

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I
der Technischen Universität München

**Systematische Untersuchungen zur endogenen
antioxidativen Aktivität von hellem, untergärigem Bier
unter besonderer Berücksichtigung technologischer
Maßnahmen beim Brauprozess**

Oliver Franz

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

Doktor-Ingenieurs (Dr.-Ing.)

genehmigten Dissertation.

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

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.-Ing., Dr.-Ing. habil. Werner Back
2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat., Dr. agr. habil. Harun Parlar

Die Dissertation wurde am 27.04.2004 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 22.06.2004 angenommen.

Für meine Eltern

VORWORT

Die vorliegende Arbeit ist im Zeitraum vom Februar 1999 bis November 2003 am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I der Technischen Universität München entstanden.

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Werner Back für die Überlassung des Themas, seine aktive Unterstützung bei dieser Arbeit und das Vertrauen, dass er mir als wissenschaftlichen Assistenten entgegengebracht hat.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ludwig Narziß, der mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Vielen Dank auch an Dr. Clemens Forster für die Vermittlung der Doktorandenstelle und seine aktive und kompetente Betreuung im ersten Jahr dieser Arbeit.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Takashi Nakamura für die sehr gute Zusammenarbeit und das Bereitstellen der Forschungsergebnisse.

Diese Arbeit wurde finanziell von der Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. und AIF Otto von Guericke e.V. (AIF 12605) unterstützt. In diesem Zusammenhang möchte ich mich bei den Institutionen herzlich bedanken, vor allem aber bei Frau Dr. Winkelmann, die mir bei organisatorischen Fragen sehr geholfen und mir so die Arbeit deutlich erleichtert hat.

Vielen Dank an Herrn Markus Herrmann für seine aktive Unterstützung im Laborbereich.

Frau Michaela Marschmann verdanke ich aufgrund ihrer zuverlässigen und selbständigen Arbeitsweise eine große Anzahl an Ergebnissen.

Besonderer Dank auch an meine Studien-, Semester- und Diplomarbeiten Ralf Scheffer, Joachim Böhm, Michael Burkhardt, Vivian Hormuth, sowie Lorenz Gabel, Franz Kummert und besonders Michael Wurzbacher.

VERÖFFENTLICHUNGEN

BACK, W., FRANZ, O. und NAKMURA, T.: Das antioxidative Potenzial von Bier.
In: Brauwelt 6-7 (141), 2001, 209 – 215.

NAKAMURA, T., FRANZ, O. and BACK, W.: pH dependence of radical scavenging activity of polyphenols, phenolic acid and sulfite. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Budapest, 2001, 612 – 620.

FRANZ, O. and BACK, W.: DPPH-scavenging activity of beer and polyphenols measured by ESR. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Budapest, 2001, 621 – 630.

FRANZ, O. und BACK, W.: Erfahrungen zur Messung von freien Radikalen mittels Elektronenspinresonanz-Spektrometer in der Brauerei. In: Monatsschrift der Brauwissenschaft, 55 (7/8), 2002, 156 – 162.

FRANZ, O. and BACK, W.: Stability Index – A New Approach To Measure The Flavor Stability of Beer. In: MBAA Tech. Quart. 40 (1), 2003, 20 – 24.

FRANZ, O. and BACK, W.: Continuous measurement of oxidation reactions during mashing by chemiluminescence detection. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Dublin, 2003, 941 – 951.

Abschlussbericht zum Projekt 12605N aus Haushaltsmitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) über die Arbeitsgemeinschaft industrielle Forschungsvereinigungen (AiF) "Otto von Guericke" e. V. und der Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. (März 2003):

Systematische Untersuchungen zur endogenen antioxidativen Aktivität von Bier unter besonderer Berücksichtigung der Polyphenole und ihrer Veränderung beim Brauprozess.

Als PDF-File zum downloaden auf der Homepage des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I (<http://www.weihenstephan.de/blm/bt1/>).

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	PROBLEMSTELLUNG	1
3	GRUNDLAGEN	3
3.1	Freie Radikale in Bier.....	3
3.2	Wirkungsweise von Antioxidanzien.....	5
3.3	Polyphenole und ihre antioxidative Wirkung.....	6
3.3.1	Klassifizierung von Polyphenolen.....	6
3.3.1.1	Phenolcarbonsäuren.....	6
3.3.1.2	Flavonoide.....	7
3.3.2	Phenolische Substanzen als Antioxidanzien.....	9
3.4	Die Veränderung phenolischer Substanzen im Mälzungs- und Brauprozess.....	12
3.5	Technologische Einflüsse auf die Veränderung der antioxidativen Aktivität phenolischer Substanzen im Mälzungs- und Brauprozess.....	15
3.6	Die Rolle des Schwefeldioxids im Brauprozess.....	23
3.6.1	Die antioxidative Wirkung von Schwefeldioxid.....	23
3.6.1.1	Reaktionsmechanismen der Oxidation von SO ₂	23
3.6.1.2	Die reduzierende Wirkung von SO ₂ im Bier.....	23
3.6.2	Die Produktion von SO ₂ durch die Hefe während der Gärung..	24
3.6.3	Technologische Einflussfaktoren auf die SO ₂ -Bildung.....	25
3.6.3.1	Einfluss des Hefestamms und der Hefevitalität.....	25
3.6.3.2	Einfluss der Würzequalität.....	26
3.6.3.3	Einfluss der Hefegabe.....	26
3.6.3.4	Einfluss des Belüftungsumfangs.....	27
3.6.3.5	Einfluss der Gärtemperatur.....	27
3.7	Zusammenhang zwischen der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time) und der Geschmacksstabilität.....	28
3.8	Einfluss der Anstelltechnik (Draufflasstechnik) auf die Bildung von Schwefeldioxid.....	28

3.9	Technologische Maßnahmen zur Steigerung der Geschmacksstabilität anhand der Messung der Lag-Time.....	30
3.10	Messung von Oxidationsreaktionen in Bier mittels Chemilumineszenz-Detektion.....	31
4	MATERIAL UND METHODEN.....	32
4.1	Chemisch-technische Analysen.....	32
4.1.1	Malzanalysen.....	32
4.1.2	Bestimmung der Gesamtpolyphenole.....	32
4.1.3	Bestimmung der Anthocyanogene.....	32
4.1.4	Bestimmung der Tannoide.....	32
4.1.5	Bestimmung der Flavonoide.....	33
4.1.6	Bestimmung des Reduktionsvermögens.....	33
4.1.7	Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung des Gehaltes an phenolischen Substanzen.....	34
4.1.8	Bestimmung von Gesamt-Schwefeldioxid.....	35
4.2	Bestimmung der Gehalte an einzelnen phenolischen Substanzen in Malz und Bier (HPLC-Methode).....	35
4.3	Elektronenspinresonanz-Spektrometrie.....	36
4.3.1	Verwendete Elektronenspinresonanz-Spektrometer (ESR)....	36
4.3.2	Bestimmung der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time)	36
4.3.2.1	Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten.....	36
4.3.2.2	Methode zur Bestimmung der Lag-Time.....	37
4.3.2.3	Methode zur Bestimmung freier Radikale im Feststoff Malz.....	39
4.4	Messungen mit dem Chemilumineszenzdetektor.....	40
4.4.1	Verwendetes Chemilumineszenzmessgerät.....	40
4.4.2	Direkte Messung von Malz und Bier.....	40
4.5	Anstelltechnik und Gärührung in den Corneliusbehältern.....	40
4.6	Forcierte Alterung der untersuchten Biere.....	41
4.7	Bestimmung der Alterungsindikatoren.....	41
4.8	Alterungsverkostung nach Eichhorn.....	42

5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	43
5.1	Entwicklung spezifischer Analysen zur Messung antioxidativer Reaktionen im Brauprozess.....	43
5.1.1	Bestimmung des antiradikalischen Verhaltens.....	43
5.1.2	Entwicklung der Analytik des antiradikalischen Potenzials.....	46
5.1.3	Bestimmung des antiradikalischen Potenzials.....	52
5.2	Beurteilung phenolischer Substanzen aufgrund ihres antiradika- lischen Potenzials.....	54
5.3	Berechnung des Stabilitätsindex.....	58
5.4	Der Stabilitätsindex in verschiedenen Biersorten.....	61
5.5	Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Analytik von Radikalen....	64
5.5.1	Einflüsse der Probenbeschaffenheit auf ESR-Messungen mittels Spin-Trap Technik.....	64
5.5.1.1	Einfluss der Probenvorbereitung auf die Radikalentstehung	64
5.5.1.2	Untersuchung des Einflusses des Ethanol auf die Radikalmessung mittels Spin-Trap-Technik.....	65
5.5.1.3	Einfluss des pH-Wertes, des Extraktgehaltes und des Ethanolgehaltes der Probe auf die Radikalmessung.....	67
5.5.1.4	Die Veränderung des pH-Wertes der Probe während des Forciertests zur Radikalbestimmung.....	68
5.5.1.5	Spin-Trap Technik versus antioxidative Aktivität einzelner Substanzen.....	72
5.5.2	Einfluss des pH-Wertes auf die antiradikalische Aktivität von phenolischen Substanzen und Sulfite.....	74
5.6	Kontinuierliche Messung von Oxidationsreaktionen während des Maischens mittels Chemilumineszenzdetektion.....	79
5.7	Untersuchung von phenolischen Substanzen in Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malzen.....	88
5.7.1	Gehalt an Gesamtpolyphenolen.....	89
5.7.2	Gehalt an Anthocyanogenen.....	90
5.7.3	Gehalt an Tannoiden.....	92
5.7.4	Gehalt an Flavonoiden.....	93

5.8 Untersuchung der antioxidativen Tests in Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze.....	94
5.8.1 Messung der Lag-Time und des antiradikalischen Verhaltens..	94
5.8.2 Messung des antiradikalischen Potenzials.....	96
5.8.3 Messung des Reduktionsvermögens.....	98
5.8.3 Messung des Stabilitätsindex.....	98
5.9 Beurteilung von Malzen verschiedener Anbaugebiete.....	100
5.9.1 Gehalte an phenolischen Substanzen.....	100
5.9.2 Beurteilung der antioxidativen Tests.....	102
5.10 Auswirkungen des antioxidativen Potenzials des Malzes auf das Einmaischen.....	107
5.11 Zusammenhang zwischen einzelnen phenolischen Substanzen im Malz und deren nasschemischen Analytik.....	109
5.12 Untersuchung der Maische- und Würzesäuerung.....	110
5.12.1 Ergebnisse der Maischesäuerung.....	111
5.12.1.1 Beurteilung der antioxidativen Tests.....	111
5.12.1.2 Gehalt an Schwefeldioxid.....	113
5.12.1.3 Verkostungsergebnisse der Biere.....	115
5.12.1.4 Gehalte an phenolischen Substanzen.....	118
5.12.2 Ergebnisse der Würzesäuerungsversuche.....	120
5.12.2.1 Beurteilung der antioxidativen Tests und der Gehalt an Schwefeldioxid.....	120
5.12.2.2 Verkostungsergebnisse der Biere.....	122
5.12.2.3 Gehalte an phenolischen Substanzen.....	124
5.12.3 Vergleich aller Ergebnisse aus den Säuerungsversuchen.....	125
5.13 Radikalmessungen während der Würzekochung.....	127
5.14 Untersuchungen zur Bildung von Schwefeldioxid in Abhängigkeit von der Anstelltechnologie in zylindrokönischen Gärtanks.....	129
5.14.1 Einfluss der Belüftung der Anstellwürzen.....	129
5.14.2 Einfluss des Drauflasszeitpunktes eines belüfteten Sudes.....	132
5.15 Untersuchung der Veränderung phenolischer Substanzen und der antioxidativen Tests während der Gärung in der Praxis.....	136

5.16	Untersuchungen zum Einfluss von Glutathion auf die Geschmacksstabilität.....	137
5.17	Untersuchungen zur prooxidativen Wirkung von L-Cystein.....	141
5.18	Untersuchungen zum Einfluss von Stabilisierungsmitteln auf die antioxidativen Tests.....	143
5.19	Einfluss der Stabilisierung auf das antioxidative Potenzial und den Gehalt an phenolischen Substanzen in der Praxis.....	147
5.19.1	Untersuchung des Biertyps Helles.....	147
5.19.2	Untersuchung des Biertyps Pils.....	149
5.19.3	Untersuchung des Biertyps Export.....	150
5.19.4	Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen aller untersuchten Biere innerhalb der Brauerei.....	152
5.20	Gegenüberstellung des antioxidativen Potenzials phenolischer Substanzen und ihrem Beitrag zur Trübung.....	156
5.21	Zusammenhänge zwischen der nasschemischen Analytik von Polyphenolen und den Gehalten an einzelnen phenolischen Substanzen.....	160
5.22	Untersuchungen zur Alterung abgefüllter Biere.....	163
5.22.1	Einfluss der Alterung auf die Gehalte an phenolischen Substanzen.....	163
5.22.2	Einfluss der Alterung auf das antiradikalische Potenzial.....	165
5.22.3	Einfluss der Alterung auf die Lag-Time und Schwefeldioxid....	167
5.23	Marktanalyse von 40 Bieren zur Beurteilung der Anwendbarkeit der Analytik zur Bestimmung der Geschmacksstabilität.....	169
5.23.1	Beurteilung der Geschmacksstabilität forciert gealterter Biere.....	169
5.23.2	Beurteilung der Geschmacksstabilität natürlich gealterter Biere.....	172
6	ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG.....	176
7	LITERATUR.....	180
8	ANHANG.....	189

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Zusammenhang zwischen elementarem Sauerstoff und seinen reaktiven Formen	3
Abbildung 2: Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion	4
Abbildung 3: Struktur der Phenolcarbonsäuren	6
Abbildung 4: Grundstruktur von Flavonoiden	7
Abbildung 5: Struktur der Flavan-3-ole	7
Abbildung 6: Verknüpfungen der monomeren Flavanmoleküle	8
Abbildung 7: Struktur der Flavanone	9
Abbildung 8: Struktur der Flavone und Flavonole	9
Abbildung 9: Stabilisierung des Phenoxyradikals durch Wanderung des ungepaarten Elektrons	10
Abbildung 10: Entstehung von Schwefeldioxid während der Hauptgärung	24
Abbildung 11: Bildung von Schwefeldioxid während der Hauptgärung in Abhängigkeit von der Hefeführung	25
Abbildung 12: Zusammenhang zwischen der Lag-Time und dem Gehalt an Schwefeldioxid	28
Abbildung 13: Ausdruck des Tannometers für die Bestimmung der Tannoide	33
Abbildung 14: Ausdruck des Tannometers für die Bestimmung Des Reduktionsvermögens	34
Abbildung 15: Reaktion von PBN mit dem Hydroxylradikal zum Spin-Addukt	37
Abbildung 16: Aufgenommenes Spektrum des Hydroxylradikal-Spinadduktes am ESR	37
Abbildung 17: Bestimmung der Lag-Time	38
Abbildung 18: Verteilung der Lag-Time in 388 untersuchten untergärigen Bieren	38
Abbildung 19: ESR-Spektrum freier Radikale im Feststoff Malz	39
Abbildung 20: Formblatt zur Alterungsverkostung	42
Abbildung 21: Ermittlung des antiradikalischen Verhaltens	44
Abbildung 22: Zusammenhang zwischen dem antiradikalischen Verhalten und der Lag-Time	45
Abbildung 23: Bestimmung der DPPH Reducing Activity	46
Abbildung 24: DPPH Reducing Activity zweier heller Biere	47
Abbildung 25: DPPH Reducing Activity von dunklen Bieren	47
Abbildung 26: Spektrum von DPPH am ESR	49
Abbildung 27: Bestimmung der DPPH Reducing Activity und der IC ₅₀ mittels Spektralphotometer	50
Abbildung 28: Bestimmung DPPH Reducing Activity und der IC ₅₀ mittels ESR	51
Abbildung 29: Auswertung des antiradikalischen Potenzials	52
Abbildung 30: Korrelation zwischen dem antiradikalischen Potenzial und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen im abgefüllten Bier	53
Abbildung 31: Steigerung des antiradikalischen Potenzials von Bier durch Zugabe von phenolischen Substanzen	55
Abbildung 32: Antiradikalisches Potenzial einzelner phenolischer Substanzen und ihres Gemisches	56

Abbildung 33: Einfluss von Sulfid auf die Messung des antiradikalischen Potenzials	57
Abbildung 34: Korrelation zwischen dem Stabilitätsindex im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz des forciert gealterten Bieres	59
Abbildung 35: Häufigkeitsverteilung des Stabilitätsindex von 104 Proben	60
Abbildung 36: Der Stabilitätsindex von hellen Lagerbieren und Pilsbieren	61
Abbildung 37: Der Stabilitätsindex von alkoholfreien untergärigen Bieren und Fest- bzw. Bockbier	62
Abbildung 38: Der Stabilitätsindex in obergärigen Bieren (Weizenbieren)	63
Abbildung 39: Vergleich der Radikalenstehung während des Entkohlen-säuern mittels Ultraschall und während des oxidativen Forciertests	64
Abbildung 40: ESR-Spektrum des PBN-Hydroxylradikalspinadduktes und ESR-Spektrum des PBN-1-Hydroxyethylradikalspinadduktes	65
Abbildung 41: Einfluss des Ethanolgehaltes auf die Messung des Hydroxyl- bzw. 1-Hydroxyethylradikals	66
Abbildung 42: Vergleich der Radikalentstehung während des oxidativen Forciertests: PBN in reinem Wasser und ethanolischer Lösung gelöst	66
Abbildung 43: Veränderung der Radikalentstehung in Abhängigkeit des eingestellten pH-Wertes zu Beginn der Messung	68
Abbildung 44: Verlauf der Radikalentstehung und des pH-Wertes der Probe während des oxidativen Forciertests	69
Abbildung 45: Verlauf der pH-Werte während des oxidativen Forciertests von 5 Bieren	70
Abbildung 46: Unterschiedliche Extinktionszunahmen (Entstehung von Benzaldehyd) während des Forciertests.	70
Abbildung 47: Einfluss der Absenkung des pH-Wertes nach dem Forciertest auf die Radikalentstehung	71
Abbildung 48: Verlauf der Radikalentstehung in Bier nach Zugabe von phenolischen Substanzen	72
Abbildung 49: Abnahme des Chemilumineszenzsignals nach Zudosage von antioxidativ reagierenden Substanzen	75
Abbildung 50: Auswertung der IC_{50} der Substanzen am Beispiel von Sulfid	75
Abbildung 51: Abnahme des ESR Signals nach Zudosage von antioxidativen Substanzen	75
Abbildung 52: Auswertung der IC_{50} bei der ESR Methode am Beispiel von Gallussäure	76
Abbildung 53: Einwaage von Malzschrot in das Probenschälchen und Probenschälchen im Probenraum (offen) mit der Spritze zur Wasserzugabe	80
Abbildung 54: Chemilumineszenzsignal von Pilsener Malz	80
Abbildung 55: Chemilumineszenzsignal von Pilsener Malz	81
Abbildung 56: Verlauf des Chemilumineszenzsignals beim Einmischen von Pilsener Malz nach Zudosage des Reagenz CLA	82
Abbildung 57: Chemilumineszenzsignal während des Einmischvorganges	83
Abbildung 58: Chemilumineszenzsignal beim Einmischen von Pilsener Malz mit unterschiedlichen Zugaben von Sinapinsäure	83
Abbildung 59 : Charakteristische Parameter der Chemilumineszenz-messung während des Einmischens	84
Abbildung 60: Chemilumineszenzsignal verschiedener Malze	

beim Einmaischen	85
Abbildung 61: Zusammenhang zwischen dem Chemilumineszenzsignal des Einmischpeaks und der Summe an Streckeraldehyden in den Würzen der Versuchssude	86
Abbildung 62: Zusammenhang zwischen dem 2. Peak des Chemilumineszenzsignals beim Einmaischen und dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in den Würzen der Versuchssude	87
Abbildung 63: Zusammenhang zwischen dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden und dem Polymerisationsindex der hergestellten Würzen	87
Abbildung 64: Gehalt an Gesamtpolyphenolen in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze	89
Abbildung 65: Gehalt an Anthocyanogenen in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze	90
Abbildung 66: Polymerisationsindex in den Kaltauszügen aus Gerste, Weizen und deren Malze	91
Abbildung 67: Gehalt an Tannoiden in den Kaltauszügen von Gerste und dessen Malze	92
Abbildung 68: Gehalt an Flavonoiden in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze	93
Abbildung 69: Antiradikalisches Verhalten der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze	95
Abbildung 70: Antiradikalisches Potenzial der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze	96
Abbildung 71: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und dem antiradikalischen Potenzial in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze	96
Abbildung 72: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Anthocyanogenen und dem antiradikalischen Potenzial in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze	97
Abbildung 73: Reduktionsvermögen der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze	98
Abbildung 74: Stabilitätsindex der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze	99
Abbildung 75: Gehalt an Gesamtpolyphenolen in Kaltauszügen von Malzen verschiedener Anbauggebiete	100
Abbildung 76: Gehalt an Anthocyanogenen und Tannoiden in Kaltauszügen von Malzen verschiedener Anbauggebiete	101
Abbildung 77: Polymerisationsindex und Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in Kaltauszügen von Malzen aus verschiedenen Anbaugebieten	102
Abbildung 78: Antiradikalisches Potenzial der Malze aus verschiedenen Anbaugebieten	103
Abbildung 79: Antiradikalische Tests von zwei Gerstensorten aus zwei verschiedenen Anbaugebieten	103
Abbildung 80: Freie Radikale in Malzen verschiedener Anbauggebiete gemessen mittels Elektronenspinresonanz-Spektrometrie	105
Abbildung 81: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an freien Radikalen	

und dem Gehalt an Sinapinsäure in den Malzen aus dem Anbaugebiet A	105
Abbildung 82: Vergleich der mittels Chemilumineszenz gemessenen Basislinien von Malzen aus verschiedenen Anbaugebieten	106
Abbildung 83: Zusammenhang zwischen dem Chemilumineszenzsignal beim Einmaischen und dem Gehalt an Tannoiden bzw. dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in der Ausschlagwürze	107
Abbildung 84: Zusammenhang zwischen phenolischen Substanzen im Malz und dem Gehalt an Anthocyanogenen im Malzkaltauszug	109
Abbildung 85: Stabilitätsindex der Biere aus den Maischesäuerungsversuchen	112
Abbildung 86: Die antiradikalischen Tests in den Bieren der Maischesäuerungsversuche	113
Abbildung 87: Gehalt an Schwefeldioxid in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen	114
Abbildung 88: DLG Verkostung der Biere aus den Maischesäuerungsversuchen	115
Abbildung 89: Alterungsnoten der forciert gealterten Biere aus den Maischesäuerungsversuchen	116
Abbildung 90: Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere aus Würzesäuerungsversuchen	117
Abbildung 91: Gehalt an Tannoiden in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen	118
Abbildung 92: Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen	119
Abbildung 93: Stabilitätsindex und Gehalt an Schwefeldioxid der Biere aus den Würzesäuerungsversuchen	120
Abbildung 94: Die antiradikalischen Tests in den Bieren der Würzesäuerungsversuche.	121
Abbildung 95: DLG Verkostung der Biere aus den Würzesäuerungsversuchen	122
Abbildung 96: Alterungsnote und Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere aus den Würzesäuerungsversuchen	123
Abbildung 97: Gehalt an Tannoiden und das Verhältnis der Gesamtpolyphenole zu den Tannoiden in den Bieren aus den Würzesäuerungsversuchen	124
Abbildung 98: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Tannoiden im Frischen Bier und der Alterungsnote bzw. der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere	126
Abbildung 99: Verlauf der Radikalentstehung in der Würzepfanne	127
Abbildung 100: Chemilumineszenzsignal während des Kochens (100 °C) von gehopfter und ungehopfter Würze	128
Abbildung 101: Zusammenhang zwischen der Belüftung und dem gelösten Sauerstoff mit und ohne Hefe	129
Abbildung 102: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang bei verschiedenen Gärvolumina	130
Abbildung 103: SO ₂ -Bildung zweier Hefen A und B in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang	131
Abbildung 104: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt einer zweiten Belüftung	132

Abbildung 105: SO ₂ -Bildung und wirklicher Vergärungsgrad am 12. Gärtag in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung	133
Abbildung 106: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung bei gleichem Vergärungsgrad	134
Abbildung 107: Einfluss des Belüftungsgrades und Drauflasszeitpunktes des zweiten Sudes auf die SO ₂ -Bildung während der Hauptgärung	135
Abbildung 108: Veränderung der phenolischen Substanzen von der Würze bis zum Bier im Typ Helles	136
Abbildung 109: Veränderung der phenolischen Substanzen von der Würze bis zum Bier im Typ Pils	137
Abbildung 110: Veränderung der antioxidativen Tests von der Würze bis zum Bier im Typ Helles und Pils	138
Abbildung 111: Die Veränderung der Steigung des Graphen der Radikalmessung im Laufe des Brauprozesses	139
Abbildung 112: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Tannoiden in der Würze und der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere	140
Abbildung 113: Einfluss von L-Cystein auf die Lag-Time Messung	142
Abbildung 114: Einfluss verschiedener Stabilisierungsmittel auf die Veränderung der antioxidativen Tests	143
Abbildung 115: Veränderung der Gehalte an phenolischen Substanzen durch Verwendung unterschiedlicher Stabilisierungsmittel	144
Abbildung 116: Einfluss der PVPP-Dosage auf das antiradikalische Potenzial	145
Abbildung 117: Einfluss der Dosage von Kieselgel auf die Lag-Time Messung	146
Abbildung 118: Einfluss der Kieselgurdosage auf die Lag-Time Messung	146
Abbildung 119: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Helles	147
Abbildung 120: Veränderung der antioxidativen Tests während der Stabilisierung und Filtration bei der Biersorte Helles	148
Abbildung 121: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Pils	149
Abbildung 122: Veränderung der antioxidativen Tests bei der Biersorte Pils	150
Abbildung 123: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Export	151
Abbildung 124: Veränderung der antioxidativen Tests in der Biersorte Export	151
Abbildung 125: Alterungsindikatoren der untersuchten frischen und forciert gealterten abgefüllten Biere	153
Abbildung 126: Zusammenhang zwischen den Sauerstoffindikatoren im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz bzw. der Alterungsnote im forciert gealterten Bier	153
Abbildung 127: Zusammenhang zwischen der Summe der Alterungsindikatoren der forciert gealterten Biere und dem Stabilitätsindex der Biere vor dem Filter im Drucktank und der im abgefüllten Bier	154
Abbildung 128: Zusammenhang zwischen der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten abgefüllten Biere und	

dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen vor dem Filter, Drucktank und im abgefüllten Bier	155
Abbildung 129: Trübungsfaktor der phenolischen Reinsubstanzen	157
Abbildung 130: Trübungsfaktor phenolischer Substanzen berechnet auf den durchschnittlichen Gehalt in Bier	158
Abbildung 131: Relativer antiradikalischer Beitrag phenolischer Substanzen in Bier	158
Abbildung 132: Vergleich des Trübungsfaktors und des relative antioxidativen Beitrages einzelner phenolischer Substanzen in Bier	159
Abbildung 133: Zusammenhang zwischen der Bestimmung der Tannoide und dem Gehalt an Catechin in Bier	160
Abbildung 134: Verlauf des antiradikalischen Potenzials während der Alterung eines Bieres vom Typ Helles und die Ergebnisse der Alterungsverkostung	165
Abbildung 135: Verlauf des antiradikalischen Potenzials während der Alterung eines Bieres vom Typ Pils und die Ergebnisse der Alterungsverkostung	166
Abbildung 136: Verlauf des Gehaltes an Schwefeldioxid im abgefüllten Bier während der Lagerung	167
Abbildung 137: Verlauf der Lag-Time im abgefüllten Bier während der Lagerung	168
Abbildung 138: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Gesamt- polyphenolen und dem antiradikalischen Potenzial	169
Abbildung 139: Zusammenhang zwischen der Bestimmung der Alterungsindikatoren und der Alterungsakzeptanz in forciert gealterten Bieren	170
Abbildung 140: Zusammenhang zwischen den Sauerstoffindikatoren und der Alterungsverkostung in forciert gealterten Bieren	171
Abbildung 141: Gegenüberstellung der Summe an Alterungsindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren	172
Abbildung 142: Gegenüberstellung der Sauerstoffindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren	172
Abbildung 143: Gegenüberstellung der Wärmeindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren	173
Abbildung 144: Zusammenhang zwischen der Summe an Sauerstoff- indikatoren und der Alterungsakzeptanz in 3 Monate natürlich gelagerten Bieren	174
Abbildung 145: Gegenüberstellung der Alterungsakzeptanz forciert gealterter und 3 Monate natürlich gelagerter Biere	174

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten zur Spin-Trap Messung	36
Tabelle 2: Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten zur Messung von DPPH	48
Tabelle 3: Antiradikalisches Potenzial phenolischer Substanzen aus dem Brauprozess	54
Tabelle 4: Zusammensetzung eines Gemisches aus verschiedenen Phenolcarbonsäuren	56
Tabelle 5: IC ₅₀ der untersuchten Substanzen gegenüber Hydroxylradikal und Superoxidradikalanion	77
Tabelle 6: Quellenangaben für die verwendeten Gerstensorten	85
Tabelle 7: Verkostungsergebnisse der Versuche zur Glutathiondosage	140
Tabelle 8: Einfluss von Glutathion auf die Lag-Time Messung	141
Tabelle 9: Zusammenhang zwischen den nasschemischen Analysen Phenolischer Substanzen und den Gehalten an einzelnen Komponenten im abgefüllten Bier	161
Tabelle 10: Gegenüberstellung des Gehaltes an phenolischen Substanzen und der Alterungsakzeptanz forciert gealterter Biere	163
Tabelle 11: Pearsonscher Korrelationskoeffizient zwischen dem Gehalt an Phenolischen Substanzen im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere	164

1 EINLEITUNG

Das Thema dieser Doktorarbeit fällt unter das komplexe Gebiet der Geschmacksstabilität des Bieres. Diese stellt gerade in der heutigen Zeit ein sehr wichtiges Qualitätsmerkmal dar. Dabei wird das Ziel verfolgt, den ursprünglichen Charakter des Bieres von der Abfüllung bis zum Verbrauch beizubehalten (NARZIß 1995). Da das Bier fortwährend einem geschmacklichen Wandel unterworfen ist, sprach schon Dalgliesh nicht von der Stabilität, sondern von der 'geschmacklichen Instabilität' des Produktes (DALGLIESH 1977). Jedes Bier ist einem natürlichen Alterungsvorgang unterworfen, und es stellt sich die Frage, ob und wie lange das Bier aufgrund seiner reduzierend wirkenden Inhaltsstoffe in der Lage ist, diesen Ablauf zu verzögern. Es wird in diesem Zusammenhang von der endogenen antioxidativen Aktivität des Bieres gesprochen (YANAGI et al. 1997). Viele Untersuchungen konnten darüber Aufschluss geben, welche technologischen Einflüsse sich positiv oder negativ auf die Geschmacksstabilität auswirken. Grundlegend gilt der Sauerstoffeintrag nach der Gärung und auf dem Abfüllweg als wichtigste Ursache für Oxidationsvorgänge (NARZIß 1995). Bamforth schreibt, dass nicht der molekulare Sauerstoff, sondern seine reaktiven Formen hierfür verantwortlich sind. Im Vordergrund steht hierbei das Hydroxylradikal (BAMFORTH 1985). An dieser Erkenntnis greift die von den Japanern Uchida und Ono entwickelte Meßmethode an, die mit der Lag-Time als neuem Parameter zur Bewertung der Bierqualität beiträgt (UCHIDA et al. 1996ab, YANAGI et al. 1997). Sie ergänzt neben der Gaschromatographie, mit der Indikatorsubstanzen für die Alterung bestimmt werden können, die Bieranalytik.

2 PROBLEMSTELLUNG

Mit der Entdeckung freier Radikale in Bier und ihrer Beteiligung an Oxidationsreaktionen, sind im Bier enthaltene Antioxidanzien für die Geschmacksstabilität in den Vordergrund gerückt. Neben dem Schwefeldioxid, das nachweislich antioxidativ wirksam ist, sind vor allem die phenolischen

Substanzen, die als Radikalfänger fungieren können, von Bedeutung. Besonders in der Pflanzenforschung und Medizin gibt es hierzu eine Vielzahl an Veröffentlichungen.

Es war Aufgabe dieser Arbeit, die endogene antioxidative Aktivität des Bieres und ihre Veränderung während des Brauprozesses zu untersuchen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein von der Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. und AiF Otto von Guericke e.V. gefördertes Projekt (12605N), das sich spezifisch mit dem Einfluss der Polyphenole beschäftigte, durchgeführt. Dadurch lag der Schwerpunkt der Untersuchungen auf dem Einfluss des Brauprozesses auf die Gehalte an phenolischen Substanzen und deren Beteiligung an der Geschmacksstabilität von Bier. Die ernährungsphysiologischen und gesundheitlichen Aspekte der Polyphenole wurden in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

3 GRUNDLAGEN

3.1 Freie Radikale in Bier

Freie Radikale sind unabhängig existierende Spezies (Moleküle oder Ionen), die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen. Diese Spezies werden dadurch von Magnetfeldern angezogen (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1984). KANEDA et al. (1988) stellten eine Methode vor, freie Radikale in Bier mittels Spin-Trap Technik am Elektronenspinresonanz-Spektrometer zu messen. Sie detektierten das freie Radikal als Hydroxylradikal, das äußerst instabil sei und mit Hilfe des Spin-Trap Reagenz PBN stabilisiert und gemessen werden konnte. Dazu wurde das Bier bei 60 °C inkubiert. Die Methode ist in Kapitel 4.3.2 genauer erklärt. Durch den Einfluss der Temperatur, aber auch durch Metallionen wird Sauerstoff aus der elementaren Grundform in seine aktiven Stufen (Reactive Oxygen Species (ROS)) überführt (Abbildung 1).

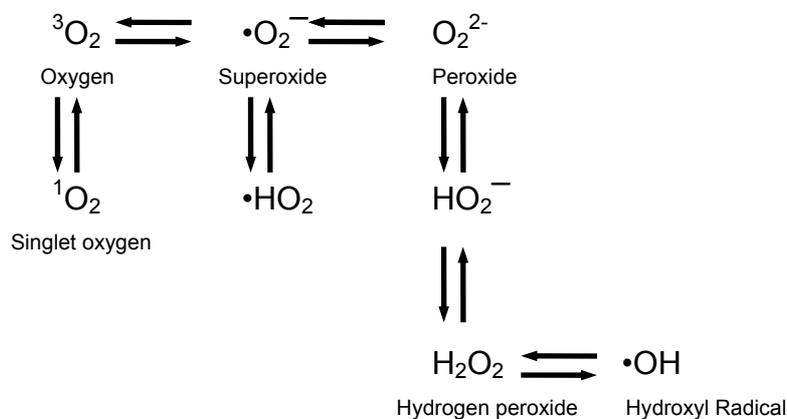
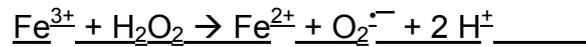


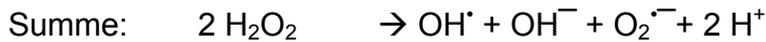
Abbildung 1: Zusammenhang zwischen elementarem Sauerstoff und seinen reaktiven Formen (UCHIDA und ONO 1996a).

KANEDA et al. (1989) zeigten, dass auch bei Zugabe von Wasserstoffperoxid ein gleichartiges Signal am ESR aufgenommen werden konnte. Kaneda schloss daraus, dass das Radikal aus Wasserstoffperoxid entstehen musste. Als mögliche Reaktionswege, bei denen auch Metallionen beteiligt sind, nannte er die Fenton und Haber-Weiss Reaktion.

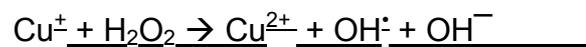
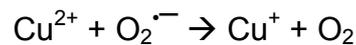
Fenton-Reaktion:



Fe



Haber-Weiss-Reaktion:



Cu

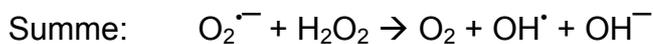


Abbildung 2 : Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion (BAMFORTH und PARSONS, 1985).

HALLIWELL und CUTTERIDGE (1984) schrieben, dass das Hydroxylradikal extrem reaktiv sei und mit fast allen Substanztypen reagieren kann. BAMFORTH und PARSONS (1985) machten das Hydroxylradikal, als reaktivste Form unter den Sauerstoffspezies, in erster Linie für die Entstehung des Alterungsgeschmacks verantwortlich. KANEDA et al. (1988) stellten zwei mögliche Reaktionswege während der Alterung des Bieres dar. Zum einen oxidiere das Hydroxylradikal Ethanol, freie Fettsäuren, Isohumulone und Zucker zu Aldehyden und Ketonen. Als Zweites diene das Hydroxylradikal als Starterradikal für Reaktionen zu weiteren Radikalformen, durch die daraufhin wiederum Aldehyde entstehen.

3.2 Wirkungsweise von Antioxidanzien

Folgende Definition für Antioxidanzien und ihre Wirkungsweise konnte in der Literatur gefunden werden:

Antioxidanzien sind Substanzen, die im Vergleich zu einem oxidierbaren Substrat in geringer Konzentration vorliegen und dessen Oxidation deutlich verzögern oder verhindern (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1984).

Es sind viele Reaktionsmechanismen, sowohl enzymatisch als auch nicht-enzymatisch, zu finden. Es soll an dieser Stelle nur auf die wichtigsten nicht-enzymatischen Reaktionen, wie sie im abgefüllten Bier vorkommen, eingegangen werden. Folgende Reaktionen sind in der Literatur genannt (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1984):

- Antioxidanzien können sich dadurch auszeichnen, dass sie Metallionen (z.B. Fe_2^+) in Form von Chelaten binden, so dass deren katalytische Wirkung an Oxidationsreaktionen aufgehoben wird.
- Sie können Radikalkettenreaktionen durch Abfangen des Starterradikals (Scavenging oder Quenchen) unterbinden.
- Sie können Radikalkettenreaktionen durch Abfangen eines Intermediärradikals (Chain-Breaking) unterbinden.

3.3 Polyphenole und ihre antioxidative Wirkung

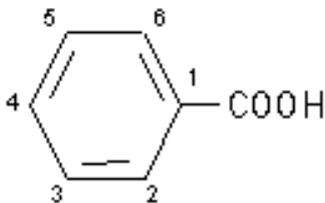
3.3.1 Klassifizierung von Polyphenolen

Phenolische Substanzen werden zu den sekundären Pflanzenstoffen gezählt. Sie werden nicht im Primärstoffwechsel gebildet oder verbraucht. Grundsätzlich wird zwischen Phenolcarbonsäuren und Flavonoiden unterschieden.

3.3.1.1 Phenolcarbonsäuren

Zu den Phenolcarbonsäuren gehören die Hydroxybenzoesäure-, Hydroxyzimtsäureverbindungen und deren Derivate. Wichtige Vertreter dieser Säuren, die auch in Bier vorkommen, sind in Abbildung 3 dargestellt.

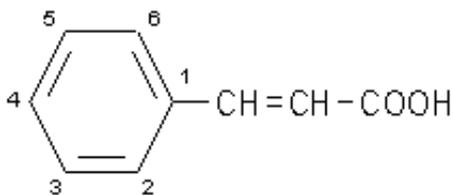
Hydroxybenzoesäure-Verbindungen:



Substituenten

- 4-OH p-Hydroxybenzoesäure
- 2,5-di-OH Gentisinsäure
- 3,4-di-OH Protocatechussäure
- 3,4,5-tri-OH Gallussäure
- 3-OCH₃, 4-OH Vanillinsäure
- 3,5-diOCH₃, 4-OH Syringinsäure

Hydroxyzimtsäure-Verbindungen:



Substituenten

- 4-OH p-Cumarsäure
- 3,4-di-OH Kaffeesäure
- 3-OCH₃, 4-OH Ferulasäure
- 5-Caffeoylchinasäure = Chlorogensäure

Abbildung 3: Struktur der Phenolcarbonsäuren.

Die Hydroxyzimtsäuren sind meist mit D-Glucose oder D-Chinasäure (z.B. Chlorogensäure) verestert. Dies ist bei den Hydroxybenzoesäuren ebenso der Fall. So zählen die Ester der Gallussäure zu einer der zwei Hauptklassen der pflanzlichen Gerbstoffe, zu den hydrolisierbaren Gerbstoffen oder Tanninen. Zur

zweiten Gruppe zählen die Proanthocyanidine, die kondensierbaren Gerbstoffe (BELITZ und GROSCH 1992).

Die Hydroxycimtsäuren entstehen enzymatisch aus dem Phenylalanin. Die Hydroxybenzoesäuren wiederum werden aus den Hydroxycimtsäuren analog der β -Oxidation der Fettsäuren gebildet (BELITZ und GROSCH 1992).

3.3.1.2 Flavonoide

Die Biosynthese der Flavonoide stellt sich als sehr komplex dar. Es wird an dieser Stelle nur auf die für die antioxidative Wirkung entscheidende strukturelle Unterscheidung eingegangen.

Die Flavonoide leiten sich strukturell vom Flavan (2-Phenyl-benzo-dihydropyran) ab.

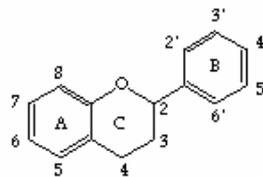
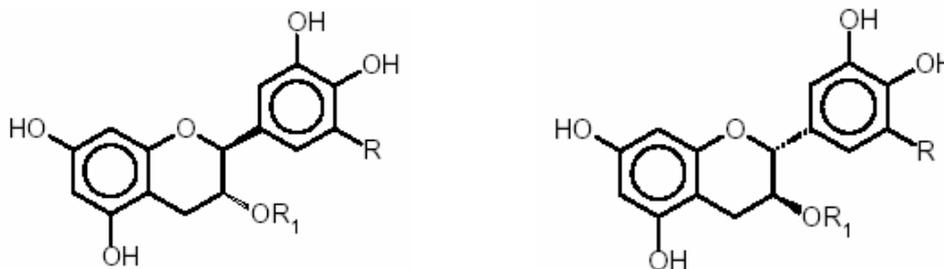


Abbildung 4: Grundstruktur von Flavonoiden.

Von diesem Grundgerüst ausgehend, lassen sich zum einen die Flavan-3-ole (Catechine) ableiten.



Substituenten:

$R_1 = H, R = H$ (+)-Catechin
 $R_1 = H, R = OH$ (+)-Gallocatechin
 $R_1 = \text{Gallat}, R = OH$ (+)-Gallocatchingallat

Substituenten:

$R_1 = H, R = H$ (-)-Epicatechin
 $R_1 = H, R = OH$ (-)-Epigallocatechin
 $R_1 = \text{Gallat}, R = OH$ (-)-Epigallocatchingallat

Abbildung 5: Struktur der Flavan-3-ole (BELITZ und GROSCH 1992).

Die Flavan-3,4-diole auf der anderen Seite sind kurzlebige Vorstufen der Anthocyane und Flavan-3-ole. Als Zwischenstufe wird ein Carboanion angenommen. Fehlt ein Reduktans, z.B. NADPH, so kann das Anion mit Flavan-3-olen zu Dimeren und höheren Oligomeren, den so genannten Proanthocyanidinen oder auch kondensierbaren Gerbstoffen, reagieren. Besteht das Oligomer nur aus Catechin- und Epicatechineinheiten, so wird von Procyanidinen gesprochen. Handelt es sich um Gallocatechine und Epigallocatechineinheiten, so werden die Kondensationsprodukte Prodelphinidine genannt. Die Monomeren sind am C-Ring zwischen dem C4- und C8- oder C4- und C6-Atom verknüpft.

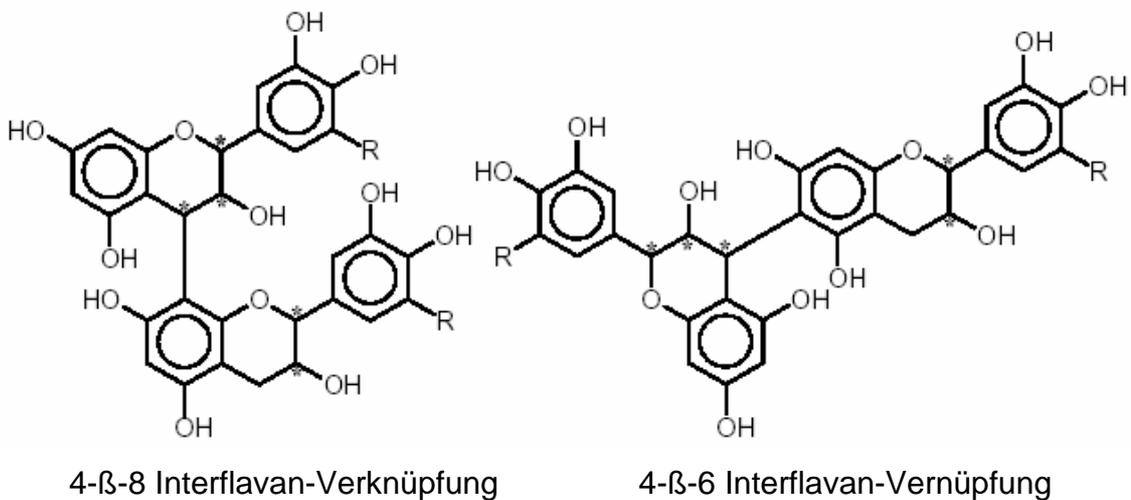
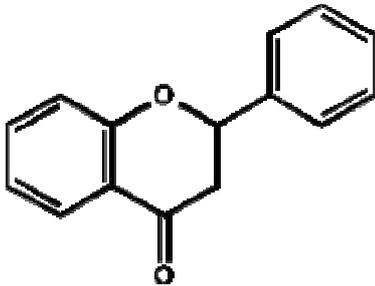


Abbildung 6: Verknüpfungen der monomeren Flavanmoleküle (RECHNER 2000).

Die Proanthocyanidine, früher als Leucoanthocyanidine bezeichnet, sind farblos. Werden sie in saurer Lösung erhitzt, so werden die endständigen Flavan-Einheiten als Carbokationen freigesetzt. Diese reagieren mit Sauerstoff zu farbigen (roten) Anthocyanidinen. Diese Methode findet bei der Analytik der Anthocyanogene Anwendung. Die Anthocyanidine können in der Natur glykosidisch gebunden vorkommen und werden dann als Anthocyane bezeichnet. In Abhängigkeit des pH-Wertes treten bei den Anthocyanen Farbänderungen auf. Sie liegen dann als Flavyliumsalze, die nur bei sehr niedrigen pH-Werten stabil sind, vor und können rot, blau oder violett gefärbt sein (BELITZ und GROSCH 1992).

Des Weiteren gibt es die Gruppe der Flavanone, die ebenfalls als Glykoside vorkommen.

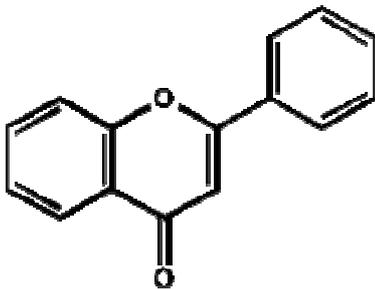


Flavanon:

z.B. Naringenin, Hesperitin.

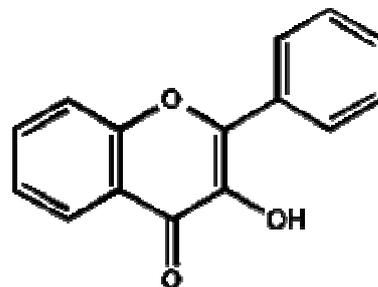
Abbildung 7: Struktur der Flavanone (BELITZ und GROSCH 1992).

Zuletzt sind noch die Gruppen der Flavone und Flavonole zu nennen. Sie unterscheiden sich grundsätzlich von der Flavan-Struktur durch die Doppelbindung am C-Ring.



Flavon:

z.B. Apigenin, Tricin



Flavonol:

z.B. Quercitin, Kaempferol

Abbildung 8: Struktur der Flavone und Flavonole (BELITZ und GROSCH 1992).

3.3.2 Phenolische Substanzen als Antioxidanzien

Polyphenole gelten als antioxidativ. Sie reagieren mit einem freien Radikal zum entsprechenden Phenoxyradikal. Durch Wanderung des ungepaarten Elektrons im aromatischen Ring kommt es zu einer Stabilisierung des Moleküls (SHAHIDI und WANASUNDARA 1992).

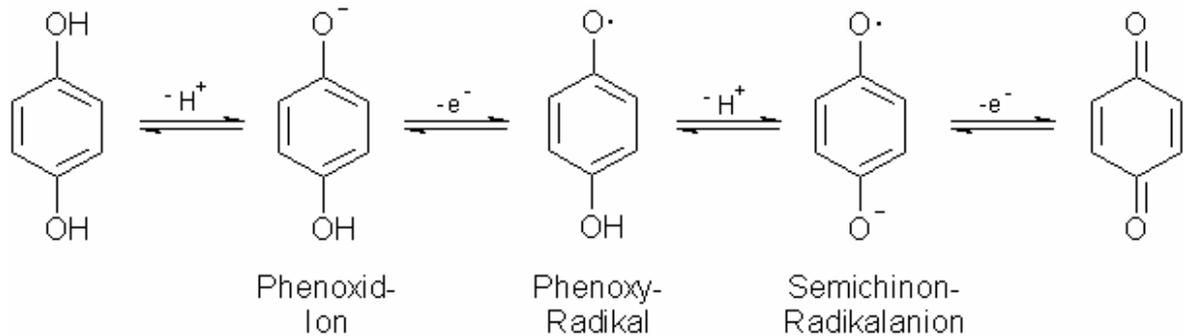


Abbildung 9: Stabilisierung des Phenoxyradikals durch Wanderung des ungepaarten Elektrons.

