygen was much more pronounced than that of forced aging

**Table 3.** Comparison of stale flavor compounds in a German-style lager beer and malt beer

Compound	Fresh beer (nmol/L)	Aged beer (nmol/L)	Oxidized beer (nmol/L)	Fresh malt beer (nmol/L)	Aged malt beer (nmol/L)	Oxidized malt beer (nmol/L)
2-Methylbutanal	36	57	101	171	185	279
3-Methylbutanal	59	116	232	517	624	848
2-Furfural	60	1,936	6,755	7,408	9,417	10,647
Methylfurfural	33	44	29	181	204	300
Benzaldehyde	9	16	32	18	17	36
Phenylacetaldehyde	70	191	566	485	522	916
Hexadienal	3	5	14	11	6	ND <sup>a</sup>
Hexanal	4	5	11	16	12	11
Heptanal	Trace	Trace	ND	Trace	Trace	ND
Methional	355	403	192	393	302	1,046
( <i>E</i> )-2-Nonenal	Trace	Trace	11	5	12	Trace
Diethylsuccinate	4	7	13	Trace	Trace	7
Ethyl nicotinate	47	106	390	Trace	Trace	13
Ethyl phenylacetate	6	6	10	Trace	Trace	6
2-Acetylfuran	Trace	Trace	136	490	397	790
2-Propionylfuran	11	11	ND	Trace	Trace	22
$\beta$ -Damascenone	ND	ND	10	Trace	Trace	12
$\gamma$ -Nonalactone	166	211	294	78	62	83
Strecker aldehydes	520	768	1,123	1,584	1,650	3,088
Oxidation indicators	139	324	830	1,020	1,163	1,799
Stale flavor compounds	419	2,538	8,067	9,177	11,243	13,654

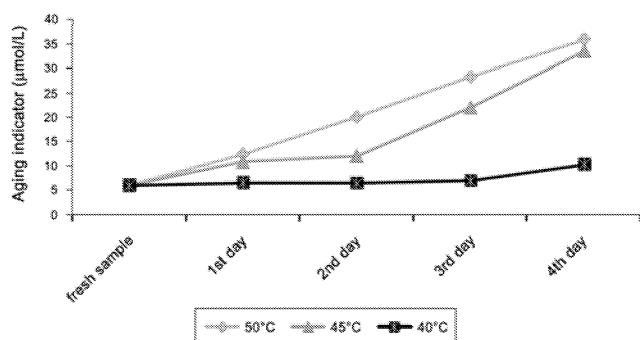
<sup>a</sup> ND = not detected.

alone. Hexanal, heptanal, and hexadienal and, thus, autoxidation products of fatty acids decreased, and heptanal and hexadienal were not found in the oxidized malt beer. These compounds were not present at measurable levels in the analyzed samples and did not seem to be of importance for malt beer flavor. Ethyl nicotinate also decreased, which was in contrast to beer. This observation can be explained by the absence of niacin, which is created by yeast during fermentation and acts as an educt for this ester (27). No consistent tendency was observed for 2-acetylfuran and *trans*-2-nonenal. Methional decreased after forced aging and increased during the oxidation process. A possible explanation might be degradation to methanthiol. Under the influence of oxygen and due to the high amount of methionin present in the unfermented malt beer, Strecker degradation might prevail and cause further degradation. Due to the very high concentrations of 2-furfural already in fresh samples, this substance was not used as an aging indicator in malt beer. In beer, 2-furfural present in wort is degraded by the yeast during fermentation, and as a result, very low levels are found in bottled beers (9, 40,41). Because this degradation takes place during fermentation, it cannot be observed in malt beer. Ethyl phenylacetate, 2-propionylfuran, and  $\beta$ -damascenone could not be detected in fresh samples but were present at low concentrations in oxidized samples.  $\gamma$ -Nonalactone, contrary to beer, did not show significant or consistent changes in malt beer.

The combination of the Strecker aldehydes 2- and 3-methylbutanal and phenylacetaldehyde and the thermal indicator methylfurfural (28,34) is suitable to describe the aging and oxidation processes in malt beer. Values increased from 1,354 nmol/L in fresh malt beer to 1,535 and 2,343 nmol/L in aged malt beer and oxidized malt beer, respectively. Malt beer contains high levels of malt-derived free amino acids because no yeast is used during its production and, thus, no fermentation takes place. These substances are educts for Strecker degradation and formation of Strecker aldehydes (52). If during malt beer production color malt or caramel is used, 2-furfural levels will differ depending on the additive used. These additives, however, have no influence on the free amino acids content (the precursors of Strecker degradation).

### Analyzed Beverages

Most of the stale flavor compounds used to determine the aging indicator value are malt-derived substances. Therefore, lactic acid-fermented wort was analyzed for the formation of stale flavor compounds prior to the addition of fruit concentrates and aroma compounds. Samples were taken each day at each of three temperatures (40, 45, and 50°C) and analyzed. The increase in



**Figure 1.** Changes in aging indicator levels during forced aging of lactic acid-fermented wort at different temperatures.

aging indicator levels over time is shown in Figure 1. At 40°C, aging indicators increased from 6.0 to 10.27  $\mu\text{mol/L}$  after 4 days; at 45°C aging indicators increased from 6.0 to 33.461  $\mu\text{mol/L}$ ; and at 50°C aging indicators increased from 6.0 to 35.837  $\mu\text{mol/L}$ . These levels were higher than those observed in commercial beverages and were mainly due to two factors. In the analyzed beverages, the amount of malt used was much less than in the lactic acid-fermented wort, which contained more than four-fold the malt content of the commercial samples, and as fermentations were carried out at 50°C, a high level of stale flavor compounds originated from the fermentation process. Thus, more precursors for and higher initial levels of stale flavor compounds were present. Analysis of lactic acid-fermented wort after addition of fruit concentrates and aroma compounds showed an increase from 2.382 to 7.328  $\mu\text{mol/L}$  in a peach-flavored beverage; from 2.971 to 5.927  $\mu\text{mol/L}$  in a grapefruit-flavored beverage; and from 12.881 to 16.182  $\mu\text{mol/L}$  in a pineapple-flavored beverage. These values clearly show that the fruit adjunct used had an important influence on the analyzed content of stale flavor compounds. The high benzaldehyde content, which is partially protein-bound and released during aging in peach-flavored beverages (33), increased the measured amount of aging indicators by 0.635  $\mu\text{mol/L}$  compared with the grapefruit-flavored beverage. While benzaldehyde is a well-known aroma compound found in peach juices and concentrates (11), phenylacetaldehyde is an aromatic compound found in pineapple concentrates (20) and leads to a high level of aging indicators. A concentration of 9.554  $\mu\text{mol/L}$  was detected in the aged sample.

These results show that the proposed aging indicator is suitable to describe the aging processes in different flavored malt-based beverages. However, it is important to pay attention to the fruit concentrates and aroma compounds used as adjuncts in the production of such beverages, because they may contribute to the detected amounts of stale flavor compounds.

### Conclusions

Based on the study results, it can be concluded that the existing analysis of stale flavor compounds is suitable to describe changes in novel malt-based beverages, as well as beer. However, the different matrix in such beverages leads to chemical changes that differ from those observed in beer. The analysis of stale flavor compounds in different beverages led to the generation of an aging indicator for novel malt-based beverages that is the sum of 3-methylbutanal, 2-furfural, benzaldehyde, phenylacetaldehyde, hexadienal, heptanal, methional, and  $\beta$ -damascenone. These eight substances appropriately described the simulated aging process.

Malt beer is a special nonalcoholic beverage and reacts similarly to beer. The aging process of malt beer was best described by the increase in some Strecker aldehydes. The thermal indicator methylfurfural was also a suitable aging indicator for malt beer. *trans*-2-Nonenal, which is known to be a good aging indicator in beer, was of no relevance for the analyzed alternative malt-based beverages.

The sensory results for the investigated beverages correlated well with the changes measure by GC-FID. Consequently, sensory schemes used for the description of beer flavor and aging can also be used for alternative malt-based beverages. As in beer, the results of the GC-FID analysis of stale flavor compounds in alternative malt-based beverages provided information about the flavor stability of a product but was not a suitable tool to determine the age of a beverage with an unknown origin.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Fond InBev-Baillet Latour.

## REFERENCES

- Aguilo-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., and Martin-Belloso, O. (2009). Flavour retention and related enzyme activities during storage of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Food Chem.* 116:59-65.
- Ahrens-Larsen, B., and Hansen, H. (1963). Gaschromatographische Untersuchungen über die Geschmacksstabilität von Bier. *Brauwissenschaft* 16:393-397.
- Back, W., Forster, C., Lehmann, J., Sacher, B., and Thum, B. (1999). New research findings on improving taste stability. *Brauwelt Int.* 5:394-405.
- Bamforth, C. (2001). pH in brewing: An overview. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 38:1-9.
- Barker, R. L., Gracey, D. E. F., Irwin, A. J., Pipasts, P., and Leiska, E. (1983). Liberation of staling aldehydes during storage of beer. *J. Inst. Brew.* 89:411-415.
- Basarova, G., Savel, J., Janousek, J., and Cizkova, H. (1999). Veränderungen des Aminosäuregehaltes während der natürlichen Alterung des Bieres. *Monatsschr. Brau.* 52:112-118.
- Bohmann, J. J. (1985). Determination of the aging behavior of beer. 2. The behavior of some volatile compounds under heat-treatment. *Monatsschr. Brau.* 38:79-85.
- Bower, J. A., Saadat, M. A., and Whitten, C. (2003). Affect of liking, information and consumer characteristics on purchase intention and willingness to pay more for a fat spread with a proven health benefit. *Food Qual. Prefer.* 14:65-74.
- Brand, J. (1898). Über das Vorkommen von Furfurol im Malze, in der Würze und im Biere. *Z. Gesamte Brauwes.* 21:255-258.
- Buettner, A., and Schieberle, P. (1999). Characterization of the most odor-active volatiles in fresh hand-squeezed juice of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfayden). *J. Agric. Food Chem.* 47:5189-5193.
- Chapman, G. W., Horvat, R. J., and Forbus, W. R. (1991). Physical and chemical changes during the maturation of peaches (cv. Majestic). *J. Agric. Food Chem.* 39:867-870.
- Chevance, F., Guyot-Declerck, C., Dupont, J., and Collin, S. (2002). Investigation of the  $\beta$ -damascenone level in fresh and aged commercial beers. *J. Agric. Food Chem.* 50:3818-3821.
- Clapperton, J. F. (1976). Ribes flavor in beer. *J. Inst. Brew.* 82:175-176.
- Cremer, D. R., and Eichner, K. (2000). The reaction kinetics for the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders. *Food Chem.* 71:37-43.
- Cullere, L., Cacho, J., and Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *J. Agric. Food Chem.* 55:876-881.
- De Schutter, D. P., De Meester, M., Saison, D., Delvaux, F., Derdelinckx, G., Rock, J. M., Neven, H., and Delvaux, F. R. (2008). Characterization and quantification of thermal load during wort boiling. *Brew. Sci. (Monatsschr. Brau.)* 61:121-134.
- De Schutter, D. P., Saison, D., Delvaux, F., Derdelinckx, G., Rock, J. M., Neven, H., and Delvaux, F. R. (2008). Release and evaporation of volatiles during boiling of unhopped wort. *J. Agric. Food Chem.* 56:5172-5180.
- Eckert, M., and Riker, P. (2007). Overcoming challenges in functional beverages. *Food Technol.* 61:20-26.
- Eichhorn, P. (1991). Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Ph.D. dissertation. TU München, München, Germany.
- Els, S., Preston, C., Hertzog, C., Heckel, F., Richling, E., and Schreier, P. (2005). Aroma profiles of pineapple fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and pineapple products. *LWT Food Sci. Technol.* 38:263-274.
- European Brewery Convention. (1998). *Analytica-EBC*. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.
- Gastl, M., Spieleder, E., Herrmann, M., Thiele, F., Burberg, F., Kogin, A., Ikeda, H., Back, W., and Narziss, L. (2006). The influence of malt quality and malting technology on the flavour stability of beer. *Monatsschr. Brau.* 59:164-175.
- Gijs, L., Chevance, F., Jerkovic, V., and Collin, S. (2002). How low pH can intensify  $\beta$ -damascenone and dimethyl trisulfide production through beer aging. *J. Agric. Food Chem.* 50:5612-5616.
- Grigsby, J., Palamand, S., Davis, D., and Hardwick, W. (1972). Studies on the reactions involved in the oxidation of beer. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* 30:87-92.
- Gruenewald, J. (2009). Novel botanical ingredients for beverages. *Clin. Dermatol.* 27:210-216.
- Guyot-Declerck, C., Francois, N., Ritter, C., Govaerts, B., and Collin, S. (2005). Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties: A sensory analysis based on AEDA data. *Food Qual. Prefer.* 16:157-162.
- Hanke, S., Zarnkow, M., Kreisz, S., and Back, W. (2005). The use of oats in brewing. *Monatsschr. Brau.* 58:11-17.
- Harayama, K., Hayase, F., and Kato, H. (1994). Evaluation by a multivariate-analysis of the stale flavor formed while storing beer. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58:1595-1598.
- Harayama, K., Hayase, F., and Kato, H. (1995). Contribution to stale flavor of 2-furfuryl ethyl ether and its formation mechanism in beer. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59:1144-1146.
- Hidalgo, F. J., and Zamora, R. (2004). Strecker-type degradation produced by the lipid oxidation products 4,5-epoxy-2-alkenals. *J. Agric. Food Chem.* 52:7126-7131.
- Igual, M., García-Martínez, E., Camacho, M., and Martínez-Navarrete, N. (2009). Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chem.* 118:291-299.
- Isoe, S., Katsumur, S., and Sakan, T. (1973). Synthesis of damascenone and  $\beta$ -damascenone and possible mechanism of their formation from carotenoids. *Helv. Chim. Acta* 56:1514-1516.
- Israel, D. W., Giddens, J. E., and Powell, W. W. (1973). Toxicity of peach tree roots. *Plant Soil* 39:103-112.
- Izzo, H. V., and Ho, C. T. (1993). Effect of residual amide content on aroma generation and browning in heated gluten glucose model systems. *J. Agric. Food Chem.* 41:2364-2367.
- Kaneda, H., Kobayashi, N., Takashio, M., Tamaki, T., and Shinotsuka, K. (1999). Beer staling mechanism. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 36:41-47.
- Kaneda, H., Takashio, M., Tomaki, T., and Osawa, T. (1997). Influence of pH on flavour staling during beer storage. *J. Inst. Brew.* 103:21-23.
- Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kagami, N., and Kawatsura, K. (2005). Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 53:4701-4707.
- Lermusieau, G., Noel, S., Liegeois, C., and Collin, S. (1999). Nonoxidative mechanism for development of *trans*-2-nonenal in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 57:29-33.
- Lin, J. M., and Rouseff, R. L. (2001). Characterization of aroma-impact compounds in cold-pressed grapefruit oil using time-intensity GC-olfactometry and GC-MS. *Flavour Fragr. J.* 16:457-463.
- Lintner, C. (1910). Über das Verschwinden des Furfurols bei der Alkoholgärung. *Z. Gesamte Brauwes.* 33:361-363.
- Lintner, C., and Liebig, H. (1911). Über die Reduktion des Furfurols durch Hefe bei der alkoholischen Gärung. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 72:449-454.
- Lustig, S. (1994). Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. Ph.D. dissertation. TU München, München, Germany.
- MEBAK. (2002). *Brautechnische Analysemethoden Band II*, 4th ed. Selbstverlag der Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, Freising-Weihenstephan, Germany.
- MEBAK. (2002). *Brautechnische Analysemethoden Band IV*. Selbstverlag der Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, Freising-Weihenstephan, Germany.
- Meilgaard, M. (1972). Stale flavour carbonyls in brewing. *Brew. Dig.* 47:48-57.
- Meilgaard, M. (1975). Flavor chemistry of beer. Part II: Flavor threshold of 239 aroma volatiles. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 12:151-168.
- Meilgaard, M., Ayma, M., and Ruano, J. (1971). A study of carbonyl compounds in beer. IV. Carbonyl compounds identified in heat-treated

- wort and beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 31:219-229.
48. Narziss, L. (1986). Technological factors of flavor stability. *J. Inst. Brew.* 92:346-353.
  49. Narziss, L., Back, W., Miedaner, H., and Lustig, S. (1999). Untersuchungen zur Beeinflussung der Geschmacksstabilität durch Variation technologischer Parameter bei der Bierherstellung. *Monatsschr. Brau.* 52:192-206.
  50. Ogane, O., Imai, T., Ogawa, Y., and Ohkochi, M. (2006). Influence of wort boiling and wort clarification conditions on aging-relevant carbonyl compounds in beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 43:121-126.
  51. Ohloff, G., and Firmenich, S. (1978). Importance of minor components in flavors and fragrances. *Perfum. Flavor.* 3:11-22.
  52. Piendl, A. (1969). Brewing technology and molecular biology. *Brauwissenschaft* 22:175-186.
  53. Pohjanheimo, T., and Sandell, M. (2009). Headspace volatiles contributing to flavour and consumer liking of wellness beverages. *Food Chem.* 115:843-851.
  54. Qian, M., and Reineccius, G. (2003). Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. *Flavour Fragr. J.* 18:252-259.
  55. Saison, D., De Schutter, D. P., Uyttenhove, B., Delvaux, F., and Delvaux, F. R. (2009). Contribution of staling compounds to the aged flavour of lager beer by studying their flavour thresholds. *Food Chem.* 114:1206-1215.
  56. Sega, G., Lewis, M., and Woskow, M. (1967). Evaluation of beer flavor compounds. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* 25:156-164.
  57. Shimizu, C., Nakamura, Y., Miyai, K., Araki, S., Takashio, M., and Shinotsuka, K. (2001). Factors affecting 5-hydroxymethyl furfural formation and stale flavor formation in beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 59: 51-58.
  58. Stein, L. J., Nagai, H., Nakagawa, M., and Beauchamp, G. K. (2003). Effects of repeated exposure and health-related information on hedonic evaluation and acceptance of a bitter beverage. *Appetite* 40:119-129.
  59. Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., and Derdelinckx, G. (2006). The chemistry of beer aging—A critical review. *Food Chem.* 95:357-381.
  60. Vanderhaegen, B., Neven, H., Verstrepen, K. J., Delvaux, F. R., Verachtert, H., and Derdelinckx, G. (2004). Influence of the brewing process on furfuryl ethyl ether formation during beer aging. *J. Agric. Food Chem.* 52:6755-6764.
  61. Walters, M. T., Heasman, A. P., and Hughes, P. S. (1997). Comparison of (+)-catechin and ferulic acid as natural antioxidants and their impact on beer flavor stability. 2. Extended storage trials. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 55:91-98.
  62. Wiemers, T., and Carius, D. (2009). Wie Schwangere und junge Mütter ihren Bierkonsum ersetzen. *Brauwelt* 149:348-349.
  63. Yamashita, H., Kühbeck, F., Hohrein, A., Herrmann, M., Back, W., and Krottenthaler, M. (2006). Fractionated boiling technology: Wort boiling of different lauter fractions. *Monatsschr. Brau.* 59:130-147.

**8.8 The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Triticale (xTriticosecale Wittmack) as a Raw Material for Alternate Fermented Beverages**

Zarnkow, M., Schulze, B., Back, W., Arendt, E., Kreis, S., Krahl, M. and Gastl, M., The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Triticale (xTriticosecale Wittmack) as a Raw Material for Alternate Fermented Beverage. *BrewingScience*, 2009, **62(2)**, 54-66.

M. Zarnkow, B. Schultze, F. Burberg, W. Back, E. K. Arendt, S. Kreis, M. Krahl and M. Gastl

# Triticale Malt (*xTriticosecale* Wittmack) a Raw Material for Brewing – Using Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions

Response surface methodology was used to investigate the influence of three malting parameters, degree of steeping, germination time and temperature, on the quality of triticale malt. Each predictor variable was tested at three levels. Germination times were set to 5, 6, and 7 d, degrees of steeping to 42, 45, and 48 %, and germination temperatures were 15, 18 and 21 °C. The initial kilning temperature for all malts was set to 50 °C and gradually increased to 80 °C. A series of malt quality attributes were investigated including extract, viscosity, arabinoxylan, apparent attenuation limit,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase activity, limit dextrinase activity,  $\alpha$ -amino nitrogen (FAN), Kolbach index, soluble N and dimethyl sulfide precursor (DMS-P). The optimum malting programme was determined with 5 d germination time, 45 % degree of steeping, 15 °C steeping and germination temperature. The amylolytic and proteolytic activity obtained, were 84.8 % extract, 78.3 % AAL, 264 U/kg limit dextrinase activity, 1055 U/g  $\beta$ -amylase activity, 254 U/g  $\alpha$ -amylase activity, 155 mg/L FAN, 1.7 mg/kg dimethyl sulfide precursor (DMS-P) and 2.305 mPa  $\times$  s viscosity.

Descriptors: triticale, malt, response surface methodology, alternative cereal

## 1 Introduction

In view of qualitative and quantitative unsatisfactory barley crops (e.g. 2006) and high raw material prices, alternatives to the traditionally used barley are investigated. Triticale can be considered as an alternative crop, furthermore due to its cereal qualities, it could be used as raw material for new types of beverages.

Triticale (*xTriticosecale* Wittmack) is the first man-made cereal. In 1875 the Scottish botanist Wilson [1] described infertile crosses between wheat and rye from which an intergeneric hybrid was obtained. The history of cultivation of triticale started in 1888 when Rimpau [2], a German breeder, found a fertile descendant. From this point on three phases of breeding are distinguishable. The first experimental cross-breeding phase took place between 1875 and late 1920s. It was followed by a short transition period (1930s to 1947) in which cytological characterisation was deter-

mined. Both phases led to systematic cross-breeding, which has been continued until today.

The decisive breakthrough in triticale breeding was reached by Givaudon in 1937. He took colchicin, an alkaloid from the meadow saffron, to double the chromosome number and by doing so, he enabled its fertility. The name triticale (*Triticosecale*) was formed in 1935 by Tschermak. It combines *Triticum aestivum* respectively *durum* with *Secale cereale* [3].

Today's triticale crossings use rye and wheat as male and female parents, respectively. The opposite was also attempted (called *secalotriticum*) but did not produce the desired results. Some of the reasons were: high infertility caused by slow growing of the pollen tube and very strong straw development. Today *secalotriticum* has completely lost importance.

On the other hand there are many variations of hexaploid ( $2n = 6x = 42$  chromosomes) and octoploid ( $2n = 8x = 56$ ) triticale by crossings of the tetraploid *Triticum dicoccum* ( $2n = 4x = 28$ ) with rye ( $2n = 2x = 14$ ) respectively crossings with the hexaploid *Triticum spelta* ( $2n = 6x = 42$ ). Additionally, there is differentiated primary and secondary triticale, special re-crossings called substitution- as well as recombination triticale [4, 5, 6]. Generally hexaploid varieties are used because of better seed quality and higher yields. Agronomically triticale combines the insensitivity of rye with the high productivity of wheat. The grain's weight, colour and size are almost similar to those of wheat, however the spelt is more shrivel and the straw length varies between 30 and 150 cm.

Triticale Amarillo was the first approved variety in Mexico [7] and Hungary 1968 [8]. It was almost 20 years later that the hybrid was introduced to Germany. By 1999, there were over 150 approved

### Authors:

Martin Zarnkow<sup>1,2,3</sup>, Benjamin Schultze<sup>1</sup>, Felix Burberg<sup>1,5</sup>, Werner Back<sup>1</sup>, Elke K. Arendt<sup>2</sup>, Stefan Kreis<sup>1,4</sup>, Moritz Krahl<sup>1</sup>, Martina Gastl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie (former Lehrstuhl Technologie der Brauerei I, Technische Universität München Weihenstephan, Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising, Germany

<sup>2</sup>Department of Food and Nutritional Sciences, National University of Ireland, University College Cork, College Road, Cork, Ireland

<sup>3</sup>Corresponding author: Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie (former Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I), Technische Universität München Weihenstephan, Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising, Germany, Martin.Zarnkow@wzw.tum.de, phone number: +49 8161 713263, fax number: +49 8161 713263

<sup>4</sup>Novozymes A/S, Kroghshøjvej 36, Bagsværd, 2880, Denmark, phone: +45 44460734, skrz@novozymes.com

<sup>5</sup>Krones AG, Werk Steinecker, Raiffeisenstr. 30, 85356 Freising, Germany

Tables and figures see Appendix



varieties worldwide [8]. In 2005, approximately 2.7 million tons were cultivated in Germany, in 0.5 million hectare. The yearly worldwide production encloses about 13.5 million tons.

Triticale is commonly used for animal feed, bio ethanol and, to a lesser extent, for baking purposes. Its feed high quality is based on the favourable amino acid composition. Triticale is permitted in Germany for brewing, where the purity law is adhered to, but only for top fermenting beers.

With only few exceptions, the chemical composition of triticale is similar to wheat concerning starch ingredients and physical characteristics, protein, raw fibre, ash [9]. Compared to wheat the higher content of free sugars and pre-existent low molecular proteins results from similar enzyme composition as rye. Triticale on its own is rich in enzymes [10]. The gelatinization temperatures of unmalted as well as malted triticale are recorded a bit lower than its parents [11]. The lipid content of triticale is similar to the one of rye, however, mineral and trace elements seem to be higher than both, wheat and rye, especially Ca, Cu, Fe, P, Na, Mn and the Zn [9]. Vitamins do not significantly differ from either parent [12]. In most aspects there are enormous differences among the varieties [13].

The pentosans (here = arabinoxylans) are of high importance in triticale. Physiologically the non-starch-polysaccharides (nsp) are described as roughage, or dietary fiber, which is known to stimulate peristaltic activity, support the intestinal flora and has advantages for the removal of toxic substances from the colon. The linked ferulic acid (app. 0.2 %) has antiradical effects and shows favourable bioavailability for humans. Pentosans tend to oxidative crosslinking via ferulic acid branches. These pentosans and polymerisation products combined with synergetic effects and proteins cause the high viscosity of triticale wort and beer. The total amount of arabinoxylans lies around 7.6 % (1.8 % water soluble) [14]. Rye showed in these analyses 12.2 % total pentosans (3.9 % water soluble) and wheat 6.6 % (2.16 % water soluble).

## 2 Experimental

### *Unmalted triticale*

Triticale variety Modus with 12.7 % moisture was used in the malting trials. The triticale samples were obtained from Saaten-Union (Nordsaat Saatzucht GmbH, Böhnshausen), grown and harvested in Germany in 2006. According to breeder's information the total N lies slightly below average.

### 2.1 Malting Procedure

Malting was carried out in 1 kg batches, 24 malts were produced simultaneously varying the malting conditions (Fig. 1). The steeping water was equilibrated by placing it 24 h prior to steeping into the temperature controlled compartments. Steeping was done for 5 hours during the first day and 4 hours during the second. In certain cases, final moisture (42, 45 or 48 % degree of steeping) was reached on the third day by additional steeping. Steeping and germination (vegetation time: 5, 6, and 7 d) were done at

three different temperatures, which were kept constant (15, 18 and 21 °C) in temperature controlled chambers with 95 % RH. Kilning was done at 50 °C for 16 hours followed by an hour rest at 60 °C, one hour at 70 °C and finally four hour rest at 80 °C. After kilning, rootlets were removed and the malt was allowed to rest for 7 days before mashing.

### 2.2 Analytical Procedures

Analytical procedures were carried out in duplicate (n = 2). All concentrations are based on dry weight unless otherwise mentioned. Other than amyolytic activities which were determined using commercial analysing kits from Megazyme, Bray, Ireland. All analyses were carried out according to the standard methods of the European Brewing Convention (EBC) [15], Mitteleuropäische Brau- und Analysenkommission (MEBAK) [16, 17] and American Society of Brewing Chemists (ASBC) [18] using a congress mash programme with 100 % triticale.

#### *Extract*

The malt extract was determined by using an Anton Paar Alcolyzer (Anton Paar, Graz, Austria) following MEBAK method 3.1.4.2.2 [17].

#### *Apparent Attenuation Limit*

Apparent attenuation limit (AAL) was determined following MEBAK method 4.1.4.10 [19].

#### *Gelatinisation Temperature*

Gelatinisation temperature (GT) was measured with a rapid visco analyser RVA Super 4 (Newport Scientific, Warriewood, Australia) as reported elsewhere [20] and the MEBAK method 2.7 [17]. The weigh-in was 7.5 g malt and 15 g dist. H<sub>2</sub>O.

#### *α-Amylase Activity*

ICC standard method 303 [21] by means of a Megazyme enzyme kit (Megazyme, Wicklow, Ireland) was used to measure the level of α-amylase activity. Deviating from the ICC-method, the weigh-in was 1 g instead.

#### *β-Amylase Activity*

β-amylase activity was determined using the Megazyme kit (Megazyme, Wicklow, Ireland) [22, 23].

#### *Limit Dextrinase Activity*

Limit dextrinase activity was determined using the Megazyme kit (LDZ 7/98).

#### *α-Amino-Nitrogen (FAN)*

α-Amino-nitrogen determination was based on MEBAK method 3.1.4.5.5.1 [17] using a Skalar working station (Skalar, Breda, Netherlands).

### *Kolbach index (ratio S/T)*

The effects of malting conditions on proteolytic activities in triticale was determined using the Kolbach index, which was calculated from the formula, (% soluble protein/% malt protein) × 100, by following MEBAK method 4.1.4.5.3 [24].

### *Dimethyl Sulfide Precursor (DMS-P)*

DMS-P determination was based on MEBAK method, 3.1.4.17 [17].

### *Viscosity*

Wort viscosity was measured using a rolling ball viscosimeter AMVn-Automated Micro Viscometer (Anton Paar, Graz, Austria) at 20 °C according to MEBAK method 4.1.4.4.1 [25].

### *Total (AX) and Water-Extractable (WEAX) Arabinoxylan*

The analyses of AX and WEAX have been carried out similar to the method presented by *Houben et al.* [26], with slight modifications. Due to a better separation of the monosaccharides glucose and xylose by the CarboPack 10 column, the treatment with glucose-oxidase was not necessary in the modified method.

For the determination of the total AX content the samples were milled with a laboratory hammer mill (Laboratory Mill 3100, Danfoss). Then 0.1 g of the sample was dissolved in 4.0 mL of distilled water and 4.0 mL of 4 M HCl and hydrolysed for 60 minutes in boiling water in a normal laboratory screw-cap test tube. The samples were cooled to room temperature and 4.0 mL of 4.0 M NaOH were added to neutralise the samples. Subsequently the concentration of monosaccharides was measured by HPAEC/PAD.

The amount of water-extractable arabinoxylan was determined by adding 1.5 mL of water to 0.1 g of milled sample. After stirring for approximately 60 minutes at 65 °C and subsequently centrifuging, 1.0 mL of the supernatant was removed, hydrolysed and neutralised as described above [27].

Prior to analysis by HPAEC/PAD the chloride ions were removed using OnGuard II Ag cartridges from Dionex. The contents of AX and WEAX were calculated as the sum of the pentose sugars, arabinose and xylose, multiplied by 0.88 to correct for anhydro monosaccharides [26]. The coefficient of variation was less than 2 %.

## 2.1 Experimental Procedure

A response surface methodology study as described by *Montgomery* [28] was conducted to determine the relative contributions of three predictor variables (degree of steeping, germination time and temperature) on the quality of triticale malt. Using the software package StatEase (Stat-Ease Corporation, Minneapolis, USA), a face-centred cube with double replicated factorial and center point was constructed (Fig. 1). This design was chosen because the region of interest and the region of operability are nearly the same. The power at 5 % alpha level for effect of double standard

deviation for this design is clearly above 80 %. Maximum and minimum predictor levels were defined by carrying out preliminary malting tests. Three levels for each predictor were incorporated into the design.

Response variables measuring malt quality attributes were extract, AAL, gelatinisation temperature,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase activity, limit dextrinase activity, FAN, soluble N, Kolbach index, DMS-P, viscosity and AX and WEAX. After analysing the characteristic ratios, the calculated statistic models were analysed and evaluated with the help of different indices. The most important statistic indices are: (a)  $R^2$  values quantifying the stability index of the regression model, (b) p-values which show the significance, (c) F-values describe the influences on the model, as well as (d) lack of fit, which describes the scatter of the data around the formed model. Afterwards the optimum malting parameters were calculated.

## 3 Results and Discussion

The impact, on the malt quality, of different moisture contents (42, 45, 48 %), germination temperatures (15, 18, 21 °C) and germination times (5, 6, 7 d) were evaluated. The responses measured were extract, attenuation limit, gelatinisation temperature,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase activity, limit dextrinase activity,  $\alpha$ -amino nitrogen (FAN), Kolbach index, soluble N and dimethyl sulfide precursor (DMS-P), viscosity and arabinoxylans.

In Table 1 the measured as well as the calculated minimum and maximum values of the study are listed. The measured and calculated values show good correlation. Triticale, like rye, has the ability to absorb water quickly contrary to wheat which absorbs water slowly due to its protein composition and probably also because of the lower enzyme levels.

### 3.1 Amylolytic Attributes

#### *Extract*

A potential extract of more than 80 % is normal for barley malt used for brewing purposes. The extract values for triticale, determined using the congress mashing system, ranged at high levels between 84.6 and 86.7 % dm. The extract yield was high for all vegetation conditions, however in average, the highest extract values were obtained from 15 °C malt (Fig. 2). Higher temperatures led to more intensive root and leaf growth, and consequently lower extract levels. Within the individual temperature groups only slight differences could be detected. Highest extract values are linked to maximum moisture and minimum vegetation time (enhanced proteolysis) and diametrical opposite at minimum moisture and maximum time (enhanced cytolysis with low malting loss). Other conditions reduced the extract because of under-modification or malting loss. In general the vegetation time factor has had slightly more influence on extract yield than grain moisture.