Um die antioxidative Wirksamkeit einzelner phenolischer Substanzen gegenüber freien Radikalen zu testen, wurden in der Literatur verschiedenste Testsysteme angewendet, weshalb es häufig zu nicht übereinstimmenden Ergebnissen kam. Aus den Untersuchungen ließen sich jedoch klare strukturelle Zusammenhänge erkennen, wann eine phenolische Substanz besonders antioxidativ wirksam war. Für die Gruppe der Flavonoide wurden folgende strukturellen Kriterien angegeben (RICE-EVANS et al. 1996):

- Die *ortho*-dihydroxy Struktur am B-Ring führt zu einer höheren Stabilität der entstehenden Radikalform und ist an der Elektronen-Delokalisation beteiligt.
- Die 2,3-Doppelbindung in Verbindung mit der 4-Oxo-Gruppe am C-Ring ist für die Elektronen-Delokalisation am B-Ring verantwortlich.
- Eine maximale antiradikalische Aktivität zeigt sich, wenn neben der 4-Oxo-Gruppe am C-Ring die 3- und 5-OH-Gruppe am A-Ring vorhanden ist. Dies ermöglicht die Chelatbildung mit Metallionen.

Da die Anzahl an Hydroxylgruppen am C-Ring von Bedeutung ist, schnitten bei den Untersuchungen von RICE-EVANS et al. (1996) das Epicatechingallat und Epigallocatechin, dicht gefolgt vom Quercetin, besonders gut ab. Als Analyse wurde die TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) verwendet. Hierzu wurde die Konzentration an verwendetem Trolox (Vitamin E) mit gleicher antioxidativer Wirkung angegeben. Ein Vergleich mit dem ABTS^{•+}-Radikalfänger

Test ergab eine ähnliche Reihenfolge für Quercetin, Rutin und Catechin, aber es zeigten sich Unterschiede bei den weiteren untersuchten Substanzen (RICE-EVANS et al. 1997). Es ist somit wichtig, das verwendete Testsystem anzugeben. Die in dieser Arbeit verwendeten Methoden, die Elektronenspinresonanz-Spektrometrie, der DPPH-Test und die Chemilumineszenz-Messung werden separat behandelt.

Die Phenolcarbonsäuren besitzen ebenso antioxidative Eigenschaften. Ihre Aktivität hängt von der Anzahl der Hydroxylgruppen am Molekül ab (WATZL und LEITZMANN 1999). Die Kaffeesäure soll zum Beispiel Metallionen binden können und so die Hydroxylradikalbildung inhibieren (IWAHASHI et al. 1990). Bei CHEN und HO (1997) lag die Kaffeesäure im DPPH-Test vor der Chlorogen- und Ferulasäure. UEDA et al. (1996) versuchten mit Hilfe der Spin-Trap Methode die Wirkungen speziell gegenüber dem Hydroxylradikal zu messen. Dabei reagierte die Protocatechussäure am stärksten und lag vor dem Catechin, der Kaffee- und Gallussäure.

3.4 Die Veränderung phenolischer Substanzen im Mälzungs- und Brauprozess

Aus der Literatur geht hervor, dass die Identifizierung und Quantifizierung von phenolischen Substanzen während des Brauprozesses sich als schwierig erwies. Entsprechend waren die Untersuchungen meist auf spezielle Substanzen fokussiert und bauten nicht immer aufeinander auf. In diesem Kapitel wurden die Literaturstellen chronologisch nach dem Produktionsablauf der Bierbereitung geordnet. Sie sollen vorab nur einen Überblick über die Veränderung der phenolischen Substanzen während des Brauprozesses geben, da diese direkt einen Einfluss auf die reduzierende Wirkung der zu untersuchenden Proben ausübt.

Phenolische Substanzen gelangen durch die Rohstoffe Gerste und Hopfen in den Brauprozess, wobei laut BELLMER et al. (1995a) Gerste neben Hirse die einzige Getreidesorte sei, die nennenswerte Mengen an Gerbstoffen enthält. Der Gehalt an Gerbstoffen in Gerste und Hopfen sei sortenabhängig.

NARZIß (1976) gibt die Menge an phenolischen Substanzen in Gerste wird mit 0,1 – 0,3 % an. Sie hängt von der Sorte, aber auch von den Umweltbedingungen ab. Grundsätzlich haben Gersten mit höheren Eiweißgehalten geringere Mengen an phenolischen Substanzen. Auf der anderen Seite stieg mit dem Eiweißlösungsgrad die Extrahierbarkeit bzw. Lösung der Gesamtpolyphenole und Anthocyanogene. Einen Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern gibt der Polymerisationsindex an. Er ist der Quotient aus Gesamtpolyphenolen zu Anthocyanogenen. Neben der Malzlösung hängt dieser Wert auch von der Gerstensorte, den Aufwuchsbedingungen und dem Reifegrad ab. Ist der P.I. niedrig, so weisen diese Malze aufgrund ihrer Oxidierbarkeit eine starke Reduktionskraft auf. Neben Gesamtpolyphenolen und Anthocyanogenen spielen auch die Tannoide eine Rolle. Sie nehmen ebenfalls mit vermehrter Lösung im Mälzungsprozess zu. Sie verfügen über reduzierende Eigenschaften und tragen als Inhaltsstoff des Malzes zur Geschmackstabilität des Bieres bei.

In Gerste sind die Anthocyanogene speziell im Korninnern und in der Aleuronschicht enthalten. Es zeigte sich, dass bei einem erhöhten Eiweißgehalt,

vor allem die Hordeinfraktion, geringere Mengen an Anthocyanogenen vorhanden sind (NARZIß 1976).

Eine identifizierte Phenolcarbonsäure im Malz war zum Beispiel die Vanillinsäure, die sowohl frei als auch gebunden im Spelz vorlag. Als weitere Phenolcarbonsäuren im Malz wurden Syringa-, Ferula-, p-Hydroxybenzoe- und Cumarinsäure genannt. Als glykosidisch gebunden oder Ester konnten Gentisin-, Chlorogenin-, Senf-, Isoferula-, Kaffee- und Protocatechussäure nachgewiesen werden. Sie werden bereits während des Weichens zum Teil ausgelaugt. Ihnen wird eine Inhibitorfunktion zugesprochen, die für die Fundamentalkeimruhe verantwortlich ist. Sie werden während der Nachreife abgebaut oder oxidiert (NARZIß 1976).

ISOE et al. (1991) zeigten, dass besonders im Spelz ein hoher Polyphenolgehalt vorliegt. Durch ein spezielles Verfahren zur Entfernung des Spelzes konnte der Gehalt in der Kongresswürze um 10 – 50 % verringert werden. Die Biere wiesen einen weicheren Geschmack und eine bessere kolloidale Stabilität auf.

ROEDER et al. (1995) bestätigten den Nachweis der Phenolcarbonsäuren in Malz und Bier. Sie detektierten des weiteren Flavan-3-ole, wie Catechin und Proanthocyanidine.

MOLL et al. (1984) zeigten in ihren Ergebnissen während des Mälzens eine Abnahme von 40 – 70 % an Catechin, wobei Procyanidin B3 nahezu konstant blieb. Auch sie schreiben, dass die Ausgangsmenge an Polyphenolen von der Gerstensorte abhängig sei.

BELLMER et al. (1995a) gingen darauf ein, dass der Gehalt an Polyphenolen von der Gerste zum Malz hin zunimmt, was der gesteigerten Löslichkeit der Polyphenole zugeschrieben wurde. Eine Reduzierung des Sauerstoffangebots während des Keimens durch CO₂-Anreicherung ergab sogar noch höhere Polyphenolgehalte im Malz. Eine besonders starke Zunahme ergab sich bei den Phenolcarbonsäuren.

JERUMANIS (1985) detektierte 7 Flavanoide, Catechin, dimere und trimere Procyanidine und dimere und trimere Prodelphinidine in Gerste. Auch er schrieb, dass die Anteile von der Sorte abhängig seien, aber Prodelphinidin B3 sei

dominant vorhanden. Im Hopfen dagegen wies das (+)-Catechin den größten Anteil auf.

MAILLARD et al. (1996) gab an, dass mehr als 85 % der Polyphenole im Malz aus Flava-3-olen bestehen. Die Hydroxycimtsäurederivate machten etwa 10 % und Flavonole etwa 5 % aus.

GOUPY et al. (1999) gaben an, dass der Polyphenolgehalt zu 70 – 88% aus Flavan-3-olen besteht. Bei seinen Untersuchungen sank bei allen Gerstensorten der Gehalt während des Mälzens um etwa 85 – 62 %. Dies betraf monomere Strukturen stärker als Dimere. Die Ergebnisse zeigten einen größeren Einfluss auf das Prodelphinidin B3 als auf das Procyanidin B3, das auch bei MOLL et al. (1984) fast konstant blieb.

Auch GROMUS und LUSTIG (1999) schrieben, dass sich die Gehalte an Polyphenolen während der Malzbereitung deutlich verändern. So ginge ein großer Teil aus den Spelzen mit dem Weichwasser verloren. Wurde bei niedrigen Temperaturen gekeimt und der Sauerstoffgehalt gering gehalten, so konnten die wasserlöslichen Polyphenole und reduzierenden Substanzen bei diesem Produktionsschritt parallel zur Eiweißlösung zunehmen. Generell zeigten sich eine verlängerte Keimzeit, verkürzte Nassweichzeiten, niedrigere Keimtemperaturen nach dem 4. Keimtag und eine Erhöhung der Temperatur des Weichwassers für den Erhalt der Polyphenole als positiv.

LAWS et al. (1976) verfolgten das Verhalten von dimeren Catechin-Molekülen im Brauprozess und konnten zeigen, dass während des Mälzens nur ein geringer Verlust von maximal 15 % auftrat.

BELLMER et al. (1995a) schrieb, dass maritime Gersten reicher an reduzierenden Substanzen und Polyphenolen seien als kontinentale Typen. Bei einem Vergleich verschiedener Sorten zeigte sich ein starker Einfluss der Polyphenole auf die Reduktionkraft. Tannoide reagierten sehr stark auf Jahrgangsunterschiede, wobei die Anthocyanogene kaum charakteristische Merkmale aufzeigten.

Besonders in Wintergersten konnten zudem kondensierbare phenolische Substanzen, die Flavan-3,4-diole identifiziert werden. Neben der Kondensation können sie auch polymerisieren oder zu größeren Verbindungen oxidieren. Dadurch erlangen sie ihre gerbende, dehydratisierende Wirkung und können

hochmolekularen Stickstoff vor allem während des Würzekochens ausfällen. In diesem Zusammenhang wird den Gerbstoffen aus dem Hopfen eine höhere Aktivität zugesprochen. Malzpolyphenole spielen dagegen für die kolloidale Stabilität des Bieres eine Rolle (NARZIß 1976).

WHITTLE et al. (1999) gelang es, bereits in der Gerste mittels HPLC/MS über 50 Procyanidine zu detektieren. Neben den di- und trimeren fand er auch tetra- und pentamere Strukturen.

Die Polyphenoloxidase spielt im Brauprozess eine große Rolle. Sie vermag Diphenole zu oxidieren. Dadurch nimmt der Gehalt an nachweisbaren Anthocyanogenen ab. Die Oxidationsprodukte reagieren untereinander oder bilden mit Proteinen Kondensationsprodukte. Während des Keimens verdoppelt sich die Aktivität der Polyphenoloxidase. Dies ist allerdings ebenfalls von Sorte und Anbaugbiet abhängig. Höhere Weichgrade führen zu einer schnelleren Aktivierung. Bei einem Weichgrad von 40 % nahm die Aktivität in den letzten drei Keimtagen wieder ab. Es zeigte sich, dass mehrstündiges Abdarren bei 100°C zu nur geringen Abnahmen an Aktivität führte. Beim Maischen wird die Oxidase erst ab Temperaturen von 95 °C inaktiviert. Dagegen zeigte eine ausgedehnte Schmelkzeit einen starken Einfluss auf die Polyphenoloxidase. Nach 12 Stunden bei 50 °C nahm die Aktivität im letzten Drittel stark ab. Ein wichtiger Aspekt ist die Möglichkeit, dass Polyphenole zu reaktionsfähigen Dicarboxylen oxidiert werden können, die weiter mit Aminosäuren zu Melanoidinen reagieren können (NARZIß 1976).

GROMUS und LUSTIG (1999) schrieben, dass beim Einmaischen die Polyphenole sehr schnell in Lösung gehen und bis in die Würze nahezu konstant bleiben. Durch die Hopfendosage werden phenolische Substanzen dem Brauprozess zugeführt. Deren Gehalt wird durch Ausscheidungsvorgänge während des Würzekochens und im Whirlpool reduziert (GROMUS und LUSTIG, 1999).

MCMUROUGH und DELCOUR (1994) zeigten, dass während des Maischens und Würzekochens starke Verluste an speziellen Polyphenolen, den dimeren Proanthocyanidinen, aufgrund von Ausfällungen mit Eiweißen auftreten. Die Verwendung von Hopfen führte zu einer Erhöhung an komplexen Flavanolen,

wasserlösliche Verbindungen aus Polypeptiden und Tanninen, während die Arbeitsweise ohne Hopfen keine Veränderung hervorrief.

BELLMER et al. (1995b) schrieben, dass die monomeren Proanthocyanidine, Catechin und Epicatechin, ebenso wie die Phenolcarbonsäuren während des Maischens zunahmen. Beim Würzekochen steigerte sich der Gehalt an Catechin und Epicatechin aufgrund der Hopfung. Oligomere Polyphenole wurden durch Polymerisations- und Ausscheidungsvorgänge reduziert.

Während der Hauptgärung wird durch Adsorptionsvorgänge der Gehalt an Polyphenolen deutlich verringert. Reduzierende Substanzen wie die Melanoidine bleiben nahezu gleich (GROMUS und LUSTIG, 1999).

Von diesen Ausscheidungsvorgängen waren im Gegensatz zu den Phenolcarbonsäuren vor allem hochmolekulare Polyphenole betroffen (BELLMER et al. 1995b)

Laut GROMUS und LUSTIG (1999) zeigt die Lagerung des Bieres kaum einen Einfluss. Erst die Stabilisierung verringert den Gehalt an phenolischen Substanzen stark. Die Phenolcarbonsäuren zeigen hierbei nur geringfügige Veränderungen. Es wurde ein logarithmischer Zusammenhang zwischen der PVPP-Dosierung und der Abnahme an Polyphenolen aufgezeigt. Es sei jedoch kein gezielter Einfluss auf bestimmte Fraktionen möglich. So muss bei hoher kolloidaler Stabilität ein Verlust an wertvollen Inhaltsstoffen in Kauf genommen werden.

Allerdings waren durch die PVPP-Stabilisierung die Veränderung von monomeren Strukturen wie Catechin, Epicatechin und die Phenolcarbonsäuren im Gegensatz zu den Oligomeren sehr gering (BELLMER et al. 1995b).

WHITTLE et al. (1999) konnten im Bier noch über 20 Proanthocyanidine, hier nur noch di- und trimere Strukturen, mittels HPLC/MS und Phenolcarbonsäuren, wie Gallus-, Vanillin-, Ferula- und Syriginsäure, elektrochemisch detektieren. Die PVPP-Stabilisierung führte zu sehr starken Verlusten an Catechin, Epicatechin, Galocatechin, Epigallocatechin und Proanthocyanidinen. Selbst bei einer sehr hohen Dosage wurden die Phenolcarbonsäuren kaum beeinflusst.

Während der Alterung der Biere veränderte sich die Zusammensetzung der Polyphenole. Aber trotz Polymerisierung behielten sie reduzierende Gruppen, wodurch sich die Reduktionkraft kaum änderte. Aus diesem Grund lässt sich laut

GOMUS und LUSTIG (1999) die Analytik der Reduktionkraft nicht für Polyphenole anwenden.

MOLL et al. (1984) schrieben, dass sich die Veränderungen an phenolischen Substanzen bei ihren untersuchten Gerstensorten bis in das Bier sehr ähnlich verhielten. Zum Ende des Versuches, 6 Monate Lagerung der Biere, glichen sich die Konzentrationen nahezu an.

Um die Gehalte an phenolischen Substanzen zu erhöhen, wurden verschiedene technologische Maßnahmen angewendet. So wurde mit Spelzentrennung gearbeitet, von unten mittels Einteigschnecke eingemaischt, Maischesäuerung durchgeführt, die Maische mit CO₂ begast und das Anschwänzwasser entgast. Besonders die Fraktion der Tannoide konnte so erhöht und das Niveau bis in das abgefüllte Bier gehalten werden (GROMUS und LUSTIG 1999).

3.5 Technologische Einflüsse auf die Veränderung der antioxidativen Aktivität phenolischer Substanzen im Mälzungs- und Brauprozess

Es gibt eine Reihe an Veröffentlichungen, die sich mit der antioxidativen Aktivität phenolischer Substanzen im Brauprozess beschäftigten. Es sollen in diesem Kapitel einige von ihnen vorgestellt werden. Es ist in diesem Zusammenhang äußerst wichtig darzustellen, welche Tests zur Messung der antioxidativen Aktivitäten angewendet wurden. Die Literaturstellen wurden zeitlich chronologisch geordnet.

BELLMER (1976) klärte in seiner Dissertation sehr viele Einflüsse auf die reduzierenden Eigenschaften phenolischer Substanzen und Melanoidinen im Brauprozess. So fand er signifikante Zusammenhänge zwischen den reduzierenden Eigenschaften der Polyphenole in der Gerste und den entsprechenden Malzen. Während der Mälzung, speziell beim Schwelken und Darren, nahmen die wasserlöslichen Polyphenole zu, was zu einer Steigerung der Reduktionskraft dieser führte. Allerdings lag ihr Beitrag am Gesamtreduktionsvermögen deutlich unterhalb des Einflusses durch die entstandenen Melanoidine. Durch das Darren verschlechterte sich der Polymerisationsindex. Lag die Abdarrtemperatur über 85 °C, wodurch die Polyphenoloxidase geschwächt wurde, so konnte der PI verbessert werden. Die meisten und am stärksten polymerisierten Polyphenole wurden im Spelz gefunden. Das Endosperm enthält wiederum den geringsten Gehalt, aber den besten PI. In belüfteten Maischen nahm der Gehalt an Polyphenolen stark ab und der PI deutlich zu. Der Einfluss des Sauerstoffes zeigte in der Würze einen geringeren Effekt als in der Maische. Eine Nassschrotung führte im Gegensatz zur Trockenschrotung zu Würzen mit stärker polymerisierten Polyphenolen, jedoch lag ihr Reduktionsvermögen höher. Während des Läuterns nahmen die Polyphenole (bezogen auf den Extrakt) zu, der PI blieb nahezu konstant. Je länger die Würze und der Hopfen gekocht wurden, umso höher lag der PI. Der Anteil am Reduktionsvermögen sank mit zunehmender Kochdauer. Während des Kühlens nahm die reduzierende Wirkung ab und der PI stieg in Abhängigkeit von den untersuchten technischen Ausstattungen. Durch die Stabilisierung mit PVPP nahm

der Gehalt an Polyphenolen und folglich das Reduktionsvermögen deutlich ab. Der starke Anstieg des PI wurde mit einer Entnahme vor allem niedermolekularer Fraktionen erklärt. Die polymerisierten Polyphenole würden im Bier verbleiben. In gering stabilisierten Bieren stieg der PI während der Alterung, während er sich in stark stabilisierten Bieren kaum veränderte. Die verringerte Reduktionskraft führte zu stärkeren Oxidationen und Anstiegen der Carbonylverbindungen. Bei einer eiweißseitigen Stabilisierung (Bentonit) nahmen die Gesamtpolyphenole stärker ab als die Anthocyanogene, was zu einer Abnahme des PI führte. Gerade die polymeren Strukturen, die an Eiweißen gebunden sind, werden in diesem Fall entfernt. Nieder- und mittelmolekulare Fraktionen hingegen verblieben im Bier. Die gealterten Biere wiesen einen geringeren Oxidationsgeschmack auf. Grundsätzlich nahm der Gehalt an Gesamtpolyphenolen während der Alterung ab, was zu einem Anstieg des PI führte. Das Reduktionsvermögen sank zuerst schnell und dann verlangsamt.

KRETSCHMER (1983) sprach von einem Protein-Tannin-Gleichgewicht im Bier, dass durch die Rohstoffauswahl und den Bierbereitungsprozess beeinflusst wird. Eine Reduzierung an Tannoiden, zum Beispiel durch scharfes Filtrieren mit PVPP, führte zu einer gesteigerten Trübungs- und Sauerstoffanfälligkeit. Um die Tannoidgehalte zu schonen, empfahl er sauerstofffreies Maischen, rasches und blankes Abläutern, rasche Ausklärung und Abtrennung des Trubs, intensive Kühlung nach der Hauptgärung und Vermeidung jeglicher Sauerstoffaufnahme im Kaltbereich.

MCMURROUGH et al. (1996) konnten ebenfalls eine Verbesserung der kolloidalen Stabilität mittels PVPP nachweisen. Die Geschmacksstabilität der Biere wurde bei ihren Untersuchungen nicht verändert. Sie stellten zwar eine Abnahme der reduzierenden Wirkung aufgrund der Entfernung von phenolischen Substanzen fest, aber es konnte keine oxidative Schädigung der Biere nachgewiesen werden.

KANEDA et al. (1995) stellte eine Messung der reduzierenden Aktivität mittels DPPH (In Kapitel 5.1.2 wird genau auf dieses Thema eingegangen, da diese Methode modifiziert wurde.) für Bier vor. Diese reagierte nur auf den Gehalt an Polyphenolen in Bier, nicht aber auf Sulfit. Er konnte ein negative lineare

Korrelation zwischen der „Reducing Activity“ und der Alterungsverkostung zeigen und brachte so die phenolischen Substanzen in Bier und die Geschmacksstabilität in einen direkten Zusammenhang.

MAILLARD et al. (1996) beschrieb die Messung der antioxidativen Aktivität mittels Linolsäuremethylester. Die Autoxidation des Esters konnte durch Zugabe von Antioxidanzien verringert werden. Die Aktivität wurde in Prozent angegeben und besagte, um wie viel die Halbwertszeit von Linolsäuremethylester im Vergleich gestiegen war. Die Ergebnisse zeigten eine Zunahme der antioxidativen Aktivität während der Mälzung und wurden mit dem Gehalt an einzelnen Polyphenolfractionen, besonders den Flavan-3-olen in Verbindung gebracht. Es wurde darauf hingewiesen, dass wahrscheinlich die entstehenden Maillardprodukte ebenfalls Einfluss auf diese Messmethode hatten und so die Aktivität gerade beim Darren anstieg. Die untersuchten Gerstensorten zeigten deutliche Unterschiede in ihrer antioxidativen Aktivität. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der antioxidativen Aktivität und dem Gehalt an phenolischen Substanzen gemessen werden. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass die antioxidative Aktivität von der Gerstensorte und dem Jahrgang abhing. So spielte die Wahl der Gerste bereits eine wichtige Rolle.

WALTERS et al. (1997b) untersuchte die antioxidative Wirkung von (+)-Catechin und Ferulasäure. Nach Zudosage dieser Substanzen zu Bier und einer forcierten Alterung zeigte sich, dass Catechin die Bildung von bestimmten Carbonylen unterband, Ferulasäure dagegen die Vermehrung anderer Carbonylverbindungen förderte. Bei einem Vergleich verschiedener Testsysteme stellte sich heraus, dass zum Beispiel Catechin Superoxid besser abfängt, während die Ferulasäure bessere Ergebnisse gegenüber dem Hydroxylradikal zeigte.

In einer folgenden Veröffentlichung zeigten WALTERS et al. (1997a,c), dass gegenüber der forcierten Alterung, bei einer natürlichen Lagerung Catechin und Ferulasäure keinen Effekt auf die Bildung von Alterungscarbonylen, wie t-2-Nonenal, Furfural oder 5-Hydroxymethylfurfural, hatten. Außerdem zeigten die zwei Substanzen nur einen positiven Effekt in Bieren mit einem hohen Sauerstoffgehalt. War dieser niedrig, zeigten sie wohl keinen Einfluss auf die Geschmacksstabilität.

JENDE-STRID (1997) schrieb, dass die Verwendung der proanthocyanidin-freien Gerstensorte Caminant zu deutlich besseren Ergebnissen der kolloidalen Stabilität führte. Es konnte kein Unterschied zum Vergleichsbier in der Messung der Lag-Time festgestellt werden, was keinen Unterschied in der Geschmacksstabilität erwarten ließe. Alle im Praxismaßstab hergestellten Biere wiesen eine gute Geschmacksstabilität auf.

FANZOZZI et al. (1998) beschrieb eine Abnahme an phenolischen Substanzen im Brauprozess von etwa 28 %. Die antioxidative Aktivität verhielt sich ähnlich. Als Test wurde die Reaktion gegenüber Peroxylradikalen im Vergleich zu Trolox gemessen.

ARAKI et al. (1999) untersuchte den Brauprozess auf das „Total Reactive Antioxidant Potential“ (TRAP). Er konnte zeigen, dass eine erhöhte Drehzahl des Rührers beim Maischen bis zur Ausschlagwürze hin zu niedrigeren TRAP-Werten führte. Unter Stickstoffatmosphäre konnte dieser Effekt verbessert werden. Eine kurze Läuterzeit unter Stickstoffatmosphäre erzielte die höchsten TRAP-Werte. Unter Sauerstoffatmosphäre sank dieser Wert wieder deutlich ab, und die Läuterzeit nahm zu. In Bier enthaltene Polyphenole wurden auf ihr TRAP hin untersucht. Dabei zeigte Catechin, Epicatechin und Gallussäure die besten Resultate.

GOUPY et al. (1999) verwendeten drei Messmethoden zur Beurteilung antioxidativer Aktivitäten. Mit der DPPH-Methode, die Anlehnung an Brand-Williams spektralphotometrisch ausgewertet wurde, zeigte eine sehr gute Korrelation mit dem Gehalt an phenolischen Substanzen und wurde als Beurteilungsmöglichkeit der antiradikalischen Aktivität von Gerste verwendet. Dabei schnitt die Sorte Caminant bei den Untersuchungen am schlechtesten ab, die Sorten Esterel und Clarine besaßen die höchsten Werte. Bei der Messung einzelner Substanzen zeigte sich die tri-Hydroxystruktur als sehr positiv und Prodelphinidin B3 zeigte die größte Aktivität. Die antioxidative Aktivität stieg mit der Zahl an Catechin-Molekülen. Bei den Phenolcarbonsäuren zeigten die Hydroxycimtsäurederivate bessere Ergebnisse als die analogen Benzoessäurederivate.

GROMUS und LUSTIG (1999) zeigten, dass schon in der Gerste Unterschiede in den Gehalten an phenolischen Substanzen vorliegen. Waren die Gehalte erhöht, gleichzeitig der Eiweißgehalt niedrig, und stammte die Sorte aus einer maritimen Gegend, so waren die Stabilität und Geschmacksstabilität ebenfalls besser.

ANDERSEN et al. (1999) verglichen Würzen und Biere der Sorte Caminant, die keine Proanthocyanidine in den Brauprozess einbrachte, mit normalen Gerstensorte im Hinblick auf Unterschiede in der Radikalbildung mittels ESR. Dabei konnte er keine Differenzen erkennen und schloss daraus, dass die phenolischen Substanzen für die Geschmacksstabilität nur eine untergeordnete Rolle spielen. Der Haupteinfluss käme vom Schwefeldioxid.

NARZIß et al. (2000) untersuchten den Einfluss verschiedener Maischeparameter auf die Geschmacksstabilität. Dabei stellten sie fest, dass Sauerstoff beim Maischen zu deutlich schlechteren Verkostungsergebnissen führte und der Gehalt an Polyphenolen im Bier stark reduziert war. Wurde unter Stickstoffatmosphäre gemaischt, führte dies zu besseren Geschmacksergebnissen als im Vergleich, aber der Gehalt an Polyphenolen änderte sich nicht. Mit steigender Einmischtemperatur nahm der Gehalt an Polyphenolen ebenfalls ab, was mit der geringeren Eiweißlösung begründet wurde. Allerdings blieb der Gehalt an Anthocyanogenen gleich und so nahm der Polymerisationsindex (Anmerkung: scheinbar oder tatsächlich?) ab. Die Maischesäuerung führte zu gleichbleibenden Gesamtpolyphenolen, aber der Gehalt an Anthocyanogenen konnte aufgrund der Hemmung der Polyphenoloxidase gesteigert werden, was wieder zu einer Verbesserung des PI führte.

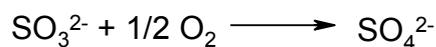
3.6 Die Rolle des Schwefeldioxids im Brauprozess

3.6.1 Die antioxidative Wirkung von Schwefeldioxid

Die antioxidative Wirkung von SO₂ ist auf sein hohes Reduktionspotential zurückzuführen. Das Schwefeldioxid wird bei der Reduktion anderer Substanzen selbst oxidiert.

3.6.1.1 Reaktionsmechanismen der Oxidation von SO₂

Sulfit ist ein starkes Reduktionsmittel. Bei seiner Oxidation durch Sauerstoff entsteht gemäß Gleichung 1 Sulfat. Für den genauen Reaktionsmechanismus existieren mehrere, grundsätzlich ähnliche Modelle, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Im Verlauf der Reaktion treten Sulfitradikale auf (WEDZICHA 1984).



Im Gegensatz dazu entstehen bei der Oxidation durch Peroxide, die nach einem säurekatalysierten Mechanismus abläuft, keine Radikale (HOFFMANN et al. 1975).

3.6.1.2 Die reduzierende Wirkung von SO₂ im Bier

Die wichtige Rolle des SO₂ in Bier ist seine reduzierende Wirkung. Durch die Unterbindung der Oxidation von aromarelevanten Bierinhaltsstoffen wird die Ausbildung des Alterungsgeschmacks hinausgezögert (ILETT 1995, KANEDA et al. 1994). Der genaue antioxidative Wirkmechanismus ist noch nicht vollständig geklärt. Zum einen wurde davon ausgegangen, dass Sulfit, entsprechend den Abläufen bei dessen Oxidation durch Sauerstoff, in der Lage ist, OH-Radikale zu fangen (ILETT 1995). Neuere Veröffentlichungen zeigen, dass die antioxidative Wirkung auf die Inhibierung der Radikalgenerierung zurückzuführen sei. Dabei

reagiert Sulfit mit organischen und anorganischen Peroxiden und verhindert so die Bildung von OH-Radikalen (ANDERSEN et al. 2000, UCHIDA und ONO 1999). Die reduzierende Wirkung ist unabhängig von der vorliegenden Form des Sulfits. So kann auch SO_2 , das reversibel an Carbonyle gebunden ist, antioxidativ wirken. Dabei dient die gebundene Form vermutlich als Reservoir, das bei Vorhandensein potenzieller Reaktionspartner Sulfit wieder freigibt, beziehungsweise verbrauchtes freies Sulfit im Rahmen des chemischen Gleichgewichts ersetzt (ILETT 1995, ANDERSEN et al. 2000, KANEDA und ONO 1994).

3.6.2 Die Produktion von SO_2 durch die Hefe während der Gärung

Der gesamte Schwefeldioxidgehalt des Bieres ist auf seine Bildung durch die Hefe während der Hauptgärung zurückzuführen. Der SO_2 -Gehalt der Rohstoffe hat keinen Einfluss, da nahezu alles SO_2 beim Würzekochen ausgedampft wird (NARZIß et al. 1984). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass bereits beim Schrotten und Maischen ein antioxidativer Einfluss vorhanden sein könnte, der zu einer Steigerung der Geschmacksstabilität führt.

Abbildung 10 zeigt typische Verläufe der SO_2 -Bildung zweier verschiedener untergäriger Hefen.

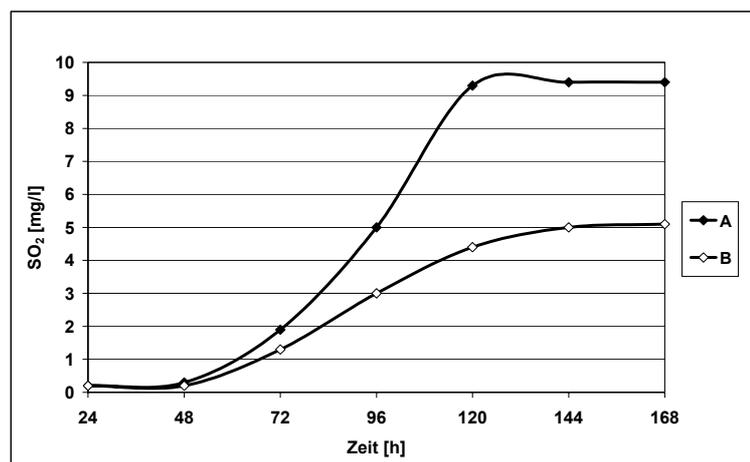


Abbildung 10: Entstehung von Schwefeldioxid während der Hauptgärung.

Die SO_2 -Bildung durch die Hefe beginnt etwa mit dem zweiten Gärtag. Im weiteren Verlauf der Gärung steigt der SO_2 -Gehalt kontinuierlich und nahezu linear an, bis

die SO₂-Bildung gegen Ende der Hauptgärung mit dem gesamten Stoffwechsel stagniert (ILETT 1995, KANEDA et al. 1996, NORDLÖV 1985).

3.6.3 Technologische Einflussfaktoren auf die SO₂-Bildung

Da im Rahmen dieser Arbeit die Fraktion der Polyphenole im Vordergrund stand, wurden im Hinblick auf die Steuerung der SO₂-Bildung nur weiterführende Untersuchungen zur Anstelltechnologie durchgeführt. In diesem Kapitel sollen kurz die wichtigsten bekannten Grundlagen zur SO₂-Bildung durch die Hefe genannt werden.

3.6.3.1 Einfluss des Hefestamms und der Hefevitalität

Wie die Abbildung 11 zeigt, hat die Wahl des Hefestamms einen großen Einfluss auf die SO₂-Bildung. Es wurden zwei Hefen aus verschiedenen Brauereien verglichen. Es zeigte sich zudem, dass Reinzuchthefer nur einen geringen Gehalt an SO₂ bildet. Je öfter die Hefe geführt wurde, umso höher war der gebildete SO₂-Gehalt.

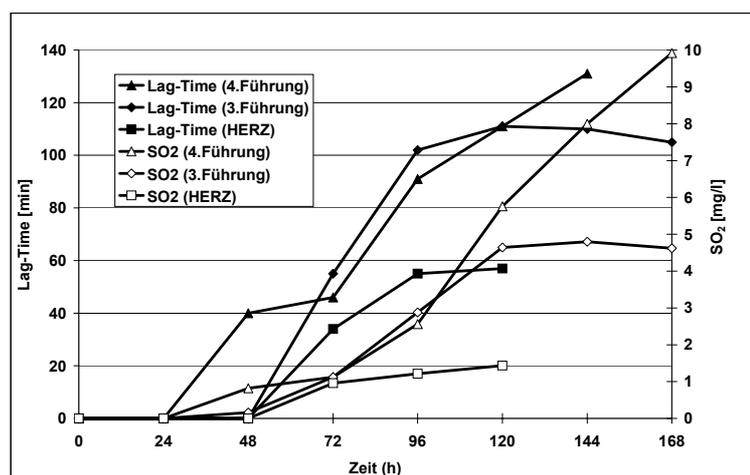


Abbildung 11: Bildung von Schwefeldioxid während der Hauptgärung in Abhängigkeit von der Hefeführung: HERZ = Hefereinzucht (FRANZ 1998).

Die Vitalität der Hefe hat einen großen Einfluss auf die SO₂-Bildung. Je vitaler die Hefe ist, desto besser ist ihr Wachstum und umso weniger SO₂ wird durch sie gebildet (NARZIß 1995).

3.6.3.2 Einfluss der Würzequalität

Eine mangelhafte Lipidversorgung durch die Würze schränkt das Hefewachstum ein und fördert damit die SO₂-Bildung, sofern der Hefe keine ausreichende Lipidsynthese durch umfangreiche Sauerstoffzufuhr ermöglicht wird (DUFOR 1991).

Der Einfluß der Aminosäurezusammensetzung der Würze auf die SO₂-Bildung erklärt sich durch die Regelungsmechanismen der Sulfatassimilation und der Synthese schwefelhaltiger Aminosäuren. Deren Aktivierung erfolgt, wenn die Zelle in einer Wachstumsphase nicht mehr genügend schwefelhaltige Aminosäuren im Medium vorfindet und mit der Synthese von Methionin beziehungsweise Cystein beginnt. Ein hoher Gehalt an Methionin in der Würze zögert also die Aktivierung der Sulfatassimilation hinaus oder schwächt sie ab. Threonin, Serin und in schwächerem Maße Isoleucin wirken sich umgekehrt positiv aus. Da sie aus demselben Kohlenstoffgerüst wie Methionin aufgebaut sind, hemmen sie mit ihrer eigenen Synthese indirekt auch die von Methionin. Das führt im Falle einer bereits aktivierten Sulfatassimilation zu einer Anhäufung von SO₂. Durch eine Erhöhung der Würzekonzentrationen von Threonin, Serin und Isoleucin sowie durch eine Verminderung der von Methionin kann die SO₂-Bildung also gefördert werden (Gyllang et al. 1989).

3.6.3.3 Einfluss der Hefegabe

Über den Einfluss der Hefegabe auf die SO₂-Bildung finden sich widersprüchliche Angaben. Während in einer Veröffentlichung festgestellt wird, dass die Hefemenge keinen Einfluss auf die SO₂-Bildung hat (BREWER und FENTON 1980), stellte NORDLÖV (1985) einen direkten Zusammenhang fest. Die SO₂-Bildung steigt hier mit Verringerung der Hefegabe kontinuierlich an. Wiederum eine andere

Untersuchung brachte ein gegenteiliges Ergebnis. Der SO₂-Gehalt des Bieres stieg bei einer Verdopplung der Hefegabe stark an (NARZIß et al. 1982).

3.6.3.4 Einfluss des Belüftungsumfangs

Der Belüftungsumfang hat starken Einfluss auf die SO₂-Bildung. Je mehr Sauerstoff die Hefe aufnehmen kann, umso geringer ist die SO₂-Produktion. Im Bereich kleiner werdender Belüftungsraten, nimmt die SO₂-Bildung dabei immer stärker zu. Der Einfluss der Belüftung erklärt sich durch den Bedarf der Hefe an elementarem Sauerstoff zur Synthese der für Wachstum und Nährstofftransport wichtigen Membranlipide (BREWER und FENTON 1980, NARZIß et al. 1982, NORDLÖV 1985). Nach der Belüftung beginnt die Hefe den Sauerstoff sofort sehr schnell und mit konstanter Aufnahmerate aufzunehmen, bis dieser innerhalb weniger Stunden vollständig aufgebraucht ist. Bezüglich der SO₂-Bildung ist dabei die absolut pro Zelle aufgenommene Sauerstoffmenge relevant. Aufgrund der konstanten Aufnahmerate wird diese bei unveränderter Hefemenge in der Regel durch den Anfangsgehalt der Würze an gelöstem Sauerstoff bestimmt. Bei manchen Belüftungssystemen kann auch der Belüftungszeitraum ausschlaggebend sein (OHNO und TAKAHASHI 1986, UMEMOTO et al. 1994).

3.6.3.5 Einfluss der Gärtemperatur

Die SO₂-Bildung ist auch temperaturabhängig. Das Optimum der Gärtemperatur liegt bei etwa 16°C. Sinkt die Gärtemperatur unter 10°C oder steigt über 20°C, so nimmt der SO₂-Gehalt der Biere stark ab. Eine Erklärung für dieses Verhalten kann nicht gegeben werden. Die Abnahme mit höheren Temperaturen könnte unter anderem auf die dann verminderte Stabilität des SO₂-Acetaldehydkomplexes zurückgeführt werden (BREWER und FENTON 1980, NORDLÖV 1985).

3.7 Zusammenhang zwischen der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time) und der Geschmacksstabilität

Die Untersuchungen zeigten, dass ein exponentieller Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Schwefeldioxid und der gemessenen Lag-Time besteht.

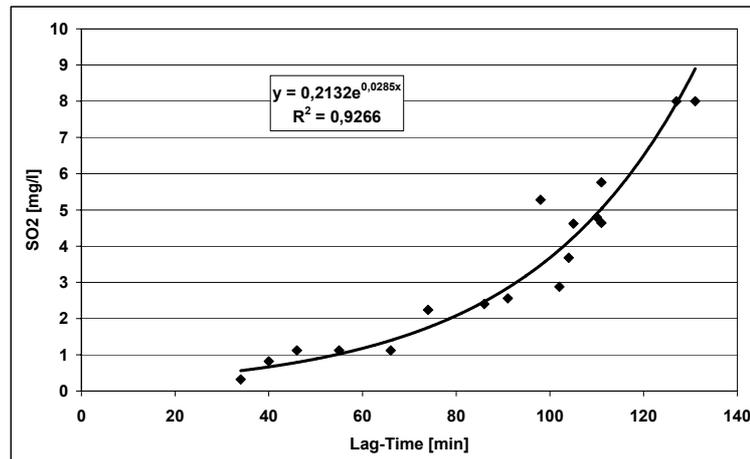


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen der Lag-Time und dem Gehalt an Schwefeldioxid (FORSTER und BACK 1999).

Es ist somit zu berücksichtigen, dass sämtliche Untersuchungen zur Verbesserung der Geschmacksstabilität, bei denen die Lag-Time Messung als Analytik diente, durch den Gehalt an Schwefeldioxid geprägt waren. So wurde eine gesteigerte endogene antioxidative Aktivität sowohl mit der Lag-Time, aber auch mit dem Gehalt an Schwefeldioxid in Verbindung gebracht.

3.8 Einfluss der Anstelltechnik (Draufflasstechnik) auf die Bildung von Schwefeldioxid

Neben den klassischen Gärparametern zeigte sich die Anstelltechnik in zylindrokonischen Gärtanks (ZKGs) als großer Einflussfaktor auf die Schwefeldioxidbildung.

In ZKGs werden bis zu 4 Sude vergoren. Diese werden je nach Sudfolge in bestimmten Zeitabständen draufgelassen. Dabei ergibt sich bei jedem Sud die Möglichkeit, individuell die Belüftung und Hefegabe zu variieren. Für die Hefe hat

ein nachfolgender belüfteter Sud den Charakter einer zweiten Belüftung. Die Belüftung hat, wie bereits festgestellt, eine starke Auswirkung auf das Hefewachstum und die SO₂-Bildung.

Bereits eine normale Zweitbelüftung hat Auswirkungen auf die SO₂-Bildung und die antioxidative Aktivität der Biere. Neben dem erzielten Gesamtbelüftungsumfang ist der Zeitpunkt der Zweitbelüftung entscheidend. Dabei sanken die SO₂-Bildung und die antioxidative Aktivität des Bieres mit fortschreitendem Zeitpunkt der Zweitbelüftung. Wurde 6 Stunden nach dem Anstellen draufgelassen, so wurde ein Minimum festgestellt. Eine Zweitbelüftung nach 12 oder mehr Stunden hatte keinen negativen Einfluss auf SO₂-Bildung und antioxidative Aktivität. Insgesamt konnte die SO₂-Bildung durch eine Zweitbelüftung im Vergleich zum Verfahren ohne Zweitbelüftung nur vermindert bzw. konstant gehalten werden (FORSTER und BACK 1999). UCHIDA und ONO (2000b) fanden ebenfalls in Bezug auf den Drauflasszeitpunkt eine Verminderung der SO₂-Bildung. Das Minimum lag im Bereich von 4 bis 6 Stunden nach dem Anstellen.

Eine weitere Untersuchung, in der aber nur die Lag-Time bestimmt wurde, stellte zwei Minima, bei 2,5 und bei 7,5 Stunden nach dem Anstellen, fest. Beim Befüllen eines Tanks mit 4 Suden, von denen außer dem ersten immer nur ein weiterer belüftet wurde, wurde dieselbe Zeitabhängigkeit gefunden (FORSTER und BACK 1999).

Das Drauflassen eines unbelüfteten Sudes auf einen bereits angestellten Sud, der die gesamte Hefemenge enthielt, beeinflusste die SO₂-Bildung nicht. Dazu musste aber die Hefegabe und Belüftung in Bezug auf das Gesamwürzevolumen unverändert bleiben (UMEMOTO et al. 1994, FORSTER und BACK 1999).

Beim Drauflassen eines belüfteten Sudes war bezüglich des Zeitpunktes ausschlaggebend, in welcher Wachstumsphase sich die Hefe gerade befand. Das Minimum der SO₂-Bildung entstand, wenn der Zeitpunkt des Drauflassens eines belüfteten Sudes mit dem Zeitpunkt der Einleitung der ersten Zellteilung der Hefe zusammenfiel. Erhielt die Hefe zu diesem Zeitpunkt zusätzlichen Sauerstoff, wirkte dies auf das Wachstum anregend und es wurde von der Zelle mehr Sulfid zur Synthese schwefelhaltiger Aminosäuren verbraucht (UCHIDA und ONO 2000b).

Da das Hefewachstum temperaturabhängig ist, hatte auch die Gärtemperatur Einfluss auf die Lage des Minimums der SO₂-Bildung (YOKOYAMA und INGLEDEW 1997).

3.9 Technologische Maßnahmen zur Steigerung der Geschmacksstabilität anhand der Messung der Lag-Time

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse der Untersuchungen zur Verbesserung der Geschmacksstabilität aufgrund einer gesteigerten Lag-Time dargestellt werden.

UCHIDA et al. (1996b) konnten einen linearen Zusammenhang zwischen der Lag-Time und der sensorischen Beurteilung natürlich gealterter Biere bei 30 °C feststellen. Je höher die Lag-Time lag, umso besser wurde das Bier beurteilt. Sie zeigten ebenso einen linearen Zusammenhang zwischen der Lag-Time Messung und dem Gehalt an Schwefeldioxid, wenn dieser über 3 ppm lag. Darunter konnte keine Korrelation gefunden werden. TAKEMURA et al. (1997) zeigten, dass eine Verkürzung der Heisshaltzeit der Ausschlagwürze zu höheren Lag-Time Werten im abgefüllten Bier führte. Da Eisenionen für die Radikalentstehung mitverantwortlich ist, konnte durch Verwendung von Kieselgur mit geringeren Gehalten an Eisen, die Lag-Time etwas verbessert werden. TAKAOKA et al. (1998) stellten eine niedrigere Radikalgenerierung in der Würze fest, wenn die Standzeit im Whirlpool verringert wurde. Zudem hatte das fertige Bier eine bessere Lag-Time. Unterschiedliche Hopfung und entsprechend verschiedene Gehalte an Polyphenolen führten bei der Messung der Würze zu keiner Verbesserung. Auch die Biere waren in ihrer Geschmacksstabilität (Lag-Time) gleich. YANAGI et al. (1997) konnten mit einer Herabsenkung des gelösten Sauerstoffes beim Anstellen die SO₂-Bildung durch die Hefe fördern. Diese äußerte sich ebenfalls in einer erhöhten Lag-Time und Geschmacksstabilität des Bieres. FORSTER und BACK (1999) zeigten neben den Einflüssen der Anstelltechnik, dass eine Kühltrubabtrennung die Lag-Time senkte. Eine starke Würzebelüftung (Flotation) ohne Hefegabe verringerte, wie vermutet, die antioxidative Aktivität nicht. BACK und FORSTER (1999) veröffentlichten die

Ergebnisse der Gärversuche mit Reinzuchthefer und Erntehefe. Je öfter die Hefe geführt wurde, umso höher lagen die SO₂-Gehalte in den Bieren, die auch sensorisch eindeutig als geschmacksstabiler beurteilt wurden. FORSTER et al. (1999) bestätigten eine lineare Korrelation zwischen der Lag-Time und den Verkostungsergebnissen gealterter Biere. Ebenso korrelierte die Lag-Time mit der Summe an Alterungsindikatoren. Sie konnten keinen Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Polyphenolen im Bier und der Lag-Time finden.

3.10 Messung von Oxidationsreaktionen in Bier mittels Chemilumineszenz-Detektion

Durch Radikalreaktionen aktivierter Sauerstoffformen kann Chemilumineszenz (CL) freigesetzt werden (KANEDA et al. 1990a). KANEDA et al. (1990a) konnten diese in Bier, das während der Messung auf 60 °C gehalten wurde, detektieren. Je länger Bier bei 37 °C gelagert wurde, umso höher waren die messbaren CL-Signale. Zugewetzte Antioxidanzien, wie Ascorbinsäure, reduzierten das Signal. KANEDA et al. (1990b, 1994) konnten einen linearen Zusammenhang zwischen der CL-Signalintensität und der Alterungsverkostung feststellen. Je höher die Signale waren, umso schlechter wurde das Bier beurteilt. Der Zusatz von Sulfit führte ebenso zu einer Absenkung des CL-Signals (KANEDA et al. 1991a). Mit Hilfe eines speziellen Reagenz (CLA: siehe Kapitel 5.6), das nur mit Singulett-Sauerstoff und Superoxidradikalanion reagiert und daraufhin Chemilumineszenz freisetzt, konnte die Beteiligung dieser beiden Sauerstoffformen an der Oxidation des Bieres nachgewiesen werden (KANEDA et al. 1991b).

Es wurden Methoden zur Chemilumineszenz-Messung für diese Arbeit spezifisch modifiziert. Diese sind in den Kapiteln 5.5.2 und 5.6 dargestellt.

4 MATERIAL UND METHODEN

4.1 Chemisch-technische Analysen

4.1.1 Malzanalysen

Folgende Routineanalysen für Malz wurden im Malzlabor des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I nach den Vorschriften der MEBAK durchgeführt:

Wassergehalt [%]	Löslicher Stickstoff [mg/100 g MTrS]
pH-Wert	Friabilimeter [%]
Viskosität (bez. Auf 8,6 %) [%]	Eiweislösungsgrad [%]
Eiweiß wfr. [%]	Verzuckerungszeit [min]
Mehl-Schrot-Differenz [%]	

4.1.2 Bestimmung der Gesamtpolyphenole

Die Gesamtpolyphenole wurden spektralphotometrisch nach der EBC-Methode laut MEBAK (Band II) 2.21.1 gemessen. Die Angabe erfolgte in mg/l. Die Genauigkeit wird mit $r = 9$ angegeben.

4.1.3 Bestimmung der Anthocyanogene

Die Fraktion der Anthocyanogene wurde nach der Methode von Harris und Ricketts spektralphotometrisch gemessen (MEBAK Band II, 2.21.2). Die Angabe erfolgte in mg/l. Die Genauigkeit wird mit $r = 9$ angegeben.

4.1.4 Bestimmung der Tannoide

Die Fraktion der Tannoide wurde spektralphotometrisch mittels Tannometer der Firma Pfeuffer, Kitzingen gemessen.

Die Tannoide sind mittels Polyvinylpyrrolidon (PVP) fällbar und es kommt zu einer Trübungsbildung. Sind alle Tannoidmoleküle an PVP gebunden, führt eine weitere

Zudosage zum Rückgang der Trübung, da diese in dem PVP-Überschuß löslich ist. Die Trübung wird über die Zugabe grafisch aufgetragen (Abbildung 13). Das Trübungsmaximum ist proportional zum Tannoidgehalt. (Pfeuffer Anleitung)

Die Angabe erfolgte in mg PVP/l.

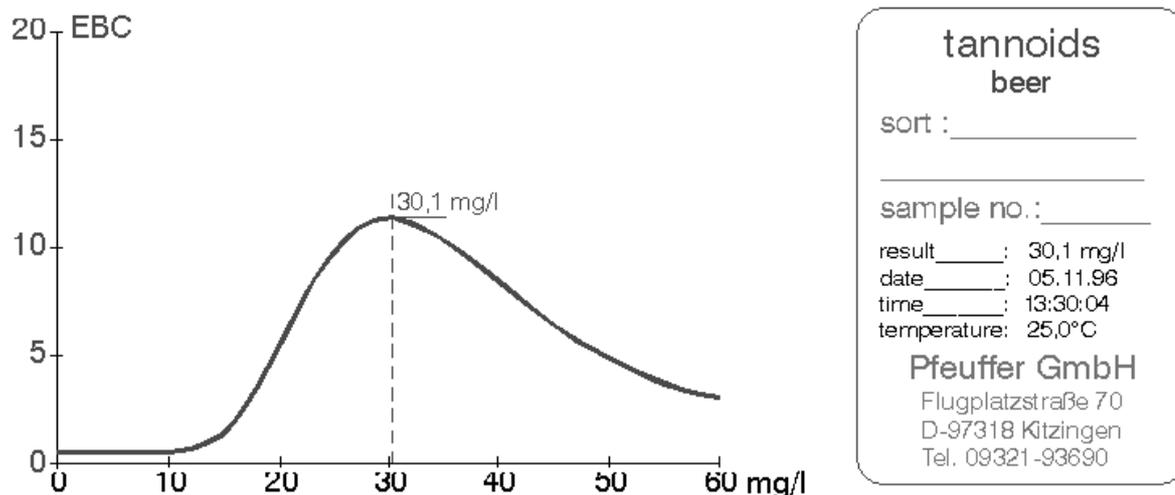


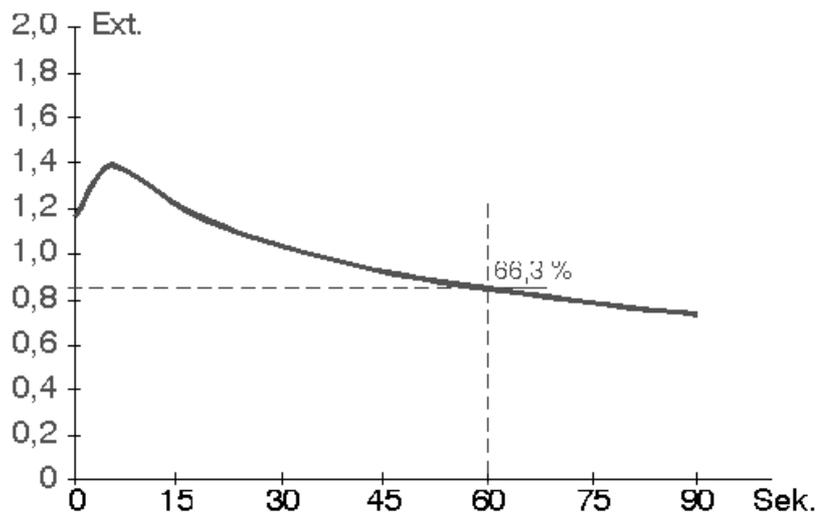
Abbildung 13: Ausdruck des Tannometers für die Bestimmung der Tannoidgehalte.

4.1.5 Bestimmung der Flavonoide

Die Bestimmung der Flavonoide erfolgte nach der kolometrischen Methode von Delcour (DELCOUR 1985). Hierbei wurde die Absorption nach der Reaktion mit para-Dimethylaminozimtaldehyd bei 640 nm spektralphotometrisch gemessen. Die Angabe erfolgte in mg/l.

4.1.6 Bestimmung des Reduktionsvermögens

Das Reduktionsvermögen wurde spektralphotometrisch nach MEBAK (Band II, 2.20.1) mittels Tannometer gemessen. Es wird die Reduktion von 2,6-Dichloroindophenol über eine Minute verfolgt. Die Angabe erfolgt in Prozent, wobei größer als 60 % als sehr gut und kleiner als 45 als schlecht beurteilt wird. Die Genauigkeit der Analyse wird mit $V_{kr} = \pm 1\%$ angegeben.



reduc. cap. 1	
beer	
sort :	_____

sample no.:	_____
result _____:	66,3 %
date _____:	05.11.96
time _____:	13:22:04
temperature:	25,0°C
Pfeuffer GmbH	
Flugplatzstraße 70	
D-97318 Kitzingen	
Tel. 09321-93690	

Abbildung 14: Ausdruck des Tannometers für die Bestimmung des Reduktionsvermögens.

Es ist zu berücksichtigen, dass die Kalibrierung mit einem Phosphat-Citrat Puffer (pH 4,3) durchgeführt wurde. Es zeigte sich, dass Würzen bei diesem pH-Wert niedrigere Werte lieferten, als wenn das Gerät bei pH 5,6 kalibriert wurde.

4.1.7 Herstellung von Malzkaltauszügen zur Bestimmung des Gehaltes an phenolischen Substanzen

Da phenolische Substanzen schnell oxidiert werden, wurde der Malzkaltauszug mit einer Hydrazinsulfatlösung (0,52 g in 200 ml Wasser 20 Minuten unter Rühren in Lösung gebracht) hergestellt. Das Malz wurde zuerst mit einer Feinschrotmühle und weiter mit einer wassergekühlten Labormühle sehr fein vermahlen. 25 g des feinen Schrotes wurden in 250 ml Hydrazinsulfatlösung 20 Minuten gerührt. Danach wurde die Lösung von den festen Bestandteilen durch Faltenfiltration abgetrennt. Die Analyse der phenolischen Substanzen erfolgte nach den vorher genannten Vorschriften. Es war allerdings zu berücksichtigen, dass der pH-Wert der Hydrazinsulfatlösung bei ~3,2 lag und somit die Ergebnisse nicht unbedingt mit den klassischen Würzeanalysen, jedoch untereinander vergleichbar waren.

4.1.8 Bestimmung von Gesamt-Schwefeldioxid

Das Schwefeldioxid wurde nach der MEBAK Methode (Band II, 2.29.2) destillativ bestimmt. Die Genauigkeit wird mit $V_{kr} = \pm 10 \%$ angegeben.

Als weitere Messmethode wurde die Applikation mit dem Automatic Wet Chemistry Analyzer der Firma SKALAR angewendet. Durch Ansäuerung der Probe mit Schwefelsäure und Erhitzen auf $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ wird das gebundene Schwefeldioxid freigesetzt. Das Gas wird in eine Formaldehydlösung übergeführt und para-Rosanalin zugegeben. Beides reagiert zu einem roten Farbkomplex, dessen Absorption bei 560 nm detektiert werden kann.

Untersuchungen zeigten, dass die Ansäuerung mit Schwefelsäure zu höheren Werten führte als mit ortho-Phosphorsäure, wie sie bei der Destillationsmethode verwendet wurde. Eine entsprechende Umstellung der SKALAR-Methode wurde vorgeschlagen.

4.2 Bestimmung der Gehalte an einzelnen phenolischen Substanzen in Malz und Bier (HPLC-Methode)

Die Bestimmung der Gehalte an einzelnen phenolischen Substanzen erfolgte im Rahmen eines gemeinsamen AiF-Projektes (Nr. 12605N) am Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie an der Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn unter der Leitung von Professor Galensa. Die Identifizierung und Quantifizierung erfolgte mittels ASE-ASPEC Koppelung und zwei Detektionssystemen (UV-DAD und Ionenfallen-MS).

4.3 Elektronenspinresonanz-Spektrometrie

4.3.1 Verwendete Elektronenspinresonanz-Spektrometer (ESR)

Am Institut wurde mit verschiedenen Elektronenspinresonanz-Spektrometern gearbeitet. Folgende Geräte wurden verwendet:

- JES-FR30 der Firma JEOL, Japan (www.jeol.co.jp)
- E-Scan der Firma BRUKER, Deutschland (www.bruker-biospin.de)
- Miniscope MS 100 der Firma Magnettech, Deutschland (www.magnettech.de).

Nachdem die Lizenzrechte für die Lag-Time Messung von der Firma Bruker erworben wurden, konnte nicht mehr mit dem Gerät der Firma Magnettech gearbeitet werden und es wird aus diesem Grund nicht weiter darauf eingegangen.

4.3.2 Bestimmung der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time)

4.3.2.1 Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten

Zur Messung von freien Radikalen mittels Spin-Trap Technik wurden folgende Einstellungen an den ESR-Geräten verwendet:

Tabelle 1: Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten zur Spin-Trap Messung.

Gerät	JES-FR 30 (JEOL, Japan)	Escan (BRUKER, Germany)
Power [mW]	4	1,99
Magnetic Field [mT]	339	349
Sweep Width [mT]	5	2
Sweep Time [min]	4	2,62
Modulation Width [mT]	0,1	0,25
Amplification	200	224
Time Constant [s]	1,0	10,24

4.3.2.2 Methode zur Bestimmung der Lag-Time

Die Bestimmung der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time) erfolgte nach der Methode von UCHIDA et al. (1996b) mittels Radikalmessung durch Spin-Trap Technik. Den Proben (Bier, Würze oder Modelllösungen) wurde das Spin-Trap Reagenz N-tert-butyl- α -phenylnitron (PBN) mit einer Konzentration von 2,55 M zugegeben. Die Endkonzentration in der Probe betrug 0,05 M (100 μ l PBN auf 5 ml Probe). Die Proben wurden bei 60 °C einem oxidativen Forciertest unterzogen. Die Radikale reagierten mit dem Spin-Trap Reagenz zu einem stabilen Addukt, dass in regelmäßigen Abständen am ESR gemessen wurde.

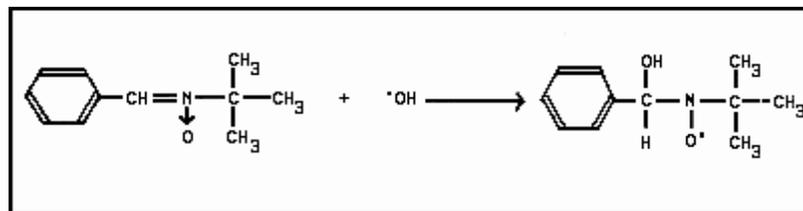


Abbildung 15: Reaktion von PBN mit dem Hydroxylradikal zum Spin-Addukt (KANEDA et al. 1996b).

Abbildung 16 zeigt das typische Spektrum eines PBN-Spinadduktes am ESR.

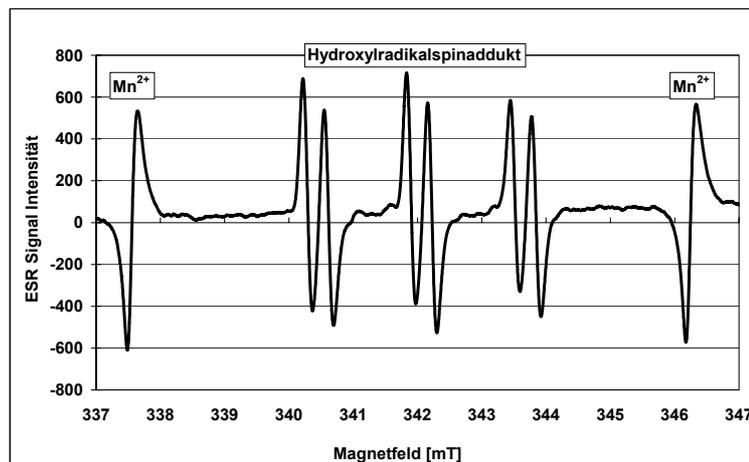


Abbildung 16: Aufgenommenes Spektrum des Hydroxylradikalspinadduktes am ESR.

Es zeigte sich als sinnvoll, den Zeitabstand nicht größer als 10 Minuten zu wählen, da bei größeren Zeitintervallen die Auswertung der Lag-Time ungenau wurde. Ob die Probengläser offen oder geschlossen waren, dass heißt ob das Bier ungehindert dem Sauerstoff ausgesetzt war, hatte auf die Messergebnisse keinen Einfluss.

Abbildung 17 zeigt den Verlauf des Graphen der Radikalgenerierung bei einem Bier mit einer Lag-Time von 94 Minuten. Zur Berechnung der Lag-Time wurden wie dargestellt zwei Regressionsgeraden an den Graphen angelegt und der Schnittpunkt dieser berechnet.

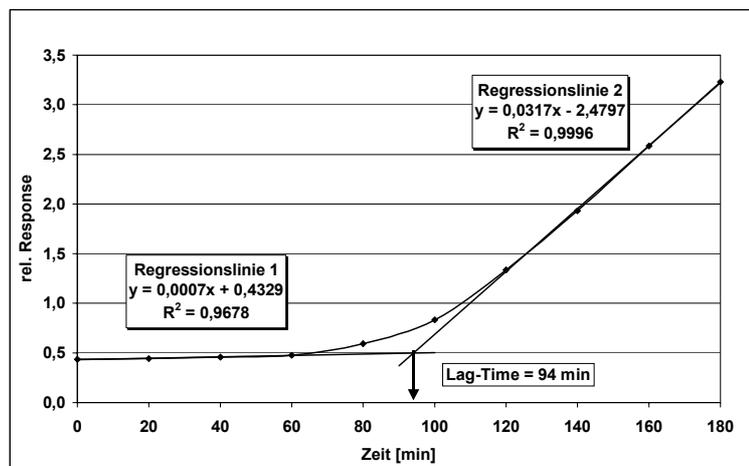


Abbildung 17: Bestimmung der Lag-Time.

In 388 untersuchten Bieren zeigte sich eine Gauss'sche Verteilung der Lag-Time Werte mit einem Mittelwert um die 50 Minuten.

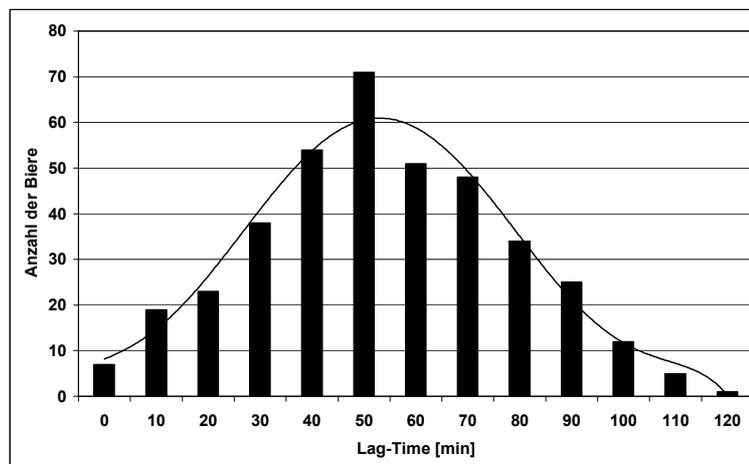


Abbildung 18: Verteilung der Lag-Time in 388 untersuchten untergärigen Bieren (BACK et al. 2001).

4.3.2.3 Methode zur Bestimmung freier Radikale im Feststoff Malz

Um die Summe an freien Radikalen in Malz zu bestimmen, wurde zuerst Feinschrot hergestellt, das dann nochmals in einer Labormühle fein vermahlen wurde. Die Probe wurde in ein spezielles Röhrchen gegeben, das im Resonatorraum des JES-FR 30 (JEOL, Japan) platziert wurde. Die Einstellungen am ESR- Gerät waren bis auf die Amplifikation, hier wurde der Wert 100 gewählt, dieselben wie bei der Spin-Trap Methode. Abbildung 19 zeigt das aufgenommene Spektrum am ESR.

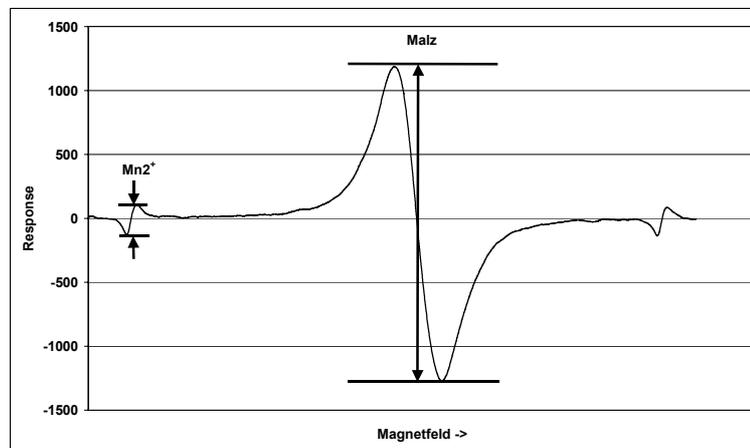


Abbildung 19: ESR-Spektrum freier Radikale im Feststoff Malz.

Das Ergebnis wurde als relative Response angegeben und folgendermaßen berechnet:

$$\text{Relative Response} = \frac{\text{Response von Malz}}{\text{Response von } Mn^{2+}}$$

4.4 Messungen mit dem Chemilumineszenzdetektor

4.4.1 Verwendetes Chemilumineszenzmessgerät

Das verwendete Chemilumineszenzmessgerät bestand aus folgenden Komponenten:

- Chemiluminescence Detector Model CLD-110 (Tohoku, Japan)
- Chemiluminescence Counter Model CLC-10 (Tohoku, Japan)
- Sample Chamber Model TLU-6 (Temperatureinstellung bis 100 °C möglich)
- Sample Chamber Model TLU-21 (mit Magnetrührer; Temperatureinstellung bis 50 °C möglich)

4.4.2 Direkte Messung von Malz und Bier

Das Chemilumineszenzsignal von Malz oder Bier konnte direkt gemessen werden. Es wurden dazu 3 g Malz (ganze Körner oder fein vermahlen) oder 12 ml Bier (nach KANEDA et al. 1991a) in die Probenschale eingewogen oder pipettiert und das Chemilumineszenzsignal bei 60 °C über 2 Stunden verfolgt.

4.5 Anstelltechnik und Gärführung in den Corneliusbehältern

Während des Anstellens war es wichtig, dass bei der Befüllung der Behälter und der Hefegabe darauf geachtet wurde, jeglichen unbeabsichtigten Lufteintrag zu vermeiden. Alle Behälter, Leitungen und Toträume wurden vor der Verwendung beziehungsweise der Weiterführung des Versuches mit Kohlendioxid (CO₂) oder Stickstoff (N₂) gespült.

Bei der Hefegabe wurde, falls nicht anders angegeben, eine Zellzahl von 15 Mio. Zellen/ml angestrebt. Die Überprüfung mittels Thoma-Zählkammer ergab Schwankungen im Bereich von 14 bis 19 Mio./ml, wobei die Zellzahlen innerhalb einer Versuchsreihe um maximal 2 Mio./ml voneinander abwichen. Die berechnete Hefegabe wurde in den Kopfraum der mit Würze gefüllten Behälter gegeben.

Dieser wurde dann verschlossen und über die Ventile ausgiebig mit Stickstoff gespült. Daraufhin wurden Hefe und Würze durch kurzes Schütteln gemischt. Zuletzt wurde der Behälter restlos mit Würze aufgefüllt.

Die Belüftung erfolgte nach der Hefegabe durch kräftiges, zügig wiederholtes Ausschütteln der angestellten Würze mit Luft in den Gärbehältern. Dazu wurde aus den gefüllten Corneliusbehältern der gewünschte Volumenanteil Würze unter Lufteinzug abgelassen. Durch die Variation der Luft- und Würzevolumina konnte so das Luft-Würzeverhältnis exakt nach Wunsch eingestellt werden. Nach der Belüftung wurden alle Behälter einer Versuchsreihe auf gleiches Füllniveau abgelassen und die Kopfräume mit CO₂ gespült. In 20l-Containern ließen sich mit diesem Verfahren Luft-Würzeverhältnisse von 0,026 (0,5 l Luft und 19,5 l Würze) bis weit über 1 mit guter Genauigkeit realisieren.

Die Anstell- und Gärtemperatur betrug 10°C. Zur Abführung der Gärgase wurde das Kopfventil geöffnet. Die SO₂-Messung erfolgte je nach Gärverlauf, falls nicht anders angegeben, zwischen dem siebten und neunten Gärtag bei einem scheinbaren Restextraktgehalt zwischen 3 und 4 Prozent. Im Falle einer angestrebten Verkostung wurden die Biere daraufhin von der Hefe abgezogen, fünf Tage einer Reifung bei 16°C unterzogen und dann zwei bis drei Wochen bei 0°C gelagert.

4.6 Forcierte Alterung der untersuchten Biere

Um die Biere forciert zu altern, wurden sie nach Lehrstuhlmethod 24 Stunden geschüttelt und 4 Tage bei 40 °C im Dunkeln aufbewahrt. Dieses Verfahren sollte den Transport der Proben und eine Alterung von etwa 3 Monaten simulieren.

4.7 Bestimmung der Alterungsindikatoren

Die Alterungsindikatoren sind eine ausgewählte Gruppe an flüchtigen Aromastoffen, die durch den Einfluss des Sauerstoffes und der Temperatur während der Alterung signifikant zunehmen. Sie wurden nach der lehrstuhleigenen Methode (GC007/96) gaschromatographisch bestimmt.

4.8 Alterungsverkostung nach DLG-Schema und Eichhorn

Zur sensorischen Beurteilung der Proben diente das DLG-Prüfschema für Bier. Mindestens fünf geschulte Prüfer des Lehrstuhls verkosteten die Proben im frischen, sowie im forciert gealterten Zustand.

Es wurden fünf Prüfmerkmale berücksichtigt und diese konnten jeweils mit maximal fünf Punkten bewertet werden. Um die Genauigkeit zu erhöhen, waren im Gegensatz zur offiziellen Methode auch halbe Notenschritte zugelassen.

Für die Alterungsverkostung war eine Vergabe von bis zu vier Punkten auf Geruch, Trunk und Bittere zu vergeben. Zudem wurde die Akzeptanz des Alterungsgeschmackes in Prozent bewertet.

VERKOSTUNGSSHEMA										
Datum: Versuchsreihe: Verkoster:										
Verkostung nach DLG: Bewertung in Halbnotenschritten von 1 bis 5 Bitte Aromaeindruck angeben !										
Nr.	Probe	Geruch	Trunk	Vollm.	Rezenz	Bittere				
A										
B										
C										
D										
E										
F										
G										
H										
Alterungsverkostung: Bewertung in Halbnotenschritten: 1 = frisch 2 = leicht gealtert 3 = stark gealtert 4 = extrem gealtert										
					Die Akzeptanz bezieht sich nur auf die Alterung des Bieres !					
Nr.	Probe	Geruch	Trunk	Bittere	Akzeptanz [%]					
					100	80	60	40	20	0
A										
B										
C										
D										
E										
F										
G										
H										

Abbildung 20: Formblatt zur Alterungsverkostung.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Entwicklung spezifischer Analysen zur Messung antioxidativer Reaktionen im Brauprozess

Das zentrale Thema dieser Arbeit war die endogene antioxidative Aktivität von Bier. Die bisher gängigen Methoden waren deutlich durch den Gehalt an Schwefeldioxid (Lag-Time) und dem Gehalt an Melanoidinen (Reduktionsvermögen) beeinflusst. Da entsprechend in der Würze vor der Hauptgärung keine Lag-Time gemessen wurde, war es nötig, für den Bereich Sudhaus weitere Analysen einzuführen. Gerade zur Bestimmung des antiradikalischen Effektes phenolischer Substanzen war eine spezielle Analytik nötig. Im Folgenden werden die verschiedenen Analysen vorgestellt, die im Rahmen dieser Arbeit am Lehrstuhl entwickelt wurden.

5.1.1 Bestimmung des antiradikalischen Verhaltens

Bei der Auswertung der Lag-Time wurde der Zeitpunkt bestimmt, zu welchem die endogene antioxidative Aktivität des Bieres aufgebraucht war. Es wurde hierbei nicht berücksichtigt, wie viele Radikale in einer bestimmten Zeit entstehen, das heißt wie sich der Verlauf des Graphen während des Forciertests verhielt.

Um die Radikalentstehung pro Zeit zu messen, wurde dem Graphen eine Trendkurve angelegt (Microsoft EXCEL, Polynom 6ten Grades). Mittels der Funktion der Trendkurve konnte das Integral bis 120 Minuten berechnet werden. Als Zeitspanne wurden 120 Minuten gewählt, um relativ kurze Messzeiten zu gewährleisten. Zum anderen wurden aus Erfahrung Lag-Time Werte von dieser Größenordnung mit Schwefeldioxidgehalten bis zu 10 ppm nicht überschritten.

Eine einfache Auswertung des antiradikalischen Verhaltens wäre: je kleiner die Fläche unterhalb des Graphen, umso weniger Radikale wurden in der Messzeit

generiert und umso besser war das antiradikalische Verhalten der Würzen oder Biere.

Da dieser Parameter in den Stabilitätsindex (siehe Kapitel 5.3) eingegliedert werden sollte, musste ein weiterer Rechenschritt durchgeführt werden. Ziel war es, einen positiv ansteigenden Wert zu erlangen, während die Fläche kleiner wurde. Hierzu wurde eine Referenzprobe (Nullprobe) gewählt. Dabei handelte es sich um ein Bier, dass aus Erfahrung ein sehr schlechtes antiradikalisches Verhalten besaß. Die Fläche dieser Probe diente als Bezugsgröße. Die Messproben wurden auf diese Referenzfläche bezogen (Abbildung 21) und das Ergebnis in Prozent dargestellt.

Die Berechnung des antiradikalischen Verhaltens (ARV) erfolgte folgendermaßen:

$$\text{ARV [\%]} = \frac{\text{Fläche der Nullprobe} - \text{Fläche der Messprobe}}{\text{Fläche der Nullprobe}} \times 100 \%$$

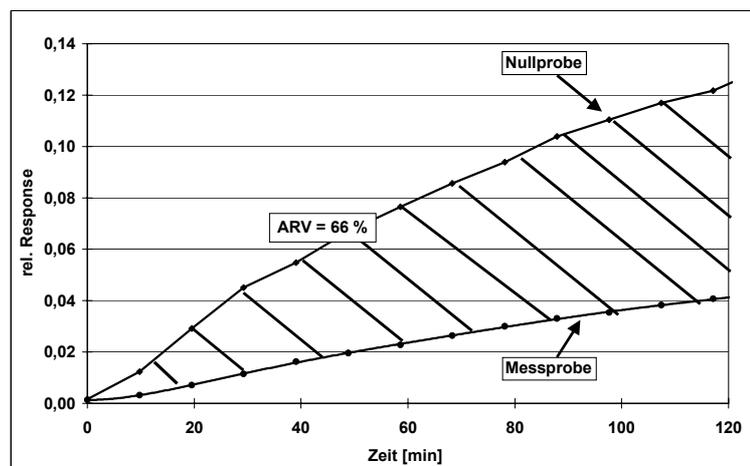


Abbildung 21: Ermittlung des antiradikalischen Verhaltens.

Abbildung 22 zeigt, dass im fertigen Bier ein enger Zusammenhang zwischen dem antiradikalischen Verhalten und der Lag-Time bestand. Im Laufe der Arbeit wird gezeigt werden, dass dieser Parameter zur Beurteilung von Würzen, aber besonders zur Stufenkontrolle innerhalb einer Brauerei geeignet war.

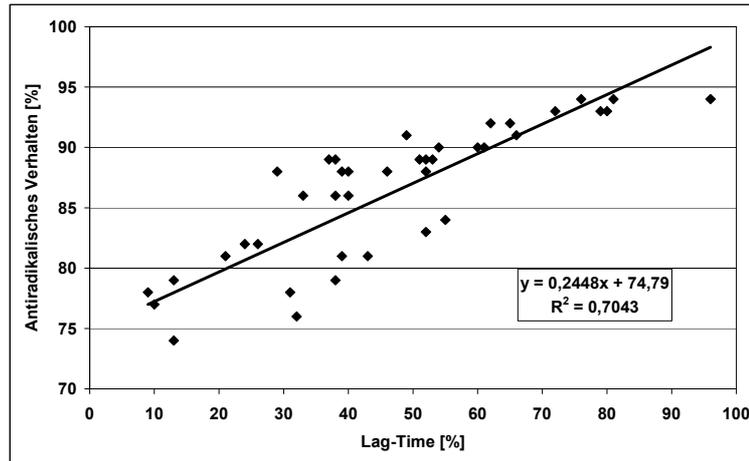


Abbildung 22: Zusammenhang zwischen dem antiradikalischen Verhalten und der Lag-Time ($N = 40$; $r = 0,84$; $\alpha = 0,1 \%$; Anhang Tabelle T54).

Ein Problem dieser Auswertung war, dass es sich bei der Referenzprobe um ein obergäriges Weizenbier handelte. Grundsätzlich schnitten Biere dieser Art bei der Analytik deutlich schlechter ab als untergärige Biere. Es konnte bisher keine obergärige Hefe gefunden werden, die nennenswerte Mengen an Schwefeldioxid bildet. So konnte in diesen Bieren keine Lag-Time gemessen werden. Außerdem werden Biere dieser Art zum einen geringer gehopft und zum anderen liegt der Gehalt an phenolischen Substanzen in Weizenmalz niedriger als in Gerstenmalz (Vergleich Kapitel 5.7). Aus diesem Grund wird in Zukunft eine Kalibrierung mit einem stabilen Radikal vorgeschlagen. Hierzu könnte das freie Radikal 4-Hydroxy-Tempol (Tempol) verwendet werden. Jedem Messpunkt der Probe könnte eine Konzentration an Tempol zugeordnet werden. Die Funktion des Graphen könnte als Konzentration des Tempols über die Zeit angegeben werden.

Da die Vergleichsprobe eine sehr große Fläche besaß, unterschieden sich untergärige Biere prozentual nur gering. Um die Unterschiede klarer angeben zu können, müssten diese Biere auf einen eigenen Standard bezogen werden. Bisher wurde versucht, einen allgemein gültigen Parameter für alle Biersorten zu entwickeln. Daher wurde in der Arbeit auf diese spezifische Kalibrierung verzichtet. Da zudem dieser Parameter neu war, wurde es nicht als sinnvoll angesehen, in kurzen Zeitabständen neue Zahlengrößen zu präsentieren.

5.1.2 Entwicklung der Analytik des antiradikalischen Potenzials

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit war der Einfluss phenolischer Substanzen auf antioxidative Vorgänge in der Bierbereitung. Um die antiradikalischen Aktivitäten von Bier und phenolischen Substanzen beurteilen zu können, wurde auf eine Analytik von KANEDA et al. (1995) zurückgegriffen. Er hatte die Reducing Activity von Bier gegenüber dem stabilen freien Radikal 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 525 nm über 10 Minuten verfolgt.

Als Reducing Activity wurde die Differenz zwischen der Extinktion der reinen DPPH-Lösung und der Extinktion nach 10 Minuten Reaktionszeit verstanden (Abbildung 23).

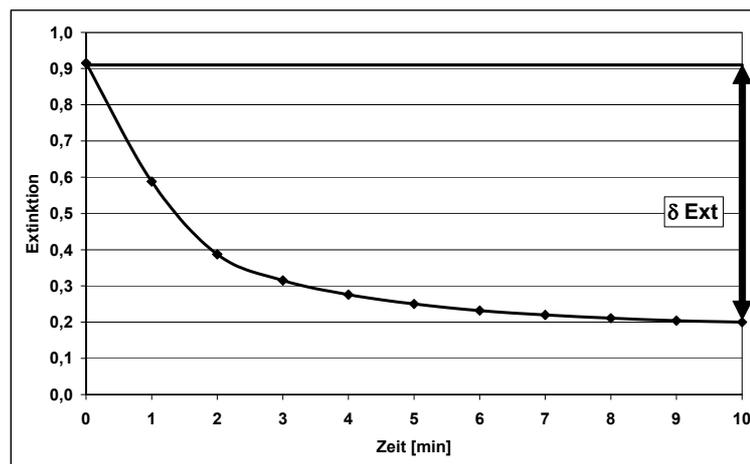


Abbildung 23: Bestimmung der DPPH Reducing Activity.

Es zeigte sich nach KANEDA et al. (1995) eine sehr gute Korrelation zwischen der Reducing Activity und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und Anthocyanogenen, jedoch kein Zusammenhang mit dem Gehalt an Sulfit.

Bei dieser Methode wurde nur die Extinktionsdifferenz nach 10 Minuten berücksichtigt, nicht jedoch der kinetische Verlauf der Reaktion über die Zeit. So konnte die Reducing Activity zweier Proben nahe beieinander liegen, jedoch konnten sich die Verläufe deutlich unterscheiden (Abbildung 24).

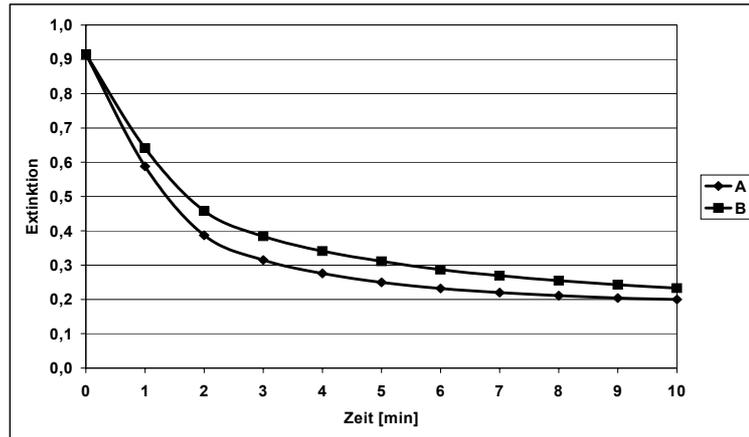


Abbildung 24: DPPH Reducing Activity zweier heller Biere.

Ein zweites Problem war die Messung von dunklen Bieren. Hier kam es sogar nach einer maximalen Abnahme wieder zu einem Anstieg der Extinktion (Abbildung 25). Dabei zeigte in diesem Beispiel die Probe „115“ (dieses Malz wurde bei 115 °C abgedarrt) den stärksten Anstieg. Bei der Probe „Dunkel“ handelte es sich um ein kommerzielles Bier mit nahezu horizontalem Verlauf.

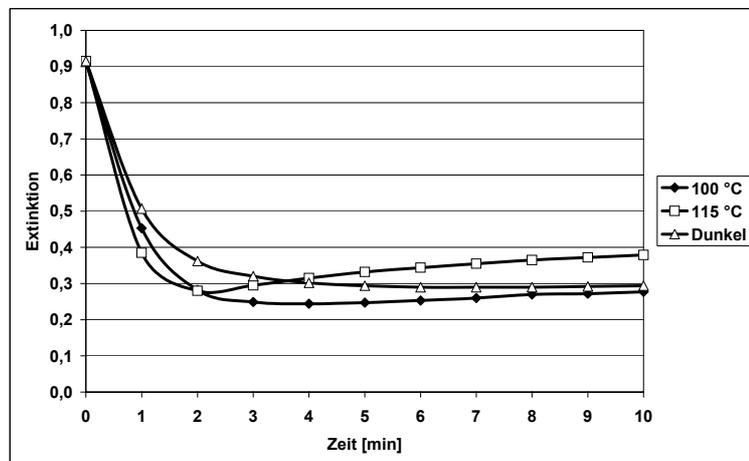


Abbildung 25: DPPH Reducing Activity von dunklen Bieren.

Ursprünglich wurde für derartige Messungen die IC₅₀ Methode angewendet. Dies bedeutet, dass eine Verdünnungsreihe der Probe angefertigt wurde. Jede Konzentrationsstufe wurde solange gemessen, bis keine Abnahme des Radikals mehr erfolgte. Danach konnte die Menge an reduzierten DPPH in Prozent über die Konzentration der Verdünnung aufgetragen werden. Hierbei handelte es sich

normalerweise um einen exponentiellen Zusammenhang. IC_{50} war die Konzentration, mit der 50 % des Radikals reduziert werden konnte (BRAND-WILLIAMS et al. 1995).

Am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I befand sich ein Elektronenspinresonanz-Spektrometer, mit dem es möglich war, Radikale direkt zu messen. Dies war auch mit dem freien Radikal DPPH möglich. Neben dieser direkten Messung der Abnahme des Radikals, wurde auch versucht, die Reaktionskinetik zu berücksichtigen, indem die Fläche des Graphen ausgewertet wurde. Folgende Methode wurde hierzu erarbeitet:

Die DPPH-Lösung wurde nach der Vorschrift von KANEDA et al. (1995) hergestellt. Die Endkonzentration der DPPH-Lösung betrug $1,86 \times 10^{-4}$ M. Die Lösung wurde in einem Gemisch aus 0,1 M Acetatpuffer (pH 4,3) und Ethanol in einem Volumenverhältnis von 1:2 angesetzt. Für die Messung von Bier wurde das Volumenmischungsverhältnis von 1:14 (Bier : DPPH-Lösung) von KANEDA et al. (1995) übernommen. Um das antiradikalische Potenzial einzelner phenolischer Substanzen zu messen, hatte sich ein Stoffmengenverhältnis von 1:1 als sinnvoll gezeigt. Geringere Gehalte an Substanzen äußerten sich in einer trägeren Reaktivität. Dies führte wie bei der spektralphotometrischen Methode zu geringen Unterschieden in den Ergebnissen zwischen den Proben. Eine größere Konzentration hatte eine zu schnelle Reaktion zur Folge.

Es wurden folgende Einstellungen an den ESR-Geräten verwendet:

Tabelle 2: Einstellungen an den verwendeten ESR-Geräten zur Messung von DPPH.

Gerät	JES-FR 30 (JEOL, Japan)	Escan (BRUKER, Germany)
Power [mW]	4	1,99
Magnetic Field [mT]	342	349
Sweep Width [mT]	5	2
Sweep Time [min]	0,5	2,62
Modulation Width [mT]	0,1	0,226
Amplification	79	224
Time Constant [s]	0,03	10,24

Abbildung 26 zeigt das typische Spektrum von DPPH, das mittels ESR aufgenommen wurde.

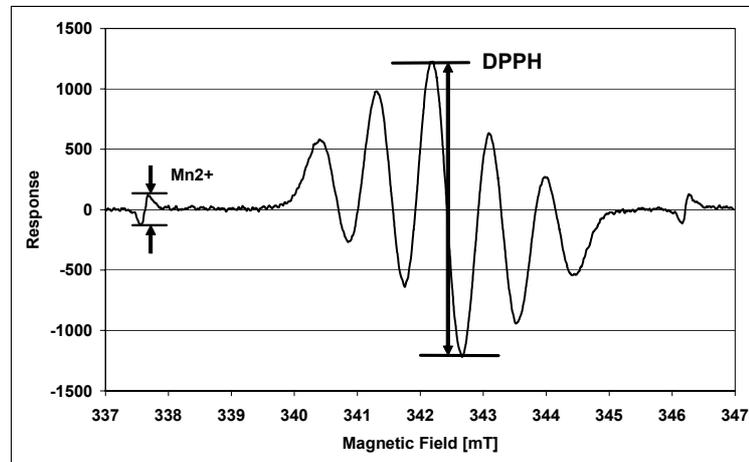


Abbildung 26: Spektrum von DPPH am ESR.

Als Standard wurde Mn^{2+} verwendet, das sich als externer Marker im Gerät (JES-FR 30) befand. Die Response der mittleren Amplitude des DPPH wurde mit der Response des Standards verrechnet:

$$\text{Relative Response} = \frac{\text{Response DPPH}}{\text{Response } Mn^{2+}}$$

Der relative Responsewert der reinen DPPH-Lösung entsprach 100 %. Die Absolutwerte der Messung wurden entsprechend auf prozentuale Angaben umgerechnet. So war es möglich, über die Relativwerte Proben direkt zu vergleichen.

Durch die Aufbereitung der DPPH-Lösung war dessen Absolutsignal nicht immer auf konstantem Niveau zu halten. Zudem war die DPPH-Lösung nicht sehr lange stabil. Es hatte sich eine möglichst kalte Lagerung (am Lehrstuhl bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) als sinnvoll gezeigt. Das Signal der DPPH-Lösung lag zum Beispiel am Escan um die ~ 16500 . Bei den Untersuchungen hatte sich gezeigt, dass eine Abnahme des Signals um 10 % nicht überschritten werden sollte. Ab dann war die Vergleichbarkeit der Relativwerte nicht mehr zuverlässig. Bei der Kaltlagerung

konnte eine tolerierbare Stabilität der Lösung über einen Zeitraum von etwa 4 Wochen beobachtet werden.

Am Beispiel der Gallussäure wurde versucht, die spektralphotometrische Methode mit den Ergebnissen mittels ESR-Messung zu vergleichen. Hierzu wurde eine Verdünnungsreihe der Gallussäure angesetzt und verschiedene Konzentrationen im Volumenverhältnis 1:1 mit der DPPH-Lösung gemischt. Die Ausgangskonzentration der Gallussäure war die gleiche wie die der DPPH-Lösung ($1,86 \times 10^{-4}$ M). Die Darstellung der Konzentrationen wurde im Stoffmengenverhältnis der phenolischen Substanz zu DPPH angegeben (Abbildung 27 und 28).

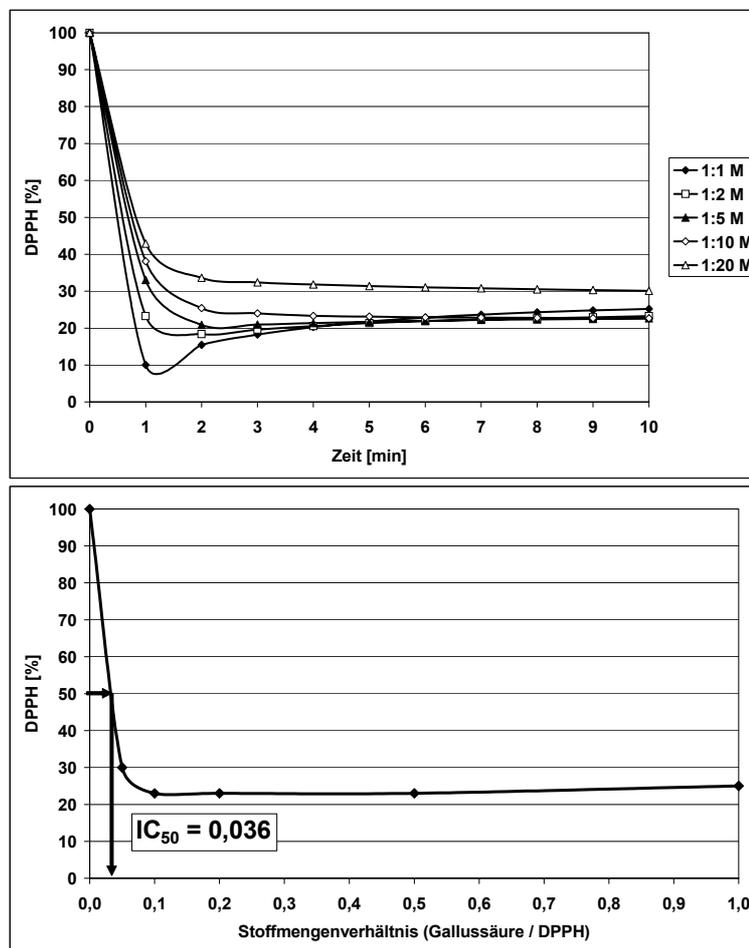


Abbildung 27: Bestimmung der DPPH Reducing Activity (oben) und der IC_{50} mittels Spektralphotometer (unten).

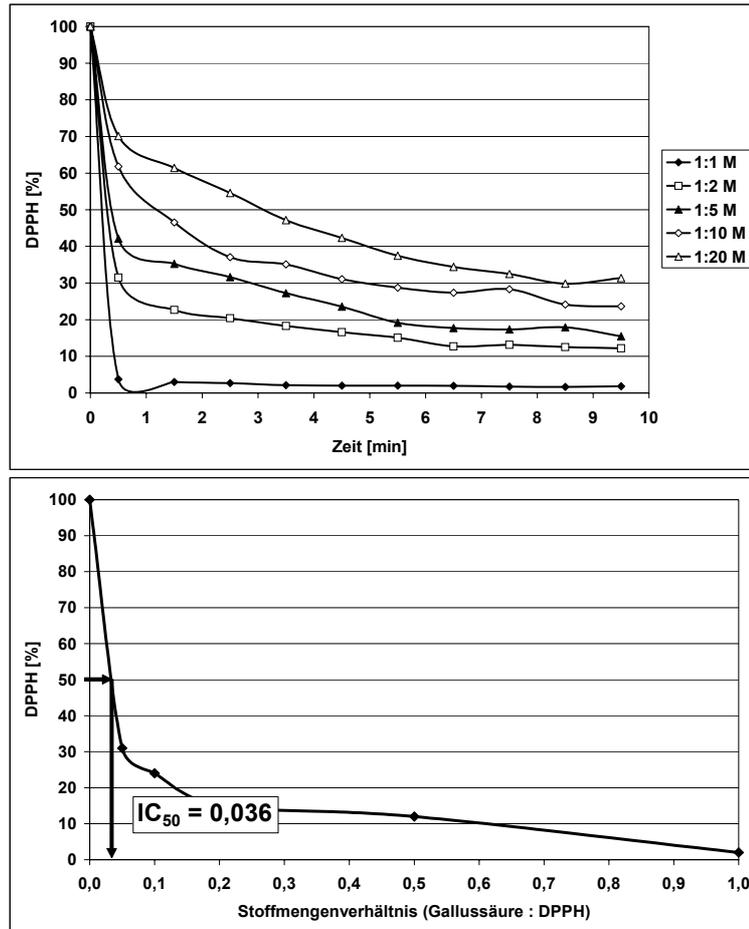


Abbildung 28: Bestimmung DPPH Reducing Activity (oben) und der IC_{50} (unten) mittels ESR.

Die Auswertung der IC_{50} war bei beiden Methoden nahezu gleich. Die Angabe des Stoffmengenverhältnisses von 0,036 besagte, dass die nötige Konzentration der Gallussäure bei $6,7 \times 10^{-6}$ Mol/l lag. Allerdings ist die Auswertung des Graphen in diesem Fall zu berücksichtigen. Es war nicht möglich mit Hilfe von EXCEL eine Trendkurve an die Graphen anzulegen, da es sich um einen komplexeren exponentiellen Zusammenhang handelte. Um die IC_{50} auszuwerten, wurde die Funktion einer Gerade zwischen den Punkten 0 und 1 Minute angenommen und aus dem linearen Zusammenhang das zugehörige Stoffmengenverhältnis berechnet. Es ist ebenfalls zu berücksichtigen, dass es sich bei der Gallussäure um eine sehr reaktive Substanz mit einer kleinen IC_{50} handelte. Interessant ist, dass mit der spektralphotometrischen Methode die Reduktion von DPPH nicht unter 20 % gelangte. Es war ab einem Stoffmengenverhältnis von 1:10 kein

Unterschied in der Reaktivität mehr erkennbar. Mittels ESR konnte auch bei diesen Stoffmengenverhältnissen bis in den nicht mehr nachweisbaren Bereich hinein gemessen werden. Zudem ließen sich die einzelnen Verläufe der verschiedenen Konzentrationen klar unterscheiden. Es handelte sich um eine deutlich empfindlichere Methode und wurde aus diesem Grund dem Spektralphotometer vorgezogen.