#### *Attenuation limit*

In contrast to favourable high extract yield, unsatisfying final attenuation as well as viscosity are the predominant problems in

triticale. In previous research, attenuation limit values were of 74.3 % in 1988–91 crops [29] and 75.9 % for the 2002 crop [30]. The values normally obtained for barley malts range between 81 and 86 %. In the Modus variety surprisingly high values of 75.8 up to 78.0 % were measured. Low attenuation grades give rise to fatty tasting beers with bad drinkability and corresponding microbiological risk.

The attenuation limit shows vaulted tunnel forms in all three temperature grades (Fig. 3). The comb is placed along the 45%-moisture-line. Lowest attenuation limits are found in, both, under- and over-modified malt. In general, maximum values are found at 15 °C, minimum at 18 °C.

Protein solubilisation is correlated to attenuation grades. *Sacher* reported that in wheat varieties, which tend to a strong proteolysis, lower attenuation limits were found [31]. Further on no obvious correlation to amylolytic enzymes (esp.  $\beta$ -amylase) could be detected.

#### *Gelatinisation Temperature*

The range of malting parameters was not wide enough to have an impact on the gelatinisation temperature (65.3 °C for the optimal malt). Parallel studies with other cereals showed that the gelatinisation temperature may probably be influenced by the malting time rather than the malting temperature. One example would be black rice, where the germination time was 12 days [32].

#### *$\alpha$ -Amylase Activity*

$\alpha$ -Amylase activity is an important attribute, when malting quality of a cereal is considered. The enzymatic activity normally measured in barley ranges from 200–250 U/kg. The activity in triticale malt reached 162–332 U/kg (38–77 ASBC). The broad value range suggests high sensitivity towards varying malting parameters.

The impact of the varying malting parameters is shown in figure 4. The highest average  $\alpha$ -amylase activity is reached at 15 °C and the lowest at 21 °C. At lower temperatures increasing enzyme induction occurs in barley, to make sugar available for the growth of the embryo.

Generally the lowest  $\alpha$ -amylase activity level is obtained in under-modified malt (5 d with 42 %), and highest for over-modified malt (7 d with 48 %). At lower temperatures, the influence of vegetation time increases whereas the impact of the moisture content decreases.

#### *$\beta$ -Amylase Activity*

$\beta$ -Amylase is an exo-enzyme that acts on the non-reducing end of amylase and high-molecular weight dextrans releasing maltose unit [33]. This enzyme plays an important role during the brewing process since it is the enzyme which releases the fermentable carbohydrates. Triticale is well known for high enzyme levels, particularly  $\beta$ -amylase, which makes it suitable for industrial ethanol production. The determined activity levels of malted triticale are in the range of 917–1231 U/g (372–480 °WK). This

is well known and compared to barley and wheat a high  $\beta$ -amylase activity [34, 35].

The impact of temperature and degree of steeping on the  $\beta$ -amylase activity is depicted in figure 5. At all temperatures, the graph shows the lowest values along the 45%-moisture-line. With higher or lower moisture contents  $\beta$ -amylase activity increased rapidly. The origin is similar to the Kolbach index and soluble N one as shown below. In barley similar results have been observed, it would appear that the linked  $\beta$ -amylase form is cleaved from protein Z [36, 37]. The temperature sensitivity of  $\beta$ -amylase seems to be high with a maximum activity at steeping and germination temperatures of 18 °C and a minimum at 21 °C. The tendencies observed for  $\beta$ -amylase seem to be related to the proteolytic activity. A reason could be that the latent (bound)  $\beta$ -amylase can be liberated, or converted, into free soluble  $\beta$ -amylase by limited proteolysis (38).

#### *Limit Dextrinase Activity*

The limit dextrinase is a debranching enzyme, which splits the  $\alpha$ -1,6-glycoside linkages of amylopectin. It is another important enzyme for starch degradation in mashes [39]. In raw triticale a limit dextrinase activity was measured in the range of 76 to 217 U/kg. The limit dextrinase activity reported in barley is of 400 U/kg [40]. Depending on the malting conditions, the limit dextrinase content can tripled. Basically higher germination temperatures led to lowered average values (Fig. 6). For all malts germinated during a 5 day period (15, 18 and 21 °C with 42 %) the lowest concentrations were recorded. As expected, the longer the germination time the higher the limit dextrinase content. Grain moisture and time contribute equally to the increasing values.

The similarity between the limit dextrinase and  $\alpha$ -amylase graphs suggest that limit dextrinase in triticale behaves different from the one in barley. *Kessler* states that in barley the enzyme is activated by proteolysis like  $\beta$ -amylase [41]. This is due to the fact that limit dextrinase appears in barley malt in both freely soluble and bound forms [39]. The same holds for wheat where the bound limit dextrinase is attached to insoluble proteins via disulphide linkages [42]. From the obtained data, limit dextrinase shows no obvious correlation to soluble N or Kolbach index.

### **3.2 Proteolytic Properties**

#### *FAN*

The FAN content in malted triticale has been recorded to be in the range of 103 and 206 mg/100mL as shown in figure 7. Low molecular nitrogen compounds play a central role in the colour and flavour development of malt following the *Strecker* reaction. The FAN content influences the yeast growth as well as the fermentation process and the formation of fermentation by-products. Thus, the amino acid concentration and composition are important factors to obtain a desirable flavour profile in beer. Particular attention should be paid during kilning and wort boiling.

The temperature response seems to be distinct, e.g. lowering the vegetation temperature from 18 to 15 °C induces maximum

FAN content. The higher the temperature the lower the achieved FAN level, because higher temperatures enable faster metabolic nutrient consumption for metabolism. The lowest contents were found for all temperatures at five days germination time trial. The highest values were obtained with long germinated malt. In general, an increase in moisture content had higher impact on the FAN content than time did.

#### *Soluble N and Kolbach index*

Soluble nitrogen and Kolbach index followed similar trends; the data are shown in figure 8. Both range at high levels between 930–1204 mg/100 g dm (soluble N) and 43.4–59.7 % (Kolbach index). In triticale the proteolytic activity is higher than the values reported for barley [33]. The nitrogen content determines foam, taste, haze and microbiological stability of beer. An all over difference of higher than 250 mg/100 g dm soluble N depicts a good malting influence within the chosen malting parameters as reported before [43, 44].

Similar to  $\beta$ -amylase the soluble N and Kolbach index graphs show lowest values along the 45 %-moisture-line for all temperatures. The highest levels were obtained with 18 °C and the lowest with 15 °C. Extreme moisture and vegetation times generally led to unfavourably high amounts. After 6 to 6.5 days the maximum values for both attributes were reached. This trend could be explained by complex proteolysis degradation of albumine, globuline, prolamine and gluteline in the endosperm and the growth of the germ, as a result of multiple modifications of these four fractions [45]. In barley the quantities and relative amounts of the solubility fractions change substantially during malting. Nitrogenous substances are lost by leaching during steeping, but there are no gains or appreciable losses from the whole grain during the other stages [39].

#### *DMS-P*

The DMS-precursor (DMS-P) or S-methylmethionine (SMM) is an amino acid, which occurs in malt. It is considered to be one of the most important characteristics for malt quality. In the Modus variety, the obtained values were between 0.4 and 1.7 ppm suggesting that DMS-P is not a problem in triticale malt brewing (normal specification < 7 ppm). Compared to wheat the SMM amount was 25 to 30 % less. A considerable proportion of SMM, which is located in rootlets and leaflet is removed during cleaning of the malt. [33]

### 3.3 Cytolytic Attributes

#### *Viscosity*

A remarkable feature of triticale is its high wort and beer viscosity. For 8.6 % wort, levels between 2.134 and 2.472 mPa  $\times$  s were found. At all temperatures, similar graphs were obtained. With higher temperatures, the average viscosity levels tend to increase (Fig. 9). As described earlier, minimum viscosity was obtained in the 5 day malt (42 % moisture) and maximum for longer malting periods. However moisture content rather than time is the determining factor, since higher wort viscosity was obtained from the 5

day germinated malt at 48 % rather than from the 7 day germinated malt with 42 % moisture.

Normally, increasing modification supports the degradation of viscous substances into short chained  $\beta$ -glucan dextrans. For instance,  $\beta$ -glucans in barley are solubilised by  $\beta$ -glucanase from the endosperm and degraded by endo- $\beta$ -1,3- and 1,4-glucanases into insignificant molecular weights < 10 kDa. For this publication  $\beta$ -glucan was not measured because of the reported low content [34]. Also, in barley, increasing moisture content, prolonged vegetation time and temperatures between 13 and 15 °C support this degradation. This process leads to over-modified malts, which result in a very low viscosity. Moreover, vegetation time normally has greater influence on cytolysis than moisture. However, as explained above, triticale was found to differ from barley in both cases. Wheat behaves in the same way like triticale where over-modification with increasing temperatures from 14 to 20 °C, high moisture content (much more than 42 %) and 7 days germination time do not necessarily lead to viscosities less than 1.9 mPa  $\times$  s [46].

#### *Total Arabinoxylan (AX) and Water-Extractable Arabinoxylan (WEAX)*

Another possibility for viscous substances in cereal based worts is arabinoxylan. There was only a slight difference between the samples in total arabinoxylan. Content values between 4.60 and 5.52 g/100 g dm were measured. Different water-extractable arabinoxylans were found (1.47–2.12 g/100 g dm.). However for AX and WEAX no correlation could be established between the malting parameters and the resulting wort viscosity. Preceding authors referred no correlation between viscosity and pentosan contents (absolute or water soluble), pentosanase activity, protein content or oxygen pick-up with tenable significance. They ascertained that arabinoxylans from different cereals have different gelling potentials, rye and barley extracts gave stronger gels than AX from wheat and triticale [47, 48].

## 4 Conclusion

In this study response surface methodology was used to investigate the influence of three malting parameters on the quality of triticale malt. For each variable, three different values were assigned. The chosen parameters and their values were steeping degree (42, 45 and 48 %), vegetation temperature (15, 18 and 21 °C) and vegetation time (5, 6 and 7 days). In order to study the impact of these variables on triticale malt quality, the best applicable model was determined and applied to all samples. The measured quality attributes were extract, apparent attenuation limit, gelatinisation temperature,  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase activity, limit dextrinase activity, Kolbach index,  $\alpha$ -amino-nitrogen, DMS-P, viscosity and arabinoxylan. Based on the results of these studies, it was concluded that the optimal malt is achieved after the 5<sup>th</sup> germination day with moisture content of 45 % and a set temperature of 15 °C for steeping and germination. The predicted values for the quality attributes (Table 3) were 84.9 % extract, 78.3 % AAL, 254 U/g  $\alpha$ -amylase activity, 1055 U/g  $\beta$ -amylase activity, 264 U/kg limit dextrinase activity, 45.8 % Kolbach



index, 155 mg/100 mL FAN, 1.7 µg/L DMS-P and 2.305 mPa × s viscosity. The measured values slightly differ from the calculated ones. The obtained attribute values were 83.2 % extract, 78.8 % AAL, 276 U/g α-amylase activity, 1024 U/g β-amylase activity, 293 U/kg limit dextrinase activity, 46.0 % Kolbach index, 155 mg/100 mL FAN, 3.3 µg/L DMS-P and 2.575 mPa × s viscosity. Both results correlate well.

Extract yields were found at predominantly high levels. The extract includes not only starch but also soluble proteins and non-starch-polysaccharides, e.g. pentosans. This soluble but unfermentable “extract” could be responsible for the opposite behaviour between Kolbach index as well as soluble N and attenuation limit. The values associated with proteolytic activity are soluble N and Kolbach index. They clearly show the large range of activities depending on the enzymes regarding proteolytic characteristics during malting. In addition to the proteolytic enzymes amylolytic enzyme levels are considerably high, particularly β-amylase.

High wort viscosity is a remarkable feature of triticale worts. However, no correlation could be established between the total AX or water-extractable arabinoxylan content of the wort.

This study was able to show that triticale is a suitable raw material for the malting and brewing process. Beers brewed from triticale are described as being soft in taste as well as having good foam and palatibility. Additionally, triticale beers have a very stable turbidity similar to that recommended for Bavarian wheat beers. Lautering or filtration problems caused by proteins or pentosans could be compensated by using exogenous enzymes or using lower grist load ratio.

## 5 Acknowledgment

The authors would like to thank Cynthia Almaguer, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, TU München, for useful comments and assistance in proofreading the manuscript.

## 6 Literature

1. Wilson, A. S.: “On wheat and rye hybrids”, *Trans. Proc. Bot. Sci.* pp. 186-288, 1876.
2. Röbbelen, G.; Bothe, R. and Kazman, M. E.: „Triticale – Eine neue allopolyploide Spezies, oder was 100 Jahre züchterischer Entwicklung gegenüber Jahrtausenden natürlicher Auslese erreichen konnten“ *Pflanzenzüchtung* 1996, pp. 1-6.
3. Lindschau, M. and Oehler, E.: „Untersuchungen am konstant intermediären additiven Rimpau'schen Weizen-Roggen-Bastard“, *Züchter* no. 7, pp. 228-233, 1935.
4. Geisler, G.: *Pflanzenbau, Ein Lehrbuch, Biologische Grundlagen und Technik der Pflanzenproduktion, Triticale (Weizen-Roggen-Bastarde)*, 1988.
5. H., D.: „Triticale – Vor allem für Futterbetriebe geeignet“, *Land- und Forstwirtschaftl. Zeitg.* **142**, no. 36, pp. 18-20, 1989.
6. Honermeier, B.: „Triticale-Anbau zukünftig aus Hybridsorten?“ *Getreide Magazin* no. 4, pp. 230-235, 2000.
7. Malter, R.: „Untersuchung der brautechnischen Einsatzmöglichkeiten von Triticale.“ *Dissertation, Technische Hochschule Köthen*, 1992.
8. Rath, F.; Annemüller, G.; Creydt, G. and Schildbach, R.: „Triticale und Triticale-Malze“, *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **52**, no. 7/8, pp. 123-130, 1999.
9. Souci, S. W.; Fachmann, W. and Kraut, H.: *Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen*, 2000.
10. Glatthar, J.: „The applications of unmalted triticale in Brewing“, *Fakultät für Brau- und Lebensmitteltechnologie, TU München*, 2003.
11. Briggs, D. E.: *Malting and Brewing.*, 1998.
12. Michela, P. and Lorenz, K.: „The vitamins of triticale, wheat, and rye“, *Cereal Chem.* **53**, no. 6, pp. 853-861, 1976.
13. Schulze, B.: “Die Verwendung von Triticale (*xTriticosecale* Wittmack) für die Malz- und Bierbereitung“, *Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, TU München*, 2008.
14. Saini, H. S. and Henry, R. J.: „Fractionation and evaluation of triticale pentosans: Comparison with wheat and rye“, *Cereal Chem.* **66** no. 1, pp. 11-14, 1989.
15. Eerde, P. v.: *Analytica-EBC*, 1998.
16. Miedaner, H.: *Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. Auflage, neubearbeitet und ergänzt*, 2002.
17. Anger, H.-M.: *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK) – Band Rohstoffe Brautechnische Analysenmethoden*, 2006.
18. Thorn, J. A.: *Methods of Analysis of the American Society of Brewing Chemists*, 1992.
19. Pfenninger, H.: *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK): Brautechnische Analysenmethoden, Band I*, 1997.
20. Keßler, M.; Zarnkow, M.; Kreis, S. and Back, W.: „Gelatinisation properties of different cereals and pseudocereals“, *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, **58**, no. 9/10, pp. 82–88, 2005.
21. *ICC-Standards – Standardmethoden der Internationalen Gesellschaft für Getreidewissenschaft und -technologie* 2004.
22. McCleary, B. V. and Codd, R.: „Measurement of Beta-Amylase in Cereal Flours and Commercial Enzyme Preparations“, *Journal of Cereal Science* **9**, no. 1, pp. 17–33, 1989.