5.1.3 Bestimmung des antiradikalischen Potenzials

Um den Aufwand für die Anfertigung einer Verdünnungsreihe zu umgehen und trotzdem die Reaktionskinetik zu berücksichtigen, wurde anstelle der IC_{50} die Auswertung der Fläche unterhalb des Graphen bei einem Stoffmengenverhältnis von 1:1 gewählt. Hierzu wurde an den Graphen eine Trendkurve (Microsoft EXCEL, Polynom 6ten Grades) angelegt und das Integral bis 10 Minuten berechnet. Um das antiradikalische Potenzial (ARP) auszuwerten, wurde die berechnete Fläche auf die mögliche Gesamtfläche, die 100 % entsprach, bezogen. Das eigentliche Potenzial wurde somit durch die Fläche oberhalb des Graphen dargestellt.

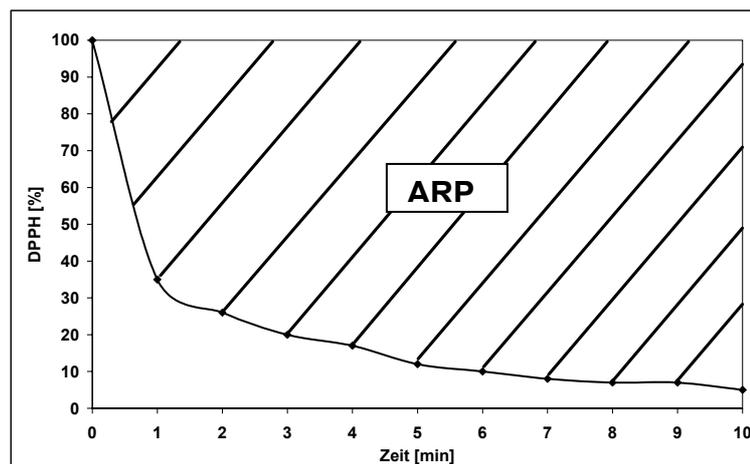


Abbildung 29: Auswertung des antiradikalischen Potenzials.

Die Auswertung des antiradikalischen Potenzials erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{ARP [\%]} = \frac{\text{Gesamtfläche} - \text{Fläche unterhalb des Graphen}}{\text{Gesamtfläche}} \times 100\%$$

Es zeigte sich wie bei KANEDA et al. (1995) ein signifikanter Zusammenhang (Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 1\%$) zwischen dem antiradikalischen Potenzial und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen in Bier.

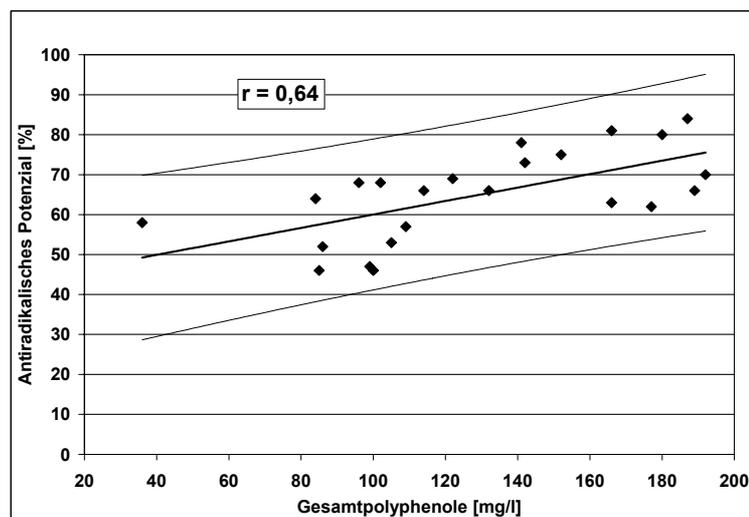


Abbildung 30: Korrelation zwischen dem antiradikalischen Potenzial und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen im abgefüllten Bier (N = 23, $\alpha = 1\%$, Anhang T3).

5.2 Beurteilung phenolischer Substanzen aufgrund ihres antiradikalischen Potenzials

Mit Hilfe der Analytik des antiradikalischen Potenzials war es möglich, phenolische Substanzen, die vornehmlich im Brauprozess nachgewiesen worden sind, in ihrer antioxidativen Aktivität zu beurteilen. Es konnte folgende Auflistung der Substanzen erstellt werden.

Tabelle 3: Antiradikalisches Potenzial phenolischer Substanzen aus dem Brauprozess. (Die Daten zum antiradikalischen Potenzial und eine Strukturdarstellung der einzelnen Substanzen ist im Anhang in den Abbildungen A2 bis A20 zu finden.)

	Name	ARP [%]
1	Sinapinsäure	94
2	Gallussäure	82
3	Kaffeesäure	68
4	Epigallocatechingallat	67
5	Chlorogensäure	63
6	Gentisinsäure	58
7	Epigallocatechin	56
8	Epicatechin	53
9	Xanthohumol	52
10	Isoxanthohumol	47
11	Rutin	37
12	Protocatechussäure	29
13	Ferulasäure	29
14	Syringasäure	28
15	p-Cumarsäure	26
16	Epicatechingallat	23
17	p-Hydroxybenzoesäure	16
18	Vanillinsäure	11
19	Genistein	5

Die Reihenfolge bestätigte recht gut die Ergebnisse aus der Literatur. Eine ortho di-Hydroxystruktur gilt als sehr antioxidativ. Die Gallussäure schnitt mit seiner tri-Hydroxystruktur sehr gut ab. Überraschend ist die starke antiradikalische Wirkung der Sinapinsäure, da sie nur eine Hydroxy-, aber zwei Methoxygruppen aufweist. Die Vanillinsäure hatte im Vergleich zur Protocatechussäure anstelle einer Hydroxygruppe eine Methoxygruppe, was sich in nur etwa einem Drittel des antiradikalischen Potenzials äußerte. Die Syringinsäure weist die gleiche Struktur

am Ring auf wie die Sinapinsäure. Sie stammt aus der Gruppe der Benzoessäurederivate und wies ebenso nur etwa ein Drittel der Aktivität der Sinapinsäure auf. Die Kaffeesäure verhielt sich aufgrund ihrer Struktur erwartungsgemäß sehr gut. Interessant war, dass die Protocatechussäure als Benzoessäurederivat wiederum ein deutlich geringeres Potenzial besaß. Das gleiche zeigte sich auch beim Vergleich von Ferula- und Vanillinsäure bzw. p-Cumar- und p-Hydroxybenzoessäure. So zeigten bei den Phenolcarbonsäuren bei gleichen aktiven Gruppen die Zimtsäurederivate ein größeres antiradikalisches Potenzial als die Benzoessäurederivate. Entsprechende Ergebnisse waren auch bei GOUPY et al. (1999) zu finden.

Bei den untersuchten Flavonoiden schnitt das Epigallocatechingallat am besten ab. Die Veresterung mit der Gallussäure schien nicht so effektiv zu sein wie die tri-Hydroxystruktur am B-Ring des Epicatechins. Dies zeigte sich am deutlich schlechteren Ergebnis des Epicatechingallats gegenüber Epicatechin und Epigallocatechin.

Wurden einzelne Substanzen einem Bier zudosiert, so konnte dessen antiradikalisches Potenzial gesteigert werden. Je höher das antiradikalische Potenzial der phenolischen Substanz war, umso größer war auch das gesamte Potenzial.

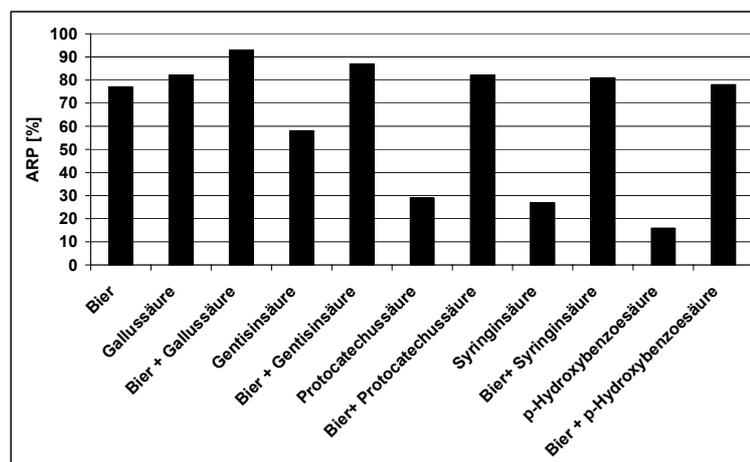


Abbildung 31: Steigerung des antiradikalischen Potenzials von Bier durch Zugabe von phenolischen Substanzen (Anhang T2).

Durch die Zugabe einzelner Substanzen konnte gezielt ein Erfolg erreicht werden. Es ist allerdings zu berücksichtigen, inwieweit sich ein Gemisch dieser Substanzen verhalten würde. Um dies zu untersuchen, wurde ein Testgemisch hergestellt. Das Gemisch war in den Verhältnissen zusammengesetzt, wie die Substanzen im Durchschnitt (KRÜGER und ANGER 1995) im Bier zu finden sind. Das Verhältnis der Substanzen zueinander und das sich daraus ergebende theoretische relative ARP sind in Tabelle 4 dargestellt:

Tabelle 4: Zusammensetzung eines Gemisches aus verschiedenen Phenolcarbonsäuren und dessen ARP. (rel. ARP = Anteil x ARP der Einzelsubstanz bezogen auf 100 %).

Substanz	Anteil [%]	rel. ARP [%]
Gallussäure	34	27,9
p-Hydroxybenzoesäure	4	0,6
Syringinsäure	20	5,6
Vanillinsäure	20	2,2
Protocatechussäure	20	5,8
Gentisinsäure	2	1,2
Summe	100	43

Abbildung 32 zeigt, dass das gemessene antiradikalische Potenzial des Gemisches mit 52 % etwas über dem theoretisch berechneten Potenzial von etwa 43 % lag. Die Mischung von nur zwei Komponenten ergab ebenfalls ein etwas höheres Potenzial (87 %) als theoretisch berechnet (81 %).

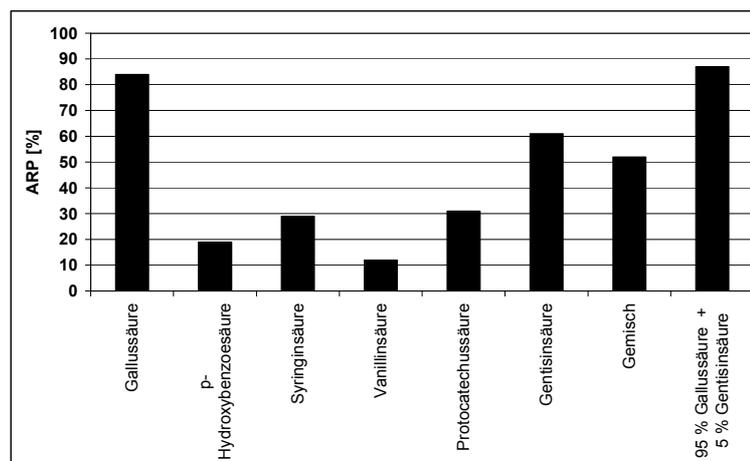


Abbildung 32: Antiradikalisches Potenzial einzelner phenolischer Substanzen und ihres Gemisches.

Es schienen somit keine konkurrierenden Reaktionen zwischen den Substanzen stattzufinden. Ob auf der anderen Seite synergistische Effekte vorlagen, war aufgrund dieser Messung nicht nachweisbar. Eine Erklärung für die leichten Erhöhungen ist womöglich der exponentielle Zusammenhang zwischen der Konzentration der Substanz und dessen antiradikalisches Potenzial, wie es bei der IC_{50} Methode dargestellt wurde. Die theoretische Verrechnung bezog sich im Gegensatz dazu auf einen linearen Zusammenhang und lag wahrscheinlich so entsprechend etwas niedriger.

Die Messung von Schwefeldioxid bestätigte ein nicht nachweisbares antiradikalisches Potenzial, wie es schon bei KANEDA et al. (1995) angegeben war. Trotz Zudosage von Sulfid zu Bier änderte sich die Abnahme des DPPH nicht.

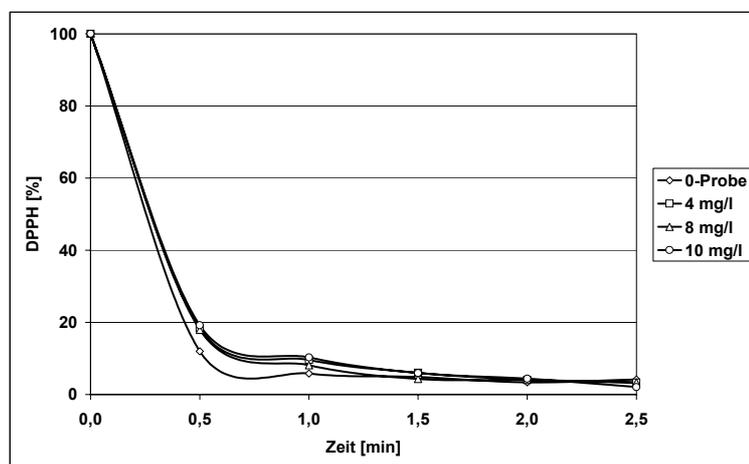


Abbildung 33: Einfluss von Sulfid auf die Messung des antiradikalischen Potenzials.

Ebenso konnte für Ascorbinsäure kein antiradikalisches Potenzial gemessen werden. So wurde diese Analytik nicht allgemein von antioxidativen Substanzen beeinflusst, sondern spezifisch durch die Wirkung phenolischer Substanzen.

5.3 Berechnung des Stabilitätsindex

Der Stabilitätsindex (SI) ist eine rechnerische Größe, die vier Analysemethoden vereinigt. Dabei handelt es sich um die Lag-Time, das antiradikalische Verhalten (ARV), das antiradikalische Potenzial (ARP) und das Reduktionsvermögen. Es sollte dadurch ermöglicht werden, antioxidative Vorgänge aus mehreren Blickwinkeln zu betrachten. Er berücksichtigt somit neben dem Einfluss des Schwefeldioxids auch die Reaktivität phenolischer Substanzen und anderer reduzierend wirkender Inhaltsstoffe, wie Melanoidine. Dadurch wurde versucht, die Komplexität an antioxidativen Reaktionen besser zu erfassen und das antioxidative Potenzial des Bieres oder von Zwischenprodukten im Brauprozess zu beschreiben. In erster Linie sollte die zu erwartende Geschmacksstabilität des Bieres beurteilt werden.

Zur Berechnung wurde das arithmetische Mittel der vier Einzelanalysen gebildet und in Prozent des maximal möglichen Wertes angegeben:

$$SI [\%] = \frac{\text{Lag-Time} [\%] + \text{ARV} [\%] + \text{ARP} [\%] + \text{Reduktionsvermögen} [\%]}{400} \times 100$$

Im Stabilitätsindex ist die Lag-Time in Prozent angegeben, um nur mit einer Einheit zu rechnen. Zur Umrechnung wurden 120 Minuten als 100 % angenommen. Die Umrechnung wurde folgendermaßen durchgeführt:

$$\text{Lag-Time} [\%] = \frac{\text{Lag-Time} [\text{min}]}{120 \text{ min}} \times 100 \%$$

Es kamen Vorschläge, einzelne Parameter, vor allem die Lag-Time, stärker zu gewichten. Dies würde allerdings zu einlastigen Tendenzen führen. Es hatte sich zudem gezeigt, dass die Korrelation zwischen der Lag-Time allein und der Alterungsverkostung nicht immer zufrieden stellend war. Dies war ebenso ein Grund, mehrere Analysen zu kombinieren.

Es zeigte sich, dass erst bei einer größeren Probenmenge ein statistischer Zusammenhang zwischen dem Stabilitätsindex und der zu erwartenden Geschmacksstabilität untergäriger heller Biere erreicht wurde.

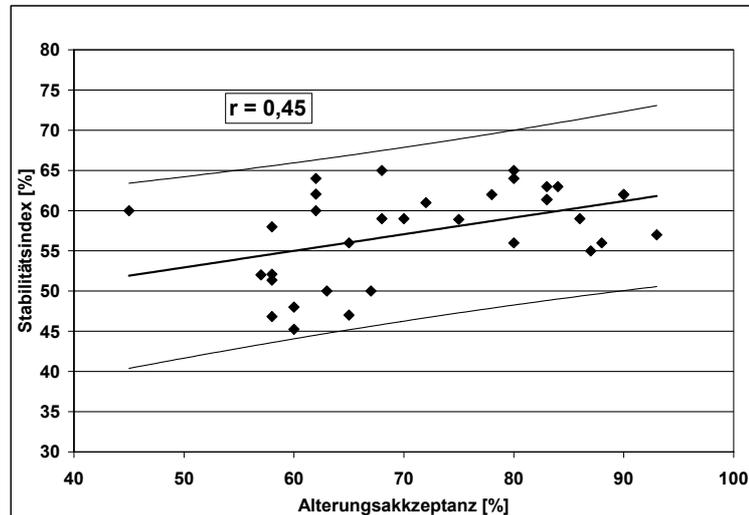


Abbildung 34: Korrelation zwischen dem Stabilitätsindex im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz des forciert gealterten Bieres ($N = 34$, $\alpha = 0,01$, Anhang T4).

Die weitere Arbeit wird zeigen, dass sich der Stabilitätsindex für die Beurteilung der Qualität des Brauprozesses im Hinblick auf die Geschmacksstabilität des resultierenden Bieres sehr gut anwenden lässt. Es zeigten sich jedoch Probleme im Vergleich von Bieren unterschiedlicher Brauereien.

In Abbildung 35 ist die Verteilung der Häufigkeiten des Stabilitätsindex von 104 Proben dargestellt. Sie näherte sich einer Normalverteilung an die ein Maximum zwischen 50 und 60 % zeigte. Aufgrund dieser Darstellung konnte eine Empfehlung für die Bewertung des Stabilitätsindex gegeben werden.

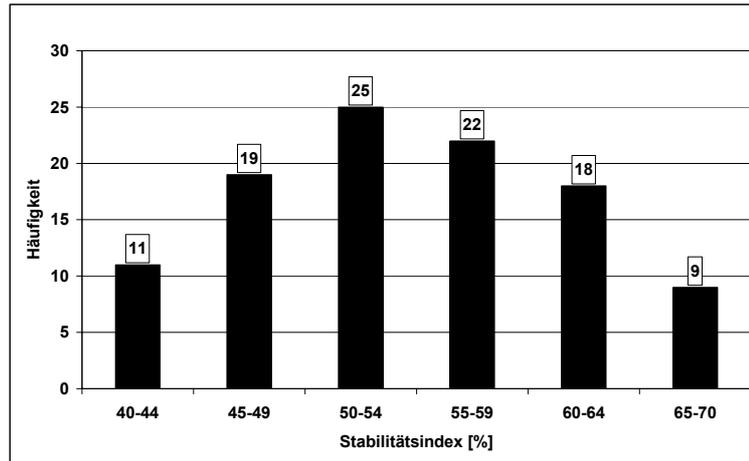


Abbildung 35: Häufigkeitsverteilung des Stabilitätsindex von 104 Proben (untergärige helle Biere).

Um den Stabilitätsindex zu beurteilen, wurde folgende Einteilung vorgeschlagen:

Sehr gut	> 60 %
Durchschnitt	50 – 60%
Schlecht	< 50 %

5.4 Der Stabilitätsindex in verschiedenen Biersorten

Abbildung 36 zeigt die Stabilitätsindizes in untergärigen hellen Bieren und Pilsbieren. Es zeigte sich eine Schwankung der Werte über den gesamten Beurteilungsbereich. Der höhere Gehalt an phenolischen Substanzen in den Pilsbieren führte nicht, wie es zu erwarten gewesen wäre, zu besseren Resultaten. Auf diese Thematik wird im Kapitel 5.2.1 noch eingegangen.

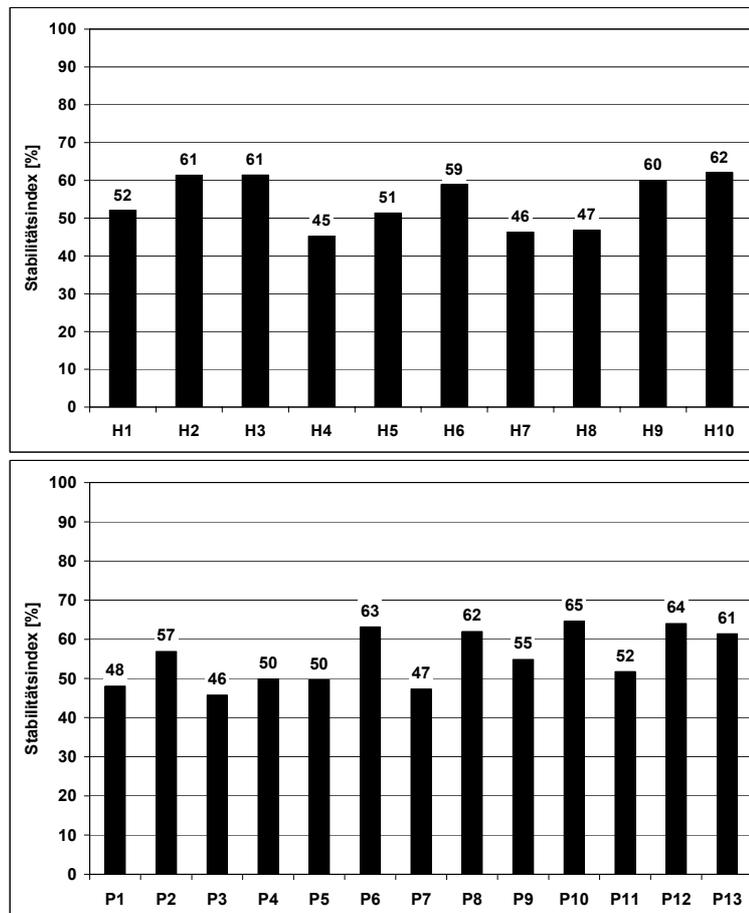


Abbildung 36: Der Stabilitätsindex von hellen Lagerbieren (oben) und Pilsbieren (unten).

Abbildung 37 zeigt die Stabilitätsindizes in alkoholfreien Bieren. Die Werte lagen durchschnittlich um 10 bis 20 % unterhalb der Werte von Vollbieren. Dies war wahrscheinlich auf den mangelnden Ethanol zurückzuführen, der selbst antiradikalisch wirken kann. Allerdings hatte der Ethanolgehalt ebenfalls einen

direkten Einfluss auf die Analytik. So wurden unter Umständen in alkoholfreien Bieren weniger freie Radikale generiert, was sich in niedrigeren antiradikalischen Ergebnissen äußert. In Kapitel 5.5 wird gesondert auf diese Einflussfaktoren eingegangen. Die hohen Werte für den Stabilitätsindex in Fest- und Bockbieren bestätigte den Effekt des Ethanols, der deutlich höher lag.

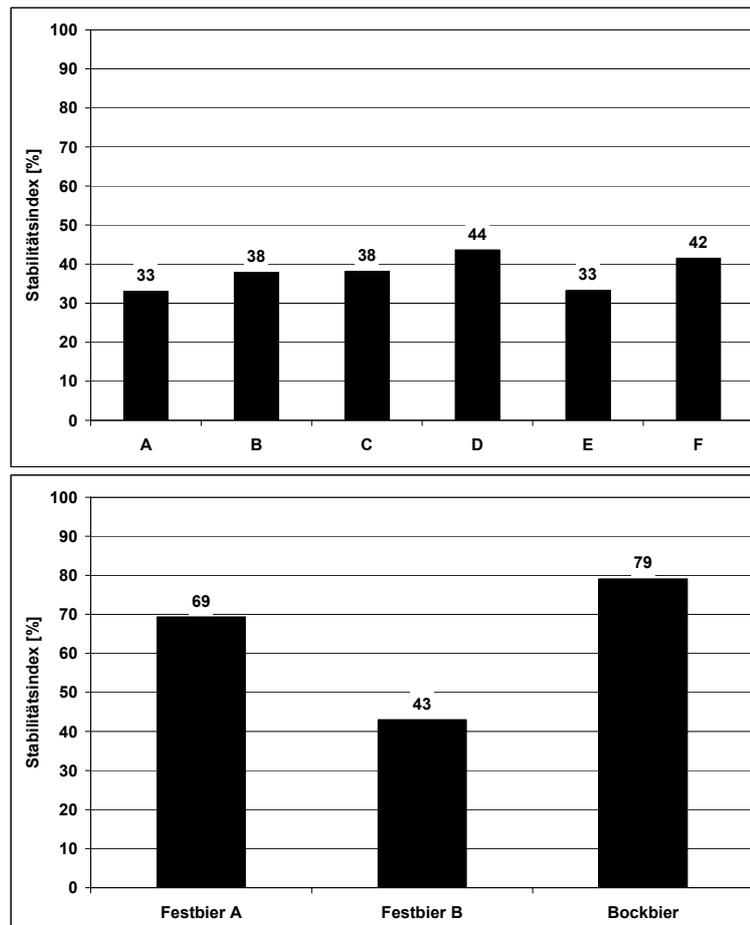


Abbildung 37: Der Stabilitätsindex von alkoholfreien untergärigen Bieren (oben) und Fest- bzw. Bockbier (unten).

Obergärige Biere zeigten Werte, die im Durchschnitt um 10 % niedriger als die untergärigen Vollbiere lagen. Bisher konnte keine obergärige Hefe gefunden werden, die Schwefeldioxid bildet. Somit konnte bisher in keinem obergärigen Bier eine Lag-Time nachgewiesen werden. Dies hatte einen direkten Einfluss auf den Stabilitätsindex. Es waren zwar in frisch abgefüllten Bieren teilweise bis zu 1 ppm

Schwefeldioxid messbar, das allerdings meist nach einer Woche aufgebraucht war.

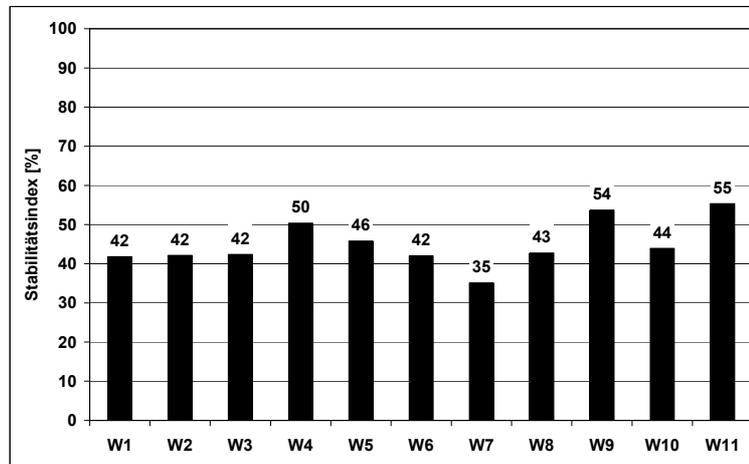


Abbildung 38: Der Stabilitätsindex in obergärigen Bieren (Weizenbieren).

5.5 Untersuchung von Einflussfaktoren auf die Analytik von Radikalen

5.5.1 Einflüsse der Probenbeschaffenheit auf ESR-Messungen mittels Spin-Trap Technik

5.5.1.1 Einfluss der Probenvorbereitung auf die Radikalentstehung

Um Bierproben für die Messung vorzubereiten, wurden diese im Ultraschallbad entkohlensäuert. Dabei konnte kein Einfluss auf die Radikalentstehung während dieses Vorbereitungsschrittes festgestellt werden.

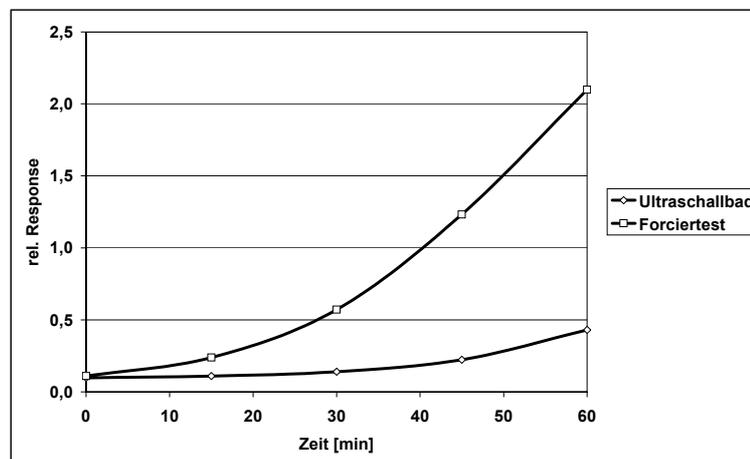


Abbildung 39: Vergleich der Radikalentstehung während des Entkohlensäuern mittels Ultraschall und während des oxidativen Forciertests.

Der Anstieg des Graphen nach 40 Minuten war vermutlich mit dem Erwärmen des Wassers im Ultraschallbad auf etwa 30 °C zu erklären. Dagegen war die Radikalentstehung in derselben Probe während des oxidativen Forciertests bei 60 °C deutlich stärker. Das Entkohlensäuern mittels Ultraschallbad hatte somit keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Trübe Proben wie Würze und Jungbier, wurden zentrifugiert. Das zusätzliche Filtrieren dieser Proben über einen Faltenfilter führte zu gesteigerten Radikalentstehungen während der Messungen. Der Extraktgehalt hatte allgemein einen Einfluss auf das gemessene antiradikalische Verhalten (ARV) der Probe. Je höher dieser war, umso mehr Radikale wurden aufgrund der großen Anzahl an

Inhaltsstoffen unspezifisch abgefangen und es ergab sich ein besseres Messergebnis. Um eine qualitative Aussage treffen zu können, muss dies beim Vergleichen von Würzen (Stammwürzegehalt), aber auch von unterschiedlichen Biersorten (Alkoholfrei, Leichtbier, Vollbier, Starkbier) berücksichtigt werden.

5.5.1.2 Untersuchung des Einflusses des Ethanols auf die Radikalmessung mittels Spin-Trap-Technik

Das durch die Fenton-Reaktion entstehende Hydroxylradikal ist sehr reaktiv und kurzlebig. Noch bevor es mit dem Spin-Trap Reagenz PBN reagiert, geht es mit Ethanol eine Verbindung zum 1-Hydroxyethylradikal ein. Dies zeigte sich am aufgenommenen ESR-Spektrum des Spinadduktes (REINKE et al. 1991, ANDERSEN und SKIBSTED 1998). Im Gegensatz zum Hydroxylradikal ist der Einfluss des Kohlenstoffes aus dem Ethylrest klar zu erkennen.

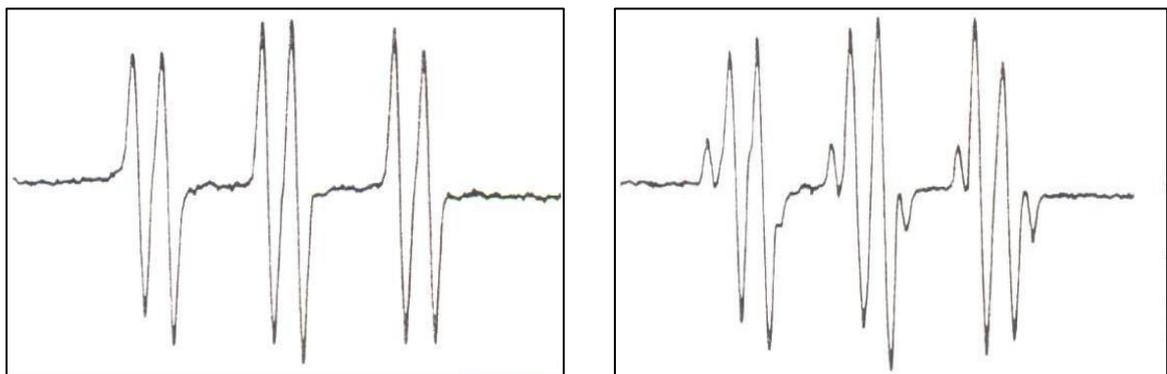


Abbildung 40: Links: ESR-Spektrum des PBN-Hydroxylradikalspinadduktes; Rechts: ESR-Spektrum des PBN-1-Hydroxyethylradikalspinadduktes (REINKE et al. 1991).

Durch die Zugabe von Ethanol zu Würze konnte die Radikalentstehung pro Zeit deutlich gesteigert werden und der Einfluss nachvollzogen werden.

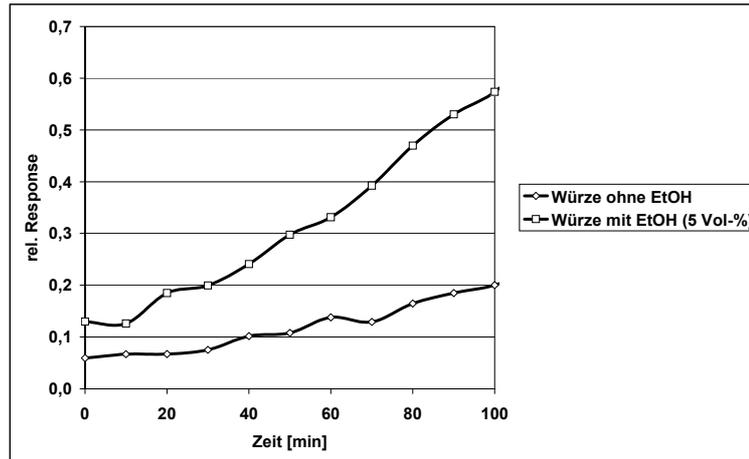


Abbildung 41: Einfluss des Ethanolgehaltes auf die Messung des Hydroxyl- bzw. 1-Hydroxyethylradikals.

Dieser Einfluss war bei Vergleichsuntersuchungen in Brauereien sehr wichtig, da sich der Ethanolgehalt je nach Biertyp im Produktionsprozess unterschiedlich verhielt.

Auf der anderen Seite wurde das Spin-Trap-Reagenz in Ethanol gelöst. Es wurde somit der zu untersuchenden Probe immer Ethanol zugeführt. Laut Methodenvorschrift wurden 5 ml Probe 100 µl Spin-Trap-Reagenz zupipettiert. Dieses enthielt 50 µl Ethanol und es ergab sich eine wässrige Lösung mit 1 Vol.-% Ethanol. Um diesen Einfluss zu prüfen, wurde eine Probe mit PBN, das in reinem Wasser gelöst wurde, gemessen.

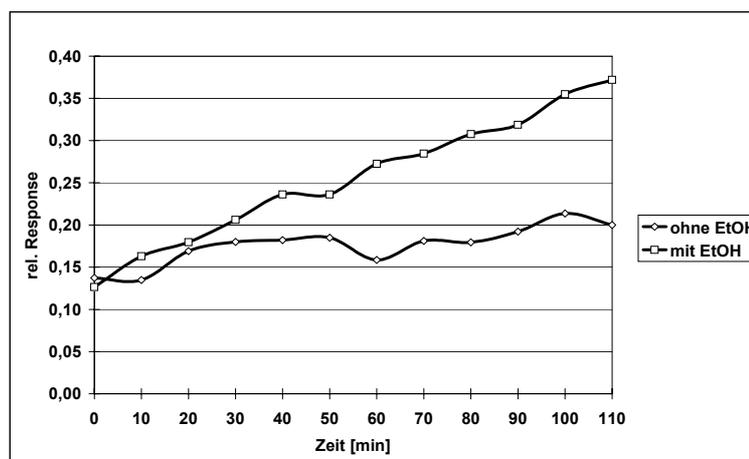


Abbildung 42: Vergleich der Radikalentstehung während des oxidativen Forciertestes: PBN in reinem Wasser und ethanolischer Lösung gelöst.

Abbildung 42 zeigt deutlich, dass selbst der Ethanolgehalt aus dem Spin-Trap-Reagenz einen großen Einfluss auf die Messung hatte. Wurde das PBN nur in Wasser gelöst, zeigte sich ein sehr flacher Verlauf in Würze. Es entstanden fast keine Radikale in der gemessenen Zeit. Allein der Ethanolgehalt des Spin-Trap Reagenzes führte zu einem deutlichen Anstieg des Graphen.

Um die Vergleichbarkeit zwischen Labors zu gewährleisten, sollte dieser zugeführte Ethanolgehalt konstant gehalten werden, da sonst aufgrund der unterschiedlichen Radikalenstehungen die Flächenauswertungen stark differieren würden. Die Responsewerte zu gleichen Messzeitpunkten würden auf unterschiedlichem Niveau liegen.

5.5.1.3 Einfluss des pH-Wertes, des Extraktgehaltes und des Ethanolgehaltes der Probe auf die Radikalmessung

Um den Einfluss einzelner Parameter wie pH-Wert, Extraktgehalt und Ethanolgehalt der Probe genauer zu prüfen, wurden Verdünnungsreihen von Bier angelegt. (Daten im Anhang in den Abbildungen A21 bis A24)

Wurde das Bier mit Auqa bidest verdünnt, so zeigte sich kein Einfluss auf die Lag-Time, aber die Fläche unterhalb der Graphen nahm fast linear mit der Verdünnungsstufe ab. Dies wurde auch von UCHIDA und ONO (2000a,b) festgestellt. Sie gingen von einem Gleichgewicht zwischen pro- und antioxidativen Inhaltsstoffen im Bier aus. Dieses Gleichgewicht liege auch bei einer großen Verdünnung noch vor und äußere sich in einer konstanten endogenen antioxidativen Aktivität. Die Abnahme der Fläche mit der Verdünnungsreihe war auf die Verringerung von spezifisch reagierenden Substanzen, wie Polyphenole, aber auch unspezifisch reagierenden Bierinhaltsstoffen (Eiweiß, Aminosäuren, Dextrine und andere Extraktbestandteile) zurückzuführen.

Wurde die Verdünnung mit einer ethanolischen wässrigen Lösung (5 % Vol.) durchgeführt, zeigte sich das gleiche Bild. Allerdings waren die Responsewerte zu Beginn der Messung etwas erhöht, was mit dem konstant gehaltenen Ethanolgehalt der Mischung und der Reaktion zum stabileren 1-Hydroxyethylradikal erklärt werden konnte.

Wurde das Bier mit einem Acetatpuffer (pH 4,3) verdünnt, so blieb die Lag-Time gleich, die Fläche nahm jedoch exponentiell ab. Im Gegensatz zur Verdünnung mit reinem Aqua bidest., blieb der pH-Wert der Mischung konstant.

Bei einer Verdünnungsreihe mit einem Acetatpuffer (pH 4,3), der auf 5 Vol. % Ethanol eingestellt wurde, nahm neben der Fläche auch die Lag-Time ab. Eine Erklärungsmöglichkeit war, dass aufgrund des konstanten Ausgangs-pH-Wertes die Radikalentstehung während des Forciertests bei allen Verdünnungsstufen auf gleichem Niveau verlief (siehe hierzu Kapitel 5.5.1.4). Der gleichbleibende Ethanolgehalt führte offensichtlich zu so großen Mengen an 1-Hydroxyethylradikalen, dass dadurch auch die endogene antioxidative Aktivität (Lag-Time) abnahm.

5.5.1.4 Die Veränderung des pH-Wertes der Probe während des Forciertests zur Radikalbestimmung

Untersuchungen zeigten, dass durch die nachträgliche Erhöhung des pH-Wertes des Bieres dessen Lag-Time erniedrigt werden konnte, während eine Absenkung des pH-Wertes zu einer Steigerung der Lag-Time führte.

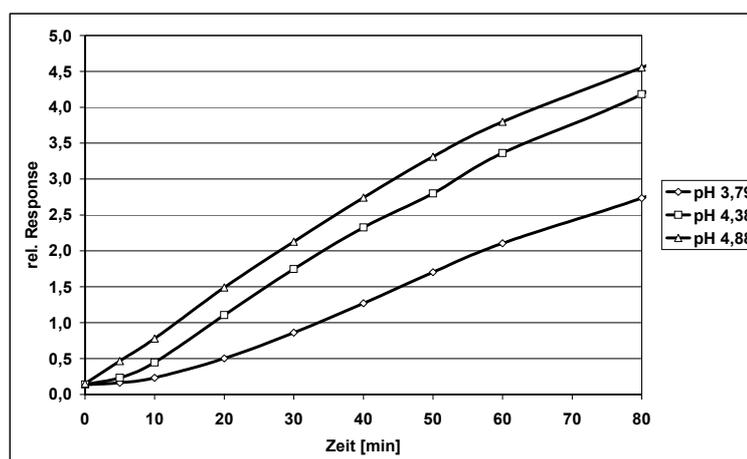


Abbildung 43: Veränderung der Radikalentstehung in Abhängigkeit des eingestellten pH-Wertes zu Beginn der Messung.

Es zeigte sich allerdings, dass bei Bieren mit einem natürlich vorliegenden höheren pH-Wert, die Lag-Time Werte nicht kleiner waren als bei Bieren mit einem

niedrigeren pH-Wert. KANEDA et al. (1997) schrieb, dass sich grundsätzlich ein niedriger pH-Wert während des gesamten Brauprozesses positiv auf die Geschmacksstabilität des Bieres auswirkt.

Wurde der pH-Wert während des forcierten Oxidationstests verfolgt, so zeigte sich, dass dieser auf weit über 5,0 in etwa 3 Stunden Messzeit anstieg. Zum Vergleich stieg bei einem Bier ohne PBN der pH-Wert während des Forciertests nur um maximal 0,1.

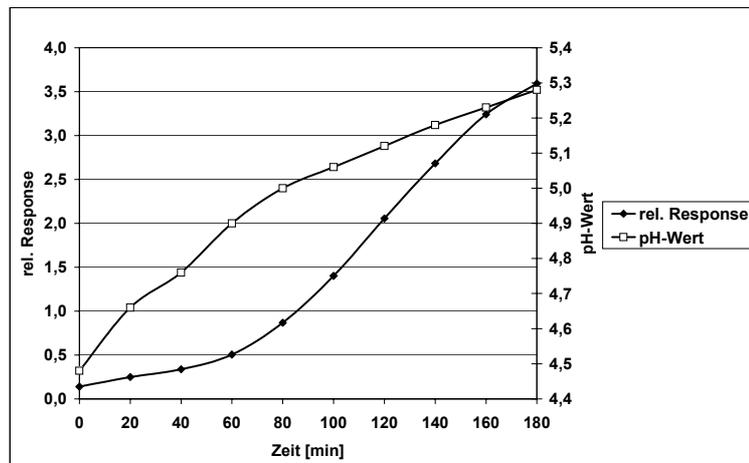


Abbildung 44: Verlauf der Radikalentstehung und des pH-Wertes der Probe während des oxidativen Forciertests.

Je höher der Ausgangswert war, umso höher war auch der pH-Wert nach der Messung. Die Graphen der pH-Werte verliefen nahezu parallel. Es zeigte sich bisher jedoch kein Zusammenhang zwischen dem Überschreiten eines bestimmten pH-Wertes und den zugehörigen gemessenen Lag-Time Werten der Proben.

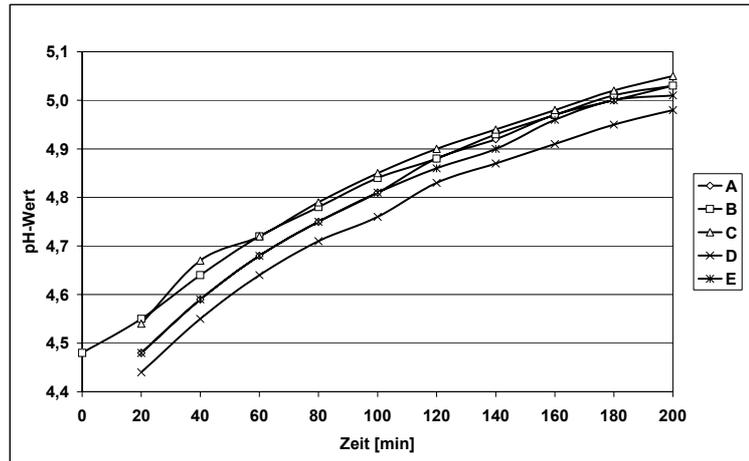


Abbildung 45: Verlauf der pH-Werte während des oxidativen Forciertests von 5 Bieren.

Dieser Anstieg des pH-Wertes hing wahrscheinlich mit dem Spin-Trap Reagenz PBN zusammen. Eine mögliche Erklärung war die Hydrolyse des PBN-Spinadduktes zu einem Aldehyd. Dies wäre in diesem Fall das Benzaldehyd, wofür der marzipan-ähnliche Geruch der Probe nach dem oxidativen Forciertest sprach (OHKUMA et al. 1981, KOTAKE und JANZEN 1991, JANZEN et al. 1992). Die Zunahme der Extinktion bei $\lambda=288$ nm, während des Forciertests war ein weiterer Hinweis.

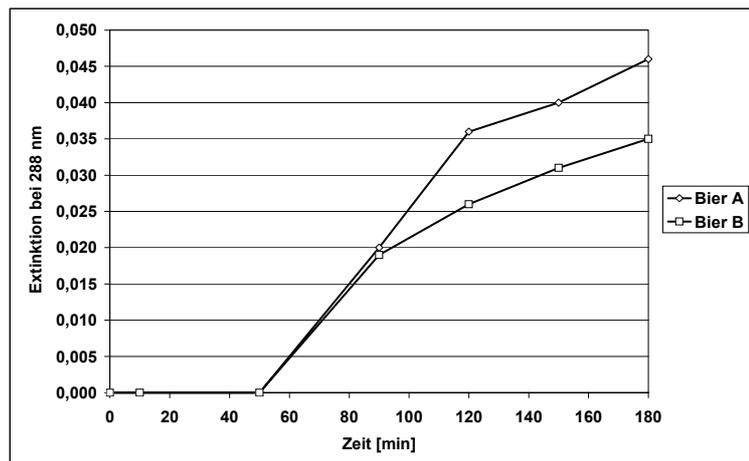


Abbildung 46: Unterschiedliche Extinktionszunahmen (Entstehung von Benzaldehyd) während des Forciertests.

Laut OHKUMA et al. (1980) besitzt auch das PBN bei dieser Wellenlänge ein Extinktionsmaximum. In der frischen Probe konnte dieses nach der Zudosage jedoch nicht gemessen werden. Erst während des Erhitzens nahm das Extinktionsmaximum zu und wurde aber mit dem entstehenden Benzaldehyd in Verbindung gebracht.

Interessant war in diesem Zusammenhang, dass auch die Entstehung des Hydroxylradikals vom pH-Wert abhing. BISHOP et al. (1968) zeigten, dass die Generierung des Hydroxylradikals zwischen pH 3 und 4 am geringsten war. Er begründete dies damit, dass in diesem Bereich Eisenionen komplex gebunden vorliegen und somit nicht katalytisch an der Radikalentstehung (Fenton-Reaktion) beteiligt waren. Zwischen pH 4 und 6 zeigte sich hingegen bei BISHOP et al. (1968) ein starker Anstieg in der Radikalgenerierung. Es könnte gefolgert werden, dass während des oxidativen Forciertests neben dem pH-Wert auch die Radikalentstehung stetig zunimmt, was sich in dem Anstieg des Graphen am ESR widerspiegelt.

Eine Absenkung des pH-Wertes auf den Ausgangswert nach dem Forciertest führte zu einer Verringerung des Responsewertes, der daraufhin wieder anstieg.

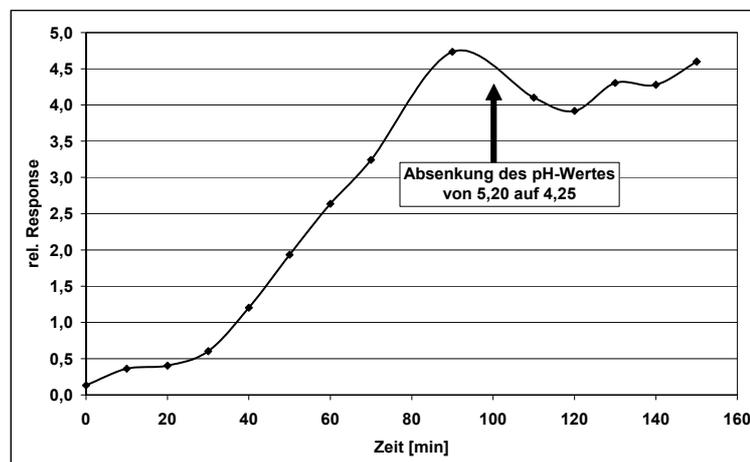


Abbildung 47: Einfluss der Absenkung des pH-Wertes nach dem Forciertest auf die Radikalentstehung.

Dies könnte damit erklärt werden, dass das Gleichgewicht zwischen freiem SO_2 und Sulfit auf die Seite des Schwefeldioxids verschoben wurde. Der ursprüngliche

Wert wurde wahrscheinlich aufgrund des inzwischen verbrauchten SO₂-Anteils nicht mehr erreicht. Aber es sollte auch in diesem Fall die Abhängigkeit der Hydroxylradikalentstehung vom pH-Wert berücksichtigt werden. So wurde diese durch die Absenkung des pH-Wertes wahrscheinlich ebenso wieder vermindert.

5.5.1.5 Spin-Trap Technik versus antioxidative Aktivität einzelner Substanzen

Wurde am ESR mit der Spin-Trap Technik gearbeitet, musste unterschieden werden, ob es sich um antioxidative Effekte handelte oder um die Reaktion des Radikals mit dem Spin-Trap Reagenz. Diese Reagenzien waren entsprechend ausgewählt und zeigen eine starke Affinität gegenüber den spezifischen Radikalen, für die sie eingesetzt wurden. ANDERSEN et al. (2000) zeigten in einer Veröffentlichung, dass phenolische Substanzen (Vergleich von Bieren, gebraut aus den Sorten Alexis und Caminant) bei der Messung am ESR keinen Unterschied in der antiradikalische Wirkung erkennen ließen. Eigene Untersuchungen konnten bestätigen, dass selbst bei hoher Dosage an phenolischen Substanzen (100 ppm) keine Änderung im Verlauf des Graphen, sprich in der Radikalentstehung zu erkennen war.

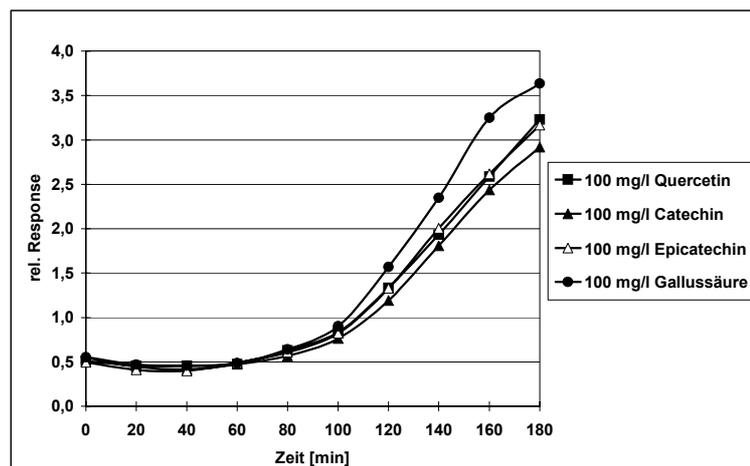


Abbildung 48: Verlauf der Radikalentstehung in Bier nach Zugabe von phenolischen Substanzen.

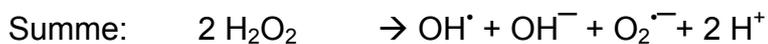
Dies lies jedoch nicht unbedingt den Schluss zu, dass phenolische Substanzen keine antiradikalische Aktivität zeigten. Es könnte ebenso sein, dass das Spin-Trap Reagenz schneller mit den Radikalen reagierte als die phenolischen Substanzen. Zusätzlich reagierte das Hydroxylradikal höchstwahrscheinlich zuerst mit Ethanol. Ob dieses Addukt von phenolischen Substanzen abgefangen werden konnte, war nicht zu klären gewesen.

Des Weiteren zeigten phenolische Substanzen eine Abhängigkeit der antiradikalischen Aktivität gegenüber dem pH-Wert der Probe. Darauf wird im nächsten Kapitel genauer eingegangen.

5.5.2 Einfluss des pH-Wertes auf die antiradikalische Aktivität von phenolischen Substanzen und Sulfit

Um die Abhängigkeit der antiradikalischen Aktivitäten von phenolischen Substanzen und Sulfit zu untersuchen, wurde sowohl mittels ESR, als auch mit einem Chemilumineszenz-Detektor gearbeitet. Um aktive Formen des Sauerstoffs zu Generieren, wurde auf die Fenton Reaktion zurückgegriffen.

Fenton-Reaktion:



Aus der Bilanz ist zu erkennen, dass sowohl das Hydroxylradikal als auch das Superoxidradikalanion eisenkatalytisch entsteht. Folgende Vorgehensweisen wurden angewendet:

Detektion von Superoxidradikalanion:

In das Probenschälchen wurde ein Acetatpuffer vorgelegt, der 0,01 mM Eisen(²⁺)ionen und 2,5 nM CLA-Reagenz (Cypridina Luciferin Analog, TCI, Tokyo, Japan) enthielt. Dieses Reagenz reagierte spezifisch mit Superoxidradikalanion oder Singulett-Sauerstoff und gab entsprechend ein Chemilumineszenzsignal frei (KANEDA et al. 1991a, KANEDA et al. 1994). Der Puffer wurde zum einen auf pH 4,3, zum anderen auf pH 7,0 eingestellt. Abbildung 48 zeigt, dass zuerst eine Basislinie dieses Gemisches über 30 Sekunden aufgenommen wurde. Dann wurde dem Gemisch über eine Spritze eine Wasserstoffperoxidlösung (1 mM) zugegeben, das zum Superoxidradikalanion weiterreagierte. Um diese aktive Sauerstoffform spezifisch zu detektieren, wurde das Reagenz CLA zugegeben. Wurde dem Puffer in steigender Konzentration eine phenolische Substanz oder Sulfit zugegeben, so konnte das Chemilumineszenzsignal deutlich reduziert

werden. Die Abbildungen 49 und 50 zeigen als Beispiel das Ergebnis der Untersuchungen mit Sulfit.

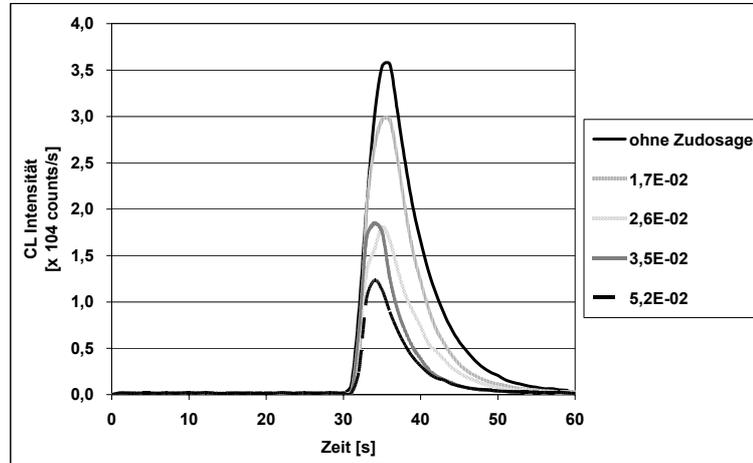


Abbildung 49: Abnahme des Chemilumineszenzsignals nach Zudosage von antioxidativ reagierenden Substanzen (in diesem Beispiel Sulfit, Konzentrationsangaben in mM).

Die Abbildung 48 zeigt die Auswertung der Reduzierung des Nullsignals, das ohne Zugabe eines Antioxidanz gemessen wurde. Aus der Auftragung der Abnahme des Radikals über die Konzentration konnte die IC_{50} ausgewertet werden.

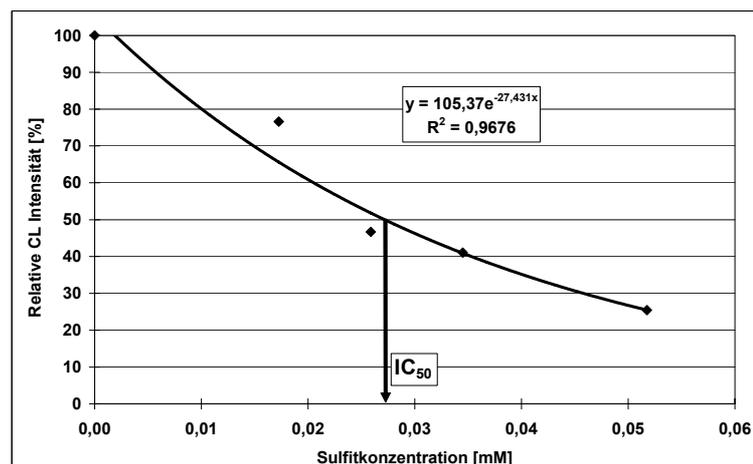


Abbildung 50: Auswertung der IC_{50} der Substanzen am Beispiel von Sulfit.

Detektion des Hydroxylradikals:

Um das Hydroxylradikal zu detektieren wurde ein ESR Spektrometer (JEOL Ltd., Model JES-FR30, Japan) verwendet. Es wurde eine Acetatpufferlösung, die sowohl auf pH 4,3 als auch auf pH 7,0 eingestellt war, mit 0,1 mM Eisen(²⁺)Ionen und 50 mM PBN versetzt. Eine 1 mM Wasserstoffperoxidlösung wurde dem Puffer zugegeben, um die Reaktion zu starten. Das Gemisch wurde dann am ESR gemessen. Abbildung 51 zeigt das aufgenommene Spektrum. Durch vorherige Zugabe eines Antioxidanz konnte die Signalhöhe, die gleichbedeutend mit dem Gehalt an entstandenen Hydroxylradikalen ist, deutlich reduziert werden. Das Beispiel zeigt die Ergebnisse bei Verwendung der Gallussäure.

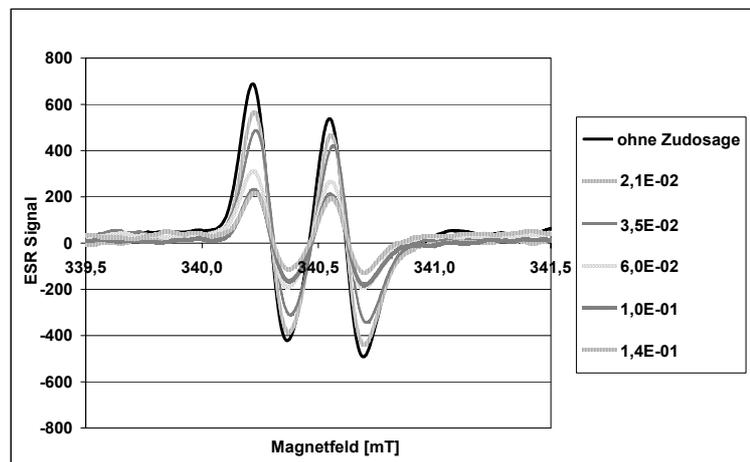


Abbildung 51: Abnahme des ESR Signals nach Zudosage von antioxidativen Substanzen (in diesem Beispiel Gallussäure, Angabe in mM).

Aus der Abnahme der Radikalmenge bzw. der Unterdrückung ihrer Entstehung und der verwendeten Konzentrationen, konnte für jede Substanz wiederum die IC_{50} bestimmt werden (Abbildung 52).

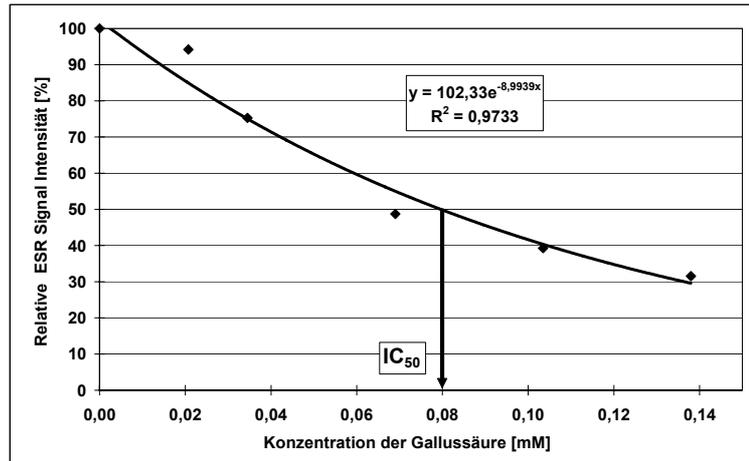


Abbildung 52: Auswertung der IC_{50} bei der ESR Methode am Beispiel von Gallussäure.

Die Tabelle 5 zeigt alle IC_{50} der verwendeten Substanzen gegenüber dem Hydroxylradikal und Superoxidradikalanion.

Tabelle 5: IC_{50} der untersuchten Substanzen gegenüber Hydroxylradikal und Superoxidradikalanion. k.A. = keine Aktivität (Zahlen in Klammern geben die maximal verwendete Konzentration an)

	pH 4,3		pH 7,0	
	Hydroxylradikal [mM]	Superoxidradikalanion [mM]	Hydroxylradikal [mM]	Superoxidradikalanion [mM]
Catechin	k.A. (6,0)	k.A. (5,9)	$2,9 \times 10^{-1}$	$2,0 \times 10^{-2}$
Ferulasäure	k.A. (2,4)	$1,4 \times 10^0$	k.A. (2,4)	$5,0 \times 10^{-2}$
p-Hydroxybenzoesäure	k.A. (8,5)	k.A. (8,5)	$8,3 \times 10^{-2}$	k.A. (8,5)
Gallussäure	k.A. (8,3)	$4,9 \times 10^0$	$8,0 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-2}$
Vanillinsäure	k.A. (4,8)	k.A. (4,7)	$3,8 \times 10^{-1}$	$6,2 \times 10^{-2}$
Sulfit	$1,4 \times 10^0$	$2,8 \times 10^{-2}$	$4,3 \times 10^{-2}$	$5,9 \times 10^{-4}$

Bei pH 4,3 zeigten die phenolischen Substanzen gegenüber dem Hydroxylradikal keine Reaktivität. Gegenüber dem Superoxidradikalanion zeigten die Gallus- und Ferulasäure bei hohen Konzentrationen antiradikalische Aktivität. Das Sulfit dagegen zeigte gegenüber beiden aktiven Sauerstoffformen eine Reaktivität.

Die Untersuchungen bei pH 7,0 zeigten deutliche Reaktivitäten der phenolischen Substanzen gegenüber dem Hydroxylradikal und dem Superoxidradikalanion. Die Ferula- und p-Hydroxybenzoesäure waren in dieser Gruppe Ausnahmen. Das Sulfit zeigte eine höhere Aktivität als bei dem niedrigeren pH-Wert.

Diese Ergebnisse können ein Hinweis für eine mangelnde antioxidative Aktivität phenolischer Substanzen im abgefüllten Bier bzw. nach der Hauptgärung sein. Es ist allerdings zu berücksichtigen, dass wie in Kapitel 5.5.1.4 erwähnt, bei niedrigeren pH-Werten auch weniger Radikale generiert werden. Dieser Aspekt könnte auch zu geringeren gemessenen Aktivitäten in den Analysen führen. Somit ist wieder nicht eindeutig zu klären, ob es sich um eine tatsächliche Einflussgröße auf die natürlichen Aktivitäten handelt oder ob die Analytik zu einer fälschlichen Aussage verleitet.

5.6 Kontinuierliche Messung von Oxidationsreaktionen während des Maischens mittels Chemilumineszenzdetektion

In der Literatur wurde parallel zu dieser Arbeit von mehreren Seiten ein positiver Einfluss phenolischer Substanzen beim Maischen beschrieben. AERTS et al. (2001) konnten die antioxidative Aktivität im Sudhaus durch Dosage von Gallotanninen zur Maische steigern. Dies resultierte auch in einer besseren Geschmacksstabilität der Biere. MIKYSKÁ et al. (2001) zeigten, dass durch sauerstofffreies Maischen der Gehalt an oxidierbare Polyphenolen gesteigert wurde, der auch mit der reduzierenden Kraft der Würzen korrelierte.

Diese Erfahrungen unterstrichen die Ergebnisse, dass die antioxidative Aktivität der Polyphenole bei höheren pH-Werten deutlich stärker war und so im Sudhaus einer Brauerei von Bedeutung war. Da die Dosage von Gallotanninen nach dem Reinheitsgebot nicht zulässig ist, wurde versucht, den antioxidativen Einfluss phenolischer Substanzen aus dem Malz beim Maischen und speziell beim Einmaischvorgang zu verfolgen. Dazu wurde eine Messmethode mittels Chemilumineszenzdetektion entwickelt. Mit dieser Analyse konnten Oxidationsreaktionen während des Maischens kontinuierlich und ohne Probennahme gemessen werden.

Vorgehensweise:

- Es wurden 3 g fein gemahlener Malzschrot in ein Probenschälchen (Abbildung 53) eingewogen.
- Das Probenschälchen wurde in den Messraum gegeben, der auf Einmaischtemperatur vorgeheizt war.
- Der Messraum wurde verschlossen und der Chemilumineszenzdetektor gestartet.
- Warten, bis das Signal stabilisiert war.
- Zugabe von Wasser mittels einer Spritze in den verschlossenen Probenraum.



Abbildung 53: Links: Einwaage von Malzschrot in das Probenschälchen; Rechts: Probenschälchen im Probenraum (offen) mit der Spritze zur Wasserzugabe. Neben der Spritze sind die Gasanschlüsse sichtbar, durch die der Probenraum gespült werden konnte.

Die Abbildungen 54 und 55 zeigen den charakteristischen Verlauf des Chemilumineszenzsignals bei zwei verschiedenen Maischprogrammen. In Abbildung 54 ist ein Hochkurzmaisverfahren dargestellt. Die 62 °C Einmaischttemperatur führte zu einem deutlich höheren Signal als vergleichsweise bei 37 °C (Abbildung 55). Es ist noch zu klären, ob es sich um spezifische Reaktionen handelte oder ob die Temperaturabhängigkeit der Radikalreaktionen hierfür verantwortlich war.

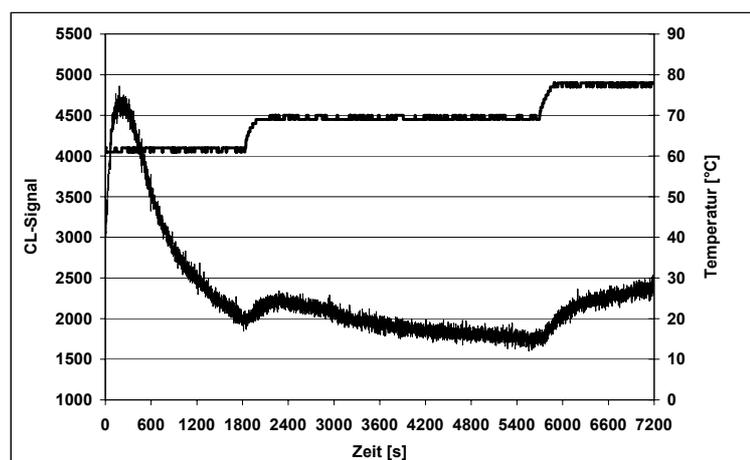


Abbildung 54: Chemilumineszenzsignal von Pilsener Malz.
Temperaturprogramm: 62 °C – 30'; 70 °C – 60'; 78 °C.

Der Einmischzeitpunkt führte bei beiden Programmen zu den höchsten Signalen. Die Proteolyse und Amylyolyse lagen auf einem deutlich niedrigeren Niveau. Die Verzuckerungsrast und das Aufheizen auf Abmischtemperatur waren unabhängig von der Einmischtemperatur. Das bedeutet, dass die Eiweißrast bei dem verwendeten Pilsner Malz keine Abbauprodukte lieferte, die bei 70 °C zu vermehrten Radikalreaktionen führte.

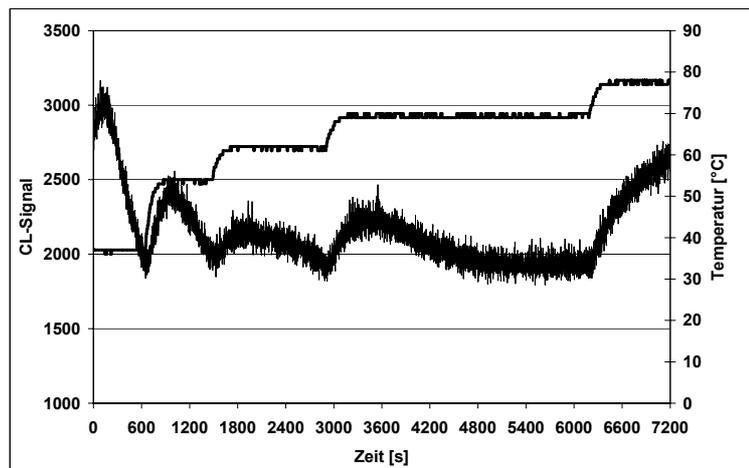


Abbildung 55: Chemilumineszenzsignal von Pilsener Malz.

Temperaturprogramm: 37 °C – 10'; 54 °C – 10'; 62°C – 20'; 70 °C – 50'; 78 °C.

Um die verantwortlichen Reaktionen genauer zu beschreiben, wurde dem Malz das Reagenz CLA in einer Konzentration von 4×10^{-4} M zugegeben. Dieses Reagenz gibt Chemilumineszenz ab, nachdem es spezifisch mit Singulett-Sauerstoff und Superoxidradikalanion reagierte (KANEDA et al. 1991b).

Abbildung 56 zeigt den Verlauf des Chemilumineszenzsignals nach Zugabe des Reagenzes CLA. Das Signal nahm über den gesamten Messzeitraum mit steigender Temperatur zu. Demzufolge handelte es sich um aktive Sauerstoffformen, die gebildet wurden. Die Zwischenprodukte, wie Singulett-Sauerstoff, konnten somit gemessen werden. Es ist allerdings anzunehmen, dass dieses weiterreagierte. Somit waren in der Maische freie Radikale detektierbar, die an Oxidationsreaktionen beteiligt sein können.

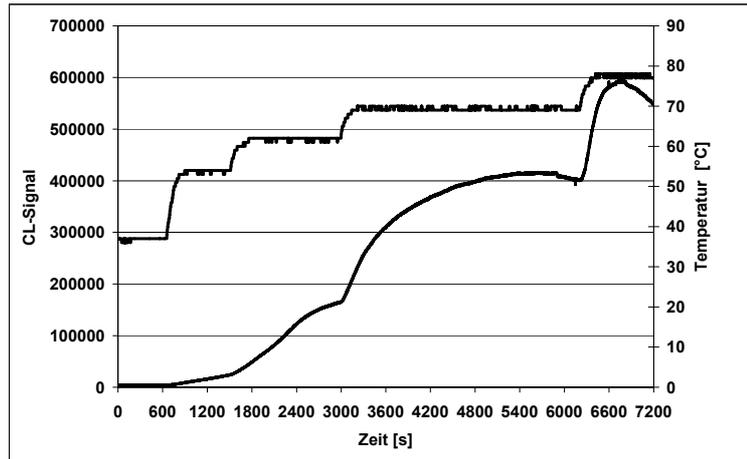


Abbildung 56: Verlauf des Chemilumineszenzsignals beim Einmischen von Pilsener Malz nach Zudosage des Reagenz CLA. (37 °C – 10'; 54 °C – 10'; 62°C – 20'; 70 °C – 50'; 78 °C).

Da der Sauerstoff beim Maischen eine entscheidende Rolle spielte, wurde der Einfluss von Inertgas simuliert. Neben den normalen Bedingungen wurde zum einen das Malzschrot vor der Messung mit Stickstoff oder Sauerstoff gespült, zum anderen wurde das Einmischwasser entgast.

Abbildung 57 zeigt, dass die Verwendung von entgastem Wasser nicht soviel Einfluss hatte wie das Spülen des Malzschrotes mit Stickstoff. Wurden beide Verfahren vor dem Einmischen angewandt, konnte das Signal auf ein Minimum reduziert werden. Das Verwenden von reinem Sauerstoff führte dagegen zu einem extrem erhöhten Signal. Dies bestätigte den negativen Einfluss des Sauerstoffes während des Einmischens. Die Messungen zeigten, dass gerade der Moment des Einmischens, der Kontakt von Schrot und Wasser wichtig war.

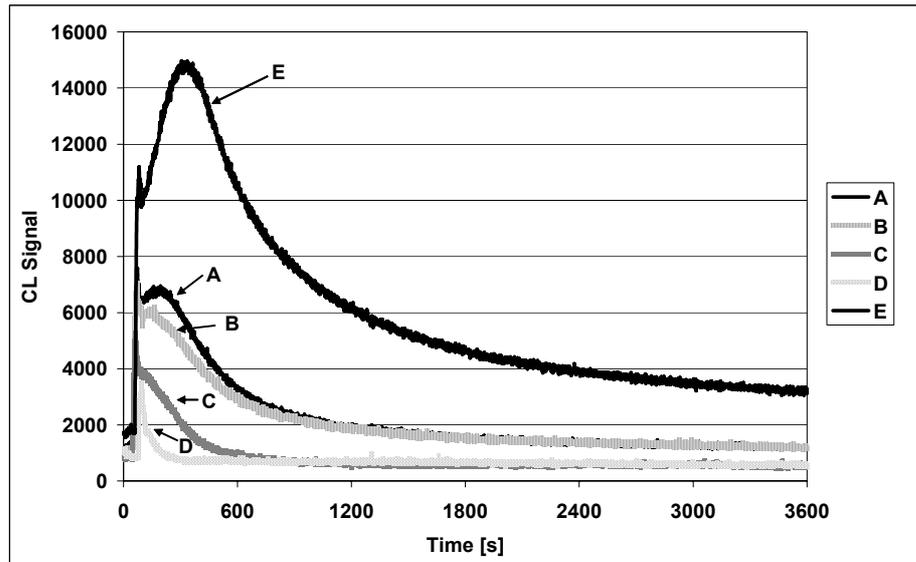


Abbildung 57: Chemilumineszenzsignal während des Einmischvorganges (60 °C - 1h):

A: Normale Bedingungen.

B: Verwendung von entgastem Wasser (N_2).

C: Malzschrot unter Inertgasatmosphäre (N_2) vor dem Einmischen.

D: Malzschrot unter Inertgasatmosphäre (N_2) vor dem Einmischen und Verwendung von entgastem Wasser.

E: Malzschrot unter Sauerstoffatmosphäre vor dem Einmischen.

Um den Einfluss phenolischer Substanzen während des Einmischens zu prüfen, wurde dem Wasser Sinapinsäure in verschiedenen Konzentrationen zugegeben.

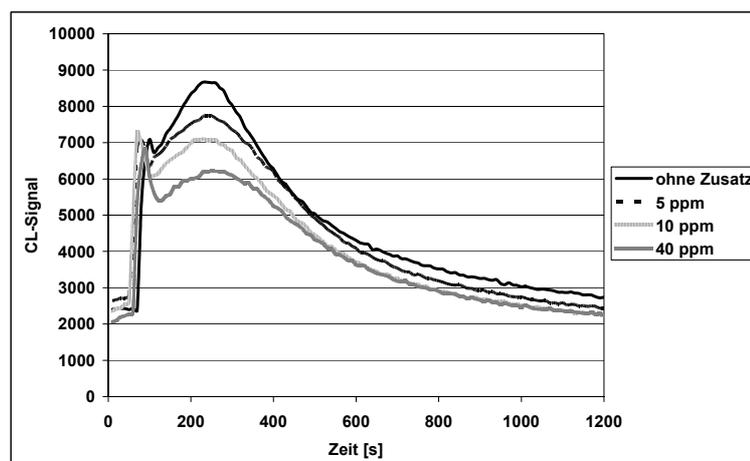


Abbildung 58: Chemilumineszenzsignal beim Einmischen von Pilsener Malz mit unterschiedlichen Zugaben von Sinapinsäure.

Die Abbildung 58 zeigt, dass mit steigendem Gehalt an Sinapinsäure das Signal während des Einmischens deutlich reduziert werden konnte. Dies bestätigte die positiven Ergebnisse von AERTS et al. (2001). Die Frage war nun, ob die phenolischen Substanzen aus dem Malz ebenso wirksam sein konnten und ob sie so schnell in Lösung gehen würden, um während des Einmischens antioxidativ wirksam zu sein. Dazu wurden verschiedene Malze getestet und verbraut. Um die Chemilumineszenzmessung auszuwerten wurden folgende charakteristische Größen definiert (Abbildung 59):

Basislinie: Sie wurde durch das Malzschrot produziert und ist durch den Gehalt an freien Radikalen im Malz abhängig. Dies konnte mit der Radikalmessung der Malze mittels ESR bestätigt werden.

Einmischpeak: Dieser Peak entstand sofort nach der Zugabe von Wasser.

2. Peak: Dieser Peak war proportional zu der Fläche unterhalb des Graphen und konnte mittels der Software des Gerätes durch Integration bestimmt werden.

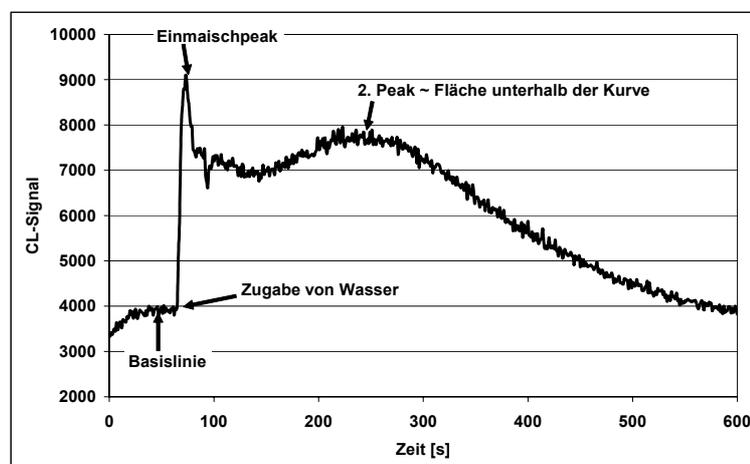


Abbildung 59 : Charakteristische Parameter der Chemilumineszenzmessung während des Einmischens.

Abbildung 60 zeigt, dass sich die untersuchten Malze in den angegebenen Parametern deutlich unterschieden. Die Grundlinie war aufgrund der unterschiedlichen Gehalte an freien Radikalen stark verschoben. Besonders der 2.

Peak und somit die Gesamtfläche unterhalb des Graphen waren stark voneinander abweichend.

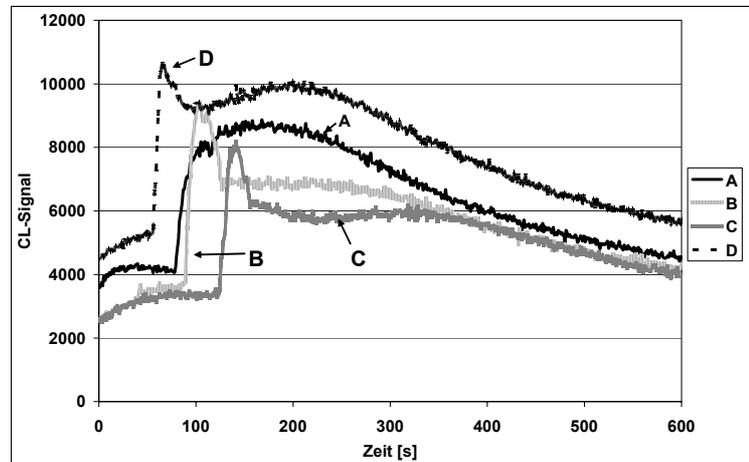


Abbildung 60: Chemilumineszenzsignal verschiedener Malze beim Einmischen.
A: Marnie; B: Braemar; C: Bellvue; D: Auriga.

Es wurden für diese Untersuchung 7 Malze geprüft. In der Abbildung 59 sind wegen der Übersichtlichkeit nur vier Ergebnisse dargestellt. In der folgenden Tabelle sind die untersuchten Gersten und ihre Quellen aufgelistet. Die Malze wurden in der Kleinmälzerei des Lehrstuhles hergestellt.

Tabelle 6: Quellenangaben für die verwendeten Gerstensorten.

Saatzucht	Quelle
Marnie	Saatzucht Josef Breun GdbR, 91074 Herzogenaaurach
Margret	Dr. J. Ackermann & Co (Kommanditgesellschaft), 94342 Irlbach
Braemar	Cebeco-Saaten GmbH , 29352 Adelheidsdorf
Auriga	Dr. J. Ackermann & Co (Kommanditgesellschaft), 94342 Irlbach
Ursa	NORDSAAT Saatgutgesellschaft mbH, 38895 Böhnshausen
Bellvue	Limagrain Nickerson GmbH, 31234 Edemissen
Pasadena	Lochow-Petkus GmbH, 29303 Bergen

Es zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Höhe des Einmischpeaks bei der Chemilumineszenzmessung und der Summe an Streckeraldehyden in den hergestellten Würzen (Abbildung 61).

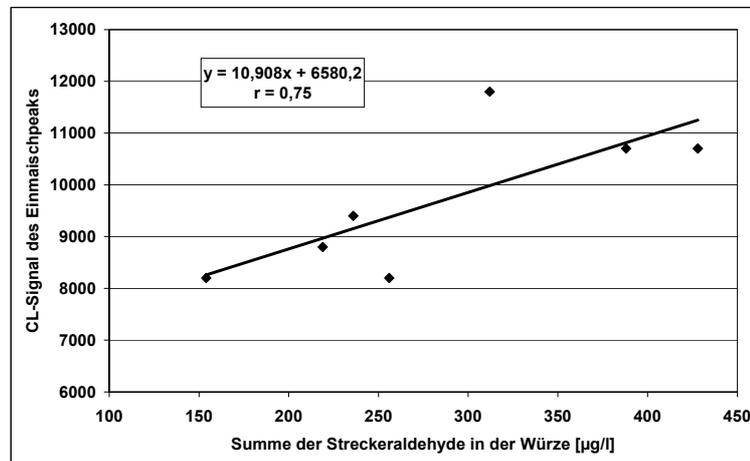


Abbildung 61: Zusammenhang zwischen dem Chemilumineszenzsignal des Einmischpeaks und der Summe an Streckeraldehyden in den Würzen der Versuchssude (Anhang T5).

Es war bekannt, dass ein höherer Eiweißlösungsgrad zu einer vermehrten Bildung an Streckeraldehyden führte, und die Geschmacksstabilität der Biere als schlechter eingestuft wurden. In gut gelösten Malzen war eine größere Menge an freien Radikalen detektierbar. Somit war das erhöhte Chemilumineszenzsignal beim Einmischen nachvollziehbar und könnte ein neuer Parameter für die Qualitätsbestimmung des Malzes in Hinblick auf die zu erwartende Geschmacksstabilität darstellen.

Abbildung 62 zeigt, dass Malze mit einem niedrigen 2. Peak des Chemilumineszenzsignals, der für eine kleinere Fläche und somit für weniger Radikalbildung stand, zu höheren Gehalten an Tannoiden in der Würze führten. Es zeigte sich als sinnvoll, wie beim Polymerisationsindex, auch die Tannoide ins Verhältnis zu den Gesamtpolyphenolen zu setzen. War die Radikalbelastung hoch, so nahm das Verhältnis ebenfalls zu, was vor allem mit einer Abnahme an Tannoiden zusammenhing.

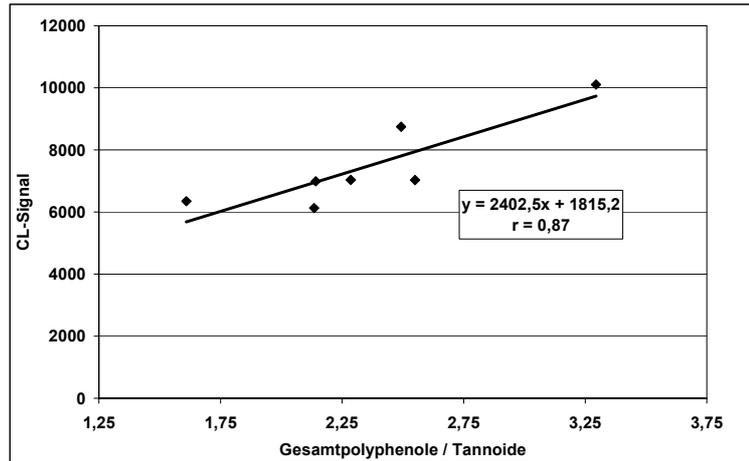


Abbildung 62: Zusammenhang zwischen dem 2. Peak des Chemilumineszenzsignals beim Einmischen und dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in den Würzen der Versuchssude.

Abbildung 63 zeigt den guten Zusammenhang zwischen dem Verhältnis der Gesamtpolyphenole zu den Tannoiden und dem Polymerisationsindex.

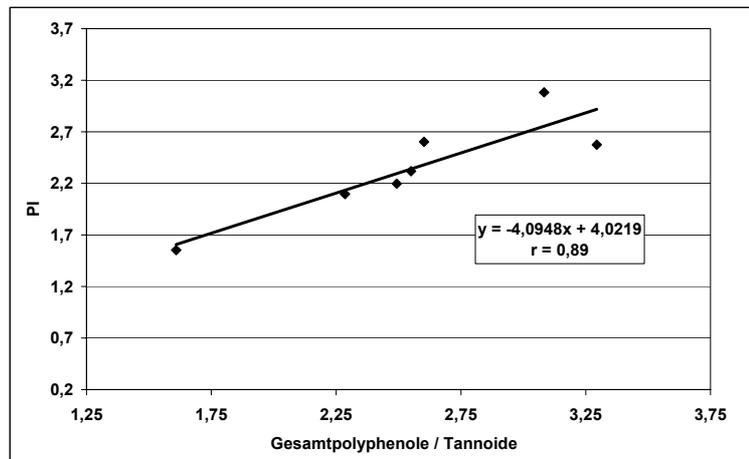


Abbildung 63: Zusammenhang zwischen dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden und dem Polymerisationsindex der hergestellten Würzen.

Die Chemilumineszenzmessung stellte somit eine Möglichkeit dar, Malze in ihrem Verhalten beim Einmischen zu beurteilen. Da die Bedingungen immer gleich gehalten wurden, waren die Unterschiede auf die Malzqualitäten zurückzuführen. Je besser ihr antioxidatives Potenzial war, umso niedriger war die Radikalgenerierung und die oxidative Belastung. Dies zeigte sich ebenfalls in einer Schonung der Tanninoide und einem niedrigeren Polymerisationsindex.

5.7 Untersuchung von phenolischen Substanzen in Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malzen

Aufgrund der Erkenntnis, dass phenolische Substanzen bei höherem pH-Werten stärkere antiradikalische Aktivitäten zeigten, wurde versucht, deren Gehalt schon in der Gerste und im Malz zu bestimmen. Um die Oxidation der phenolischen Substanzen zu verhindern, wurden Kaltauszüge mittels Hydrazinsulfatlösung (siehe Kapitel 4.1.7) hergestellt.

Für die Analytik war zu berücksichtigen, dass zum einen der pH-Wert der Hydrazinsulfatlösung bei ca. 3,2 lag und die Extraktgehalte der Lösungen sich stark unterschieden. Der Extraktgehalt des Gerstenkaltauszuges lag deutlich unterhalb des Extraktgehaltes der Malzauszüge, was aufgrund der Unterschiede im Lösungsgrad nachvollziehbar war. Es war allerdings nicht vom Extraktgehalt auf die Menge an phenolischen Substanzen, die in Lösung gingen, zu schließen. Die Hinweise, dass Polyphenole an Hordeinfraktionen gebunden sind und mit zunehmenden Eiweißlösungsgrad freigesetzt werden, konnte analytisch nicht nachvollzogen werden. Es wurde deswegen darauf verzichtet, die Gehalte auf den Extrakt zu beziehen und so eine Vergleichbarkeit zu erzielen.

Die gemessenen Werte wurden allerdings auf Trockensubstanz der Einwaage bezogen. Dabei wurde bei der Gerste von einem durchschnittlichen Wassergehalt von 14 % und beim Malz von 4,5 % ausgegangen.

Es handelte sich bei diesen Untersuchungen lediglich um die Betrachtung der in Lösung gegangenen phenolischen Substanzen. Aus den gewonnenen Ergebnissen konnte nicht auf den Einfluss der Mälzung und den Verbleib der phenolischen Substanzen eindeutig zurück geschlossen werden.

Die Daten zu den Abbildungen in den folgenden Kapiteln sind im Anhang in den Tabellen T6 bis T9 dargestellt.

5.7.1 Gehalt an Gesamtpolyphenolen

Abbildung 64 zeigt den Gehalt an Gesamtpolyphenolen in Gersten, Weizen und deren Malze.

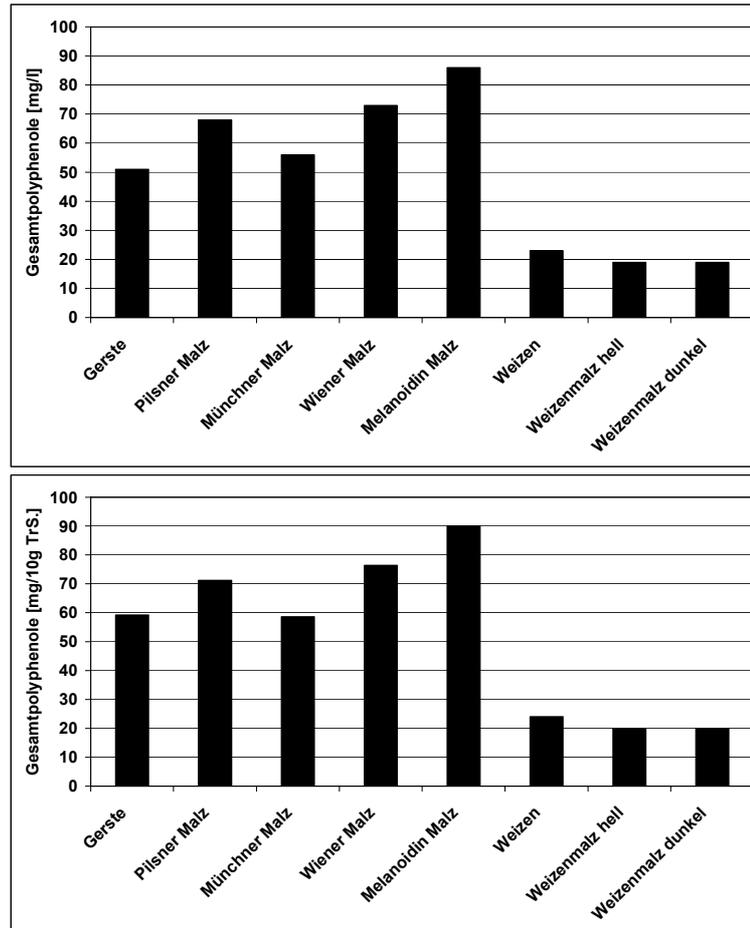


Abbildung 64: Gehalt an Gesamtpolyphenolen in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze (oben); auf Trockensubstanz berechnet (unten).

Der messbare Gesamtpolyphenolgehalt lag in der Gerste niedriger als in den daraus hergestellten Malzen. Der stärkste Anstieg zeigte sich beim Melanoidin-Malz, gefolgt vom Wiener Malz. Das Münchner Malz lag etwa auf dem Niveau wie die Gerste. Diese Differenz lag im Bereich des Analysenfehlers. Das Pilsner Malz zeigte ebenso einen deutlichen Anstieg. Im Weizen lag der Gehalt an Polyphenolen leicht über dem Gehalt der Malze, aber deutlich unterhalb der Gerste. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen hellem und dunklem Malz. Die

Weizenmalze wiesen grundsätzlich geringere Gehalte an Gesamtpolyphenolen auf als die Gerstenmalze, was womöglich auf den fehlenden Spelz zurückzuführen war.

5.7.2 Gehalt an Anthocyanogenen

Die Anthocyanogene nahmen mit Ausnahme des Melanoidin-Malzes von der Gerste bis zum Malz hin deutlich ab. Das Melanoidin-Malz lag auf etwa gleichem Niveau wie die Gerste. Je höher die Abdarrtemperatur der Malze war, umso geringer war der Unterschied zur Gerste.

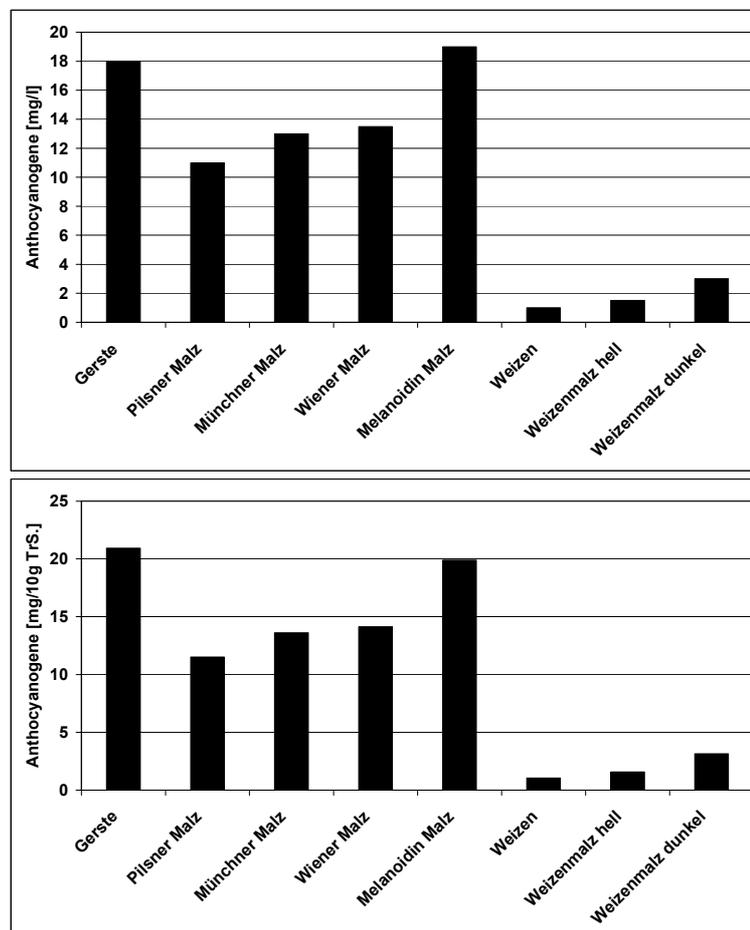


Abbildung 65: Gehalt an Anthocyanogenen in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze (oben); auf Trockensubstanz berechnet (unten).

Der Weizen wies sehr geringe Gehalte an Anthocyanogenen auf. Der Gehalt lag in den Malzen höher, wobei der dunkle Malztyp klar über dem hellen lag. Dies lässt vermuten, dass auch Maillardprodukte, zum Beispiel die Melanoidine, mit dieser Analytik erfasst wurden. Die Abnahme an Anthocyanogenen beim Gerstenmalz war wohl auf die Auslaugung der Spelzen zurückzuführen.

Abbildung 66 zeigt die entsprechenden Polymerisationsindizes in den Kaltauszügen. In der Gerste war der niedrigste Wert zu finden. Das Pilsner Malz wies den höchsten Wert unter den Gerstenmalzen auf. Im Weizen lag der Index extrem hoch. Im hellen Weizenmalz lag er deutlich niedriger, aber immer noch höher als in den Gerstenmalzen. Das dunkle Weizenmalz lag auf dem Niveau des Pilsner Malzes.

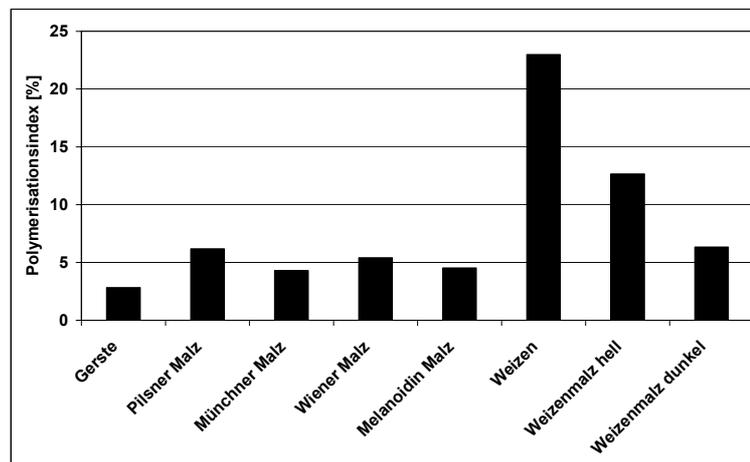


Abbildung 66: Polymerisationsindex in den Kaltauszügen aus Gerste, Weizen und deren Malze.

Die Unterschiede zwischen den Polymerisationsindizes lässt sicherlich nicht auf eine oxidative Belastung während des Mälzens zurückschließen, sondern war lediglich eine Hinweis für die Veränderung der phenolischen Substanzen. Es muss noch geklärt werden, warum speziell die hoch abgedarrten Malze niedrigere Werte aufwiesen, was auf die erwähnte Beteiligung von Melanoidinen an der Anthocyanogen-Analytik schließen lassen könnte.

5.7.3 Gehalt an Tannoiden

Die Fraktion der Tannoiden lag bis auf das Münchner Malz in der Gerste deutlich höher als in den weiteren Malzen. Das Melanoidin Malz wies in diesem Fall den geringsten Gehalt an Tannoiden auf. Tendenziell verhielten sich die Tannoiden gegensätzlich zu den Gehalten an Gesamtpolyphenolen und Anthocyanogenen.