23. Santos, M. M. M. and Riis, P.: „Optimized McCleary method for measurement of total beta-amylase in barley and its applicability“, *Journal of the Institute of Brewing* **102**, no. 4, pp. 271–275, 1996.
24. Pfenninger, H.: *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK): Brautechnische Analysemethoden, Band I*, 1997.
25. Pfenninger, H.: *Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK): Brautechnische Analysemethoden, Band I*, 1997.
26. Houben, R.; de Ruijter, C. F. and Brunt, K.: „Determination of the Pentosan Content of Wheat Products by Hydrolysis, Glucose Oxidase Treatment and Analysis by HPAEC/PAD“, *Journal of Cereal Science* **26**, no. 1, pp. 37–46, 1997.
27. Krahl, M.; Hagel, C.; Zarnkow, M.; Back, W. and Kreis, S.: „Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*)“, *BrewingScience – Monatsschrift für Brauwissenschaft* **61**, no. 9/10, pp. 170-174, 2008.
28. Montgomery, D. C.: *Design and Analysis of Experiments*, 2001.
29. Back, W.: *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie*, 2005.
30. Zarnkow, M.: „Alternative Rohstoffe zur Herstellung obergäriger Biere“ 1. Rohstoffseminar – Weihenstephan 2003,
31. Sacher, B.: „Über den Einfluß von Sorte, Umwelt, agronomischen Maßnahmen und Mälzungstechnologie auf die wertbestimmenden Eigenschaften von Winterweizenmalzen“, TU München, 1997.
32. Zarnkow, M.; Arendt E. K.; Back, W.; Burberg, F.; Kessler, M. and Kreis, S.: „The influence of the gelatinisation temperature of barley malt on the mashing process“ 31st EBC Congress 2007, pp. 67-75.
33. Narziss, L.: *Die Bierbrauerei. Die Technologie der Malzbereitung*, 1999.
34. Anderson, M. A.; Cook, J. A. and Stone, B. A.: „Enzymatic Determination of 1,3-1,4-Beta-Glucans in Barley-Grain and Other Cereals“, *Journal of the Institute of Brewing* **84**, no. 4, pp. 233-239, 1978.
35. Zarnkow, M.: *Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie: Bierbereitung mit vermälzten und unvermälzten Zerealien und Pseudozerealien*, 2008.
36. Hejgaard, J.: „Origin of a dominant beer protein immunochemical identity with a  $\beta$ -amylase-associated protein from barley“, *Journal of the Institute of Brewing* **83**, no. 3/4, pp. 94-96, 1977.
37. Hejgaard, J.: „Free and “bound”  $\beta$ -amylases during malting of barley. Characterization by two-dimensional immunoelectrophoresis“, *Journal of the Institute of Brewing* **84**, no. 1/2, 43-46, 1978.
38. Grime, K. H. and Briggs, D. E.: „The release of bound  $\beta$ -amylase by macromolecules“, *Journal of the Institute of Brewing* **102**, no. 7/8, pp. 261-270, 1996.
39. Briggs, D. E.: *Malts and Malting*, 1998.
40. Zarnkow, M.; Kessler, M.; Burberg, F.; Back, W.; Arendt, E. K. and Kreis, S.: „The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) as a Raw Material for Gluten-free Foods“, *Journal of the Institute of Brewing* **113**, no. 3, pp. 280-292, 2007.
41. Keßler, M.: „Analytische Erfassung und Interpretation der Stärkegradation im Gersten- und Malzkorn und die Aussagekraft für den Brauprozess“, TU München, 2006.
42. Repellin, A.; Baga, M. and Chibbar, R. N.: „In vitro pullulanase activity of wheat (*Triticum aestivum* L.) limit-dextrinase type starch debranching enzyme is modulated by redox conditions“, *Journal of Cereal Science* **47**, no. 2, pp. 302-309, 2008.
43. Glatthar, J.; Heinisch, J. and Senn, T.: „The use of unmalted triticale in brewing and its effect on wort and beer quality“, *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **61**, no. 4, pp. 182-190, 2003.
44. Glatthar, J.; Heinisch, J. J. and Senn, T.: „Unmalted triticale cultivars as brewing adjuncts: effects of enzyme activities and composition on beer wort quality“, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85**, no. 4, pp. 647–654, 2005.
45. Narziss, L.: *Die Bierbrauerei. Die Technologie der Malzbereitung*, 1999.
46. Winter, P.: „Beitrag zum Pentosanabbau beim Vermälzen von Cerealien“, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, TU München, 1992.
47. Dervilly-Pinel, G.; Rimsten, L.; Saulnier, L.; Andersson, R. and Aman, P.: „Water-extractable Arabinoxylan from Pearled Flours of Wheat, Barley, Rye and Triticale. Evidence for the Presence of Ferulic Acid Dimers and their Involvement in Gel Formation“, *Journal of Cereal Science* **34**, pp. 207-214, 2001.
48. Burberg, F.; Hartmann, K.; Gastl, M.; Zarnkow, M.; Krahl, M. and Back, W.: „Qualitätsweizen - Ergebnisse der Kleinmälzung der Sortenbetrachtung 2007“, *BRAUWELT* **148**, no. 36, pp. 1030-1034, 2008.

*Received 09 April, 2009, accepted 09 June, 2009*

## Appendix

**Table 1** Measured and calculated minimum and maximum values of the analysed features in comparison to the values of the triticale raw material

attributes	unit	triticale raw material	triticale malt			
			measured min	measured max	predicted min	predicted max
extract	%, dm	n.a.	84.2 (5/48/21)	86.2 (7/42/21)	84.4 (5/42/21)	86.0 (7/42/21)
AAL	%	n.a.	75.8 (5/48/15)	78.0 (7/45/18)	75.9 (7/48/18)	78.3 (5/45/15)
$\alpha$ -amylase activity	U/g	276	163 (5/42/21)	319 (7/48/15)	167 (5/42/21)	328 (7/48/16)
$\beta$ -amylase activity	U/g	505	917 (5/48/21)	1231 (7/48/15)	967 (5/46/21)	1245 (6/48/17)
limit dextrinase activity	U/kg	293	76 (5/42/21)	215 (7/48/15)	119 (5/42/21)	216 (7/48/15)
FAN	mg/100 mL	n.a.	103 (5/42/21)	204 (7/48/15)	104 (5/42/21)	206 (7/48/15)
Kolbach Index	%	n.a.	43.3 (5/45/18)	58.9 (7/48/21)	45.6 (5/45/15)	58.8 (6/48/18)
DMS-P	$\mu$ g/L	n.a.	0.4 (7/42/21)	1.6 (7/48/15)	0.4 (7/42/21)	1.6 (7/48/15)
viscosity (8.6%)	mPa $\times$ s	n.a.	2.134 (7/48/21)	2.472 (7/48/15)	2.214 (5/42/15)	2.421 (7/48/21)

The values in parenthesis mean the malting conditions: germination time/degree of steeping/germination temperature; n.a. = not applicable; the calculated values are rounded, since time patterns with decimals, especially the germination time, would not be practicable; in addition, the calculated values are determined by topping or minimising this value without considering the influence of other features.

**Table 2** Predicted and measured values with the optimal malting regime

attributes	unit	predicted	achieved
extract	%, dm	84.8	83.2
AAL	%	78.3	78.8
$\alpha$ -amylase activity	U/g	254	276
$\beta$ -amylase activity	U/g	1055	1024
limit dextrinase activity	U/kg	264	293
FAN	mg/100 mL	155	155
Kolbach Index	%	45.8	46.0
DMS-P	$\mu$ g/L	1.7	3.3
viscosity (8.6%)	mPa $\times$ s	2.305	2.575

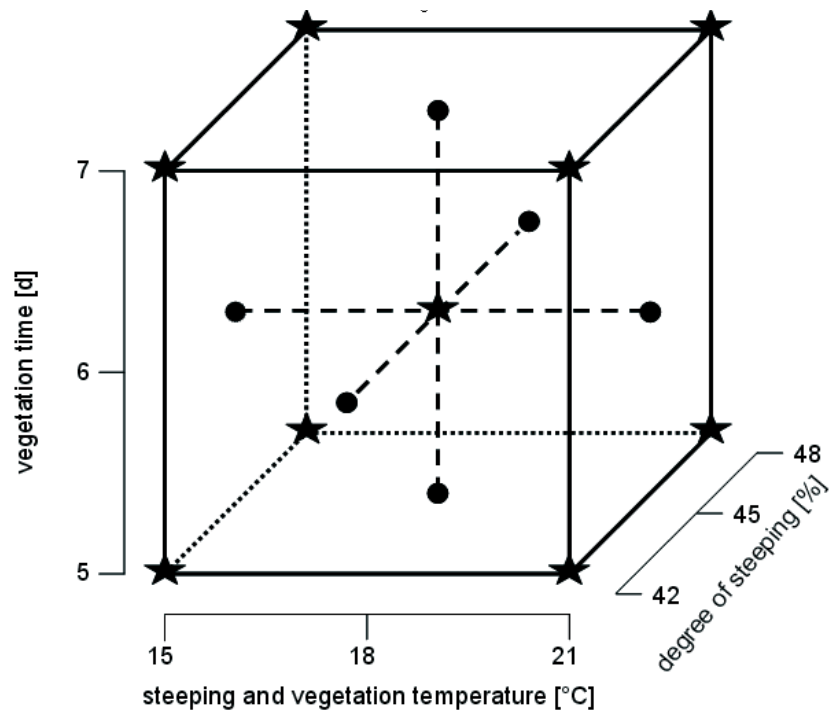


Fig. 1 Face-centred design (double replicates of the factorial and centre points = ★)

Design-Expert® Software  
extract



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 15

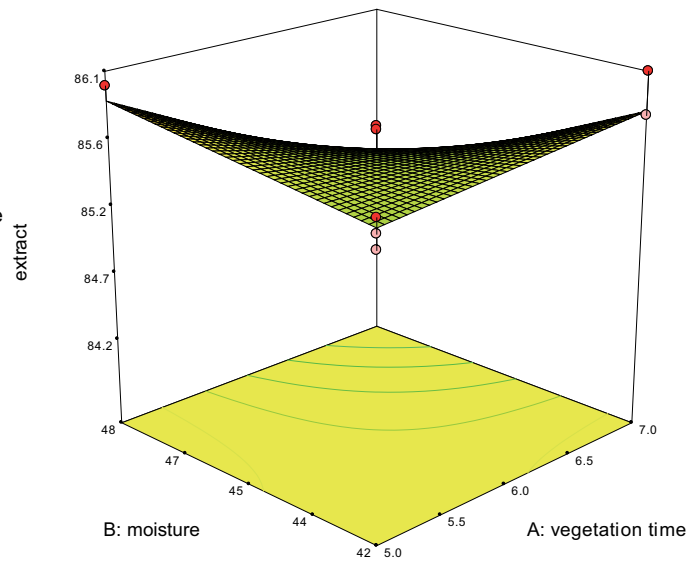


Fig. 2 The influence of moisture content and vegetation time on extract with 15 °C vegetation temperature



Design-Expert® Software  
apparent attenuation



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 15

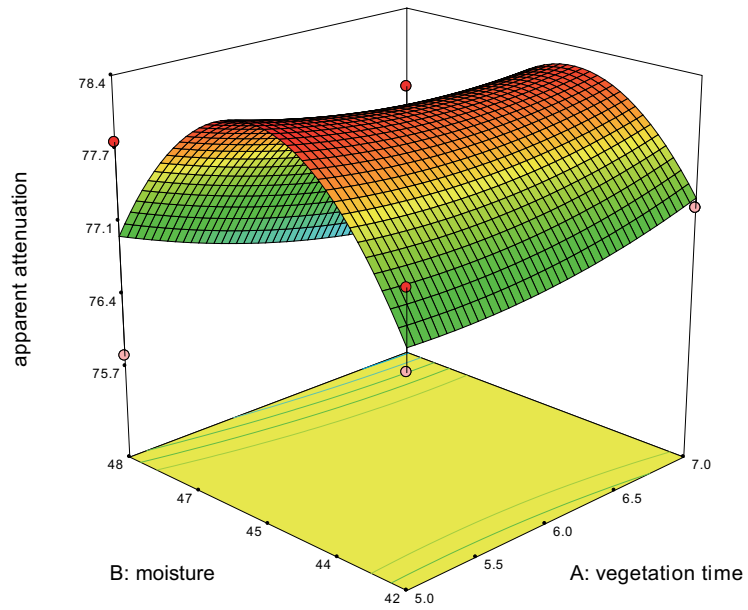


Fig. 3 The influence of moisture content and vegetation time on the AAL with 15 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software  
alpha-amylase activity



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 15

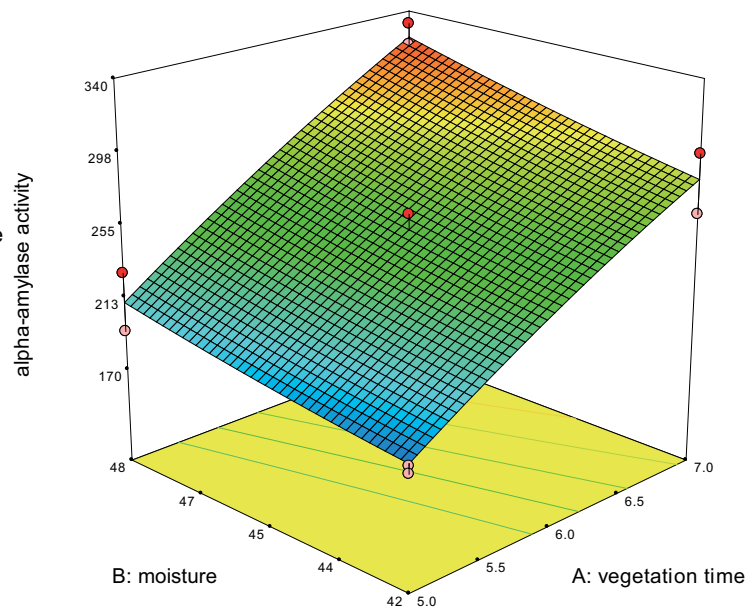


Fig. 4 The influence of moisture content and vegetation time  $\alpha$ -amylase activity with 15 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software  
beta-amylase activity



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 18

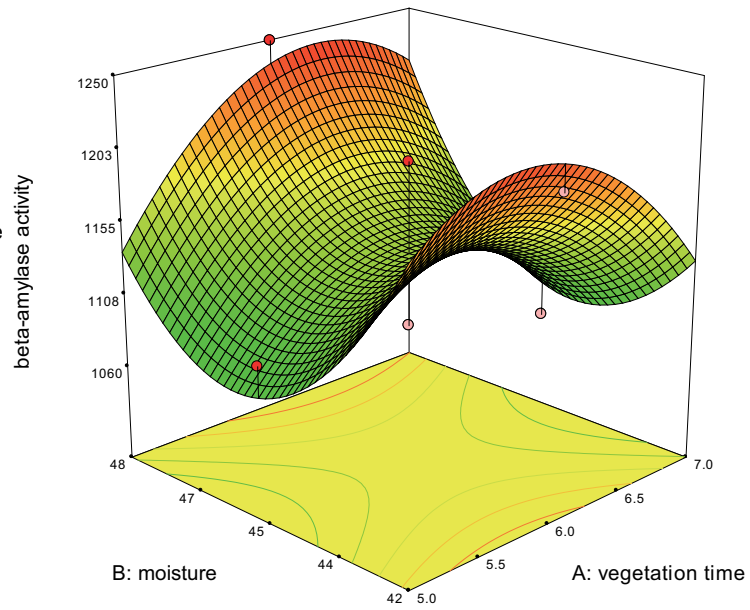


Fig. 5 The influence of moisture content and vegetation time  $\beta$ -amylase activity with 18 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software  
limitdextrinase activity



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 15

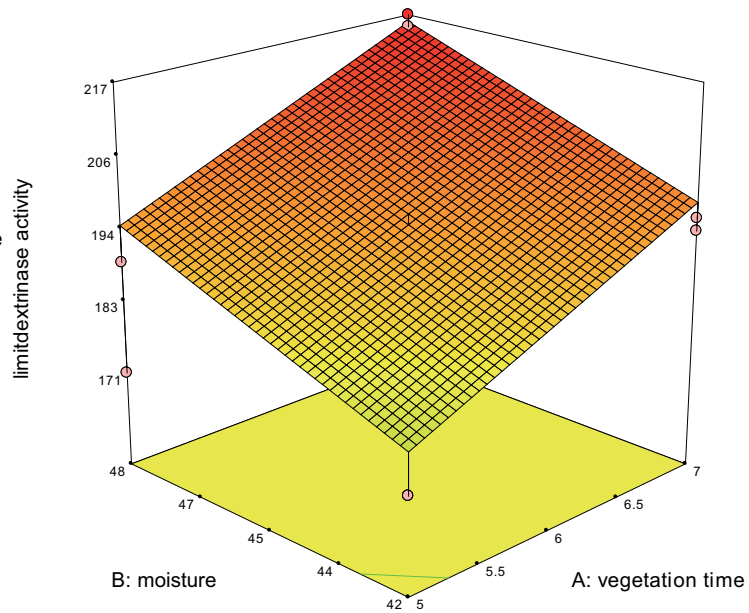
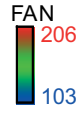


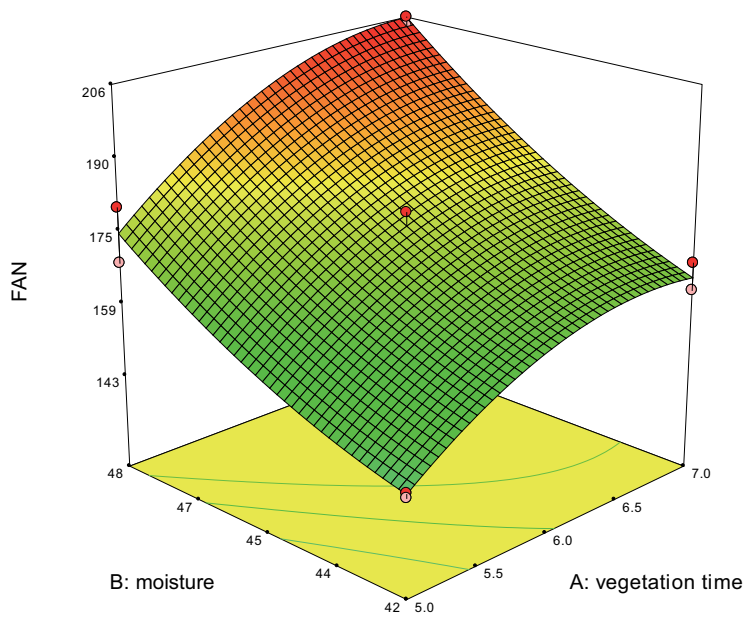
Fig. 6 The influence of moisture content and vegetation time on limit dextrinase activity with 15 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software