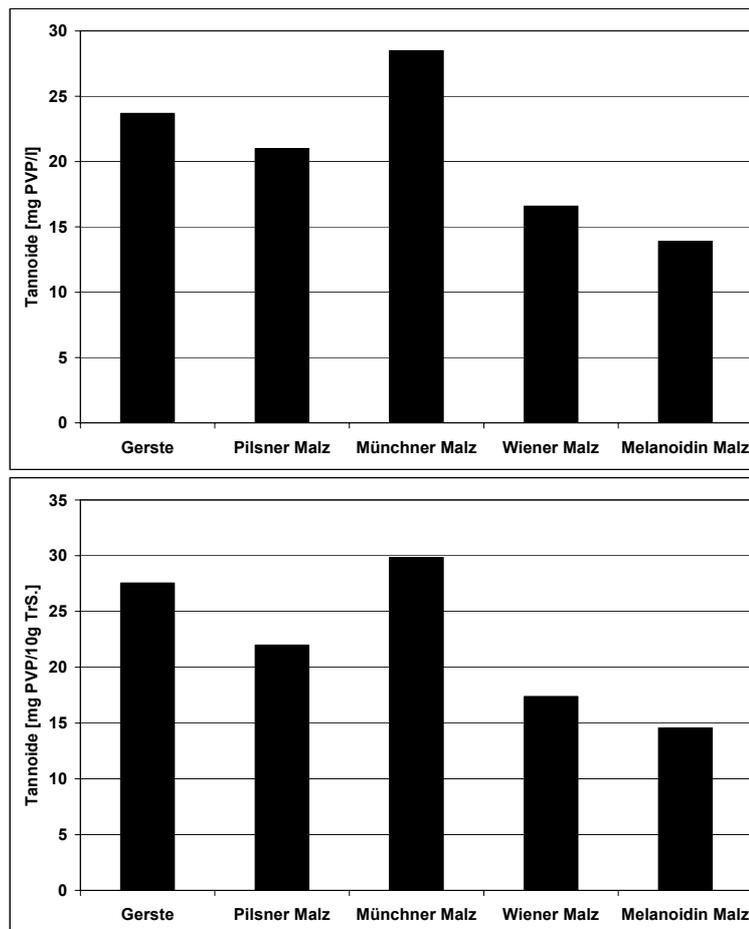


Abbildung 67: Gehalt an Tannoiden in den Kaltauszügen von Gerste und dessen Malze (oben); auf Trockensubstanz berechnet (unten).

Es könnten somit Umwandlungen innerhalb der Polyphenolfractionen stattgefunden haben, so dass diese Substanzen nun von den anderen Analysen erfasst wurden. Das Münchner Malz zeigte als einziges eine leichte Abnahme bei der Bestimmung der Gesamtpolyphenole und im Gegenzug eine Zunahme bei den Tannoiden. Das Melanoidin Malz zeigte die größten Verluste bei den Tannoiden,

aber eine starke Zunahme bei den Gesamtpolyphenolen. Somit ist die Diskussion über die Beteiligung von Melanoidinen auch bei dieser Analytik noch zu klären, da entsprechende Umwandlungsreaktionen stattgefunden haben können.

In den Kaltauszügen von Weizen und dessen Malzen konnten keine Tanninoide detektiert werden.

5.7.4 Gehalt an Flavonoiden

Der Gehalt an Flavonoiden unterschied sich zwischen der Gerste und den Malzen am deutlichsten. Das Niveau zwischen den Malzen unterschied sich allerdings nur gering.

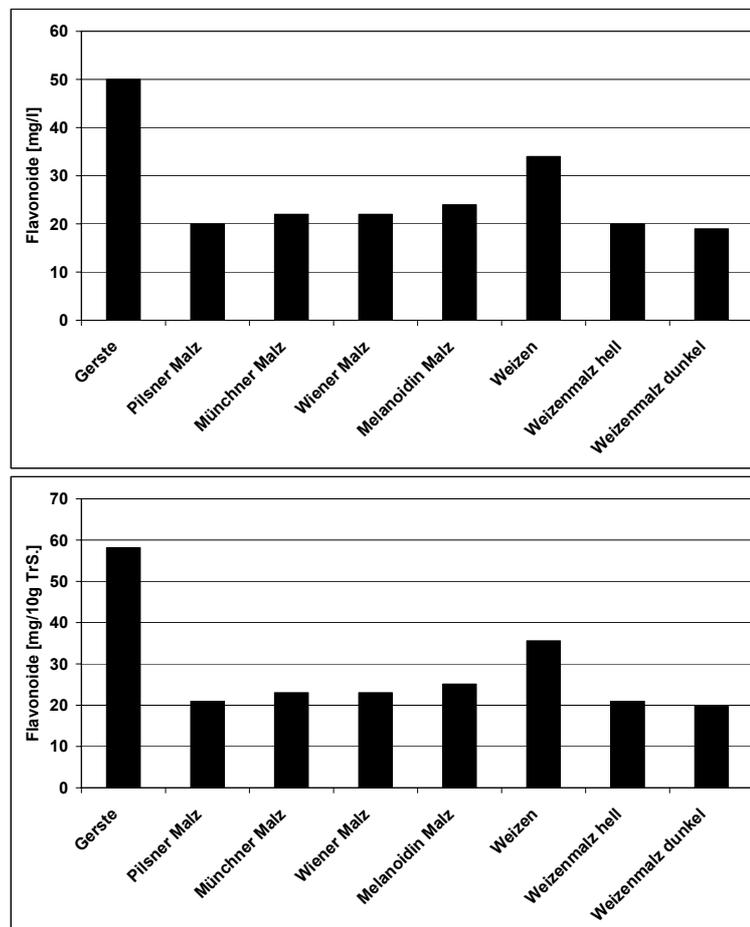


Abbildung 68: Gehalt an Flavonoiden in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze (oben); auf Trockensubstanz berechnet (unten).

Es war eine leichte Zunahme mit der Farbe bzw. der Abdarrtemperatur des Malzes zu erkennen. Die Verhältnisse der Gehalte in den Malzen untereinander waren mit den Ergebnissen der Anthocyanogene vergleichbar. In Kapitel 5.21 ist dargestellt, wie die untersuchten phenolischen Substanzen in Bier von beiden Analysen statistisch erfasst wurden. In diesen Ergebnissen zeigte sich kein Unterschied zwischen diesen beiden Analysen. Es ist noch zu klären, welche Substanzen für diese starke Abnahme bei der Analyse der Flavonoide verantwortlich waren. Auch beim Weizen lagen die Werte der Malze deutlich niedriger. Zwischen den Malztypen lag jedoch kein Unterschied vor. Auffällig war der hohe Gehalt an Flavonoiden im Weizen.

5.8 Untersuchung der antioxidativen Tests in Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze

Das vorherige Kapitel zeigte, dass die Berechnung der Gehalte an phenolischen Substanzen auf die Trockensubstanz der Einwaage keine großen Unterschiede im Verhältnis der Ergebnisse untereinander erbrachte. Um den Effekt der in Lösung gegangenen phenolischen Substanzen auf die antioxidativen Tests zu beurteilen, wurden nur noch die absoluten Werte bei der Untersuchung der Kaltauszüge betrachtet. Eine Verrechnung dieser Ergebnisse auf die Trockensubstanz erschien nicht sinnvoll.

5.8.1 Messung der Lag-Time und des antiradikalischen Verhaltens

Die Untersuchung der Kaltauszüge mittels Spin-Trap Methode am ESR führte zu minimalen Lag-Time Werten. Da die Malze nicht geschwefelt waren, konnte das vermutlich verantwortliche Schwefeldioxid nur aus der Hydrazinsulfatlösung entstanden sein. Diese Ergebnisse konnten somit nicht eindeutig auf das Malz zurückgeführt werden und wurden vernachlässigt.

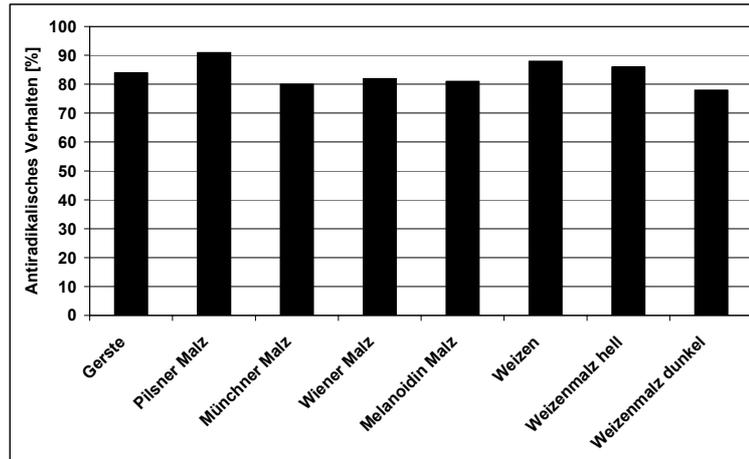


Abbildung 69: Antiradikalisches Verhalten der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze.

Das antiradikalische Verhalten der Kaltauszüge (Abbildung 69) stand in keinem Zusammenhang mit dem Gehalt an gemessenen Gesamtpolyphenolen, Tannoiden oder Anthocyanogenen. Das Pilsner Malz wies einen höheren Wert auf als die Gerste. Die weiteren Malze lagen etwas niedriger. Der Weizen wies ein hohes antiradikalisches Verhalten auf. Der niedrigste Wert zeigte sich beim dunklen Weizenmalz. Inwieweit diese Werte eine Aussage hatten, ist noch zu klären. Die minimalen Lag-Time Werte erklärten nicht die Unterschiede zwischen den Ergebnissen und schienen keinen Einfluss gehabt zu haben.

Eine Argumentation wäre der niedrige pH-Wert und ein geringer Gehalt an Metallionen, der in Lösung ging. Somit wäre die Radikalgenerierung während des Forciertests deutlich herabgesetzt gewesen. Dies würde auch die guten Ergebnisse des Weizens erklären.

5.8.2 Messung des antiradikalischen Potenzials

Abbildung 70 zeigt, dass das antiradikalische Potenzial wie bei den Gesamtpolyphenolen und Anthocyanogenen mit höherer Abdarrtemperatur des Malzes anstieg.

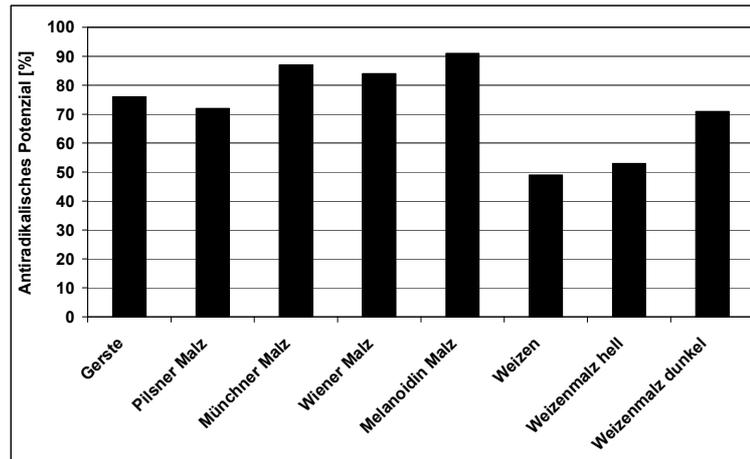


Abbildung 70: Antiradikalisches Potenzial der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze.

Eine Gegenüberstellung der phenolischen Substanzen mit dem Potenzial zeigen die nächsten Abbildungen.

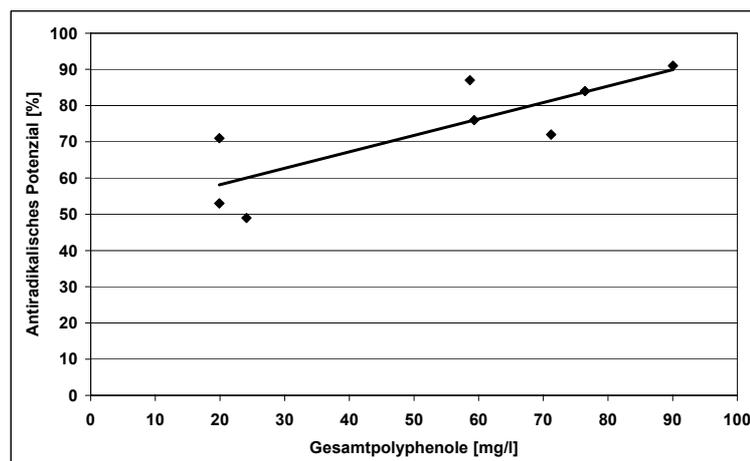


Abbildung 71: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und dem antiradikalischen Potenzial in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze ($N = 8$; $r = 0,82$; $\alpha = 0,05$).

Abbildung 71 zeigt eine gute Korrelation mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % zwischen dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und dem gemessenen antiradikalischen Potenzial in den Kaltauszügen.

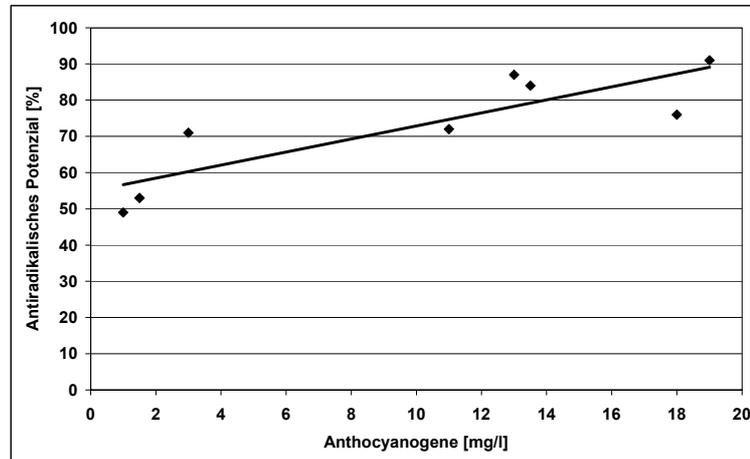


Abbildung 72: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Anthocyanogenen und dem antiradikalischen Potenzial in den Kaltauszügen von Gerste, Weizen und deren Malze ($N = 8$; $r = 0,86$; $\alpha = 0,05$).

Der Vergleich mit dem Gehalt an Anthocyanogenen zeigte ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang.

Die Fraktion der Tanninoide korrelierte dagegen nicht mit dem antiradikalischen Potenzial.

Die Flavonoide zeigten nur bei den Ergebnissen der Malze, nicht aber der Gerste und Weizen, einen signifikanten Zusammenhang ($N = 6$; $r = 0,78$; $\alpha = 0,05$). Die Ergebnisse der Gerste und des Weizen bildeten Ausreißer. Der Gehalt an Flavonoiden lag hier jeweils zu hoch im Vergleich zum antiradikalischen Potenzial. Womöglich wurden bei der Bestimmung der Flavonoide Substanzen erfasst, die keinen Einfluss auf das ARP ausübten.

5.8.3 Messung des Reduktionsvermögens

Das Reduktionsvermögen stieg deutlich mit der thermischen Belastung des Malzes und der Bildung reduzierender Verbindungen, wie die Melanoidine. So hatte das Melanoidin-Malz das beste Reduktionsvermögen. Ebenso lag das dunkle Weizenmalz klar über dem hellen Malz.

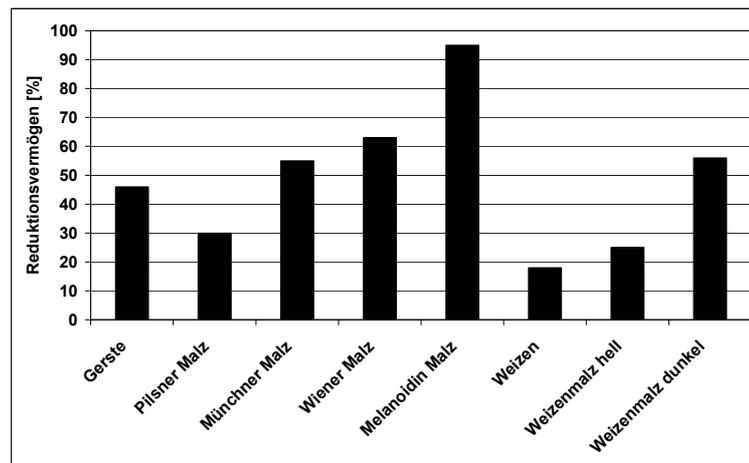


Abbildung 73: Reduktionsvermögen der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze.

5.8.3 Messung des Stabilitätsindex

Aus den einzelnen Ergebnissen konnte der Stabilitätsindex berechnet werden. Da die Lag-Time nicht auf das Malz zurückzuführen war, wurde dieser Parameter nicht mit einbezogen. Es wurde aus den drei weiteren Analysen ebenso das arithmetische Mittel berechnet.

Es zeigte sich, dass der Index, nun stark durch das antiradikalische Potenzial und das Reduktionsvermögen geprägt, mit der Abdarrtemperatur des Malzes zunahm. Die Malze der Gerste schnitten etwas besser ab als die Weizenmalze, was auf den grundsätzlich höheren Gehalt an phenolischen Substanzen zurückzuführen war.

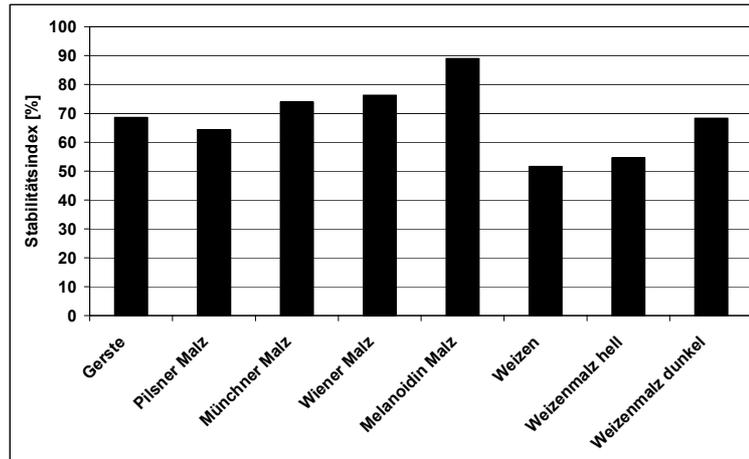


Abbildung 74: Stabilitätsindex (ohne Lag-Time) der Kaltauszüge von Gerste, Weizen und deren Malze.

Aufgrund dieser Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es möglich war, phenolische Substanzen schon in der Gerste, im Weizen und in deren Malz zu messen. Des weiteren konnten die antioxidativen Tests in Kaltauszügen angewendet werden, und so bereits die Rohstoffe in dieser Hinsicht beurteilt werden.

5.9 Beurteilung von Malzen verschiedener Anbauggebiete

5.9.1 Gehalte an phenolischen Substanzen

Bei der Untersuchung phenolischer Substanzen im Malz zeigten sich deutliche Unterschiede in Abhängigkeit des Anbauggebietes. Es wurden sechs Malze (Erntegut WP3 Ernte 2001) aus den Anbaugebieten A: Nossen (Sachsen) und B: Heimbach / Hergarten (Nordrhein-Westfalen) miteinander verglichen. Da die Extraktgehalte dieser Kaltauszüge (Hydrazinsulfat) sehr nahe beieinander lagen, wurden die Absolutwerte der Messungen verglichen.

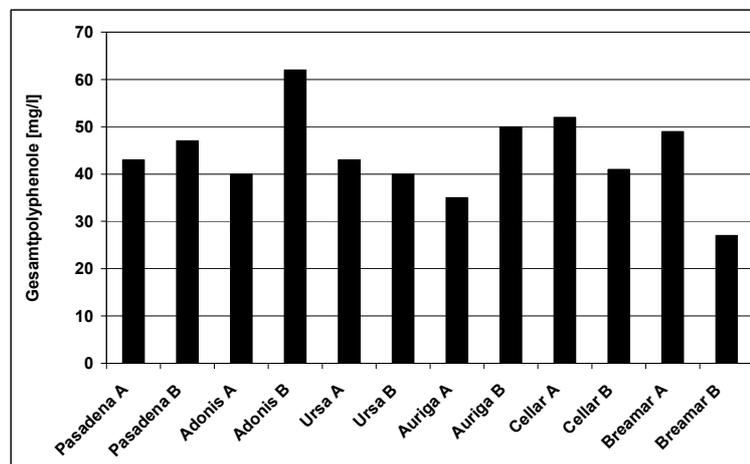


Abbildung 75: Gehalt an Gesamtpolyphenolen in Kaltauszügen von Malzen verschiedener Anbaugebiete.

Abbildung 75 zeigt, dass der Gehalt an Gesamtpolyphenolen in den Malzen sowohl in A als auch in B höher lagen. Deutliche Unterschiede zwischen den Gebieten zeigten sich bei den Sorten Adonis und Breamar.

Abbildung 76 zeigt, dass im Gegensatz zu den Gesamtpolyphenolen die qualitative Zusammensetzung der phenolischen Substanzen deutlich vom Anbaugebiet abhing. So waren die Gehalte an Anthocyanogenen und Tannoiden im Anbaugebiet B bei allen untersuchten Malzen auf einem höheren Niveau.

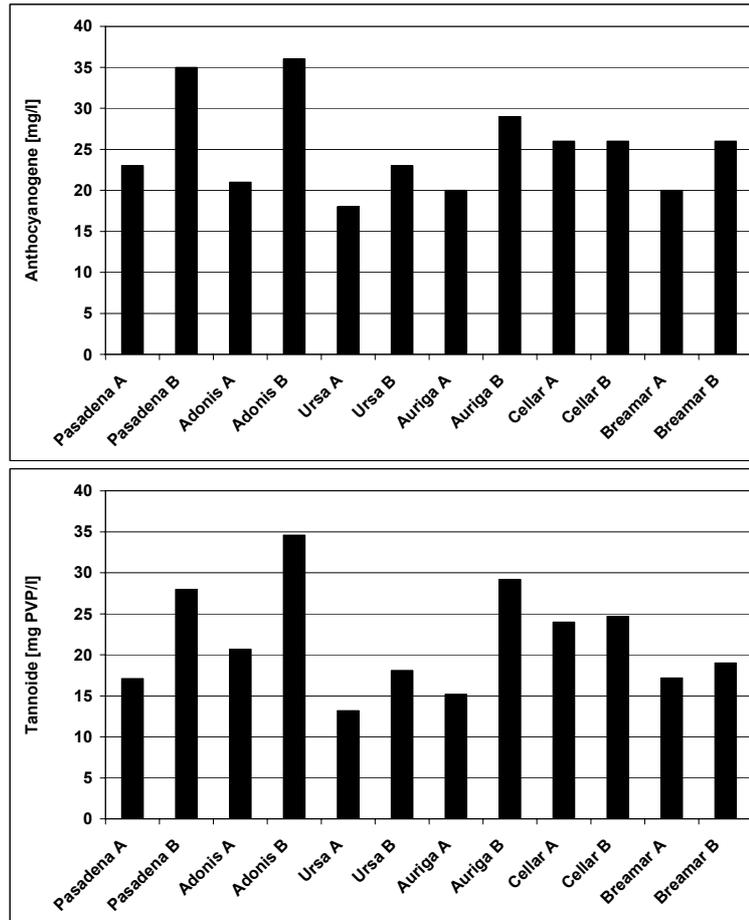


Abbildung 76: Gehalt an Anthocyanogenen und Tannoiden in Kaltauszügen von Malzen verschiedener Anbaugebiete.

In diesem Fall waren bei den Sorten Pasadena, Adonis und Auriga die Unterschiede besonders groß.

Aus diesen Ergebnissen ließ sich der Polymerisationsindex und das Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in den Kaltauszügen bestimmen.

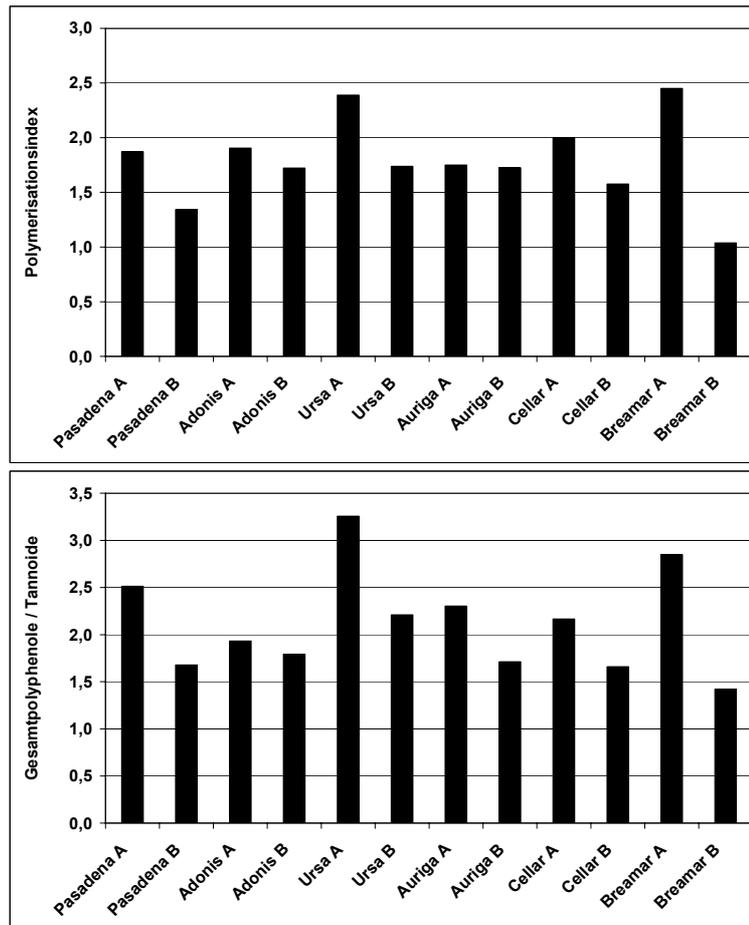


Abbildung 77: Polymerisationsindex und Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in Kaltauszügen von Malzen aus verschiedenen Anbaugebieten.

Abbildung 77 zeigt, dass beide rechnerischen Parameter im Anbaugebiet B deutlich niedriger lagen. Die Sorte Breamar, gefolgt von Pasadena, wies einen besonders großen Unterschied in den Ergebnissen auf.

5.9.2 Beurteilung der antioxidativen Tests

Aufgrund des erhöhten Gehaltes an positiven phenolischen Substanzen lag auch das antiradikalische Potenzial der Kaltauszüge im Anbaugebiet B höher. Ein besonders hohes Potenzial wies die Sorte Adonis aus dem Gebiet B auf.

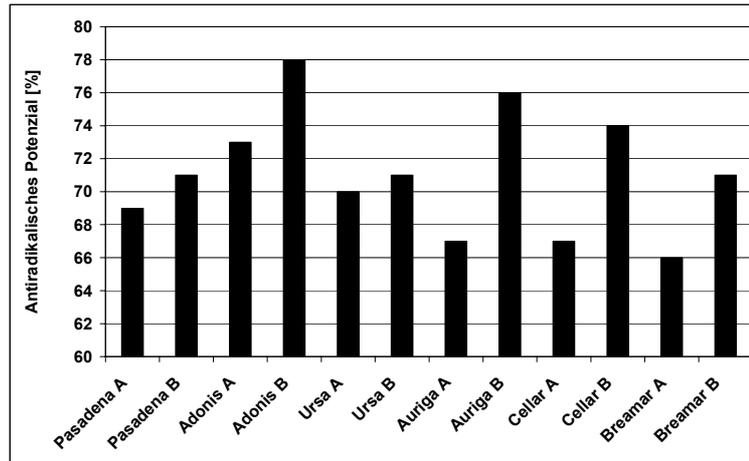


Abbildung 78: Antiradikalisches Potenzial der Malze aus verschiedenen Anbaugebieten.

Es zeigte sich interessanterweise im Anbaugebiet A kein Zusammenhang zwischen dem antiradikalischen Potenzial und dem Gehalt an den Fraktionen der phenolischen Substanzen. Im Anbaugebiet B zeigten sich gute Korrelationen zwischen dem antiradikalischen Potenzial und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und Tannoiden, nicht jedoch mit den Anthocyanogenen. Bei den Sorten Adonis und Ursa wurden die weiteren antioxidativen Tests ebenso durchgeführt. Abbildung 79 zeigt, dass im Gegensatz zum antiradikalischen Potenzial, die Lag Time bei beiden Sorten im Gebiet B niedriger lag.

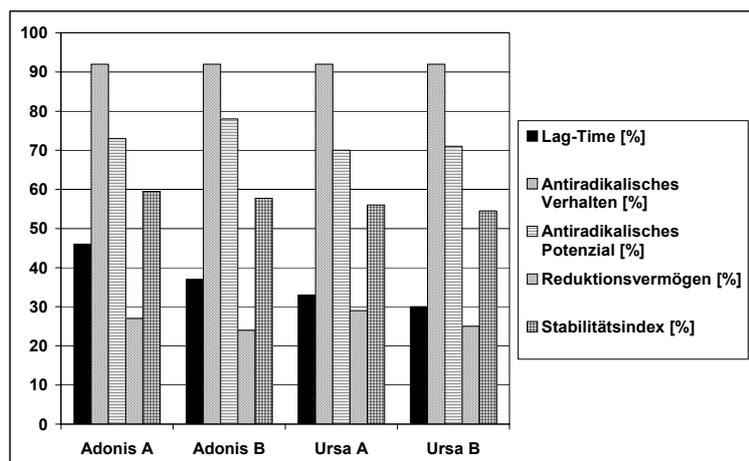


Abbildung 79: Antiradikalische Tests von zwei Gerstensorten aus zwei verschiedenen Anbaugebieten.

Die Werte waren sehr hoch und es konnte nicht mehr davon ausgegangen werden, dass nur das Hydrazinsulfat hierfür verantwortlich war, weshalb die Ergebnisse hier berücksichtigt wurden. Das antiradikalische Verhalten lag in beiden Anbaugebieten auf fast gleichem Niveau. Das Reduktionsvermögen lag ebenfalls bei den Sorten aus dem Anbaugebiet B niedriger. Dies hatte zur Folge, dass auch der berechnete Stabilitätsindex im Gebiet B etwas niedriger war. Im Vergleich schnitt die Sorte Adonis grundsätzlich besser ab als die Sorte Ursa.

Ein auffälliger Unterschied zwischen den beiden Anbaugebieten war neben den phenolischen Substanzen auch der Extraktgehalt und der pH-Wert. So lag der Extraktgehalt der Kaltauszüge der Sorten aus Gebiet B im Durchschnitt um 0,1 unter den Werten aus Gebiet A. Der pH-Wert lag sogar im Durchschnitt um 0,2 niedriger. Dies könnte die niedrigeren Werte bei der Spin-Trap Methode begründen, da womöglich auch die Radikalgenerierung herabgesetzt war.

Mittels Internet wurde versucht die Regionen klimatisch zu beurteilen. So wurden folgende Jahresdurchschnitte für die jeweiligen Gebiete gefunden.

	www.worldclimate.com		www.eifel-online.de/eol-magazin/wetter/index_stat.html
	Raum Leipzig für Nossen	Raum Aachen für Heimbach / Hergarten	Heimbach / Hergarten für das Jahr 2001
Temperatur (°C)	8,5	9,6	9,7
Niederschlag (mm)	527,2	710	855

Die klimatischen Daten gaben einen Hinweis darauf, dass im Anbaugebiet A die Temperaturen im Jahresdurchschnitt um etwa 1 °C niedriger lagen. Der durchschnittliche Jahresniederschlag war im Anbaugebiet B höher. Zwei unterschiedliche Quellen belegten nahezu die gleiche Temperatur für die Region um das Gebiet B für das Jahr 2001.

Die Literatur gibt an, dass Gersten aus maritimen Gegenden polyphenolreicher seien. So könnten diese Daten ebenso ein Hinweis für ein wärmeres und feuchteres Klima im Gebiet B darstellen, das zu den Unterschieden in den Gehalten an phenolischen Substanzen geführt hatte. In diesem Zusammenhang ist allerdings nicht nur der Gesamtniederschlag zu berücksichtigen, sondern in welchen Wachstums- und Reifestadien er auftrat. Dies ist ein wichtiger Ansatz, um

in Zukunft die Qualität der Gersten im Hinblick auf die mögliche Geschmacksstabilität der Biere zu beurteilen. Bestimmte Anbaubedingungen könnten bereits ein limitierender Faktor sein.

Abbildung 80 zeigt, dass die untersuchten Malze aus dem Anbaugebiet B deutlich höhere Gehalte an freien Radikalen aufwiesen (Ausnahme Ursa).

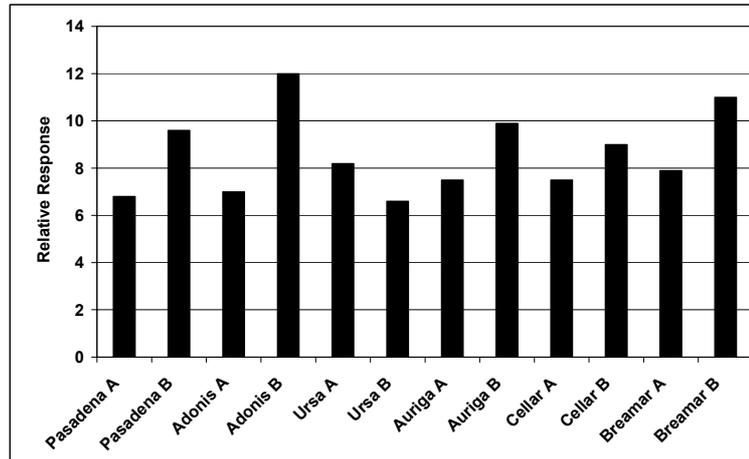


Abbildung 80: Freie Radikale in Malzen verschiedener Anbaugebiete gemessen mittels Elektronenspinresonanz-Spektrometrie.

Diese Malze unterlagen womöglich während des Wachstums einem stärkeren Stress. Als mögliche Schutzreaktion lag ihr Gehalt an phenolischen Substanzen ebenfalls höher.

Von den Malzen aus dem Anbaugebiet A wurden aus diesem Grund die phenolischen Substanzen genauer untersucht.

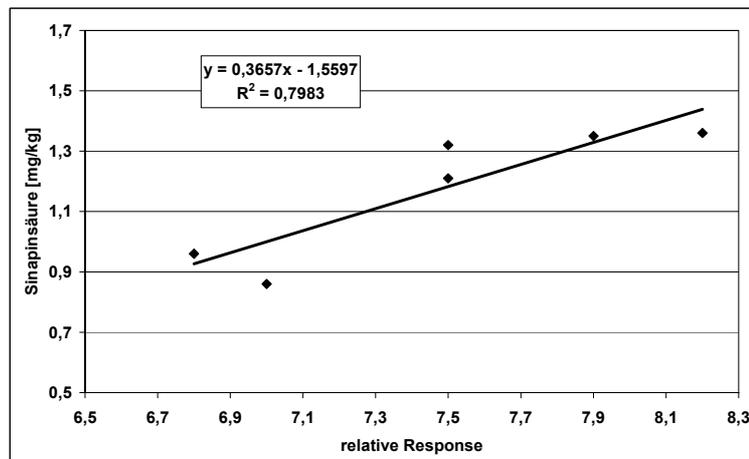


Abbildung 81: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an freien Radikalen und dem Gehalt an Sinapinsäure in den Malzen aus dem Anbaugebiet A.

In den untersuchten Malzen konnte mit einer gesteigerten Menge an freien Radikalen auch ein größerer Gehalt an phenolischen Substanzen gefunden werden (Abbildung 81). In diesem Fall ist der Zusammenhang mit der Sinapinsäure dargestellt, die das stärkste antiradikalische Potenzial aufwies.

In Abbildung 82 sind die Basislinien dargestellt, die mittels Chemilumineszenzmessung des Einmischverhaltens aufgenommen wurden.

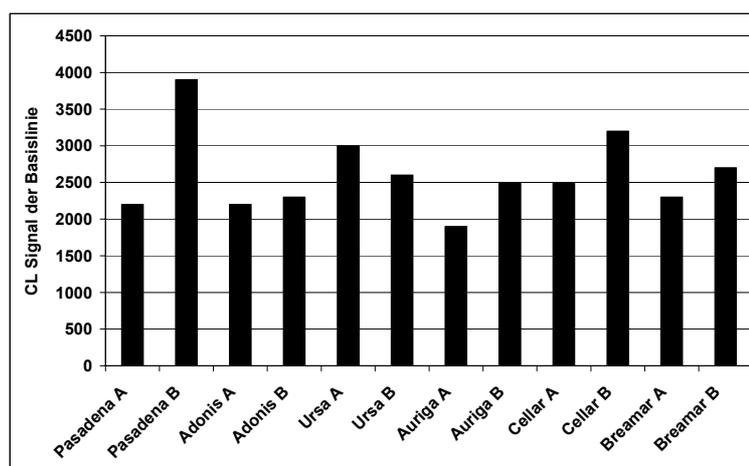


Abbildung 82: Vergleich der mittels Chemilumineszenz gemessenen Basislinien von Malzen aus verschiedenen Anbaugebieten.

Da dieses Signal ebenfalls vom Gehalt an freien Radikalen abhing, waren die erhöhten Werte im Anbaugbiet B erklärbar. Nur die Sorte Ursa besaß wie bei der ESR-Messung einen niedrigeren Wert.

Es konnte so mit zwei Messmethoden bestätigt werden, dass in einem wärmeren Anbaugbiet eine höhere Radikalbelastung im Malz nachweisbar war. Zugleich war der Gehalt an phenolischen Substanzen gesteigert, was auf eine mögliche Schutzreaktion zurückzuführen sein könnte. Entsprechende Malze könnten aufgrund ihres Gehaltes an phenolischen Substanzen ein besseres antioxidatives Potenzial besitzen, was zu einem Schutz, zum Beispiel beim Einmischen, führt.

5.10 Auswirkungen des antioxidativen Potenzials des Malzes auf das Einmischen

Mit Hilfe der Chemilumineszenzmessung war es möglich, die unterschiedlichen Einmischverhalten der Malze darzustellen. Es wurden zusätzlich Versuchssude im 50 l Maßstab hergestellt und die Daten mit der klassischen Würzeanalytik verglichen.

Die Abbildung 83 zeigt, dass ein niedrigeres Chemilumineszenzsignal zu höheren Werten an Tannoiden in der Ausschlagwürze führte ($N = 7$; $r = 0,76$; $\alpha = 0,05$).

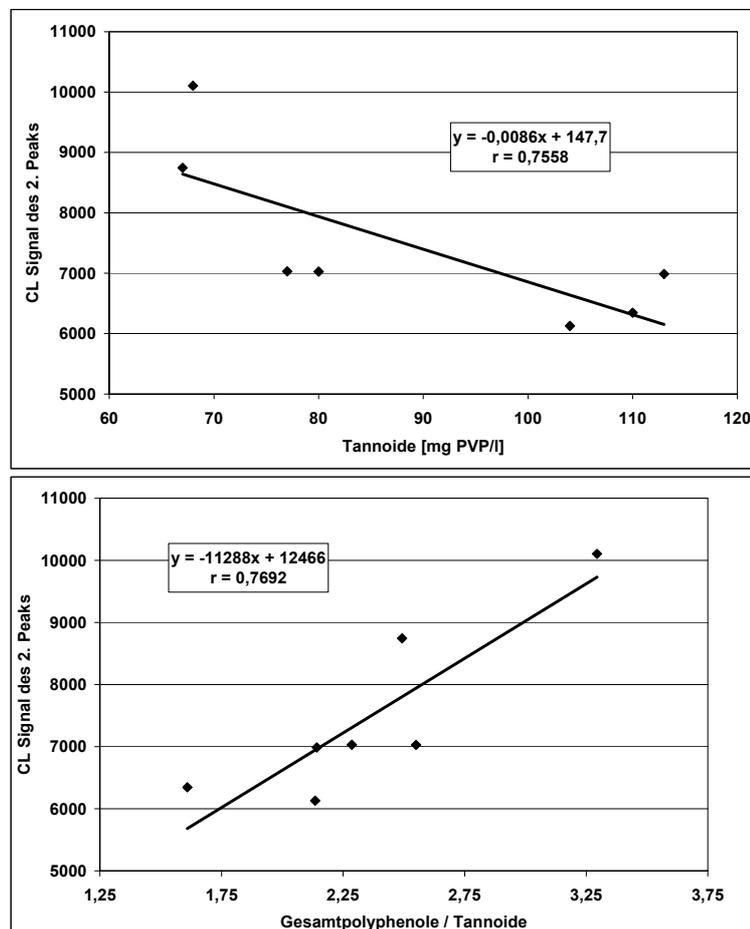


Abbildung 83: Zusammenhang zwischen dem Chemiluminszenzsignal beim Einmischen und dem Gehalt an Tannoiden bzw. dem Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in der Ausschlagwürze.

Die Fraktion der Tanninoide könnte somit ein Indikator für eine geringe oxidative Belastung während des Maischens darstellen. Wurde das Verhältnis aus Gesamtpolyphenolen und Tannoiden gebildet, ergab sich ein etwas besserer statistischer Zusammenhang ($N = 7$; $r = 0,77$; $\alpha = 0,05$).

Die Chemilumineszenzmessung, zur Bestimmung der antioxidativen Qualität des Malzes, und die Bestimmung der Tanninoide in der Würze sollten einen sehr guten Aufschluss über den Sauerstoffeintrag beim Maischen und die zu erwartende Geschmacksstabilität des Bieres geben.

5.11 Zusammenhang zwischen einzelnen phenolischen Substanzen im Malz und deren nasschemischen Analytik

Die Malze aus dem Anbaugebiet A wurden auf den Gehalt an einzelnen phenolischen Substanzen hin untersucht und mit den Ergebnissen der nasschemischen Analysen verglichen.

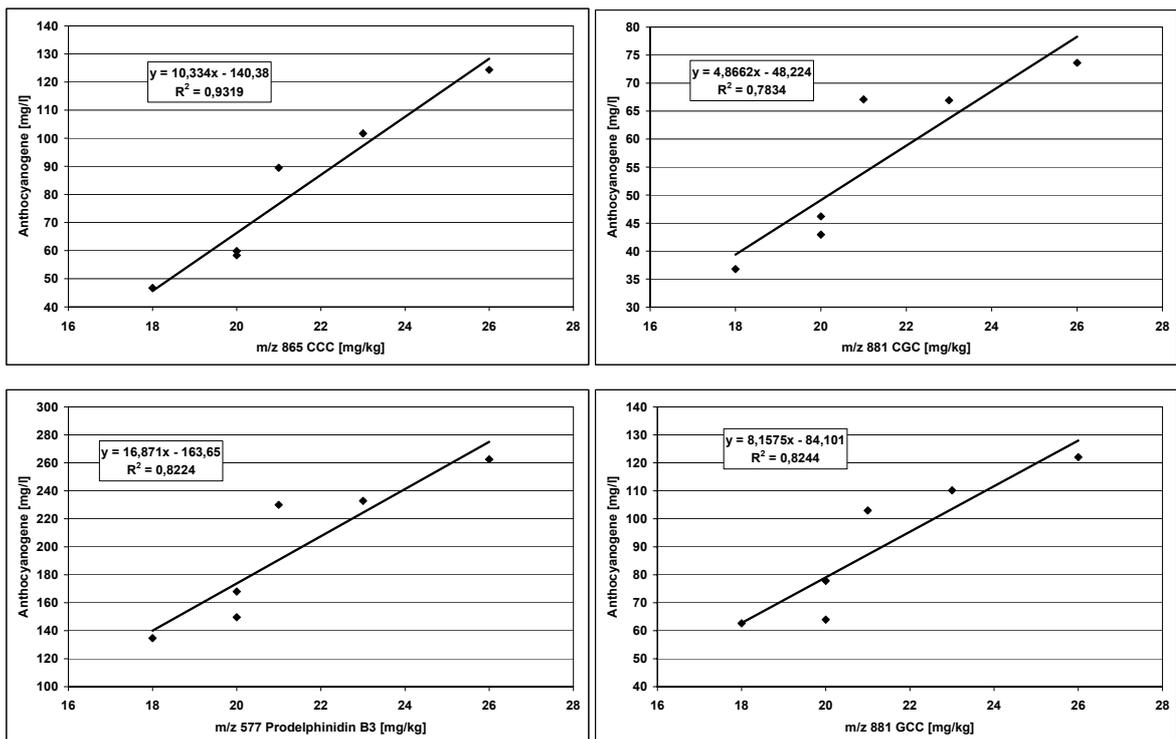


Abbildung 84: Zusammenhang zwischen phenolischen Substanzen im Malz und dem Gehalt an Anthocyanogenen im Malzkaltauszug (Anhang Tabelle T8 und T9).

Die Abbildung 84 zeigt gute Zusammenhänge zwischen verschiedenen phenolischen Substanzen, di- und trimere Proanthocyanidine, im Malz und der Bestimmung der Anthocyanogene in den Kaltauszügen. Der Zusammenhang mit dem Gehalt an Tannoiden war auf einem etwas niedrigeren Niveau, weshalb an dieser Stelle auf eine Darstellung verzichtet wurde. Die angewandten nasschemischen Methoden spiegeln somit den Gehalt an den spezifischen Fraktionen recht gut wieder. Inwieweit Überschneidungen zwischen den Analysen vorliegen, sollte noch geklärt werden.

5.12. Untersuchung der Maische- und Würzesäuerung

Im Rahmen des Sudhauses wurde untersucht, wie sich die biologische Maische- und Würzesäuerung auf die Fraktion der phenolischen Substanzen, die antioxidativen Tests und am Ende auf die Geschmacksstabilität der Biere auswirkt. Neben der Verwendung von biologisch hergeführter Milchsäure wurde auch der Einfluss technischer Milchsäure untersucht. Die genauen Daten zur Herstellung der Sude im Pilotsudwerk sind im Anhang in den Tabellen T10 bis T17 dargestellt.

Probenbezeichnungen der Maische- und Würzesäuerungsversuche:

Versuchsreihe 1:

Vergleich: Normalsud (ohne Säuerung).

WS 1: Würzesäuerung zehn Minuten vor Kochende auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, anaerob hergeführtem Sauergut.

WS 2: Würzesäuerung zehn Minuten vor Kochende auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, aerob hergeführtem Sauergut.

WS 3: Würzesäuerung zehn Minuten vor Kochende auf pH 5,2 mit 10%-iger technischer Milchsäure.

MS 1: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, anaerob hergeführtem Sauergut.

MS 2: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, aerob hergeführtem Sauergut.

MS 3: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit 10%-iger technischer Milchsäure.

Versuchreihe 2:

Vergleich: Normalsud (ohne Säuerung).

MS 4: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit aerob hergeführtem Sauergut aus einer Brauerei.

MS 5: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, aerob hergeführtem Sauergut.

MS 6: Maischesäuerung auf pH 5,2 mit selbsthergestelltem, anaerob hergeführtem Sauergut.

Aerobe Herführung: Vorderwürze und Sauergut wurden in einem 10 l Corneliusbehälter vermischt (kein Vorspannen des Behälters mit CO₂).

Anaerobe Herführung: Die Vermischung erfolgte in einem CO₂-vorgespannten Corneliusbehälter.

5.12.1 Ergebnisse der Maischesäuerung

5.12.1.1 Beurteilung der antioxidativen Tests

Abbildung 85 zeigt die Veränderung des Stabilitätsindex in den Bieren aufgrund der Maischesäuerungsversuche. Der Versuch MS 2 führte zu einer sehr deutlichen Steigerung gegenüber dem ungesäuerten Vergleich in der Reihe 1. Die Säuerung mittels technischer Milchsäure (MS 3) zeigte ebenso einen positiven Erfolg. Die zweite Versuchsreihe lag insgesamt auf einem niedrigeren Niveau. Nur der Versuch MS 5 führte zu einer Steigerung des Stabilitätsindex.

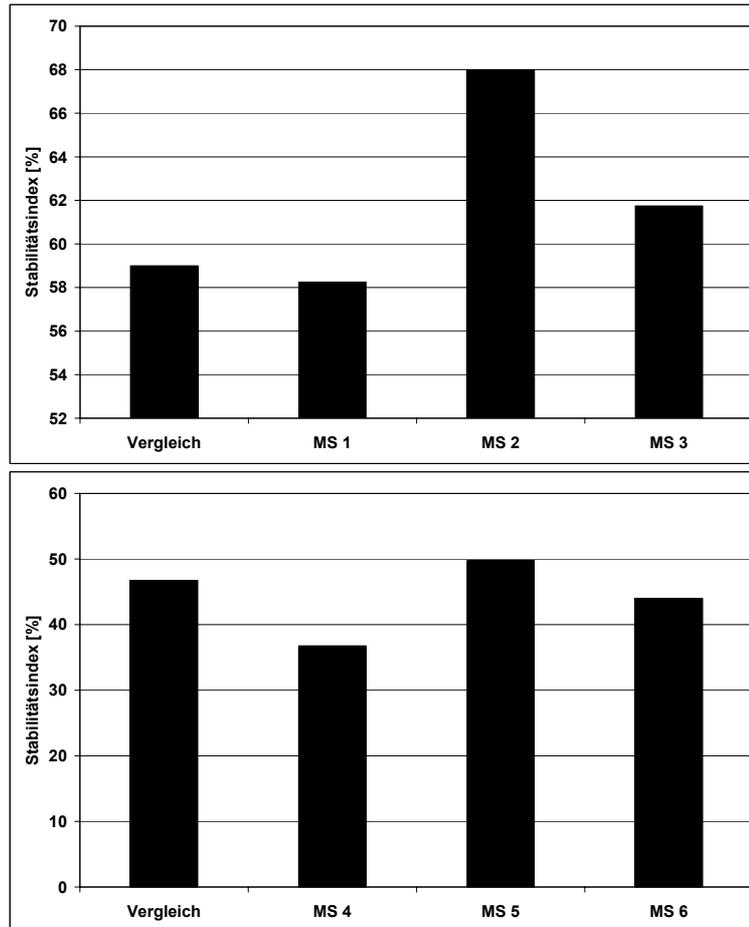


Abbildung 85: Stabilitätsindex der Biere aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

Es zeigt sich in Abbildung 86, dass MS 1 in allen Tests für den Stabilitätsindex, bis auf das ARP, niedriger als der Vergleich lag und so der schlechtere Index sich berechnete. MS 2 wies eine sehr gute Lag-Time und entsprechend ein gutes antiradikalisches Verhalten auf. Durch das zusätzlich beste antiradikalische Potenzial war der hohe Stabilitätsindex zu erklären. Der mit technischer Milchsäure behandelte Sud wies ebenso eine gute Lag-Time und ein besseres antiradikalisches Potenzial als der Vergleich auf. Das Reduktionsvermögen war jedoch am geringsten, was mit dem Einfluss des pH-Wertes auf die Messung begründet werden könnte

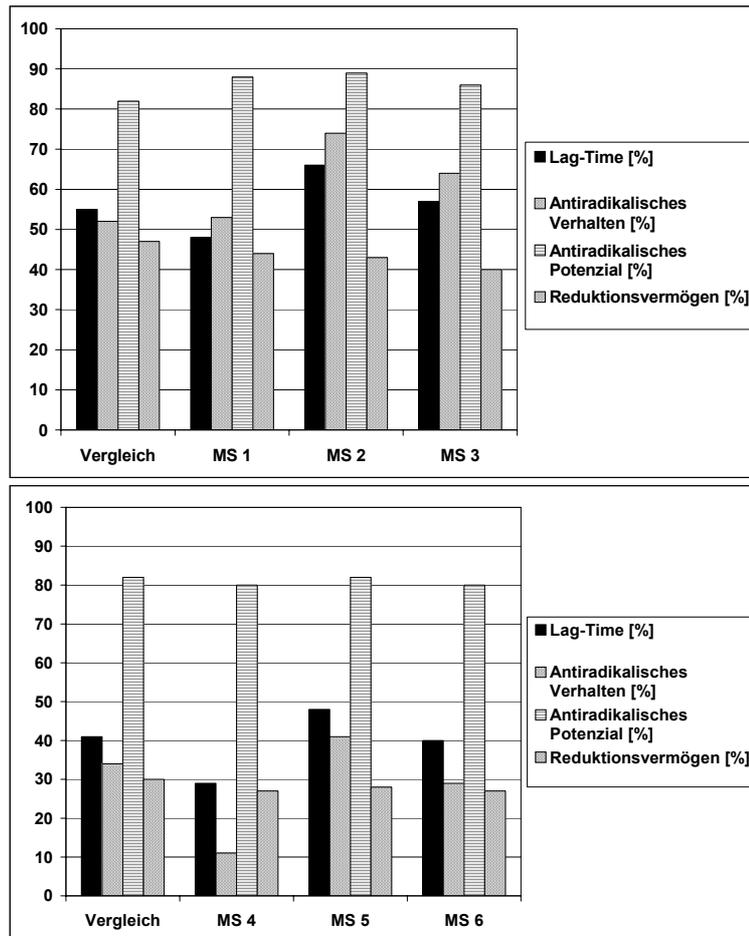


Abbildung 86: Die antiradikalischen Tests in den Bieren der Maischesäuerungsversuche. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

Die zweite Versuchsreihe zeigte insgesamt ein niedrigeres Niveau. Das antiradikalische Potenzial war bei allen Versuchen vergleichbar, jedoch unterschieden sich die Lag-Time Werte deutlich. MS 5 lag in allen Tests am besten und besaß somit den höchsten Stabilitätsindex.

5.12.1.2 Gehalt an Schwefeldioxid

Die Versuche zeigten, dass die Lag-Time Werte mit dem Gehalt an Schwefeldioxid in einem guten Zusammenhang standen (Abbildung 87).

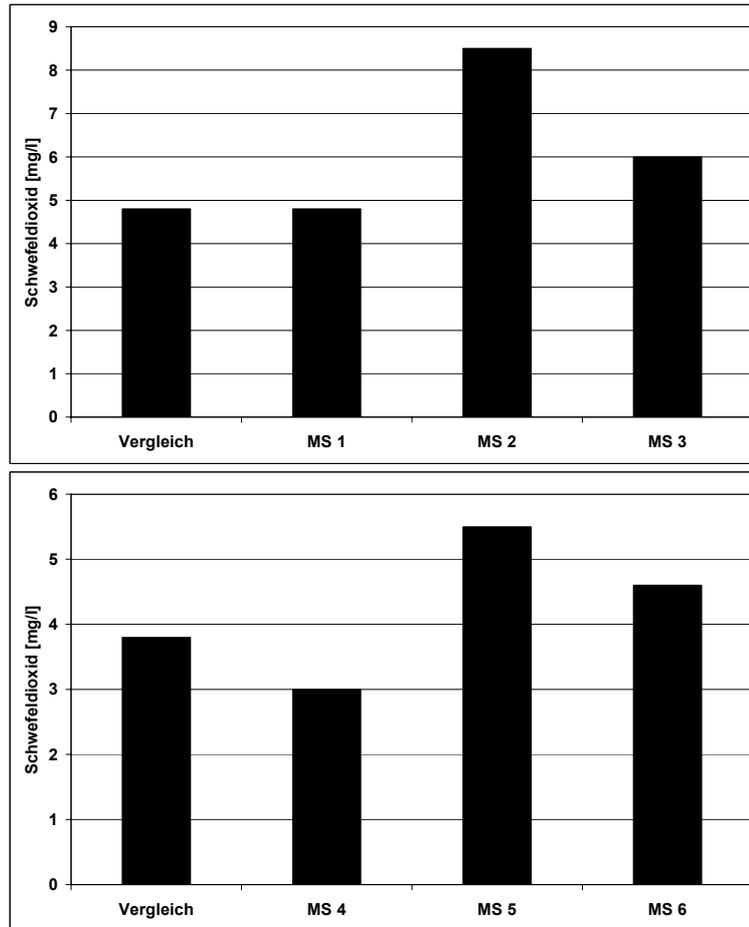


Abbildung 87: Gehalt an Schwefeldioxid in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

Auch hier schnitten in den jeweiligen Reihen MS 2 und MS 5 am besten ab. Beide Versuche wurden mit der selbst hergestellten Milchsäure durchgeführt und bestätigten den positiven Einfluss der biologischen Maischesäuerung auf alle antioxidativen Tests und den Gehalt an Schwefeldioxid.

5.12.1.3 Verkostungsergebnisse der Biere

Abbildung 88 stellt die DLG-Verkostungsergebnisse der Biere dar. Alle maischegesäuerten Biere aus der Versuchsreihe 1 wurden im frischen Zustand deutlich besser beurteilt als der Vergleich. Im forciert gealterten Zustand waren die Unterschiede noch größer. Die Maischesäuerung in Versuchsreihe 1 führte zu Bieren mit einer verbesserten Geschmacksstabilität. MS 2 zeigte die besten Resultate.

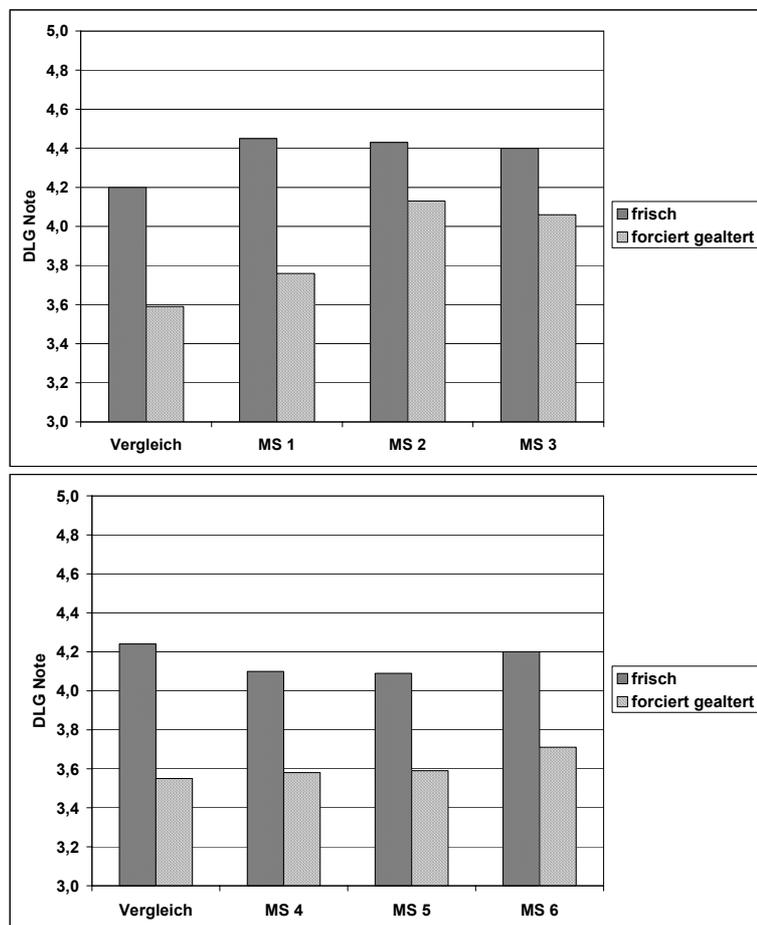


Abbildung 88: DLG Verkostung der Biere aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

Die Ergebnisse aus der Versuchsreihe 2 lagen dagegen nahe beieinander. Im forciert gealterten Zustand schnitt der Versuch MS 6 etwas besser ab. Trotz der

guten Werte bei den vorherigen Tests, lag der Versuch MS 5 nicht vor dem Vergleich.

Bei der Beurteilung der Alterungsnote der forciert gealterten Biere schnitten alle gesäuerten Biere besser als der Vergleich ab. Die Ergebnisse der Reihe 1 lagen noch eine Stufe besser als die Reihe 2.

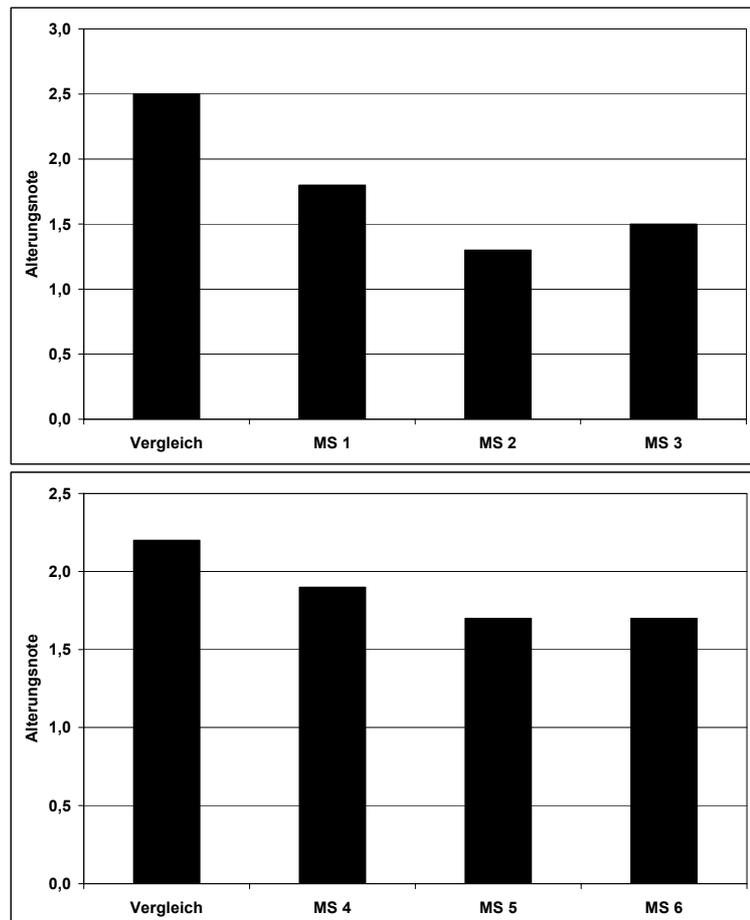


Abbildung 89: Alterungsnoten der forciert gealterten Biere aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

Absolut gesehen waren die Werte als sehr gut einzustufen. MS 2 lag in der ersten Versuchreihe wieder am besten. MS 5 zeigte neben MS 6 in der zweiten Versuchreihe die besten Ergebnisse.

Die Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere war in der Reihe 1 durch die Maischesäuerung deutlich gesteigert worden. In diesem Fall wurde der Vergleich sehr schlecht beurteilt, was aber schon in der Alterungsnote zu erkennen war. Der

Versuch MS 2 war mit einer Akzeptanz von 90 % als sehr gut einzustufen. In der 2. Reihe konnte die Akzeptanz, wie die DLG Note, nur gering gesteigert werden.

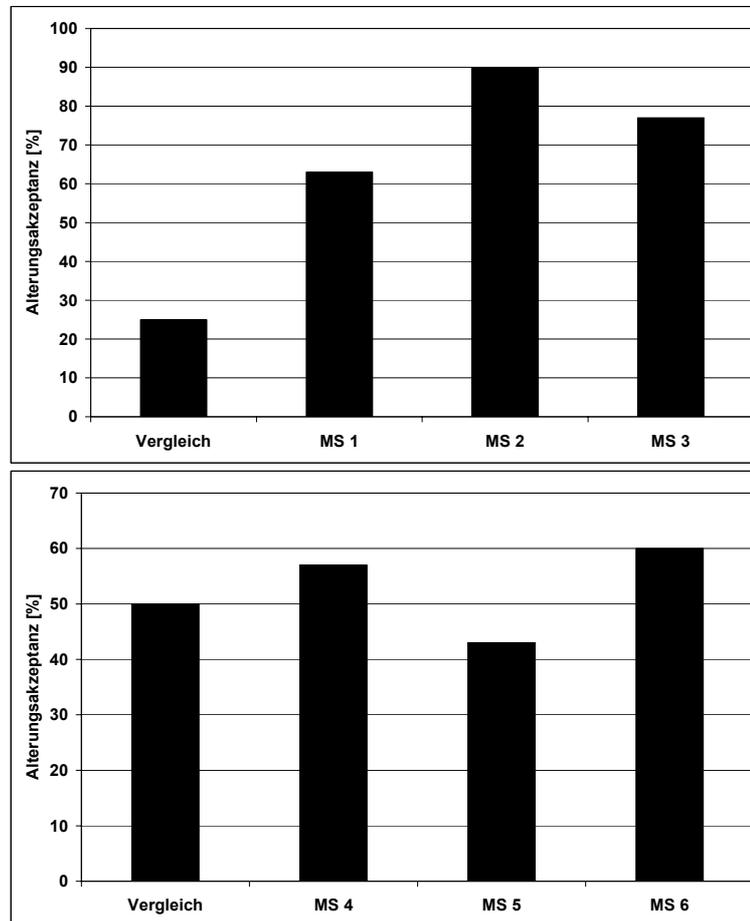


Abbildung 90: Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere aus Würzesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

MS 5 lag in der Akzeptanz unterhalb des Vergleichs, obwohl die Alterungsnote besser war. Der Versuch MS 6 schnitt am besten ab, war aber mit 60 % schon deutlich gealtert.

5.12.1.4 Gehalte an phenolischen Substanzen

Es wurden bei diesen Untersuchungen auch die einzelnen Fraktionen an phenolischen Substanzen im Bier analysiert. So führte jede Form der Maischesäuerung zu deutlich erhöhten Gehalten an Tannoiden in den fertigen Bieren.

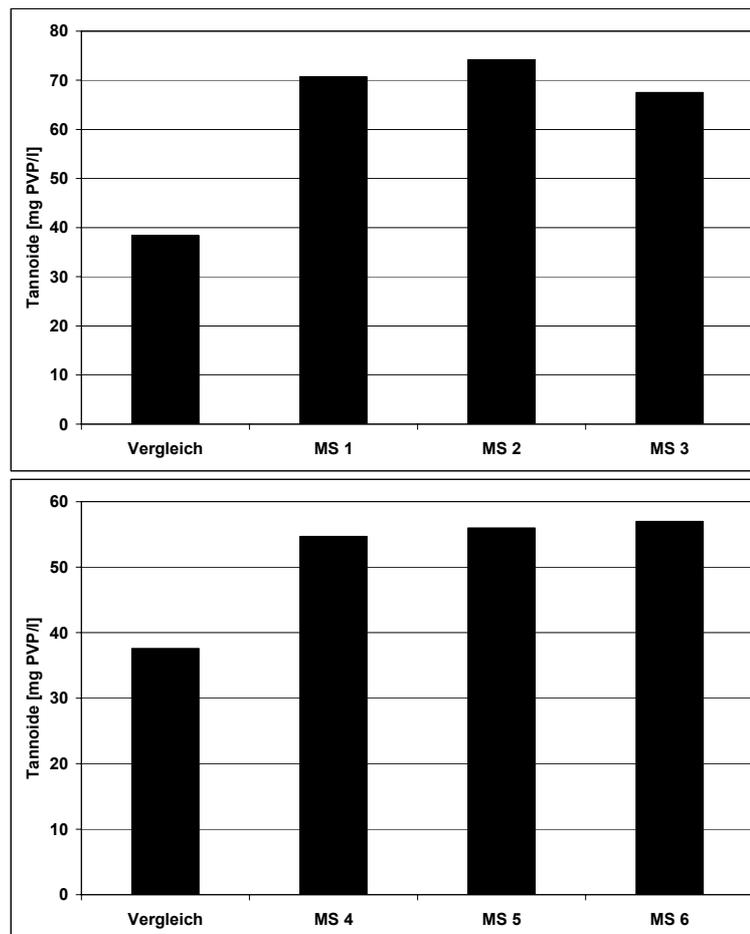


Abbildung 91: Gehalt an Tannoiden in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

In Reihe 1 ergaben sich fast doppelt so hohe Werte durch die Säuerung als im Vergleich. In der zweiten Versuchsreihe waren die Ergebnisse vergleichbar, aber das Niveau etwas niedriger.

Interessant war das Verhältnis der Gesamtpolyphenole zu den Tannoiden. Abbildung 91 zeigt, dass dieses Verhältnis in den gesäuerten Bieren deutlich

niedriger lag. Dieses Verhältnis war in beiden Versuchreihen etwa gleich, da die Absolutwerte der Fraktionen auf unterschiedlichem Niveau lagen.

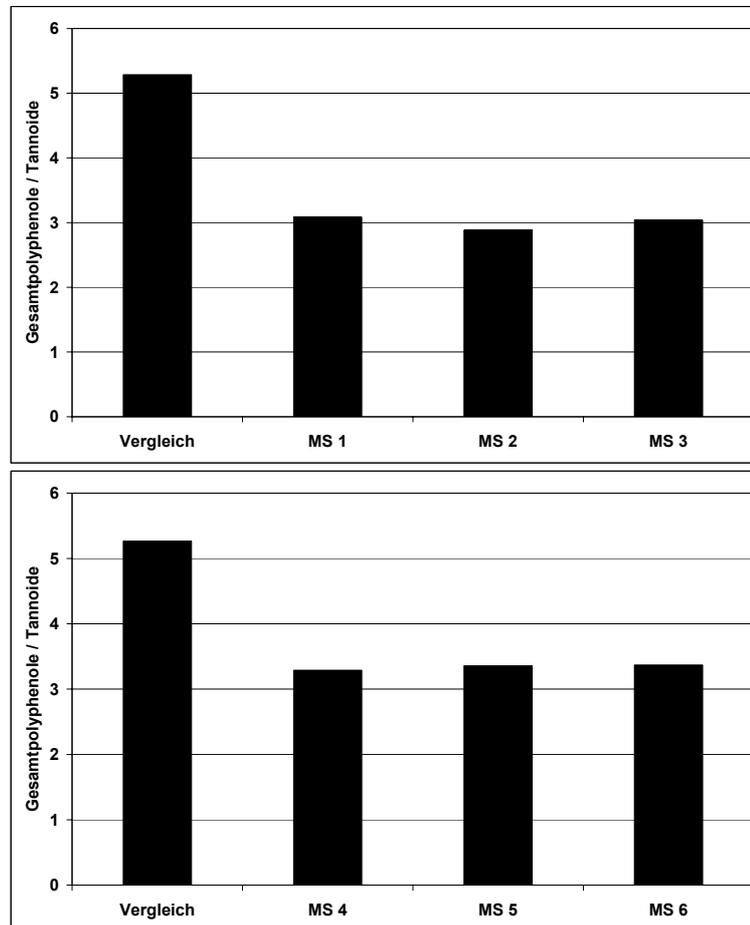


Abbildung 92: Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in den Bieren aus den Maischesäuerungsversuchen. Oben: Reihe 1; Unten: Reihe 2.

In den maischegeäuerten Bieren waren auch die Polymerisationsindizes deutlich niedriger als in den Vergleichen, was für eine geringere oxidative Belastung während des Maischens, aber auch im weiteren Brauprozess sprach.

Die Summen der Alterungsindikatoren, aber auch die einzelnen gemessenen Substanzen dieser Analyse unterschieden sich zwischen den Bieren kaum. Es wurde auf eine Abbildung an dieser Stelle verzichtet.

5.12.2 Ergebnisse der Würzesäuerungsversuche

5.12.2.1 Beurteilung der antioxidativen Tests und der Gehalt an Schwefeldioxid

Abbildung 93 zeigt, dass sich alle Würzesäuerungsversuche positiv auf den Stabilitätsindex ausgewirkt hatten. Der Versuch WS 2 wies mit 69 % einen überdurchschnittlich hohen Wert auf. Der Gehalt an Schwefeldioxid war ebenfalls in allen Versuchsbiere höher als im Vergleichsbier und insgesamt auf hohem Niveau.

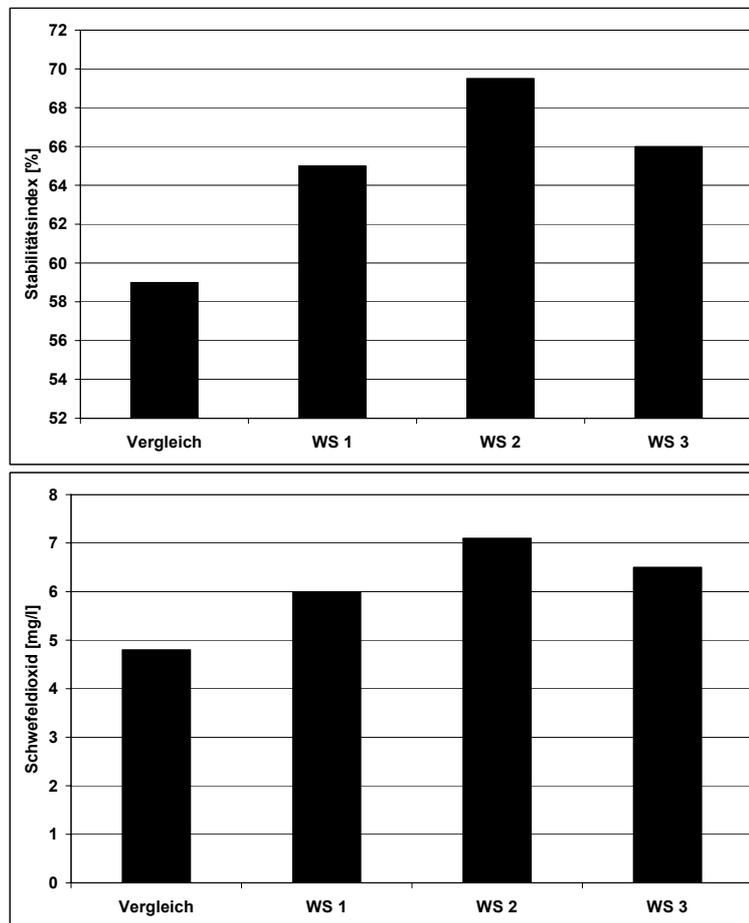


Abbildung 93: Stabilitätsindex und Gehalt an Schwefeldioxid der Biere aus den Würzesäuerungsversuchen.

Abbildung 94 zeigt, dass entsprechend dem Stabilitätsindex die Lag-Time, das antiradikalische Verhalten und das antiradikalische Potenzial in den Säuerungsversuchen höher lagen. Das Reduktionsvermögen lag auch bei diesen Versuchen etwas niedriger, was wiederum den Einfluss des pH-Wertes widerspiegeln könnte.

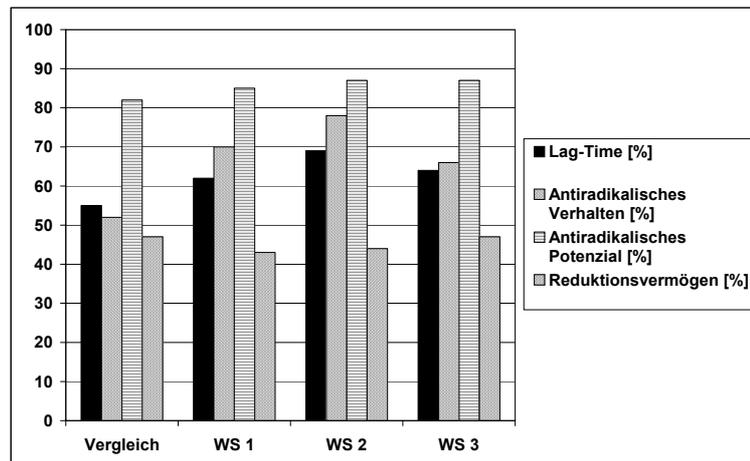


Abbildung 94: Die antiradikalischen Tests in den Bieren der Würzesäuerungsversuche.

Der Versuch WS 2 schnitt in den antioxidativen Tests am besten ab. Besonders das antiradikalische Verhalten war bei diesem Versuch sehr gut. Die Säuerung mit technischer Milchsäure erbrachte ebenso Erfolge gegenüber dem Vergleich.

5.12.2.2 Verkostungsergebnisse der Biere

Die Unterschiede in den Ergebnissen der Verkostung nach DLG waren nicht so deutlich wie bei der Maischesäuerung. Sowohl im frischen als auch im forciert gealterten Zustand wurden die Versuchsbiere nur leicht besser beurteilt als das Vergleichsbier.

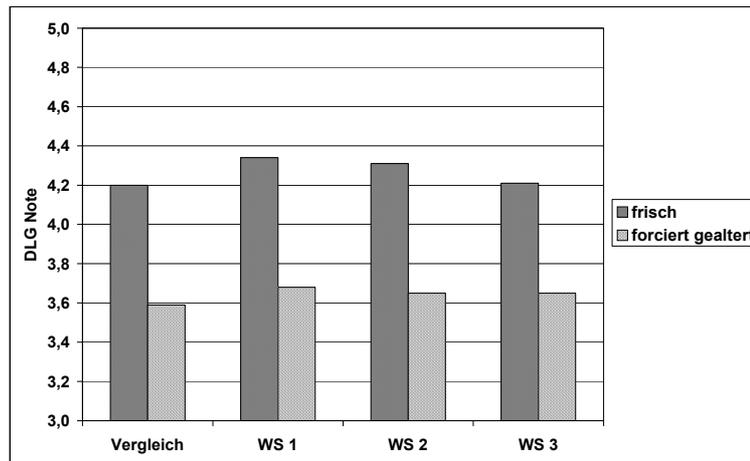


Abbildung 95: DLG Verkostung der Biere aus den Würzesäuerungsversuchen.

Die Beurteilung der frischen Biere lag bei beiden Säuerungsvarianten auf gleichem Niveau. Erst durch die Alterung ergaben sich klare Unterschiede.

Die Alterungsnoten der forciert gealterten Biere (Abbildung 96) aus den Würzesäuerungsversuchen lagen nur gering unterhalb der Ergebnisse des Vergleichsbieres. Alle Noten lagen jedoch über 2,0, was für eine deutliche Alterung aller Biere sprach.

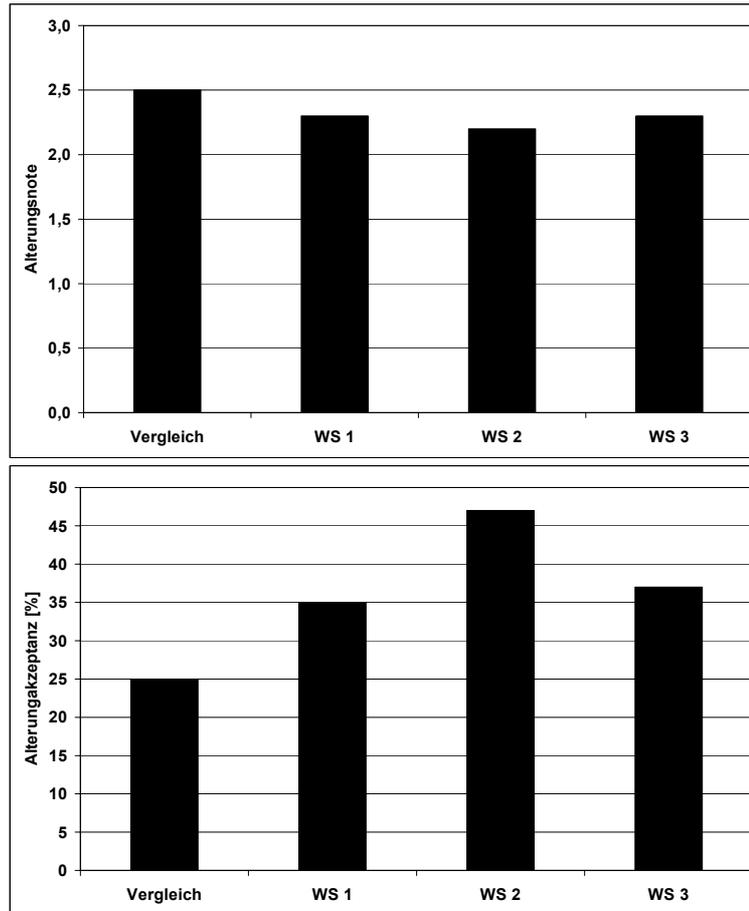


Abbildung 96: Alterungsnote und Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere aus den Würzesäuerungsversuchen.

Die Alterungsakzeptanzen lagen dagegen weit auseinander und wurden in den gesäuerten Versuchen besser beurteilt. Allerdings war die beste Akzeptanz noch unterhalb von 50 %, was als schlecht einzustufen war. Im direkten Vergleich konnte eine Verbesserung erreicht werden, aber grundsätzlich war das Niveau nicht zufrieden stellend.

5.12.2.3 Gehalte an phenolischen Substanzen

Die Gehalte an Tannoiden waren in den gesäuerten Bieren höher als im Vergleich, was die Ergebnisse des antiradikalischen Potenzials bestätigten. Allerdings war auch hier das Niveau grundsätzlich niedrig. Die Maischesäuerung führte zu fast doppelt so hohen Werten.

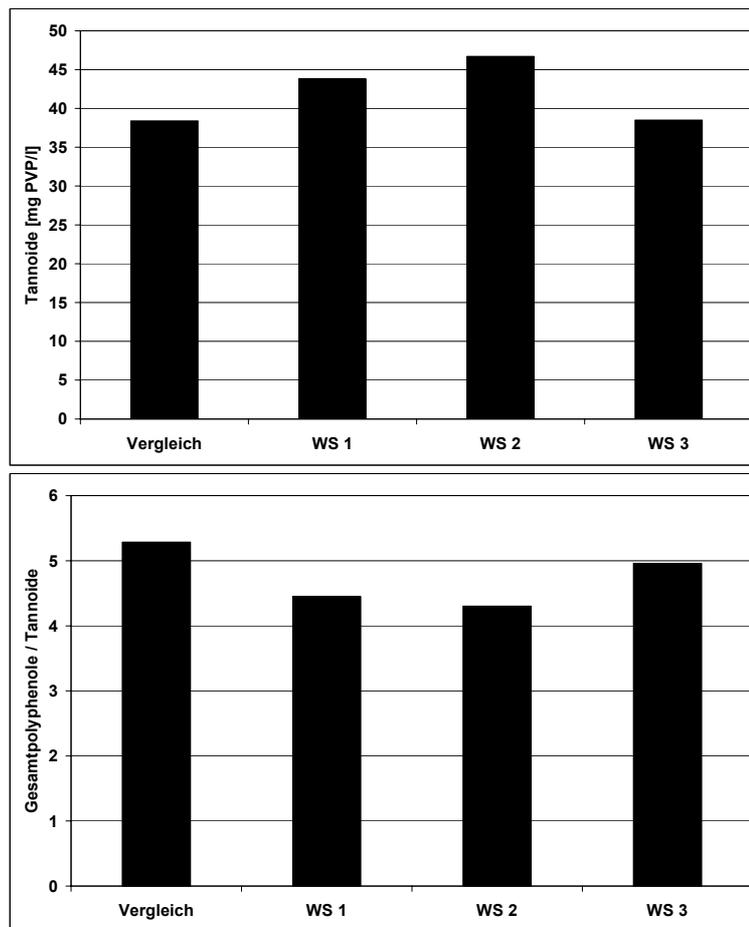


Abbildung 97: Gehalt an Tannoiden und das Verhältnis der Gesamtpolyphenole zu den Tannoiden in den Bieren aus den Würzesäuerungsversuchen.

Das Verhältnis der Gesamtpolyphenole zu den Tannoiden zeigte auch in diesem Zusammenhang eine leichte Verbesserung durch die Würzesäuerung. Allerdings lagen die Werte über 4. Die Maischesäuerung führte zu Werten um die 3.

5.12.3 Vergleich aller Ergebnisse aus den Säuerungsversuchen

Zusammenfassend zeigte sich, dass die Maischesäuerung zu deutlich besseren sensorischen Ergebnissen im Hinblick auf die Geschmacksstabilität führte. Zum einen zeigte sich die reine pH-Wert Senkung als positiv. Der niedrigere Polymerisationsindex sprach für eine reduzierte Polyphenoloxidaseaktivität. Zum anderen war die biologische Säuerung besser als die Verwendung von technischer Milchsäure. Dies könnte mit der thermischen Belastung der Würze während der Herführung der biologischen Milchsäure zusammenhängen. So werden der Maische auch reduzierende Substanzen aus den Maillard-Reaktionen zugeführt. Die Würzesäuerung erbrachte dagegen in allen antioxidativen Tests bessere Analyseergebnisse als die Maischesäuerung. In diesem Zusammenhang muss in Zukunft der Einfluss des Milieus, speziell der pH-Wert, auf die Analytik noch einmal genauer nachvollzogen werden, um die Vorteile von technologischen Maßnahmen eindeutig definieren zu können. Die Biere der Würzesäuerungsversuche wiesen nämlich die geringsten pH-Werte auf.

Da bei diesen Versuchen vor der Filtration keine PVPP-Stabilisierung durchgeführt wurde, konnten in den Bieren hohe Werte an Tannoiden gemessen werden. Abbildung 98 zeigt die Gegenüberstellung der Gehalte an Tannoiden in den Bieren und der sensorischen Beurteilung der forciert gealterten Biere aus allen Versuchen. Es zeigte sich, dass grundsätzlich jede technologische Maßnahme, welche in den Versuchen die Fraktion der Tannoide steigerte, auch zu einer verbesserten Geschmacksstabilität der Biere führte.

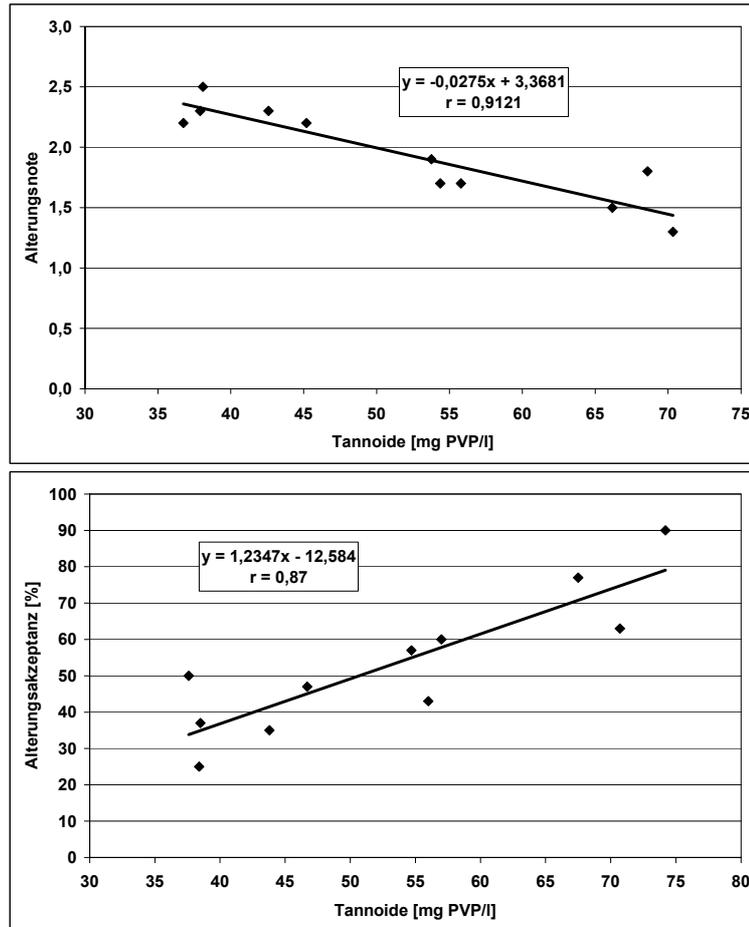


Abbildung 98: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Tannoiden im frischen Bier und der Alterungsnote bzw. der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere.

Die Tanninoide können somit innerhalb einer Brauerei als Indikatoren für die Geschmacksstabilität angesehen werden, wenn die PVPP-Stabilisierung auf konstantem Niveau verläuft. Wird so stark stabilisiert, dass keine Tanninoide mehr im Bier nachweisbar sind, könnte der Gehalt bereits im Lagerkeller als Parameter dienen. Dies wurde in einem eigenen Praxisprojekt verfolgt (siehe Kapitel 5.19).

5.13 Radikalmessungen während der Würzekochung

Im Sudhaus konnte keine Veränderung in der Radikalentstehung zwischen Pfannevoll- und Ausschlagwürze erkannt werden. Die Heißtrubabtrennung im Whirlpool dagegen führte zu einer Steigerung der Radikalentstehung und damit zu einer Abnahme des antiradikalischen Verhaltens. Beide untersuchten Proben wurden vor der Messung zentrifugiert. Es blieb die Fragestellung, ob in der Ausschlagwürze eine größere Menge an Partikeln für das bessere Ergebnis verantwortlich war oder ob es sich um spezifisch positiv wirkende Substanzen handelte, die mit dem Heißtrub entfernt wurden. Eine verlängerte Heißhaltezeit im Whirlpool zeigte im Gegensatz zu TAKAOKA et al. (1998) keinen Einfluss auf die Messung.

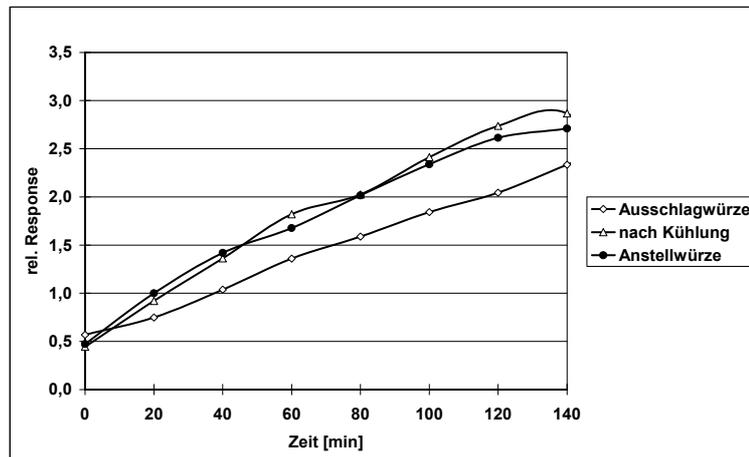


Abbildung 99: Verlauf der Radikalentstehung in der Würzepfanne.

ANDERSEN et al. (1999) konnte in Würzen unterschiedlicher Polyphenolzusammensetzung und Konzentration keinen Einfluss auf die Radikalentstehung am ESR detektieren. Aufgrund der Argumentation in Kapitel 5.5.1.5 wurde die Verfolgung von Koch- und Hopfungsversuche mittels Spin-Trap Methode in der Würze verzichtet.

Das antiradikalische Potenzial, das spezifisch auf Polyphenole ansprach, reagierte positiv auf die Hopfung. So lag der Wert in der gehopften Würze höher und auch das abgefüllte Bier wies ein besseres Ergebnis auf. Inwieweit die qualitative Zusammensetzung der Polyphenolfraktion, die durch die Hopfsorte und den

Hopfungszeitpunkt beeinflusst wurde, und welche Konsequenz dies für die endogene antioxidative Aktivität nach sich zieht, muss noch geklärt werden.

Eine weitere Untersuchung war, mittels der in Kapitel 5.6 erwähnten Chemilumineszenzmethode, Oxidationsreaktionen während der Kochung zu verfolgen. Hierzu wurde eine gehopfte mit einer ungehopften Würze verglichen (Abbildung 100). Es zeigte sich in der ersten halben Stunde ein großer Peak, der sich bei beiden Versuchen kaum unterschied. Danach nahm der Level fast um die Hälfte ab und schwankte sehr stark. Grundsätzlich konnte kein eindeutiger Unterschied zwischen beiden Ansätzen erkannt werden.

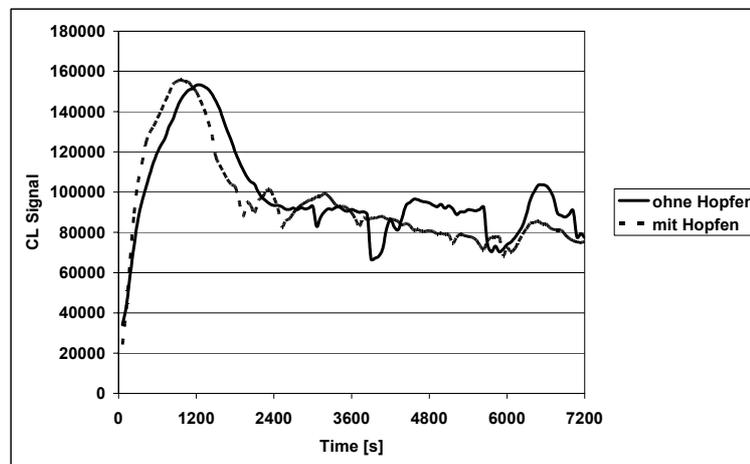


Abbildung 100: Chemilumineszenzsignal während des Kochens (100 °C) von gehopfter und ungehopfter Würze.

Ob phenolische Substanzen während der Würzekochung einen antioxidativen Effekt haben, konnte mit der verwendeten Analytik in dieser Arbeit nicht geklärt werden.

5.14 Untersuchungen zur Bildung von Schwefeldioxid in Abhängigkeit von der Anstelltechnologie in zylindrokonischen Gärtanks

Es zeigte sich, dass die Lag-Time innerhalb eines Betriebes sehr gut mit dem Gehalt an Schwefeldioxid, das durch die Hefe produziert wurde, korrelierte. Durch eine angepasste Anstelltechnologie konnte auf den Hefestoffwechsel großen Einfluss genommen werden. Somit war es möglich, technologisch die Lag-Time Werte im Bier zu steigern (Vergleiche Kapitel 3.9). An den Erfahrungen sollte angeknüpft werden und das Wissen in diesem Bereich erweitert werden.

5.14.1 Einfluss der Belüftung der Anstellwürzen

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der SO_2 -Bildung von der Sauerstoffaufnahme der Hefe, wurden unterschiedlich belüftete Würzen in Corneliusbehältern vergoren. Dazu wurden Luft und Würze in verschiedenen Volumenverhältnissen durch kräftiges, wiederholtes Schütteln ausgemischt. So konnten beliebige Belüftungsumfänge im Bereich zwischen 0 und 80 l/hl simuliert werden (siehe Kapitel 4.5).

Abbildung 101 zeigt den Gehalt an gelöstem Sauerstoff $c(\text{O}_2[\text{mg/l}])$ in der Würze in Abhängigkeit von den eingestellten Luft-Würze-Verhältnissen (V_L/V_W).

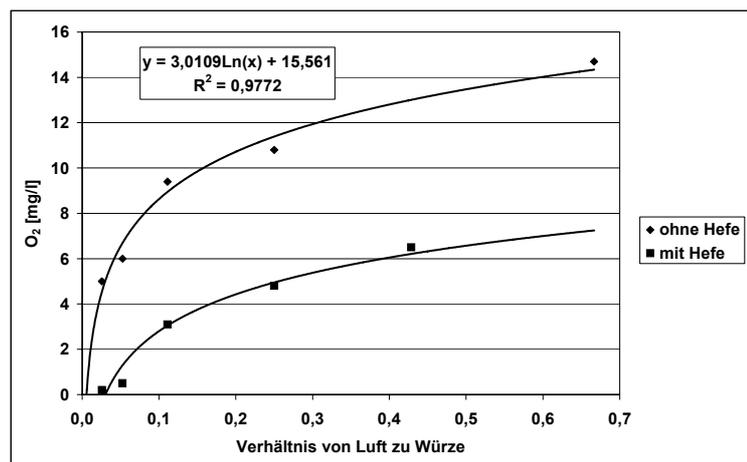


Abbildung 101: Zusammenhang zwischen der Belüftung und dem gelösten Sauerstoff mit und ohne Hefe.

Vor der Sauerstoffmessung wurde keine Hefe zur Würze gegeben, um einen Fehler durch deren Sauerstoffaufnahme zu vermeiden. Die flachere Kurve zeigt bei gleicher Behandlung den messbaren Sauerstoffgehalt, wenn Hefe gegeben wurde. Dabei vergingen vom Anstellen bis zum Ende der Messung rund 20 bis 30 Minuten. Es zeigte sich, dass der Sauerstoff sehr schnell durch die Hefe aufgezehrt wurde.

Die Gehalte an gelöstem Sauerstoff ließen sich durch eine logarithmische Ausgleichskurve mit folgender Gleichung gut annähern.

$$c(\text{O}_2[\text{mg/l}]) = 3,0109 \cdot \ln(V_L/V_W) + 15,561$$

Abbildung 102 zeigt die Abhängigkeit der SO_2 -Bildung vom Belüftungsverhältnis und zugleich vom absoluten Würzevolumen. Erst mit den Versuchen im 20 l Corneliusbehältern (entsprach in diesem Fall 12 l Würzevolumen) konnte ein Gehalt an SO_2 gebildet werden, der mit dem Praxismaßstab vergleichbar war. Die niedrigere Kurve entstand bei der Vergärung von 6 l Würzevolumen in einem 10 l Corneliusbehälter. Der absolute Gehalt an SO_2 lag in diesem Fall bei allen Mischungsansätzen nahezu parallel um etwa 3,5 mg/l niedriger. Diese Volumenabhängigkeit ist bei zukünftigen Untersuchungen im Pilotmaßstab zu berücksichtigen.

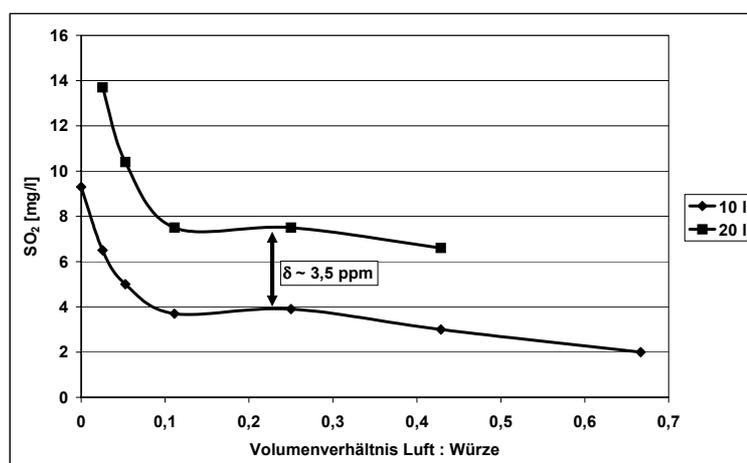


Abbildung 102: SO_2 -Bildung in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang bei verschiedenen Gärvolumina.

Die SO₂-Bildung stieg exponentiell an, wenn das Luft-Würzeverhältnis unter 0,1 fiel. Im Bereich höherer Luftanteile hatten Veränderungen des Belüftungsumfangs nur geringe Änderungen der SO₂-Bildung zur Folge. Im Bereich eines Luft-Würzeverhältnisses von etwa 0,1 bis 0,3 ergab sich nahezu ein Plateau, wo sich die SO₂-Bildung kaum änderte.

Zur Überprüfung der gefundenen Abhängigkeit wurde die Belüftungsreihe mit einer zweiten Hefe wiederholt. Abbildung 103 zeigt den Einfluss der Belüftung auf zwei verschiedene Hefen (A und B) im 12 l-Maßstab (20 l Corneliusbehälter).