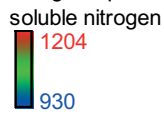
X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 15



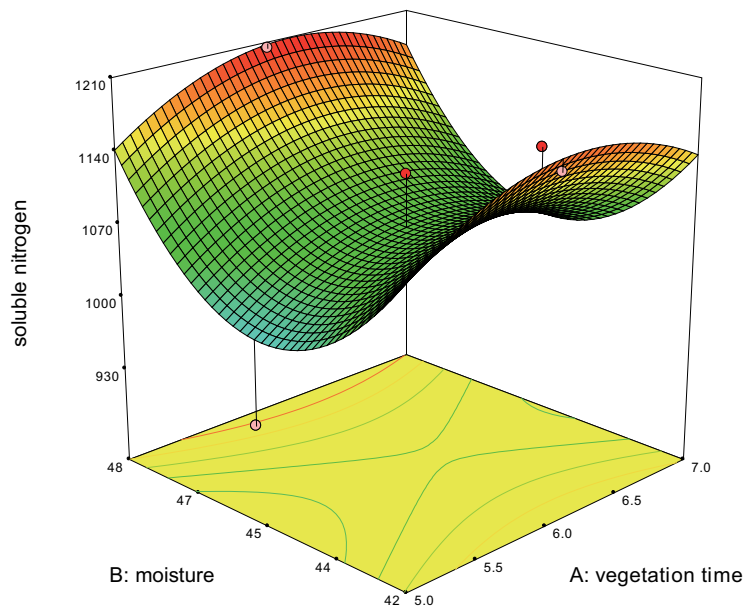
**Fig. 7** The influence of moisture content and vegetation time on free amino nitrogen with 15 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 18



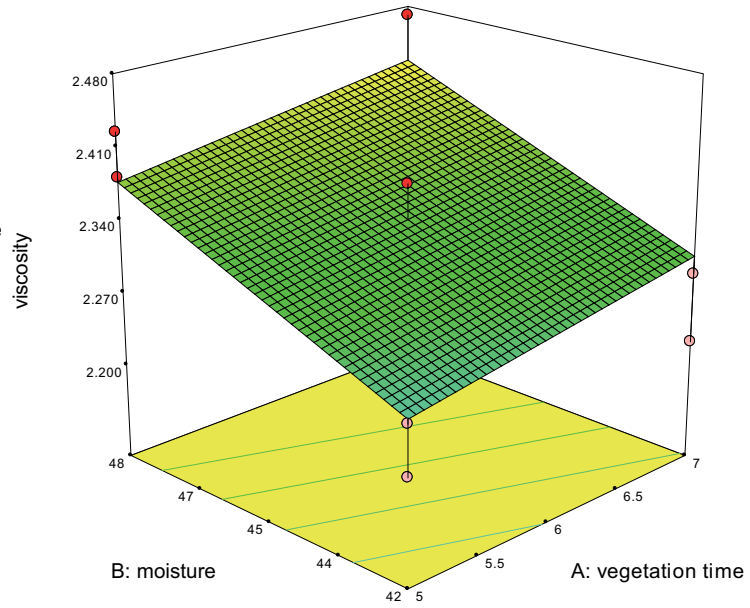
**Fig. 8** The influence of moisture content and vegetation time on soluble nitrogen with 15 °C vegetation temperature

Design-Expert® Software



X1 = A: vegetation time  
X2 = B: moisture

Actual Factor  
C: vegetation temperature  
= 21



**Fig. 9** The influence of moisture content and vegetation time on viscosity with 21 °C vegetation temperature

## **8.9 Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung**

Krahl, M., Dold, S. and Becker, T., Einfluss von Getränkeinhaltsstoffen auf deren Resorption nach körperlicher Belastung. *Der Weihenstephaner*, 2009, **77(4)**, 128-133.

Projektes „Einfluss ausgewählter Analytischenmerkmale auf die Verkleisterung von Gerstenstärke“.

#### Literatur

- 1 Keßler, M.: Analytische Erfassung und Interpretation der Stärkedegradation im Gersten- und Malzkorn und die Aussage für den Brauprozess; Freising, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Dissertation, 2006
- 2 MacGregor, A. W.; Fincher, G. B.: Carbohydrates of the Barley Grain; in: MacGregor, A. W.; Bhatty, R. S.: Barley: Chemistry and

- Technology, St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1993, S. 73–130
- 3 Tegge, G.: Stärke und Stärkederivate; 3. vollständig überarbeitete Auflage, B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg 2004
- 4 Buleon, A.; Colonna, P.; Planchot, V.; Ball, S.: Starch granules: structure and biosynthesis; in: International Journal of Biological Macromolecules 23 (1998), Nr. 2, S. 85–112
- 5 Schütz, M.; Hartmann, K.; Herrmann, M.; Keßler, M.; Kreis, S.; Krottenthaler, M.; Schneeberger, M.; Thiele, F.; Zarnkow, M.; Back, W.; Mezger, R.: Analytische Kontroll-

- möglichkeiten zur Optimierung technologischer Prozesse; Brauwelt (2006), Nr. 8/9, S. 216–220
- 6 Zobel, H. F.: Molecules to Granules – a Comprehensive Starch Review; in: Starch/Stärke 40 (1988), Nr. 2, S. 44–50
- 7 Thomas, D. J.; Atwell, W. A.: Starches; St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1999
- 8 Stevens, D. J.; Elton, G. A.: Thermal Properties of Starch/Water System 1. Measurement of Heat of Gelatinisation by Differential Scanning Calorimetry; in: Die Stärke 23 (1971), Nr. 1, S. 8–11

# Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung

M. Krahl, S. Dold, T. Becker, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan (Moritz.Krahl@wzw.tum.de)

## Anforderungen an ein Getränk nach körperlicher Belastung

Körperliche Belastung stellt eine Herausforderung für die Homöostase des Organismus dar [1]. Zur Thermoregulation wird Schweiß produziert, was vor allem bei extremen Umgebungsbedingungen starke Wasser- und damit verbundenen Elektrolytverluste mit sich bringt. Wasserverluste beeinträchtigen die Leistungsfähigkeit des Organismus und somit ist es von grundlegender Bedeutung, diese während und nach Phasen körperlicher Belastung auszugleichen [2]. Durch körperliche Belastung entstehen aber nicht nur Flüssigkeitsverluste durch die Schweißsekretion, sondern es werden auch körpereigene Kohlenhydratreserven aus Leber- und Muskelglycogen verbraucht [3]. Getränke, die nach derartigen Belastungsphasen konsumiert werden, sollten daher zwei Aufgaben hinsichtlich der Wiederherstellung der Homöostase erfüllen. Vorrangig müssen die Flüssigkeits- und Elektrolytverluste des Körpers kompensiert werden. Es besteht jedoch auch ein Bedarf an Kohlenhydraten um die Glycogenreserven wieder aufzufüllen. Um dies gewährleisten zu können, müssen Wasser, Elektrolyte und Kohlenhydrate in den richtigen Mengenverhältnissen enthalten sein [3]. Des Weiteren sollte das Getränk derart beschaffen sein, dass die Inhaltsstoffe dem Körper möglichst schnell zur Deckung des entstandenen Bedarfs zur Verfügung stehen. Bevor Wasser, Elektrolyte und Kohlenhydrate aber über die Blutbahn zu den entsprechenden Zielgeweben transportiert werden können, müssen sie zunächst aus dem Darm in die Blutbahn aufgenommen werden. Dieser Resorp-

tionsprozess ist für die Verfügbarkeit von Nährstoffen von elementarer Bedeutung und Kenntnisse hierüber sind unabdingbar, um die Effektivität eines Getränkes bewerten zu können [4].

## Resorption von Getränkeinhaltsstoffen nach körperlicher Belastung

Bevor die Getränkeinhaltsstoffe über die Blutbahn zu den entsprechenden Zielgeweben transportiert werden können, müssen sie zunächst den Magen passieren und im Dünndarm resorbiert werden. Für die Effektivität eines konsumierten Getränks sind die Vorgänge im Magen-Darm-Trakt daher von entscheidender Bedeutung [4].

Aufgenommene Nahrungsmittel werden im Magen zunächst vorübergehend gespeichert, bevor sie portionsweise in den Dünndarm abgegeben werden [5]. Wenn, wie nach körperlicher Belastung, eine schnelle Versorgung mit exogenen Nährstoffen oder Wasser benötigt wird, ist es entscheidend, dass das aufgenommene Getränk schnell den Magen passiert [4]. Die Regulation der Magenentleerung ist sehr komplex und hängt von vielen Einflussgrößen ab. Wichtige Faktoren sind zum einen das Magenvolumen, und damit entsprechend das Volumen der aufgenommenen Flüssigkeit, zum anderen die Zusammensetzung des Getränks [4]. Im zeitlichen Verlauf der Entleerungskinetik des Magens zeigt sich die höchste

Entleerungsrate initial nach der Nahrungsaufnahme, mit 70–100 ml pro 10 Minuten Intervall. Die Entleerungsrate nimmt anschließend mit abnehmendem Magenvolumen im Verlauf von einer bis zwei Stunden exponentiell ab. Flüssigkeiten werden dabei generell schneller entleert als feste Nahrungsbestandteile [5, 6]. Hinsichtlich der Einflüsse der Getränkezusammensetzung auf die Magenentleerungsrate spielt die Energiedichte die wichtigste Rolle.

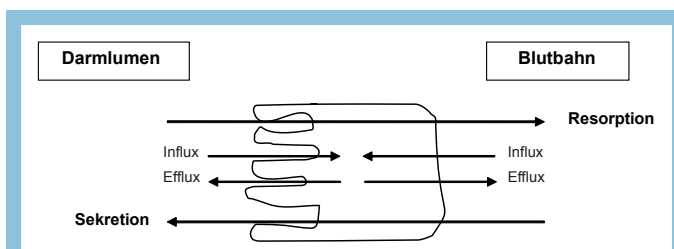


Abb. 1 Terminologie des intestinalen Stofftransports durch eine Epithelzelle [5]

Reines Wasser verlässt den Magen sehr schnell, wohingegen eine Erhöhung der Energiedichte, beispielsweise durch einen Kohlenhydratzusatz, zu einer verzögerten Magenentleerung führt [4, 7, 8].

Aus dem Magen gelangen die aufgenommenen Nahrungsmittel in den Dünndarm. Der Dünndarm ist der Hauptort für Verdauung und Resorption von Nährstoffen [9]. Nahrungsmittelbestandteile werden hier aufbereitet, gespalten und aus dem Darm in die Blutbahn aufgenommen. Dafür steht prinzipiell die gesamte Dünndarmlänge zur Verfügung. Der größte Teil wird allerdings im Duodenum und Jejunum resorbiert [10]. Die Oberfläche der Dünndarmschleimhaut ist durch



ringförmige Falten und Darmzotten stark vergrößert. Epithelzellen, welche die Dünndarmschleimhaut auskleiden, besitzen eine typische polare Struktur. Die apikale Zellmembran der Epithelien ist dem Darmlumen, die basolaterale Zellmembran der Blutseite zugewandt. Die apikale Membran bildet fingerartige Ausstülpungen, sogenannte Mikrovilli, weshalb sie auch als Bürstensaummembran bezeichnet wird. Die Mikrovilli führen zusätzlich zu den Falten und Zotten der Dünndarmschleimhaut zu einer Vergrößerung der Resorptionsfläche [9, 11].

Die Bezeichnungen der verschiedenen Transportwege durch die Dünndarmepithelien unterliegen einer speziellen Terminologie (Abb. 1). Der Transport durch die Zellmembran in die Epithelzelle hinein wird als Influx, der Transport aus der Epithelzelle hinaus als Efflux, der Transportweg durch die Epithelzelle hindurch wird als Resorption bezeichnet, wenn der Transport von der funktionellen Außenseite der Epithelien, also vom Darmlumen, hin zum Interstitium erfolgt. Der transepitheliale Transport in die umgekehrte Richtung, also zum Darmlumen hin, wird als Sekretion bezeichnet [11]. Der transepitheliale Transportweg kann nochmals unterteilt werden in den transzellulären Weg und den parazellulären Weg. Der transzelluläre Weg führt durch die apikale und die basolaterale Membran der Epithelzelle und zumeist auch durch einen mehr oder weniger großen Anteil des Interzellularspalts hindurch. Der Interzellularspalt befindet sich zwischen benachbarten Epithelzellen und stellt meist nur ein geringes Diffusionshindernis dar. Der parazelluläre Weg führt durch die gesamte Länge des Interzellularspalts, den es nach Durchtritt der Tight Junction erreicht. Die Tight Junction ist ein charakteristisches Strukturmerkmal der Epithelzelle, das nahe der apikalen Membran zu finden ist. Die parazelluläre Permeabilität, also die Durchlässigkeit der Tight Junctions, nimmt im Intestinaltrakt von proximal nach distal hin ab [11].

Bezüglich des Mechanismus der Stoffaufnahme aus dem Darmlumen in die Blutbahn werden grundsätzlich zwei Resorptionsmechanismen unterschieden. Die Resorption erfolgt entweder durch passive Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles, oder durch aktiven Transport gegen einen Gradienten. Eine Substanz kann nur dann durch passive Diffusion in die Epithelzelle aufgenommen werden, wenn die Konzentration der aufzunehmenden Substanz im Dünndarmlumen größer ist als in der Epithelzelle und die Substanz zudem die luminale Membran passieren kann. Die Resorptionsgeschwindigkeit ist dabei abhängig von der Molekülgröße. Substanzen mit einem Molekulargewicht von über 400 Da werden im Allgemeinen nicht mehr mit messbarer Geschwindigkeit passiv aufgenommen. Die wichtigste Substanz, die durch passive Diffusion resorbiert wird, ist Wasser. Häufiger als die passive Diffusion ist allerdings der aktive Transport gegen einen Gradienten. Dabei muss gelegentlich neben einem chemischen Gradienten auch eine Ladungsdifferenz, also

ein elektrochemischer Gradient, überwunden werden. Die für den aktiven Transport benötigte Energie wird aus der Spaltung von ATP gewonnen [10].

### Bedarf durch Schweißverluste

Die Höhe der Schweißverluste, die durch körperliche Belastung entstehen, variiert mit der Belastungsintensität, dem Trainingszustand des Sportlers und den klimatischen Bedingungen. Abhängig von diesen Einflussgrößen kann die Schweißproduktion auf zwei bis drei Liter pro Stunde ansteigen. Diese Wasserverluste des Körpers, die auch als Dehydrierung bezeichnet werden, beeinträchtigen die Funktionsfähigkeit des Organismus [2, 3, 12–14].

Ein Wasserverlust von ungefähr 2 % wirkt sich bereits negativ auf die Ausdauerleistung aus. Ab 4 % wird außerdem die Kraftleistung vermindert, ab 6 % folgen Schwäche, Reizbarkeit und Erschöpfung. Steigt der Wasserverlust weiter, kommt es außerdem zu Übelkeit, psychischen Störungen und mangelhafter motorischer Koordination. Ein Wasserverlust von mehr als 10 % des Körpergewichtes kann lebensbedrohlich sein [14]. Sportler sollten daher sicherstellen, dass sie die durch Schweißverluste entstandenen Wasserverluste kompensieren [2, 3, 12–14].

In einer Reihe von Studien konnte gezeigt werden, dass die Flüssigkeitsmenge, die zur Rehydrierung notwendig ist, die über den Schweiß verlorene Flüssigkeitsmenge übersteigt [15–19]. Shirreffs et al. zeigten, dass erst eine Flüssigkeitsaufnahme von 150 % beziehungsweise von 200 % des durch Schweißverluste entstandenen Körpergewichtes zu einer ausgeglichenen Flüssigkeitsbilanz führt [19]. Gleichzeitig konnte aber auch gezeigt werden, dass nicht nur das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen, sondern auch die Zusammensetzung der aufgenommenen Flüssigkeit, nämlich die Natrium-Konzentration, über den Rehydrierungseffekt entscheidet [15, 16, 19].

### Resorptionsmechanismus

Biologische Membranen, so auch die Membranen der Mucosazellen, haben einen hydrophoben Charakter. Trotzdem sind sie für hydrophile Substanzen durchlässig, wodurch der Prozess der einfachen Diffusion erst möglich wird. Das hydrophile Wassermolekül weist eine hohe Diffusionsfähigkeit auf. Der Grund dafür ist, dass das kleine Molekül infolge seines Dipolcharakters den Bereich der hydrophilen Kopfgruppen der Membranlipide schnell durchqueren kann. In bestimmten Membranen, beispielweise den Membranen der Epithelzellen des proximalen Nierentubulus, ermöglichen spezifische Wasserkanalproteine, sogenannte Aquaporine, eine sehr hohe Wasserpermeabilität [5]. Nach Schedl et al. wurde das Protein, aus welchem die Wasserkanäle bestehen, im Dünndarm aber bisher nicht nachgewiesen [20]. Nach Löffler et al. [10] ist noch nicht geklärt, inwieweit Aquapori-

ne an der Wasserresorption im Dünndarm beteiligt sind. Nach Schmidt et al. [11] sind Aquaporine an der transzellulären Wasserresorption beteiligt. Leiper [4] und Fordtran et al. [21] beschreiben die intestinale Wasserresorption als Diffusionsvorgang durch kleine wassergefüllte Poren, welche die Epithelienmembran durchziehen.

Der größte Teil der Wasserresorption erfolgt im Jejunum [10, 21]. Fordtran et al. [21] fanden außerdem, dass die Flussrate von Wasser, bei gleichen osmotischen Gradienten, in der vorderen Region des Jejunums ungefähr neunmal größer ist als in der hinteren Region des Ileums [4, 21].

Die Wasserresorption im Dünndarm erfolgt nach dem Mechanismus der einfachen Diffusion, den man im Fall von Wasser als diffundierende Substanz auch als Osmose bezeichnet. Treibende Kraft ist der Konzentrationsgradient von Wasser. Reinem Wasser kommt definitionsgemäß die maximale Wasserkonzentration zu. Je mehr Solute im Wasser gelöst sind, desto niedriger ist die Wasserkonzentration. Osmotische Kräfte werden dann wirksam, wenn zwei Lösungen unterschiedlicher Teilchenkonzentration miteinander in Kontakt kommen und sie durch eine semipermeable Membran getrennt sind, die nur für Wasser durchlässig ist. Dadurch entsteht ein osmotischer Druck, dessen Größe durch Durchlässigkeit der Membran und durch Osmolalität der Lösungen bestimmt wird. Die Osmolalität gibt die Menge osmotisch wirksamer Teilchen pro kg Wasser an. Die resultierende Wasserbewegung ist der Richtung des osmotischen Drucks entgegengesetzt. Befindet sich im Darmlumen reines Wasser, also eine im Vergleich zum Blutplasma hypotone Lösung (< 280 mOsm/kg), wird das Wasser Richtung Blutseite diffundieren, um den osmotischen Gradienten auszugleichen. Befindet sich im Darmlumen dagegen eine hypertone Lösung (> 280 mOsm/kg), wird ein Wasserfluss in das Darmlumen die Folge sein [10, 11, 20, 22]. Resultiert dies in einer Netto-Wassersekretion, folgt ein effektiver Wasserverlust, wodurch die nach körperlicher Belastung ohnehin negative Flüssigkeitsbilanz zusätzlich verschlechtert wird [23, 24].

### Einflüsse auf die Resorption

Die Nettowasserresorption im Darm wird sowohl durch den vorliegenden osmotischen Gradienten, als auch durch die Resorption gelöster Getränkeinhaltsstoffe bestimmt, da bei der Substratresorption Wasser mitgezogen wird. Hohe Substratkonzentrationen führen auf der einen Seite zu einer Erhöhung der Wasserresorption durch Substratresorption, auf der anderen Seite wird durch die hohe Osmolalität der Lösung die osmotische Flüssigkeitssekretion intensiviert. Die Nettowasserresorption resultiert aus diesen beiden gegenläufigen Wasserströmungen [12, 25].

Aufgrund der großen parazellulären Permeabilität für Wasser im Dünndarm kann bei gegebenen osmotischen Gradienten ein effizienter Wassereinstrom aus dem Darmlumen in den Interzellularspalt erfol-

gen. Abweichungen der Osmolalität des Darminhalts von der des Plasmas können daher binnen Minuten ausgeglichen werden [11].

Zu beachten ist auch, dass mit dem Wassertransport andere Teilchen mitgerissen werden können. Diese passive Aufnahme von Getränkainhaltsstoffen infolge des Wassertransports bezeichnet man als „Solvent Drag“ [11].

Aufgrund ihrer Auswirkungen auf den osmotischen Gradienten und die Substratresorption ist die Resorption aller in Lösung befindlicher Elektrolyte, wie  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , und Nicht-Elektrolyte, wie Kohlenhydrate und Aminosäuren, untrennbar mit der Wasserresorption verbunden. Die Resorption von Wasser aus einem nach körperlicher Belastung konsumierten Getränk wird also durch alle im Getränk gelösten Substanzen beeinflusst [5, 10]. Für eine effektive Rehydrierung ist folglich neben einer adäquaten Flüssigkeitszufuhr die Zusammensetzung des Getränks von entscheidender Bedeutung [26].

### Resorption von Elektrolyten

Die Überlegung, die hinter einem Elektrolytzusatz zu Getränken steht, ist die durch den Schweiß verursachten Verluste

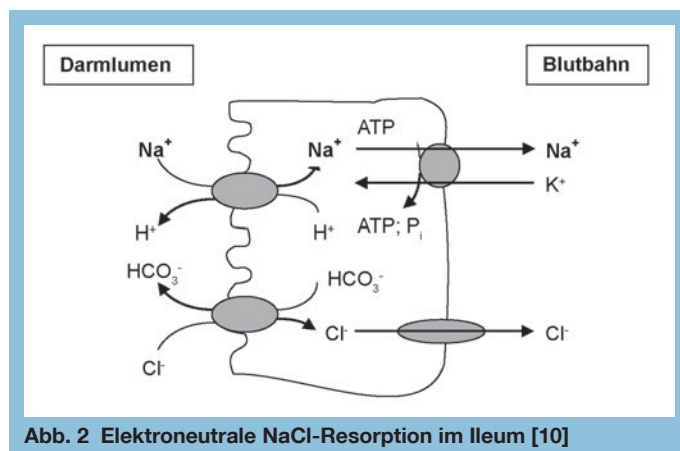


Abb. 2 Elektroneutrale NaCl-Resorption im Ileum [10]

auszugleichen [27, 28]. Schweiß hat eine Osmolalität von 170–220 mOsm/l [2]. Schweißverluste bedeuten immer Wasser- und Elektrolytverluste und sollten vor allem bei Leistungssportlern als solche wieder ausgeglichen werden [6, 14]. Der auftretende Elektrolytverlust wird sowohl vom Gesamt-Schweißvolumen, als auch von der Schweißzusammensetzung bestimmt [28]. Diese ist individuell sehr verschieden, kann aber zusätzlich abhängig von Produktionsrate und Trainingszustand variieren [6, 28, 29]. Die Hauptelektrolyte im Schweiß sind, wie in der extrazellulären Flüssigkeit, Natrium und Chlorid. Typische Werte für die Natriumkonzentration im Schweiß liegen zwischen 20–80 mmol/l und für die Chloridkonzentration zwischen 20–60 mmol/l. Die Kaliumkonzentration liegt üblicherweise zwischen 4–8 mmol/l und die Magnesiumkonzentration bei < 0,2 mmol/l [6, 28]. Der Kaliumgehalt im Schweiß ist verglichen zum Kaliumgehalt des Plasmas (ungefähr 4–5 mmol/l) hoch, verglichen zum Kaliumgehalt des Intrazellulärraums (ungefähr

155 mmol/l) aber gering [28]. Nach Maughan und Shirreffs haben daher selbst große Schweißverluste nur geringe Auswirkungen auf den Gesamtkaliumgehalt des Körpers. Auch die Gesamtmagnesiumkonzentration bleibt durch Schweißverluste relativ unverändert beziehungsweise sinkt nur leicht ab [6]. Nach Maughan wirkt sich vor allem der Natriumhaushalt entscheidend auf den Flüssigkeitshaushalt aus.

### Natriumresorption

Der  $\text{Na}^+$ -Transport ist für die Funktion des Dünndarms von zentraler Bedeutung. Natrium ist maßgebend an der Ausbildung elektrischer und chemischer Gradienten beteiligt, was unter anderem entscheidend für den Wassertransport ist. Die Aufnahme von  $\text{Na}^+$  in die Enterozyten des Dünndarms über die Bürstensaummembran erfolgt entweder durch einen elektroneutralen oder durch einen elektrogenen Transport. Die elektroneutrale Resorption, die zu einer Nettoaufnahme von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  führt, findet vor allem im Ileum statt. Der Transport von  $\text{Na}^+$  über die Bürstensaummembran erfolgt dabei über einen  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter,  $\text{Cl}^-$  wird über einen  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Antiporter aufgenommen. Die Regenerierung der ins Lumen abgegebenen Protonen und des

Hydrogencarbonats erfolgt über zwei Carboanhydrasen. Der Export von  $\text{Na}^+$  über die basolaterale Membran erfolgt durch die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase,  $\text{Cl}^-$  wird durch entsprechende Kanäle in der Basalmembran Richtung Blutbahn abgegeben [10, 11].

Die elektrogene Resorption von  $\text{Na}^+$  findet vor allem im Jejunum statt, wo in der Bürstensaummembran verschiedene

$\text{Na}^+$ -Substrat-Symporter lokalisiert sind. Sie nutzen den durch die basolaterale gelegene primär-aktive energieabhängige Natriumpumpe erzeugten  $\text{Na}^+$ -Gradienten für einen sekundär-aktiven Flusskopplungsmechanismus. Die niedrige intrazelluläre  $\text{Na}^+$ -Konzentration wird für die Anreicherung von Substraten in der Zelle genutzt, die an der basolateralen Membran durch erleichterte Diffusion ins Interstitium gelangen. So werden Natriumionen zusammen mit Monosacchariden oder Aminosäuren aus dem intestinalen Lumen in die Mucosazelle transportiert. Der  $\text{Na}^+$ -Transport ist im Jejunum folglich mit dem Transport von Monosacchariden beziehungsweise Aminosäuren gekoppelt [10, 11].

Aufgrund der hohen parazellulären Permeabilität im oberen Dünndarm erfolgen in der interdigestiven Phase allerdings 85 % der  $\text{Na}^+$ -Resorption weder durch elektroneutralen, noch durch elektrogenen Transport durch die Epithelzelle, sondern durch passive parazelluläre Diffusion [11].

### Kalium

Die Absorption von  $\text{K}^+$  erfolgt im Wesentlichen durch parazellulären Transport im Jejunum und Ileum [11].

### Magnesium

Im Gegensatz zu den Resorptionsmechanismen der monovalenten Ionen  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  ist der Resorptionsprozess des divalenten Ions  $\text{Mg}^{2+}$  mit komplexen Wechselwirkungen verbunden. Das zweiwertige Kation folgt bei seinem Transport einer elektrischen Potentialdifferenz. Die Resorption erfolgt im gesamten Dünndarm über luminale Carrier und durch parazellulären passiven Transport [5, 11].

### Einflüsse auf die Resorption von Wasser

Aufgrund ihrer osmotischen Aktivität ist die Resorption von Elektrolyten untrennbar mit der Resorption von Wasser verbunden [5, 10]. Elektrolyte spielen daher eine Schlüsselrolle im Rehydrierungsprozess. Wenn auch nicht der zugrunde liegende Mechanismus genau beschrieben werden konnte, so konnte doch gezeigt werden, dass dehydrierte Probanden selbst nach der Aufnahme sehr großer Mengen elektrolytfreier Getränke nie eine anhaltende positive Flüssigkeitsbilanz erreichen konnten, da große Mengen Wasser über den Urin ausgeschieden wurden [17–19, 23, 26, 30]. Nose et al. konnten zeigen, dass die Aufnahme großer Mengen elektrolytfreier Wassers zu einem starken Abfall der Osmolalität und der Natrium-Konzentration des Plasmas führt, wodurch die Urinproduktion stimuliert wird [31, 32].

### Natrium

Nach Leiper beeinflusst kein anderer Elektrolyt die Wasserresorption so stark wie Natrium, da es maßgeblich an der Ausbildung osmotischer Gradienten beteiligt ist [4]. Die Wirkung von Natrium als Inhaltsstoff rehydrierender Getränke wurde von Maughan und Leiper systematisch untersucht [18]. Dazu wurden Probanden durch körperliche Belastung in der Hitze und bei hoher Luftfeuchtigkeit um 2 % (w/w) ihres Körpergewichts dehydriert. Darauf wurde die rehydrierende Wirkung von vier Testgetränken verglichen, deren Zusammensetzung sich lediglich in der enthaltenen Natrium-Konzentration unterschied. Das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen entsprach dem 1,5-fachen des induzierten Körpergewichtsverlustes. Nur bei zwei der untersuchten Getränke wurde eine positive Flüssigkeitsbilanz festgestellt. Der vom Körper resorbierte Wasseranteil war umso höher, je höher die Natriumkonzentration im Getränk war.

Diese Ergebnisse wurden von Shirreffs et al. bestätigt, die systematisch sowohl den Einfluss der aufgenommenen Flüssigkeitsvolumina als auch den Einfluss der Natriumkonzentrationen von Testgetränken auf die Rehydrierung untersuchten [19]. Shirreffs et al. zeigten, dass Proban-



den selbst nach der Aufnahme großer Flüssigkeitsvolumina, entsprechend dem doppelten Schweißverlust, höchstens eine annähernd ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz aufweisen konnten, wenn der Natriumgehalt der aufgenommenen Flüssigkeit niedrig war (23 mmol/l). Wenn die Natriumkonzentration dagegen auf 61 mmol/l erhöht wurde, war die Flüssigkeitsbilanz der Probanden bereits ausgeglichen, wenn die aufgenommenen Flüssigkeitsvolumina lediglich der 1,5-fachen Schweißmenge entsprachen [19].

Rehydrierung nach körperlicher Belastung kann folglich nur erreicht werden, wenn sowohl die durch den Schweiß verursachten Wasserverluste, als auch die entstehenden Natriumverluste ausgeglichen werden [3, 18, 19, 26, 30]. Der Zusatz von Natrium zu rehydrierenden Getränken ist aufgrund der positiven Wirkung auf die Flüssigkeitsbilanz gerechtfertigt [6, 23, 27]. Für die empfohlene Natriumkonzentration gilt, dass Getränke mit 400–800 mg/l als gut trinkbar empfunden werden, während sie ab 1100 mg/l als zu salzig abgelehnt werden [33]. Der Konsum von natriumarmen Getränken bei extremer Belastung führt zu einer Verdünnungshyponatriämie, also vermehrter Zufuhr von freiem Wasser, die schlimmstenfalls tödlich enden kann. Vor allem bei Belastungen über vier Stunden ist zwingend auf Natriumzusatz zu achten [18, 34].

### Kalium

Obwohl Kalium den meisten kommerziell erhältlichen Sportgetränken zugesetzt ist, existieren sowohl nach Maughan als auch nach Shirreffs nur wenige experimentelle Untersuchungen, die die Notwendigkeit dieses Zusatzes unterstützen. Die Kaliumverluste, die mit den Schweißverlusten einhergehen, können normalerweise nach der körperlichen Belastung durch das in der Nahrung enthaltene Kalium ausgeglichen werden [23, 33, 35]. Für einen etwaigen kaliumzusatz spräche lediglich dessen Rolle bei der zellulären Glucoseaufnahme. Klare Hinweise aus Studien, dass eine Kaliumsupplementierung die Glycogensynthese nach Belastung beschleunigen würde liegen bisher jedoch nicht vor. Dennoch dosieren führende Hersteller oftmals 80–200 mg Kalium pro Liter [23, 25, 36–38].

### Magnesium

Auch die Notwendigkeit des Zusatzes von Magnesium zu rehydrierenden Sportgetränken wird diskutiert [35]. In einigen Ländern, unter anderem in Deutschland, wird Magnesium zu kommerziell erhältlichen Sportgetränken zugesetzt, welche in anderen Ländern ohne einen Magnesiumzusatz verkauft werden [23]. Nach Brouns zählt Magnesium allerdings nicht zu den Elektrolyten, die entscheidend für die Wasserhomöostase sind [25]. Nach Shirreffs scheint es keinen Grund für einen Magnesiumzusatz zu rehydrierenden Getränken zu geben [3]. Die entscheidende Rolle des Magnesiums an der Signalübertragung bei der Muskelkontraktion

als Co-Faktor wichtiger Enzymkomplexe ist hinlänglich bekannt. Eine Substitution während körperlicher Belastung ist jedoch nicht notwendig [34].

### Zusammenfassende Einflüsse von Elektrolyten auf die Resorption von Wasser

Hinsichtlich der Einflüsse eines Elektrolytzusatzes auf die Resorption von Wasser kann folglich vor allem die positive Wirkung eines Natriumzusatzes herausgestellt werden [4]. Der Zusatz von Natrium führt zu einer gesteigerten Wasserresorption, wodurch nach Dehydrierung durch körperliche Belastung eine ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz erreicht werden kann [3,

entstehen die Monosaccharide Glucose, Galactose und Fructose. Die Resorptionsprozesse dieser Monosaccharide sind in Abbildung 3 dargestellt [5].

Das in die Bürstensaummembran der Dünndarmepithelzelle integrierte Transportsystem für Glucose, SGLT1, ist ein sekundär aktiver Na<sup>+</sup>-Glucose-Cotransporter, der ein Glucosemolekül in Begleitung von zwei Na<sup>+</sup>-Ionen in die Epithelzellen transportiert. Die treibende Kraft für den Glucose-Transport ist die niedrige intrazelluläre Na<sup>+</sup>-Konzentration, die durch die primär aktive Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase an der basolateralen Epithelienmembran aufrecht erhalten wird. SGLT1 ist nicht absolut spezifisch für Glucose, sondern transportiert auch Galactose in die Epithelzelle.

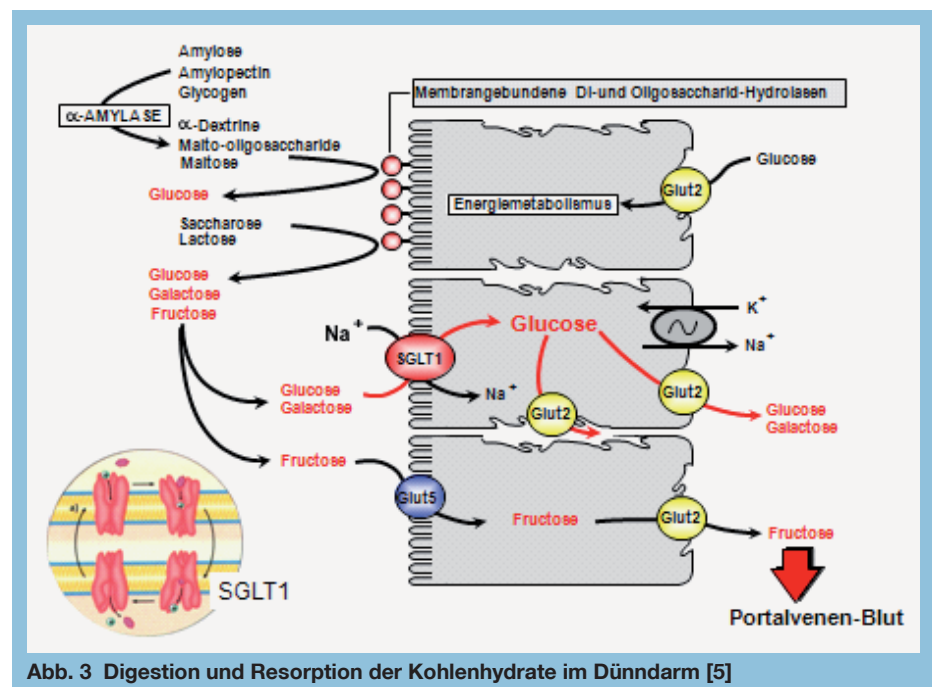


Abb. 3 Digestion und Resorption der Kohlenhydrate im Dünndarm [5]

18, 19, 26, 30]. Ein Zusatz anderer Elektrolyte scheint nicht erforderlich.

### Resorption von Kohlenhydraten

Kohlenhydrate werden im Dünndarm in Form von Monomeren resorbiert. Mit der Nahrung aufgenommene Kohlenhydratpolymere werden durch die Speichelamylase zwar bereits teilweise zu Oligomeren hydrolysiert, die Aufspaltung in Monomere findet aber hauptsächlich im Duodenum und Jejunum statt. Bei dieser Digestion der Kohlenhydratpolymere im Dünndarm unterscheidet man zwei Phasen. In der luminalen Phase hydrolysiert die α-Amylase des Pankreassekrets zunächst Amylose, Amylopektin und Glykogen zu Maltose, Maltotriose und α-Grenzextrinen. In der membrangebundenen Phase spalten die an die Bürstensaummembran gebundenen verschiedenen Oligo- und Disaccharid-Hydrolasen die Disaccharide, die bis auf Maltose vorwiegend direkt aus der aufgenommenen Nahrung stammen, sowie die in der luminalen Phase entstandenen kurzkettigen Oligosaccharide und α-Grenzextrine. Als Hydrolyseprodukte der membrangebundenen Phase

Die Aldohehexosen Glucose und Galactose konkurrieren also um das gleiche Transportsystem. Im Gegensatz zu Glucose und Galactose wird Fructose nicht über einen sekundär-aktiven Transportmechanismus, sondern durch erleichterte Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten über den GLUT5 Transporter in die Epithelzelle aufgenommen. Der Efflux über die basolaterale Membran in die Blutbahn erfolgt sowohl für Fructose, als auch für Glucose und Galactose durch erleichterte Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten über den GLUT2 Transporter, der keine Monosaccharidspezifität aufweist [5, 11]. Ein Kohlenhydratanteil von 4–8 % ist günstig, da somit eine kurze Verweilzeit im Magen und eine rasche Weiterleitung in den Dünndarm erreicht werden kann. Eine zu hohe Konzentration führt zu einem Nettowasserfluss in das Intestinum und somit der Gefahr einer weitergehenden Dehydrierung. Verzögerte Magenentleerung bei körperlicher Belastung kann zu gastrointestinalen Nebenwirkungen führen, wie Übelkeit und Brechreiz. Dieses Problem stellt sich vor allem bei Laufsportarten, weniger im Radsport [14, 25, 39]

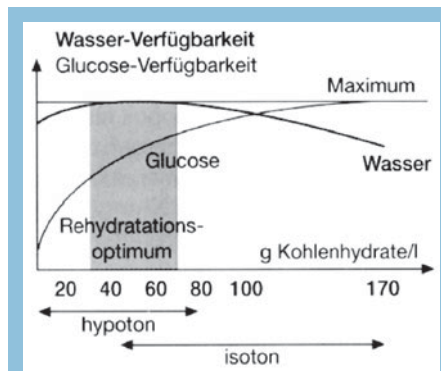
## Kinetik der Glucoseresorption

Kohlenhydrate sind die Hauptenergieträger in Sportgetränken, wobei zumeist Glucose in der monomeren Form und in Form von Maltodextrinen verwendet wird [4]. Es konnte gezeigt werden, dass die Kinetik der Glucoseresorption im Jejunum einer Sättigungskurve folgt [4, 40, 41]. Die Glucoseresorption steigt mit zunehmender luminaler Glucose-Monomer-Konzentration an, bis sie bei annähernd 200 mmol/l ein Plateau erreicht [4, 40]. Nach Leiper kann davon ausgegangen werden, dass die Transportkapazität des SGLT1 ab dieser Konzentration ausgeschöpft ist [4]. Oberhalb dieser Konzentration nimmt die Glucoseresorption nur allmählich weiter zu, was, wahrscheinlich nach Durchtritt der Tight Junctions, durch passive Transportmechanismen verursacht wird [4].

Aufgrund des gekoppelten Glucose-Na<sup>+</sup>-Transports wird die Glucoseresorptionsrate auch durch die Verfügbarkeit von Natrium gesteigert [42]. Es konnte gezeigt werden, dass der Zusatz von Natrium (50 mmol/l) zu Glucose-Lösungen (200 mmol/l) zu einer höheren Blutglucose-Konzentration führt, gemessen 30 und 45 min nach der Aufnahme. Bei Fructose-Lösungen (200 mmol/l) konnte kein entsprechender Effekt beobachtet werden [42].

## Kohlenhydrat- und Wasserresorption aus Mono-, Di- und Oligosacchariden

Bezüglich der Frage, ob die Glucose-resorptionsrate aus Disacchariden beziehungsweise Maltodextrinen größer ist als aus Glucose-Monomeren, finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben [4]. Jones et al. fanden, dass die Glucoseresorptionsraten [mmol h<sup>-1</sup> 25 cm<sup>-1</sup>] aus einer Maltotriose-Lösung beziehungsweise einer Glucose-Oligomer-Lösung signifikant größer sind (P = 0,01 beziehungsweise P < 0,05) als aus einer Lösung, mit der entsprechenden Menge Glucose-Monomeren [43]. Nach Leiper unterstützt die Mehrheit der Indizien aber die These, dass die Glucoseresorptionsrate aus Glucose-Oligomer-Lösungen nicht größer ist als aus Glucose-Monomer-Lösungen mit äquivalenten Mengen Glucose [4, 41, 44]. Shi et al. konnten zeigen, dass die Gesamt-Glucoseresorption [mmol h<sup>-1</sup> 40cm<sup>-1</sup>] aus einer achtprozentigen Glucose-Lösung (431 mmol/l Glucose) und einer sechsprozentigen Maltodextrin-Lösung (456 mmol/l Glucose) gleich sind [44]. Den eigentlichen Vorteil, den die Verwendung von Dimeren und Oligomeren liefern könnte, wird aus dem Ergebnis von Shi et al. ersichtlich, dass eine sechsprozentige Maltodextrin-Lösung zu einer signifikant (P < 0,05) höheren Wasserresorption führte, als eine achtprozentige Glucose-Lösung, obwohl die Glucose-Gehalte der beiden Lösungen nicht signifikant (P < 0,05) unterschiedlich waren [44]. Dimere und Oligomere liefern einen hohen Glucose-Gehalt, haben dabei aber nur einen geringen Effekt auf die Osmolalität [4, 44]. Aus Maltodextrin-Lö-



**Abb. 4 Resorptionsgeschwindigkeit von Wasser und Glucose im Dünndarm bei der Verwendung gleicher Mengen unterschiedlich konzentrierter hypo- bis isotoner Kohlenhydratlösungen [25, 33]**

sungen kann daher schneller Wasser resorbiert werden als aus einer Lösung mit der entsprechenden Menge an Glucose-Monomeren [4, 44]. Nach Brouns liegt die maximale Konzentration um Hypertonizität zu vermeiden für Glucose bei 55 g/l, für Saccharose und Maltose dagegen bei 100 g/l. Er empfiehlt, dass der Monosaccharid-Gehalt eines rehydrierenden Getränks kleiner als der Di- oder Polysaccharid-Gehalt sein sollte [25]. Nach Leiper et al. wäre es möglich, dass durch die gesteigerte Wasserresorption durch Solvent Drag auch wiederum mehr Kohlenhydrate resorbiert werden können [45].

## Auswirkungen des gekoppelten Glucose-Na<sup>+</sup>-Transports auf die Wasserresorption

Die Wasserresorption wird nicht nur durch die osmotische Aktivität von Kohlenhydraten beeinflusst, sondern auch durch ihren Resorptionsmechanismus im Dünndarm. Durch den gekoppelten Kohlenhydrat-Na<sup>+</sup>-Transport wird die Wasserresorption stark stimuliert. Das gilt vor allem für geringe Kohlenhydratkonzentrationen [25]. Nach Schek wirkt sich ein Kohlenhydratgehalt von zwei bis acht Prozent positiv auf die Wasserresorption aus [33]. Nach Brouns ist die Wasserresorptionsrate bei einer Kohlenhydratkonzentration von 30 g/l maximal [33]. Höhere Kohlenhydratgehalte führen zwar auf der einen Seite zu einer höheren Kohlenhydratverfügbarkeit, auf der anderen Seite aber zu einer geringeren Wasserresorption. Dabei ist außerdem zu beachten, dass ab einer Kohlenhydratkonzentration von ungefähr sechs Prozent die Magenentleerrate verlangsamt wird [4, 33]. Kohlenhydrate in rehydrierenden Getränken dienen somit nicht nur der Wiederauffüllung der Glycogen-Speicher, sondern tragen auch zu einer gesteigerten Wasserresorptionsrate bei. Wissenschaftlichen Erkenntnissen zu Folge sollten Kohlenhydrat-Elektrolyt-Getränke 30–80 g/l verschiedene Kohlenhydrate und 400–1100 mg/l NaCl enthalten, um die Wasserresorption zu stimulieren. Zur optimalen Rehydrierung sollte ein Getränk hypo- bis isoton sein [33]. Die Osmolalität sollte daher vorzugsweise < 300 mOsm/l sein [25].

## Andere Zusatzstoffe

Eine Zufuhr von mittelkettigen Fettsäuren (MCT = medium chain triglycerids) während Belastung führt zu keiner Beeinflussung des Energiestoffwechsels. Der überwiegende Teil der bisherigen Studien hat gezeigt, dass eine Zufuhr von MCT nicht den erhofften Vorteil bei der Magenentleerung mit sich bringt und sogar negative Effekte – in Form von Magenkrämpfen – hatte [8, 23, 46]. Auch ein Zusatz von Eisen, Zink, Vitaminen oder „leistungsverbessernden Hilfen“ wie Phosphat, Gelatine, Aspartat oder Ginseng hatte keinen Einfluss auf die Rehydrierung [25, 34, 47].

## Empfohlene Zusammensetzung für die optimale Resorption der Inhaltsstoffe nach körperlicher Belastung

Die zwei wichtigsten Anforderungen an ein Sportgetränk sind die Rehydrierung und die Bereitstellung von Energie [35]. Das Getränk sollte so beschaffen sein, dass die Inhaltsstoffe dem Körper möglichst schnell zur Deckung des entstandenen Bedarfs zur Verfügung stehen. Es ist wichtig, eine schnelle Resorption aus dem Dünndarlumen zu ermöglichen [4]. Die Rehydrierung wird hierbei durch die Osmolalität des Getränkes, aber auch durch die jeweiligen Resorptionsmechanismen der gelösten Inhaltsstoffe beeinflusst [4]. Als Elektrolyt kommt in Sportgetränken dem Natrium die höchste Bedeutung zu. Ohne Natrium scheint kein zeitnaher Ausgleich der Flüssigkeitsbilanz möglich zu sein [4]. Ein Zusatz anderer Elektrolyte ist aus ernährungsphysiologischer Sicht nicht erforderlich [23]. Die Resorptionsrate von Glucose steigt mit zunehmender luminaler Konzentration an, bis sie bei 200 mmol/l ihr Maximum erreicht [4, 40]. Unterhalb der Sättigungskonzentration wird die Glucoseresorption außerdem durch die Anwesenheit von Natrium verbessert [42]. Ein Vorteil durch den Einsatz von Di- und Oligomeren konnte bisher nicht gezeigt werden, jedoch besteht ein potentieller Nutzen in der niedrigeren resultierenden Osmolalität. So kann aus einer Maltodextrinlösung schneller Wasser resorbiert werden als aus einer Glukoselösung gleicher Dichte [4, 44]. Generell wirken sich Kohlenhydrate in Sportgetränken aber positiv auf die Wasseraufnahme aus.

Die verbesserten Rehydrierungseigenschaften im Vergleich mit reinem Wasser konnte für Mischungen von Kohlenhydraten und Elektrolyten bewiesen werden [48]. Dieses Charakteristikum verleiht ihnen insbesondere in Phasen von wiederkehrender körperlicher Belastung einen positiven Effekt auf die Gesundheit des Verbrauchers [48]. Hinsichtlich der Rehydrierung ist zu beachten, dass die Osmolalitäten traditioneller Getränke wie Säfte oder Schorlen sehr hoch ist, weshalb es zu einer verlangsamt Resorption aus dem Darm führt [12]. Auch weisen Mineralwässer und Obstsaft und -schorlen nur einen sehr geringen Gehalt an Natrium auf und sind einer schnellstmöglichen Rehydrierung somit nicht zuträglich [1, 12].

Generell bleibt festzuhalten, dass spezielle Sportgetränke mit einem hohen Natriumgehalt für Leistungssportler insbesondere in Zeiten körperlicher Höchstleistung eine wertvolle Nahrungsquelle darstellen. Für den ernährungsbewussten Breitensportler ist eine Supplementierung mit Natrium allerdings nicht vonnöten, zumal vor dem Hintergrund einer deutlich zu salzhaltigen Ernährung in den westlichen Industrieländern.

## Literatur

- 1 Shirreffs, S. M.; Aragon-Vargas, L. F.; Keil, M.; Love, T. D.; Phillips, S.: Rehydration after exercise in the heat: a comparison of 4 commonly used drinks (vol 17, pg 244, 2007); in: *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 17 (2007), Nr. 4, S. 417–417.
- 2 Mc Ardle, W.; Katch, F.; Katch, V.: *Exercise physiology: energy, nutrition and human performance*; edition 5 Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001
- 3 Shirreffs, S. M.; Maughan, R. J.: Water turnover and regulation of fluid balance; in: Maughan, R. J.; Murray, R.: *Sports drinks: basic science and practical aspects*; Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press, 2001, S. 29–43
- 4 Leiper, J. B.: Gastric emptying and intestinal absorption of fluids, carbohydrates and electrolytes; in: Maughan, R. J.; Murray, R.: *Sports drinks: basic science and practical aspects*; Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2001, S. 89–128
- 5 Rehner, G.; Daniel, H.: *Biochemie der Ernährung*; Auflage 2 Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2002
- 6 Maughan, R. J.: Fluid and electrolyte loss and replacement in exercise; in: Harries, M.; Williams, C.; Stanish, W.; Micheli, L.: *Oxford Textbook of Sports Medicine*; New York, Oxford, Tokyo: Oxford University Press, 1994, S. 82–93
- 7 Calbert, J.; Mac Lean, D.: Role of caloric content on gastric emptying in humans; in: *Journal of Physiology* 498 (1997), Nr. 2, S. 553–559
- 8 Hunt, J. N.; Stubbs, D. F.: Volume and Energy Content of Meals as Determinants of Gastric-Emptying; in: *Journal of Physiology*, London 245 (1975), Nr. 1, S. 209–225
- 9 Klinke, R.; Silbernagl, S.: *Lehrbuch der Physiologie*; Auflage 3 Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 2001
- 10 Löffler, G.; Petrides, P.; Heinrich, P.: *Biochemie und Pathobiochemie*; Auflage 8 Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007
- 11 Schmidt, R.; Lang, F.; Thews, G.: *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*; Auflage 29 Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005
- 12 Brouns, F.; Kovacs, E.: Functional drinks for athletes; in: *Trends in Food Science & Technology* 8 (1997), Nr. 12, S. 414–421
- 13 Gisolfi, C. V.; Duchman, S. M.: Guidelines for Optimal Replacement Beverages for Different Athletic Events; in: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 24 (1992), Nr. 6, S. 679–687
- 14 Konopka, P.: *Sporternährung*; München: BLV Buchverlag, 2006
- 15 Shirreffs, S. M.; Armstrong, L. E.; Cheuvront, S. N.: Fluid and electrolyte needs for preparation and recovery from training and competition; in: *Journal of Sports Sciences* 22 (2004), Nr. 1, S. 57–63
- 16 Merson, S. J.; Maughan, R. J.; Shirreffs, S. M.: Rehydration with drinks differing in sodium concentration and recovery from moderate exercise-induced hypohydration in man; in: *European Journal of Applied Physiology* 103 (2008), Nr. 5, S. 585–594
- 17 Gonzalezalonso, J.; Heaps, C. L.; Coyle, E. F.: Rehydration after Exercise with Common Beverages and Water; in: *International Journal of Sports Medicine* 13 (1992), Nr. 5, S. 399–406
- 18 Maughan, R. J.; Leiper, J. B.: Sodium-Intake and Postexercise Rehydration in Man; in: *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 71 (1995), Nr. 4, S. 311–319
- 19 Shirreffs, S. M.; Taylor, A. J.; Leiper, J. B.; Maughan, R. J.: Post-exercise rehydration in man: Effects of volume consumed and drink sodium content; in: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 28 (1996), Nr. 10, S. 1260–1271
- 20 Schedl, H. P.; Maughan, R. J.; Gisolfi, C. V.: Intestinal-Absorption during Rest and Exercise – Implications for Formulating an Oral Rehydration Solution(Ors); in: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 26 (1994), Nr. 3, S. 267–280
- 21 Fordtran, J. S.; Rector, F. C.; Ewton, M. F.; Soter, N.; Kinney, J.: Permeability Characteristics of Human Small Intestine; in: *Journal of Clinical Investigation* 44 (1965), Nr. 12, S. 1935
- 22 Edmonds, C. J.: Salts and Water; in: Smyth, D.: *Intestinal Absorption*, London, New York: Plenum Press, 1974, S. 711–760
- 23 Maughan, R. J.: Functional ingredients in sports drinks; in: Watson, D.: *Performance functional foods*; Boca Raton, Boston, New York, Washington D.C.: CRC Press, 2003
- 24 Wapnir, R. A.; Lifshitz, F.: Osmolality and Solute Concentration – Their Relationship with Oral Hydration Solution Effectiveness – an Experimental Assessment; in: *Pediatric Research* 19 (1985), Nr. 9, S. 894–898
- 25 Brouns, F.: *Essentials of sports nutrition*; 2<sup>nd</sup> Chichester, England: John Wiley & Sons, 2002
- 26 Nielsen, B.; Sjogaard, G.; Ugelvig, J.; Knudsen, B.; Dohmann, B.: Fluid Balance in Exercise Dehydration and Rehydration with Different Glucose-Electrolyte Drinks; in: *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 55 (1986), Nr. 3, S. 318–325
- 27 Rehrer, N. J.; Beckers, E. J.; Brouns, F.; Saris, W. H. M.; Tenhoor, F.: Effects of Electrolytes in Carbohydrate Beverages on Gastric-Emptying and Secretion; in: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 25 (1993), Nr. 1, S. 42–51
- 28 Maughan, R. J.; Shirreffs, S. M.: Recovery from prolonged exercise: Restoration of water and electrolyte balance; in: *Journal of Sports Sciences* 15 (1997), Nr. 3, S. 297–303
- 29 Stehle, P.: *Sport und Ernährung*; in: Bialski, H.; Fürst, P.; Kasper, H.; Kluthe, R.; Pöler, W.; Puchstein, C.; Stähelin, H.: *Ernährungsmedizin*; Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 2004, S. 231–237
- 30 Costill, D. L.; Sparks, K. E.: Rapid Fluid Replacement Following Thermal Dehydration; in: *Journal of Applied Physiology* 34 (1973), Nr. 3, S. 299–303
- 31 Nose, H.; Mack, G. W.; Shi, X. R.; Nadel, E. R.: Role of Osmolality and Plasma-Volume during Rehydration in Humans; in: *Journal of Applied Physiology* 65 (1988), Nr. 1, S. 325–331
- 32 Nose, H.; Mack, G. W.; Shi, X. R.; Nadel, E. R.: Involvement of Sodium Retention Hormones during Rehydration in Humans; in: *Journal of Applied Physiology* 65 (1988), Nr. 1, S. 332–336
- 33 Schek, A.: *Top-Leistung im Sport durch bedürfnisgerechte Ernährung*; Münster, Philippka-Sportverlag, 2002.
- 34 Neumann, G.: *Ernährung im Sport*; Aachen, Meyer & Meyer Sport, 2004
- 35 Shirreffs, S. M.: Post-exercise rehydration and recovery; in: Maughan, R. J.; Murray, R.: *Sports drinks: basic science and practical aspects*; Boca Raton, London, New York, Washington: CRC Press, 2001, S. 183–195
- 36 <http://www.powerbar.de>
- 37 <http://www.isostar.com>
- 38 <http://www.enevit.it>
- 39 Konopka, P.: *Radspport*; München, BLV Buchverlag, 2002
- 40 Modiglia, R.; Bernier, J. J.: Absorption of Glucose, Sodium, and Water by Human Jejunum Studied by Intestinal Perfusion with a Proximal Occluding Balloon and at Variable Flow Rates; in: *Gut* 12 (1971), Nr. 3, S. 184
- 41 Sladen, G. E.; Dawson, A. M.: Further Studies on Perfusion Method for Measuring Intestinal Absorption in Man – Effects of a Proximal Occlusive Balloon and a Mixing Segment; in: *Gut* 11 (1970), Nr. 11, S. 947
- 42 Vist, G.; Maughan, R. J.: The effect of glucose and fructose solutions with and without sodium on gastric emptying and blood glucose concentration in man; in: *Journal of Physiology* 481 (1994), Nr. P
- 43 Jones, B. J. M.; Higgins, B. E.; Silk, D. B. A.: Glucose-Absorption from Maltotriose and Glucose Oligomers in the Human Jejunum; in: *Clinical Science* 72 (1987), Nr. 4, S. 409–414
- 44 Shi, X. C.; Summers, R. W.; Schedl, H. P.; Flanagan, S. W.; Chang, R. T.; Gisolfi, C. V.: Effects of Carbohydrate Type and Concentration and Solution Osmolality on Water-Absorption; in: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 27 (1995), Nr. 12, S. 1607–1615
- 45 Leiper, J. B.; Brouns, F.; Maughan, R. J.: The Effect of Osmolality on Water and Solute Absorption from Carbohydrate-Electrolyte Solutions (Ces) in the Human Jejunal Perfusion Model; in: *Journal of Physiology-London* 479P (1994), Nr. S. P59–P59
- 46 Kern, M.: *CRC Desk Reference on Sports Nutrition*. San Diego: Taylor & Francis Group, 2005
- 47 Baron, K.: *Optimale Ernährung des Sportlers*; Stuttgart: S. Hirzel Verlag, 2004
- 48 Hill, R. J.; Bluck, L. J. C.; Davies, P. S. W.: The hydration ability of three commercially available sports drinks and water; in: *Journal of Science and Medicine in Sport* 11 (2008), Nr. 2, S. 116–123



---

## **Lebenslauf**

Moritz Krahl, geboren 9. September 1980 in Schwetzingen

- |                   |  |
|-------------------|--|
| seit 10/2009      | wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der TU München |
| 04/2009 – 09/2009 | Promotionsstudent am Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der TU München              |
| 10/2005 – 03/2009 | Promotionsstudent am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der TU München                 |

## **Studium**

- |                   |   |
|-------------------|---|
| 11/2000 – 07/2005 | Studium der Fachrichtung Brauwesen und Getränketechnologie/ TU München, Freising-Weihenstephan<br>Abschluß: Diplom-Ingenieur für Brauwesen und Getränketechnologie    |
| 11/2000 – 09/2004 | Studium der Fachrichtung Brauwesen und Getränketechnologie/ TU München, Freising-Weihenstephan<br>Abschluß: Bachelor of Science für Brauwesen und Getränketechnologie |
| April 2006        | Preis der Nienaber Stiftung für besondere Examensleistungen   |

## **Praktika**

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 08/2000 – 09/2000 | Praktikum Kling Malz, Schriesheim                      |
| 02/2001 – 03/2001 | Praktikum Woinemer Hausbrauerei, Weinheim              |
| 08/2001 – 09/2001 | Praktikum Namibian Breweries Ltd., Swakopmund, Namibia |
| 02/2002 – 04/2002 | Praktikum Lindenbräu GmbH, Waldbronn                   |

## **Schulbildung**

- |             |   |
|-------------|---|
| 1987 – 1990 | Grundschule Großsachsen, Hirschberg                       |
| 1990 – 1994 | Deutsche Schule Genf, Schweiz                             |
| 1994 – 2000 | Kurpfalgynasium Schriesheim (Abschluss: Abitur; Note 1,4) |

---

## ***Im Rahmen dieser Dissertation bisher entstandene Arbeiten***

### **Publikationen:**

1. Krahl, M., W. Back, and S. Kreis. *Fructan and Arabinoxylan in Malting and Brewing of Wheat and Rye*. in *31st EBC Congress*. 2007. Venice: Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.
2. Krahl, M., et al., *Isotonie bei Getränken*. *Getränkeindustrie*, 2007(11): p. 30-33.
3. Kreis, S., M. Krahl, and M. Zarnkow, *Glutenfreie, funktionelle Getränke auf Basis vermälzter Zerealien und Pseudozerealien*. *Lebensmitteltechnologie*, 2007(10).
4. Burberg, F., et al., *Qualitätsbrauweizen - Ergebnisse der Kleinmälzung der Sortenbetrachtung 2007*. *Brauwelt*, 2008. **148**(36): p. 1030-1034.
5. Krahl, M., et al., *Changes of the content of water-soluble bioactive compounds during the malting process of spelt wheat (*Triticum aestivum* var. *spelta*)*. *BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft)*, 2008. **61**: p. 170-174.
6. Krahl, M., et al., *Erwünschter Ballast: Inulin und Oligofruktose - lösliche Ballaststoffe als biofunktionelle Getränkesupplementstoffe*. *Getränkeindustrie*, 2008(5): p. 10-13.
7. Krahl, M., et al., *Arabinoxylan (Pentosan) in der Malz- und Bierbereitung*. *Brauwelt*, 2008. **148**(10): p. 248-252.
8. Krahl, M., et al., *Determination of optimised malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench)*. *Journal of the Institute of Brewing*, 2009. **114**(4): p. 294-299.
9. Krahl, M., S. Dold, and T. Becker, *Getränkeinhaltsstoffe und deren Resorption nach körperlicher Belastung*. *Der Weihenstephaner*, 2009. **77**(4): p. 128-133.
10. Krahl, M., et al. *Novel malt-based beverages*. in *IBD Africa Section Convention*. 2009. South Africa.
11. Krahl, M., G. Egle, and W. Back, *Bezalkoholowe, izotoniczne napoje produkowane na bazie słodu*. *Agro Przemysl*, 2009(1): p. 46-51.

- 
12. Zarnkow, M., et al., *The Use of Response Surface Methodology to Optimise Malting Conditions of Triticale (xTriticosecale Wittmack) as a Raw Material for Alternate Fermented Beverages*. *BrewingScience (Monatsschrift für Brauwissenschaft)*, 2009. **62(2)**: p. 54-66.
  13. Krahl, M., et al., *Arabinoxylan and Fructan in the Malting and Brewing Process*. *Quality Assurance and Safety of Crops and Food*, 2009. **1(4)**: p. 244-256
  14. Krahl, M., et al., *Determination of the influence of the malting parameters on the water-soluble arabinoxylan content of wheat (Triticum aestivum L.), rye (Secale cereale) and spelt wheat (Triticum aestivum spp. spelta)*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2010. **68(1)**: p. 34-40
  15. Krahl, M., *Auf ein Wort - Der glykämische Index von Bier, ein großes Mißverständnis?* *Brauindustrie*, 2009. **94(12)**: p. 25
  16. Krahl, M. and W. Back, *Der glykämische Index von Getränken*. *Brauwelt*, 2009. **149(15-16)**: p. 431-435.
  17. Krahl, M. and W. Back, *The glycaemic index of beverages*. *Brauwelt International*, 2010/I: p.35-39
  18. Krahl, M., S. Dold, and T. Becker, *Einfluss von Getränkeinhaltsstoffen auf deren Resorption nach körperlicher Belastung*. *Der Weihenstephaner*, 2009(4): p. 128-133.
  19. Krahl, M., S. Müller, and W. Back, *Arabinoxylans (Pentosan) in malt and beer preparation*. *Brauwelt International*, 2010. **in Press**.
  20. Krahl, M., M. Zarnkow, and T. Becker, *Der glykämische Index von Getränken*. *Getränkeindustrie*, 2009. **63(12)**: p.30-33
  21. Krahl, M., et al., *Flavor stability of novel malt-based beverages*. *MBAA TQ*, 2009. **46(4)**

---

## Vorträge:

1. Krahl, M., C. Hagel, and W. Back, *Bioactive compounds in the malting process*, in *1st International Symposium for Young Scientists in Brewing, Malting and Distilling*. 2008: Cork, Ireland.
2. Krahl, M., S. Kreis, and W. Back, *Functional components in malting and brewing*, in *World Brewing Congress*. 2008: Honolulu, HI, USA.
3. Krahl, M. and W. Back, *Novel malt-based beverages*, in *29th International Exhibition-Congress on Chemical Engineering, Environmental Protection and Biotechnology*. 2009: Frankfurt am Main.
4. Krahl, M. and W. Back, *Novel malt-based beverages*, in *ASBC Annual Meeting*. 2009: Tucson, Arizona, USA.
5. Krahl, M., et al. *Novel malt-based beverages*. in *IBD Africa Section Convention*. 2009. South Africa.
6. Krahl, M., K. Reglitz, and W. Back, *Excretion of bioactive compounds from yeast induced through maltreatment in the brewing process*, in *ASBC Annual Meeting*. 2009: Tucson, Arizona, USA.
7. Krahl, M., *Der glykämische Index von Getränken*, in *Österreichische Braumeistertagung Zwettl*. 2009.
8. Krahl, M. and T. Becker, *Bioactive compounds in the malting process*, in *122nd MBAA Anniversary Convention*. 2009: La Quinta, CA, USA.
9. Krahl, M., F. Stürmer, and T. Becker, *Flavour stability of novel malt-based beverages*, in *122nd MBAA Anniversary Convention*. 2009: La Quinta, CA, USA.
10. Krahl, M. and T. Becker, *Innovative malt-based beverages*, in *IBD Asia Pacific Convention*. 2010: Surfers Paradise, Queensland, Australia

---

## Poster Präsentationen:

1. Krahl, M. and W. Back, *Novel malt-based beverages*, in *32nd European Brewery Convention Congress*. 2009: Hamburg.
2. Krahl, M. and W. Back, *Novel malt-based beverages*, in *ASBC Annual Meeting*. 2009: Tucson, Arizona, USA.
3. Krahl, M., K. Bakic, and W. Back, *Cryoscopy as an analytic tool in lactic acid fermentation*, in *32nd European Brewery Convention Congress*. 2009: Hamburg.
4. Krahl, M., S. Müller, and W. Back, *Arabinoxylan and Fructan in the malting and brewing process*, in *4th Dietary Fiber Conference*. 2009: Vienna, Austria.
5. Krahl, M., W. Back, and S. Kreis. *Fructan and Arabinoxylan in Malting and Brewing of Wheat and Rye*. in *31st EBC Congress*. 2007. Venice: Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.
6. Krahl, M., W. Back, and S. Kreis, *Soluble dietary fiber during the malting process*, in *DECHEMA - Lebensmittelwissenschaften im Fokus*. 2007: Frankfurt.
7. Krahl, M., et al., *Rye as a raw material for malting and brewing*, in *ICC Jahrestagung*. 2007: Potsdam-Rehbrücke.
8. Auer, A., M. Krahl, and W. Back, *Inulin and oligofructose as functional beverage ingredients*, in *1st International Symposium for Young Scientists in Malting, Brewing and Distilling*. 2008: Cork.
9. Krahl, M., W. Back, and S. Kreis, *Influence of variety and provenience on the arabinoxylan content of wheat (*Triticum Aestivum*)*, in *World Brewing Congress*. 2008: Honolulu/HI.
10. Krahl, M., et al., *Anreicherung von Polyphenolen in Buchweizen durch den Mälzungsprozess*, in *Plant Phenolics for the Health of Plants, Humans and Livestock*. 2009: Wissenschaftszentrum Weihenstephan.