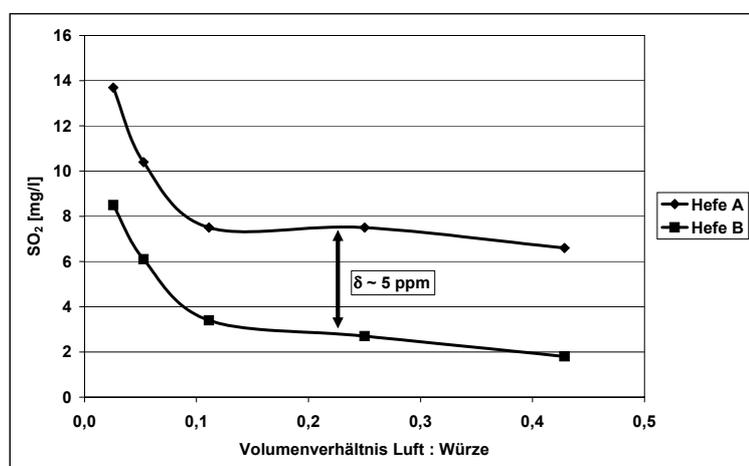


Abbildung 103: SO₂-Bildung zweier Hefen A und B in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang.

Bei der Hefe B konnte die gleiche Abhängigkeit der SO₂-Bildung von dem Belüftungsverhältnis gefunden werden. Das grundsätzlich niedrigere Niveau muss auf die genetische Veranlagung der Hefe zurückzuführen sein. Dies bestätigte den Einfluss der Wahl des Hefestammes. Liegt in einer Brauerei eine Hefe vor, die wenig SO₂ bildet, so kann erst unterhalb eines Belüftungsverhältnisses von 0,1 die SO₂-Bildung entscheidend gesteigert werden. Brauereien stellten aber unter diesen Bedingungen, genau wie im Versuchmaßstab, eine verlängerte Gärzeit fest.

5.14.2 Einfluss des Drauflasszeitpunktes eines belüfteten Sudes

Um den Einfluss der Anstelltechnik eines zylindrokonischen Gärtanks bei der Vergärung mehrerer Sude auf die Schwefeldioxidbildung zu untersuchen, wurde den Untersuchungen folgender Gedankengang zugrunde gelegt:

Werden vier Sude nacheinander draufgelassen, so kann jedes mal individuell Hefe und/oder Luft mit eingebracht werden. Für die Untersuchungen wurde angenommen, dass die gesamte benötigte Hefemenge mit dem ersten Sud angestellt wird. Wird die gesamte Luftmenge mit der Hefe dem ersten Sud zugegeben und die weiteren unbelüftet draufgelassen, so entspricht dies dem Fall der Vergärung eines „großen“ Sudes. Die Problematik des Drauflassens lässt sich somit in der Anfangsphase der Gärung auf eine zu einem bestimmten Zeitpunkt erfolgende oder ausbleibende Sauerstoffzufuhr reduzieren. Die Auswirkungen dieser Sauerstoffzufuhr auf die Schwefeldioxidbildung wurden durch eine Zweitbelüftung zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht.

Zuerst wurde eine Versuchsreihe im Maßstab von 10l mit einem Luft-Würzeverhältnis von 0,05 angestellt. Daraufhin wurde die Belüftung zu unterschiedlichen Zeitpunkten wiederholt. Abbildung 104 zeigt die SO₂-Gehalte der Biere am 8. und 12. Gärtag.

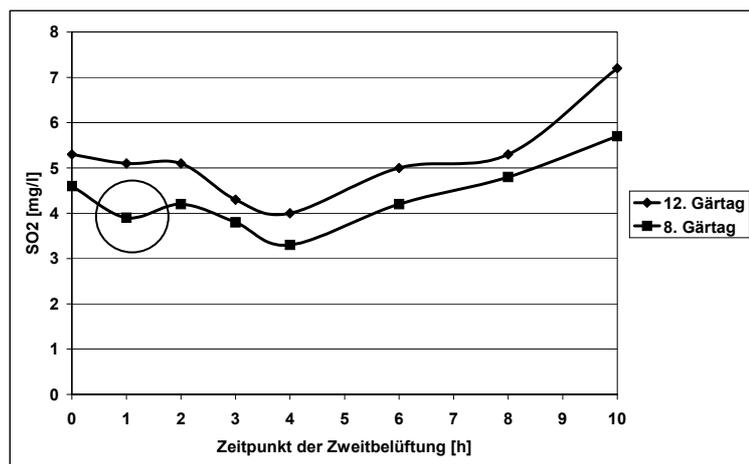


Abbildung 104: SO₂-Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt einer zweiten Belüftung.

Es ergab sich ein Einbruch der SO_2 -Gehalte im Bereich einer Zweitbelüftung zwischen 2 und 6 Stunden nach dem Anstellen. Der vergleichsweise niedrige Messwert bei einer Belüftung nach einer Stunde in der Reihe vom 8. Gärtag (Kreis) war als Messfehler aufzufassen, da er einerseits am 12. Gärtag nicht mehr erniedrigt war und andererseits im Zeitraum von einer Stunde die Hefe der Theorie entsprechend noch nicht allen Sauerstoff aufgenommen hat und so die Luftzufuhr keinen negativen Einfluss haben dürfte.

Es zeigten sich bei diesem Belüftungsansatz schon deutliche Verzögerungen in der Gärgeschwindigkeit. Die geringe Belüftung war allerdings für die Untersuchungen nötig, damit die Hefe ein so große Menge an Schwefeldioxid bildet damit die Ausprägung des Minimums verfolgt werden konnte. Ansonsten wäre in diesem wichtigen Zeitfenster das SO_2 nicht mehr nachweisbar gewesen.

Um den Einfluss der Zweitbelüftung auf die Gärgeschwindigkeit genauer zu untersuchen, wurde der Vergärungsgrad mitverfolgt. Abbildung 105 zeigt den wirklichen Vergärungsgrad (V_w) und die SO_2 -Gehalte der Biere am 12. Gärtag.

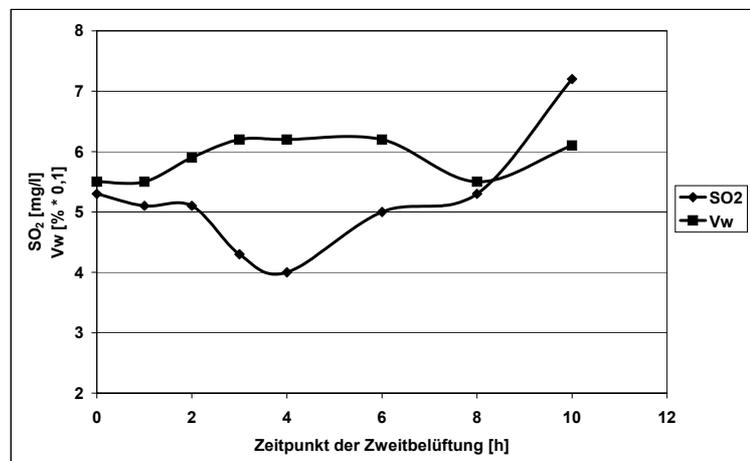


Abbildung 105: SO_2 -Bildung und wirklicher Vergärungsgrad am 12. Gärtag in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung.

Der Vergärungsgrad und die SO_2 -Bildung zeigten im Bereich von 0 bis 8 Stunden nach dem Anstellen eine gegenläufige Tendenz. Der bezüglich der SO_2 -Bildung ungünstige Zeitrahmen der Zweitbelüftung erwies sich als der Bereich mit der größten Gärgeschwindigkeit. Grundsätzlich lagen die Vergärungsgrade jedoch

sehr niedrig. Dies zeigte, dass dieses Luft-Würzeverhältnis (0,05) für die Praxis nicht relevant sein wird.

Um die einzelnen Messwerte besser vergleichen zu können, wurden die SO₂-Gehalte von Proben gleichen Vergärungsgrades gegenübergestellt.

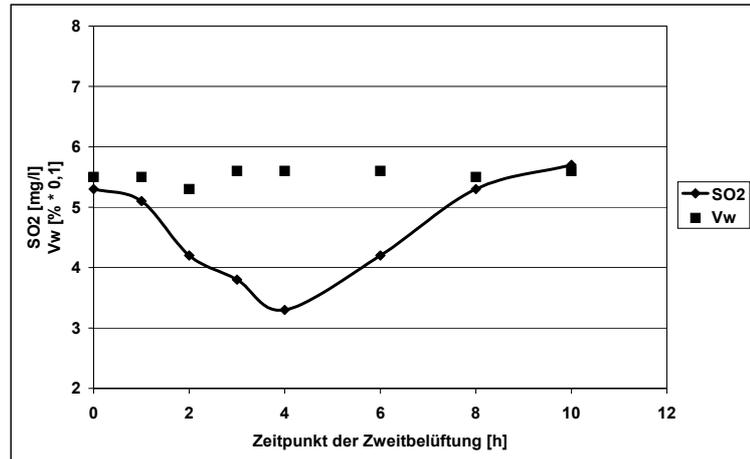


Abbildung 106: SO₂-Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung bei gleichem Vergärungsgrad.

In dieser Darstellung zeigte sich der Einbruch in der SO₂-Bildung am deutlichsten. Die Zweitbelüftung zwischen einer und 8 Stunden nach dem Anstellen hatte eine klare Reduzierung der SO₂-Gehalte, mit einem Minimum nach 4 Stunden, zur Folge.

FORSTER und BACK (1999) fanden zwei minimale Werte, nämlich bei 2,5 und 7,5 Stunden nach dem Anstellen. Allerdings fanden sie nach 5 Stunden wieder den maximal möglichen Wert. Das widerspricht den neuen Ergebnissen. Die Untersuchungen würden unter der Annahme, dass es sich bei dem Wert nach 5 Stunden um eine Fehlmessung handelte, sehr gut übereinstimmen.

Basierend auf den im Kleingärversuch gewonnenen Messwerten, wurde die in Abbildung 107 dargestellte Skizze der SO₂-Bildung in Abhängigkeit des Zeitpunktes der Zweitbelüftung entworfen. Die Darstellung ist rein qualitativ und muss durch weitere Versuche überprüft werden. Zur einfacheren Darstellung wurde eine lineare Abnahme des SO₂-Gehaltes mit steigendem Luftanteil im draufgelassenen Sud angenommen (Z-Achse). In der Realität existiert sicherlich

ein komplizierterer Zusammenhang, wie schon aus dem logarithmischen Verlauf der Lösungskurve von Luftsauerstoff in Würze zu vermuten war.

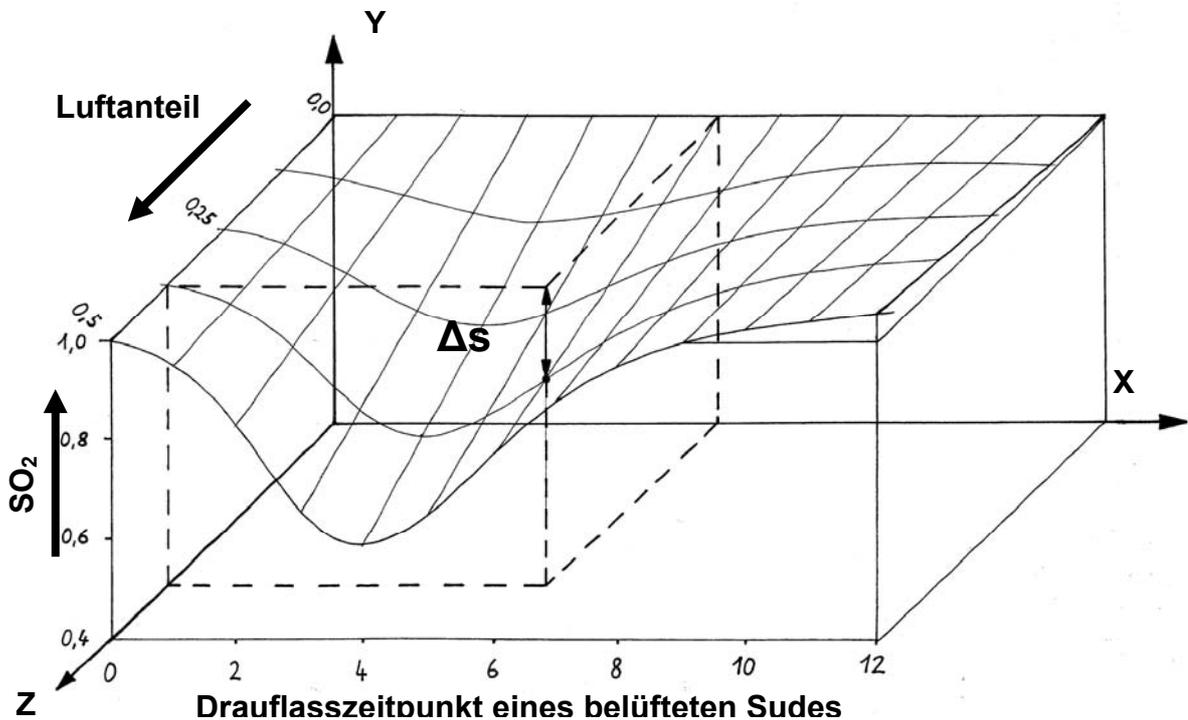


Abbildung 107: Einfluss des Belüftungsgrades und Drauflasszeitpunktes des zweiten Sudes auf die SO₂-Bildung während der Hauptgärung.

Anhand der Graphik kann der Verlust an SO₂ beim Drauflassen einfach abgeschätzt werden. Durch den Anteil der Belüftung des draufgelassenen Sudes an der Gesamtelüftung und den Drauflasszeitpunkt kann aus der Grafik der relative Verlust an SO₂ (Δs) gegenüber einem Einsudverfahren (100% = 1) ermittelt werden.

Das eingezeichnete Beispiel gibt an:

Wird 6 Stunden nach Anstellen ein belüfteter Sud draufgelassen, der aufgrund seines Sauerstoffgehaltes 37,5 % (0,375) der Gesamtelüftung ausmacht, so nimmt der SO₂-Gehalt gegenüber einem Einsudverfahren um Δs ab. In diesem Fall wären es nur 80 % (0,8) des möglich erreichbaren Gehaltes. Der relative SO₂-Verlust Δs beträgt somit 0,2 = 20%.

Es muss noch überprüft werden, ob sich die relativen Verluste mehrerer draufgelassener belüfteter Sude im Sinne dieser Grafik addieren.

Grundsätzlich muss bei dieser Vorgehensweise berücksichtigt werden, dass bei einer zu drastischen Reduzierung der Belüftung die Gärgeschwindigkeit herabgesenkt wird. Des Weiteren wurde aus der Praxis berichtet, dass die niedrigen Belüftungsraten teilweise zu schwefligen Fremdaromen führten. Dies konnte in diesen Gärversuchen nicht nachvollzogen werden.

5.15 Untersuchung der Veränderung phenolischer Substanzen und der antioxidativen Tests während der Gärung in der Praxis

Um den Einfluss der Gärung auf die Fraktion der phenolischen Substanzen zu prüfen, wurde in einer Brauerei eine Stufenkontrolle durchgeführt. Es wurden Proben von der Würze, vom Jungbier und vom abgefüllten Bier untersucht.

In der Brauerei wurden die Würzen gesäuert und hatten beim Ausschlagen einen pH-Wert von ~5,2. Nach 4 Stunden im Flotationstank wurden die Sude im ZKG bei 9 - 10 °C angestellt. Die Lagerung erfolgte bei 0 – 1 °C. Zur Stabilisierung wurden 30 g/hl Kieselgel und 20 g/hl PVPP gegeben.

Die Abbildung 108 zeigt, dass beim Biertyp Helles die Gesamtpolyphenole während der Hauptgärung leicht abnahmen. Bei den Anthocyanogenen und Tannoiden war ein größerer Verlust erkennbar.

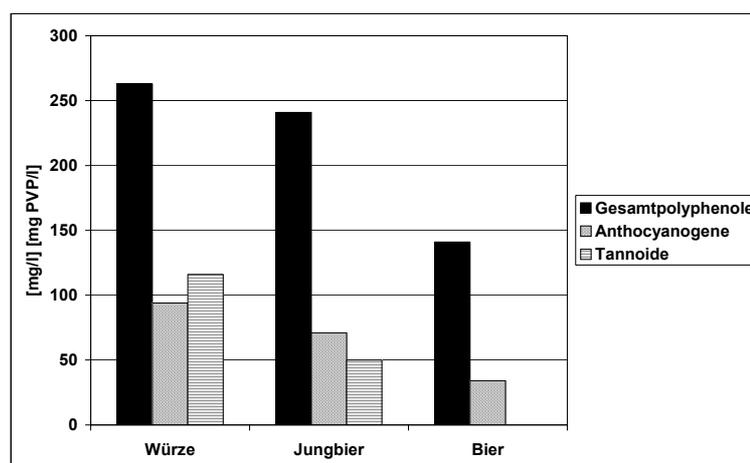


Abbildung 108: Veränderung der phenolischen Substanzen von der Würze bis zum Bier im Typ Helles.

Zum fertigen Bier hin nahmen die Polyphenole aufgrund der Stabilisierung mittels PVPP deutlich ab. Die Tannine waren im fertigen Bier nicht mehr nachweisbar. Im Biertyp Pils zeigte sich der gleiche Zusammenhang (Abbildung 109). Interessanter Weise lag das Niveau an Polyphenolen in der Würze leicht unterhalb des Typ Hellen, obwohl die Hopfengabe fast doppelt so hoch war (3900 g gegenüber 2250 g α -Säure). Ansonsten waren die Sudprogramme identisch. Die absoluten Werte sind kritisch zu betrachten, da während der Hauptgärung zum einen ein pH-Sturz stattfand und zum anderen Ethanol entstand. Diese Veränderung des Milieus konnte die Analytik stark beeinflussen.

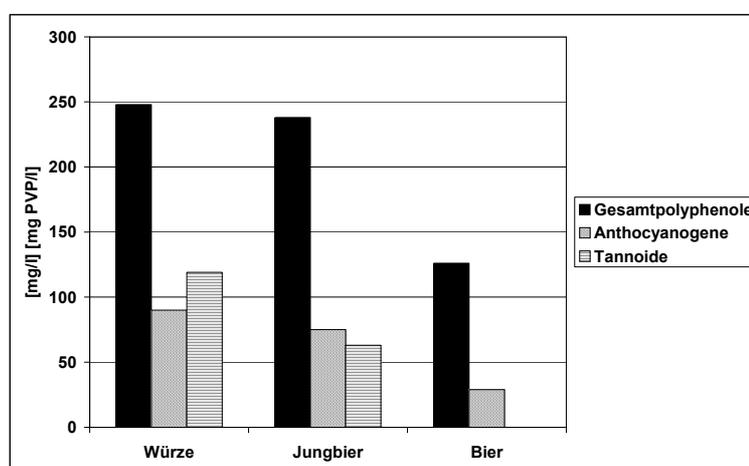


Abbildung 109: Veränderung der phenolischen Substanzen von der Würze bis zum Bier im Typ Pils.

Bei Betrachtung der antioxidativen Tests (Abbildung 110) konnte in beiden Biersorten erwartungsgemäß erst im Jungbier, nach der Entstehung von Schwefeldioxid durch die Hefe, die Lag-Time detektiert werden. Die Lag-Time nahm im Hellen zum Bier hin ab, was für eine Sauerstoffaufnahme am Füller, Eisenionen aus der Kieselgur oder aber schlecht gespülte Drucktanks, die mit Hilfe von Oxidationsmitteln, wie Peroxysäuren, desinfiziert wurden, sprach. Im Pils nahm dieser Wert zu. Dies konnte nur mit der Verschneidung der Sude im Lagerkeller erklärt werden.

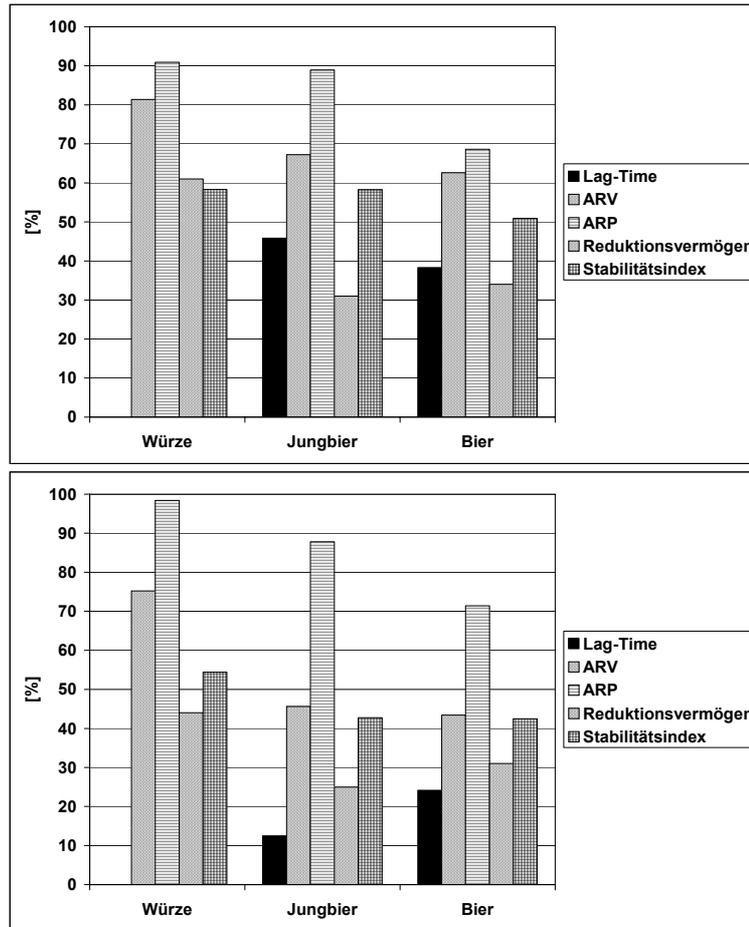


Abbildung 110: Veränderung der antioxidativen Tests von der Würze bis zum Bier im Typ Helles (oben) und Pils (unten).

Das antiradikalische Verhalten nahm von der Würze bis zum Jungbier hin deutlich ab, was mit dem Kläreffekt des Whirlpools und den Ausfallreaktionen sowohl von spezifisch als auch unspezifisch reagierenden Substanzen während der Gärung zusammenhing. Allerdings ist, wie schon öfter erwähnt, der pH-Wert zu berücksichtigen, da bei niedrigerem Wert weniger Radikale generiert werden können, was zu einer geringeren messbaren antiradikalischen Aktivität führen kann. Da mit dieser Analyse die Fläche unterhalb des Graphen bei der Radikalentstehung gemessen wurde, war die Steigung des Graphen ein Hinweis für die antiradikalischen Effekte. Abbildung 111 zeigt, wie sich die Steigung während des Brauprozesses im Durchschnitt änderte.

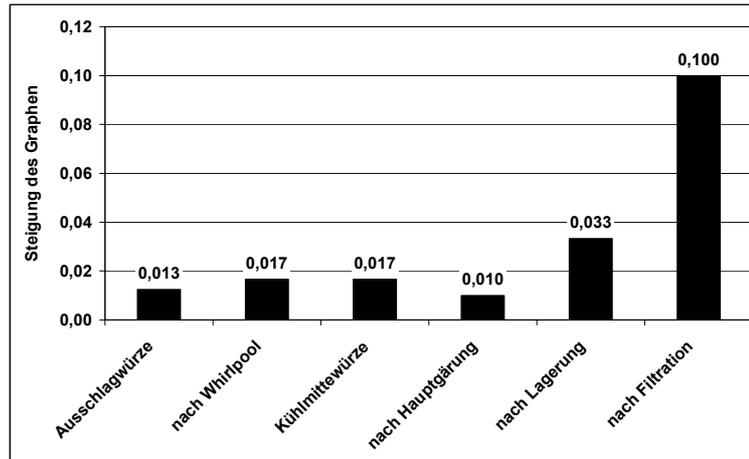


Abbildung 111: Die Veränderung der Steigung des Graphen der Radikalmessung im Laufe des Brauprozesses.

In der Ausschlagwürze war der Verlauf am flachsten. Durch die Heißtrubabtrennung nahm die Steigung leicht zu und blieb während der Kühlung konstant. Durch die Gärung nahm sie wieder ab, wie es auch die Praxisversuche zeigten. Nach der Lagerung stieg sie wieder aufgrund von weiteren Ausfällreaktionen. Durch die Stabilisierung wurde eine große Menge an reaktiven Substanzen, speziell die Polyphenole, entfernt und die Steigung des Graphen und somit die Radikalgenerierung pro Zeit nahmen am stärksten zu.

Das antiradikalische Potenzial nahm während der Gärung beim Hellen weniger stark ab als beim Pils. Zum abgefüllten Bier hin war durch die Stabilisierung, wie schon bei den phenolischen Substanzen, eine starke Abnahme feststellbar.

Die Alterungsverkostung der abgefüllten Biere zeigte, dass der Tannoidgehalt in der Würze tendenziell bereits als Anhaltspunkt für die zu erwartende Geschmacksstabilität verwendet werden könnte (Abbildung 112).

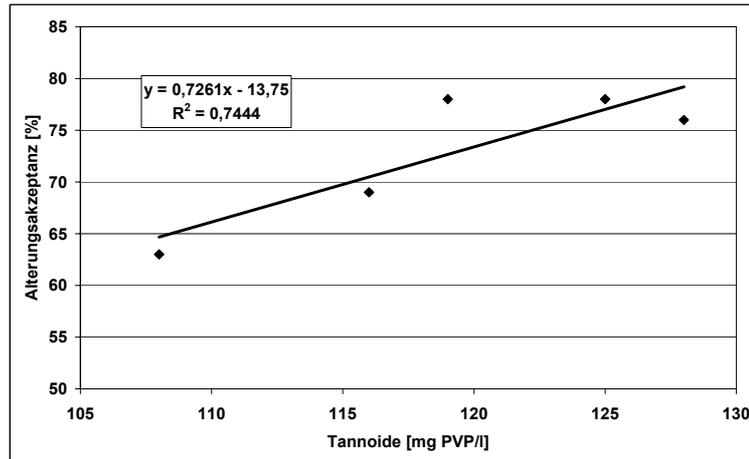


Abbildung 112: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Tannoiden in der Würze und der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere.

Da in dem untersuchten Praxisbetrieb im Lagerkellerbereich die Sude verschnitten wurden, ergaben sich nicht so gute Ergebnisse wie im Pilotsudmaßstab, wo die Sude separat abgefüllt werden konnten.

5.16 Untersuchungen zum Einfluss von Glutathion auf die Geschmacksstabilität

Da Glutathion als Antioxidanz bekannt ist und im Hefestoffwechsel vorliegt, wurde der Einfluss von Glutathion auf die Geschmacksstabilität getestet. Es wurde einem Bier Glutathion in verschiedenen Konzentrationen zugegeben und forciert gealtert.

Tabelle 7: Verkostungsergebnisse der Versuche zur Glutathiondosage.

Verkostung nach DLG	Vergleich	10 mg/l	50 mg/l
Geruch	3,3	3,5	3,4
Trunk	3,2	3,3	3,6
Vollmundigkeit	3,7	3,8	3,9
Rezenz	3,9	3,8	3,9
Bittere	3,7	3,9	3,8
Gewichtete Note	3,5	3,6	3,7
Alterungsverkostung	Vergleich	10 mg/l	50 mg/l
Geruch	2,0	2,0	1,7
Trunk	2,0	2,0	1,7
Bittere	1,9	1,6	1,5
Gewichtete Note	2,0	1,9	1,7
Akzeptanz (%)	52	62	74

Die Ergebnisse zeigten, dass mit steigender Glutathiondosage der Alterungsgeschmack abnahm. Die Alterungsakzeptanz konnte deutlich verbessert werden. Allerdings führte das Glutathion zu einer kratzigen Bittere im Bier. In einem Extremversuch wurde auch der Einfluss auf die Lag-Time Messung getestet.

Tabelle 8: Einfluss von Glutathion auf die Lag-Time Messung.

Probe	Lag-Time [min]
Vergleich	9
100 mg/l Glutathion	52

Die Tabelle 8 zeigt, dass auch die Lag-Time durch Zugabe von Glutathion deutlich gesteigert werden konnte. Als Begründung lässt sich die Reaktion des Glutathion mit Eisen-(II)-Ionen annehmen. Dadurch wäre die Nähe zum Hydroxylradikal bei dessen katalytischen Generierung gewährleistet und das Glutathion könnte effektiv als Radikalscavenger reagieren (SPEAR und AUST 1995).

Es wurde nun versucht, Glutathion durch Autolyse der Hefe im Bier anzureichern. Es konnte jedoch keine Steigerung der antioxidativen Tests durch diese Maßnahmen erreicht werden. In diesem Bereich sollten noch Untersuchungen folgen, inwieweit Hefe Glutathion ausscheiden kann und ob dieses zum Beispiel in Hefeextrakt oder Geläger zu finden ist. Auf dem EBC Kongress 2003 in Dublin wurde zum Beispiel die antioxidative Wirkung von einem Hefeextrakt vorgestellt. Es wurde jedoch kein spezieller Inhaltsstoff angegeben (BOURDAUDHUI et al. 2003).

5.17 Untersuchungen zur prooxidativen Wirkung von L-Cystein

Nach ANDERSEN et al. (2001) führte die Zudosage schwefelhaltiger Aminosäuren wie L-Cystein zu einem steileren Verlauf des Graphen nach der Lag-Time und somit zu einer vermehrten Radikalentstehung.

Eigene Untersuchungen zeigten, dass auch in Aqua bidest (mit 5 Vol. % EtOH) eine Steigerung der Konzentration an L-Cystein eine starke prooxidative Wirkung

zur Folge hatte (Abbildung 113). Je höher die Dosage war, umso mehr Radikale wurden pro Zeit generiert.

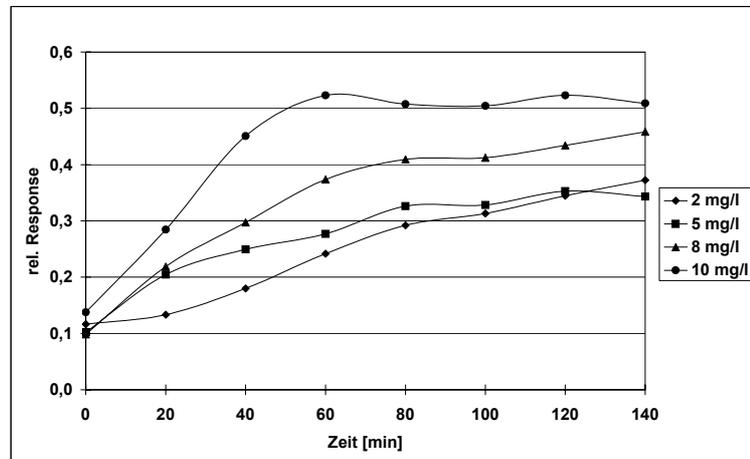


Abbildung 113: Einfluss von L-Cystein (in Auqa Bidest (5%-Vol EtOH)) auf die Lag-Time Messung.

Mit dieser Untersuchung konnten eindeutig prooxidative Einflüsse von L-Cystein nachgewiesen werden. In diesem Zusammenhang müssen im Gegenzug zu den Antioxidanzien weitere Substanzen geprüft werden, um deren Reaktivität speziell in der Matrix Bier zu erkennen. Wie schon bei den Verdünnungsversuchen angedeutet, handelt es sich um ein natürliches Gleichgewicht an pro- und antioxidativen Substanzen. Dieses ist durch das Malz und die Stammwürze geprägt. Durch die Zugabe von Hopfen, die Trubentfernung, die Ausfallreaktionen während der Gärung und Lagerung, aber besonders durch die Filterhilfsmittel und Stabilisierung wird dieses Gleichgewicht fortwährend im Brauprozess gestört oder verschoben. Speziell auf die letzten Einflüsse wird in den nächsten Kapiteln genauer eingegangen.

5.18 Untersuchung des Einflusses von Stabilisierungsmitteln auf die antioxidativen Tests

Zur Untersuchung des Einflusses von Stabilisierungsmitteln auf die phenolischen Substanzen und die antioxidativen Tests, wurden folgende Bedingungen im Praxismaßstab für die zu untersuchenden Proben (untergäriges Pilsner) gewählt:

- **Unstabilisierte** Probe.
- Mit 50 g/hl **PVPP** (Divergan F, BASF, Deutschland) behandelte Probe.
- Mit 80 g/hl **Kieselgel** (Daraclar 7500, GRACE Davison, Deutschland) behandelte Probe.
- Mit einer **Mischung** aus PVPP (30 g/hl) und Kieselgel (30 g/hl) behandelte Probe.

Die Abbildung 114 zeigt, dass die Verwendung von Kieselgel einen negativen Einfluss auf die Lag-Time ausübte. Sie lag um fast 20 % unterhalb der Probe, die nur mit PVPP stabilisiert wurde. Dass die unstabilisierte Probe keine Lag-Time aufwies, lässt vermuten, dass die Entnahme nicht sauerstofffrei erfolgte und in dem Zeitraum bis zur Messung das verantwortliche SO₂ verbraucht war.

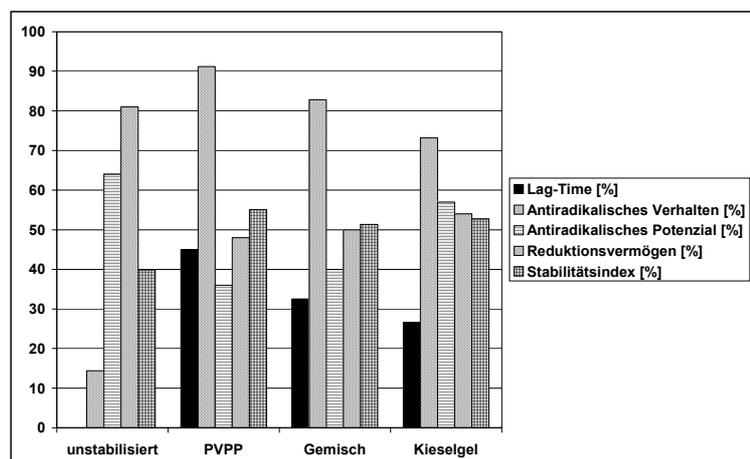


Abbildung 114: Einfluss verschiedener Stabilisierungsmittel auf die Veränderung der antioxidativen Tests.

Entsprechend niedrig lag auch das antiradikalische Verhalten. In den stabilisierten Proben verhielt sich das antiradikalische Verhalten entsprechend zur Lag-Time. Das antiradikalische Potenzial wurde durch die reine PVPP-Stabilisierung am deutlichsten reduziert, was durch die spezifische Entnahme phenolischer Substanzen nachvollziehbar war. Das Reduktionsvermögen lag ebenfalls nach der PVPP-Stabilisierung am niedrigsten. Ein ungewöhnlich hohes und nicht nachvollziehbares Ergebnis von über 80 % zeigte sich in der unstabilisierten Probe.

Der berechnete Stabilitätsindex lag vor allem aufgrund der Lag-Time in der unstabilisierten Probe am niedrigsten. Bei den stabilisierten Proben blieb der Index etwa gleich, da die abnehmende Lag-Time durch die Zunahme des antiradikalischen Potenzials rechnerisch ausgeglichen wurde.

Abbildung 115 zeigt, wie sich die Ergebnisse der nasschemischen Analysen für phenolische Substanzen verhielten. So nahmen alle Fraktionen durch die angewandte PVPP-Stabilisierung deutlich ab. 50 g/hl PVPP stellt die maximal zulässige Dosage dar. Im Gemisch wurden schon bei einer Dosage von 30 g/hl im Bier keine Tannine mehr nachgewiesen.

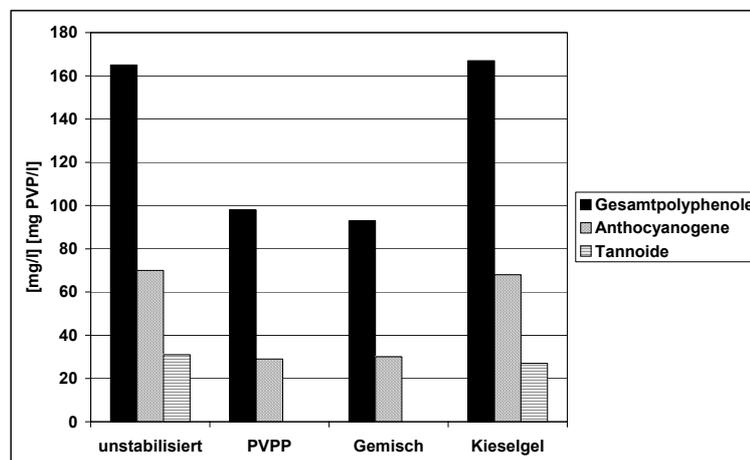


Abbildung 115: Veränderung der Gehalte an phenolischen Substanzen durch Verwendung unterschiedlicher Stabilisierungsmittel.

Die Gesamtpolyphenole und Anthocyanogene nahmen ebenfalls deutlich ab. Eine gesteigerte Dosage an PVPP bewirkte keine stärkere Abnahme. Die reine

Kieselgelstabilisierung führte zu keiner Veränderung im Polyphenolspektrum. Es zeigte sich bei der Untersuchung einzelner Substanzen, dass in erster Linie die Fraktion der Flavonoide durch die PVPP-Stabilisierung betroffen ist. Die Phenolcarbonsäuren wurden kaum beeinflusst (siehe auch Kapitel 5.21).

Um die Einflüsse der Stabilisierungsmittel auf die einzelnen antioxidativen Tests zu überprüfen, wurden diese einem Bier in unterschiedlichen Dosagen zugegeben. Das Bier wies noch Tannoide auf und war entsprechend nur gering mit PVPP stabilisiert worden. Um eine homogene Lösung und Reaktion zu gewährleisten, wurden die Proben eine Stunde gerührt.

Abbildung 116 zeigt, dass mit ansteigender PVPP-Dosage das antiradikalische Potenzial um etwa 16 % abnahm. Die anderen Tests blieben unbeeinflusst.

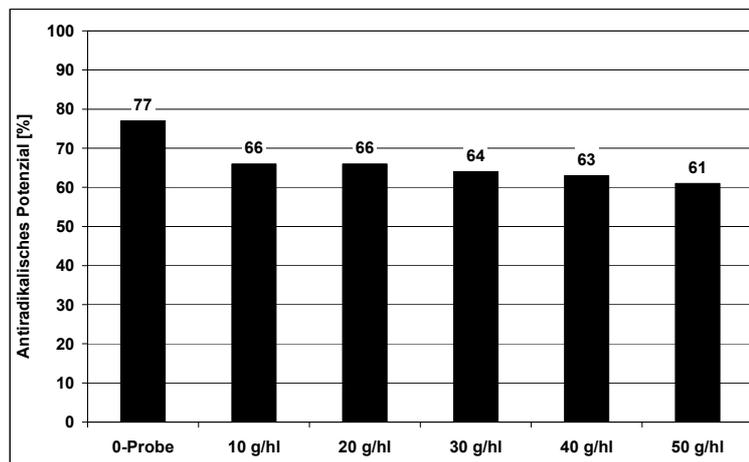


Abbildung 116: Einfluss der PVPP-Dosage auf das antiradikalische Potenzial.

Es ist zu berücksichtigen, dass auch die Faltenfiltration bereits einen Einfluss hatte. So nahm allein bei diesem Arbeitsschritt das antiradikalische Potenzial im Durchschnitt um 10 % ab.

Durch die Zugabe von Kieselgel (Daraclar 7500) wurden wie bei der ersten Versuchsreihe, die Lag-Time und gleichzeitig das antiradikalische Verhalten beeinflusst. Abbildung 117 zeigt, dass die Lag-Time nach der größten Dosage von Daraclar um 9 % abnahm.

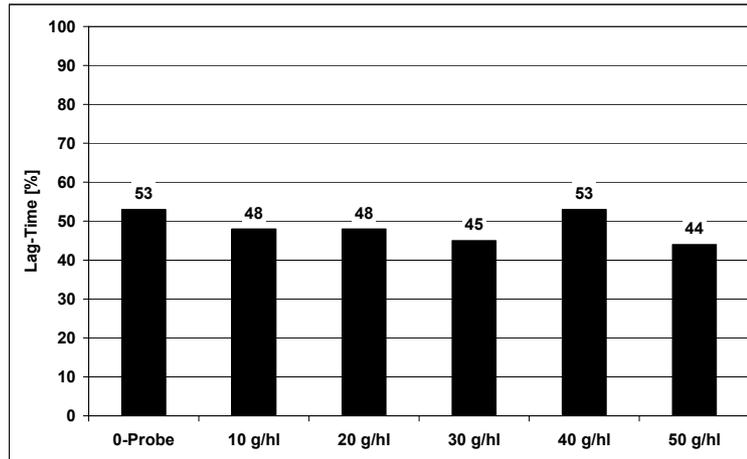


Abbildung 117: Einfluss der Dosage von Kieselgel auf die Lag-Time Messung.

Das Ergebnis bei einer Dosage von 40 g/hl war nicht erklärbar. Ansonsten wäre die Abnahme der Lag-Time durch die Zufuhr von Eisenionen durch das Kieselgel erklärbar. Diese könnten die Radikalentstehung wie schon vorher erwähnt negativ beeinflussen. Laut Spezifikation der Hersteller sollte der Wert an in Bier löslichen Eisen kleiner gleich 50 ppm (*E. Begerow GmbH Co., Langenlonsheim / Germany*) liegen. Dies könnte für die Beurteilung von Stabilisierungsmitteln in Hinblick auf die Geschmacksstabilität des Bieres zukünftig von Bedeutung sein.

Dies galt auch für die Verwendung von Kieselgur. So zeigte ein Dosageversuch, dass die Lag-Time bzw. das antiradikalische Verhalten ebenfalls abnahm

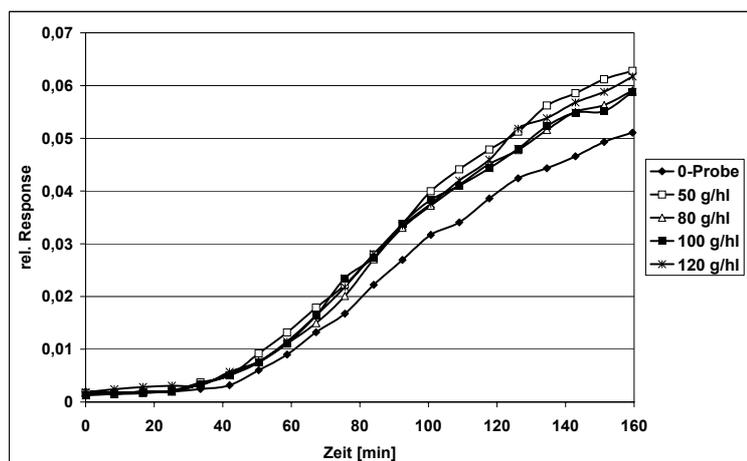


Abbildung 118: Einfluss der Kieselgurdosage auf die Lag-Time Messung.

Der negative Einfluss war schon bei einer Dosage von 50 g/hl erreicht worden. Auch hier war mit einer Zufuhr von Eisenionen aus der Kieselgur zu argumentieren.

5.19 Einfluss der Stabilisierung auf das antioxidative Potenzial und den Gehalt an phenolischen Substanzen in der Praxis

Für die Untersuchungen des Einflusses der Stabilisierung mit PVPP und der Filtration auf die Gehalte an Polyphenolen und das antioxidative Potenzial wurde in einer Brauerei bei drei Biersorten (Helles, Export, Pils) eine Stufenkontrolle durchgeführt. Es wurden Proben vor dem Filter und im Drucktank genommen. Das abgefüllte Bier wurde zusätzlich forciert gealtert und es wurden neben der Alterungsverkostung die Alterungsindikatoren bestimmt. Es wurden zwei Untersuchungsreihen durchgeführt. Die Zahlen sind im Anhang in den Tabellen T25 bis T40 zu finden.

5.19.1 Untersuchung des Biertyp Helles

Im Biertyp Helles nahmen alle phenolischen Fraktionen der Reihe 2 während der Stabilisierung und Filtration ab. In Reihe 1 waren die Gesamtpolyphenole im Drucktank höher als vor dem Filter.

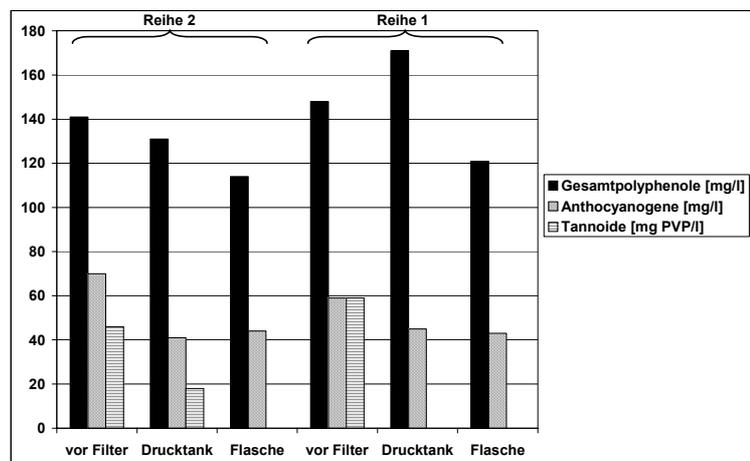


Abbildung 119: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Helles.

Dieses Problem trat während der Untersuchung bei mehreren Parametern auf. Die Frage war, ob der Wert im Drucktank oder vor dem Filter falsch war. Diese Schwankungen waren wahrscheinlich auf die problematische Probennahme mittels Bügelverschlussflasche im Lager- und Drucktank zurückzuführen. Die Tannoide waren in Reihe 1 nach der Stabilisierung nicht mehr nachweisbar. In Reihe 2 konnte noch ein geringer Gehalt nachgewiesen werden. Nach Angabe der Brauerei wurde konstant mit einer Gabe von 50 g/hl PVPP gearbeitet. Die Fraktion der Anthocyanogene nahm ebenfalls während der Filtration ab, blieb jedoch bis in die Flasche auf nahezu konstantem Niveau.

Die Lag-Time (Abbildung 120) nahm während der Stabilisierung und Filtration in Reihe 2 zu, was nur auf die Probennahme zurückzuführen sein konnte. Es wurden allerdings nicht alle Untersuchungen nur aus einer Flasche durchgeführt, was eine zusätzliche Abweichung hervorrufen könnte. Dies zeigte sich zum Beispiel am Gehalt des Schwefeldioxids, der während der Stabilisierung abnahm und so nicht mit der Lag-Time in Zusammenhang gebracht werden konnte.

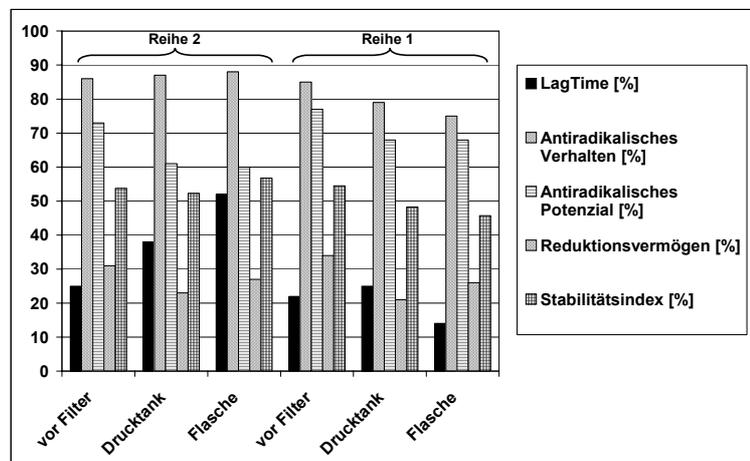


Abbildung 120: Veränderung der antioxidativen Tests während der Stabilisierung und Filtration bei der Biersorte Helles.

Das antiradikalische Verhalten sank in Reihe 1 wie es erwartet wurde, blieb allerdings in der 2. Reihe auf dem gleichen Niveau. Das antiradikalische Potenzial nahm bei beiden Untersuchungsreihen während der Filtration ab und blieb bis in die Flasche auf gleichem Niveau. Das Reduktionsvermögen nahm ebenfalls bei

beiden Reihen während der Filtration ab und stieg geringfügig zur Flasche an. Der Stabilitätsindex als Summenparameter nahm in der 1. Reihe um fast 10 % ab, in Reihe 2 nahm er zur abgefüllten Flasche hin leicht zu. Er lag aber grundsätzlich auf niedrigem Niveau.

5.19.2 Untersuchung des Biertyp Pils

Im Zusammenhang der Ungleichmäßigkeiten der Ergebnisse, musste auch die leichte Verdünnung am Filter berücksichtigt werden, die auf die Analytik Einfluss nehmen konnte. So nahmen zum Beispiel bei der Sorte Pils in Reihe 1 die Stammwürze um etwa zwei Zehntel, der Alkoholgehalt und pH-Wert um etwa ein Zehntel ab. In der Reihe 2 sprangen die Werte, was wiederum die Schwierigkeiten der Probennahme erklären könnte.

Im Biertyp Pils nahmen die Gesamtpolyphenole bei beiden Versuchsreihen während der Filtration deutlich ab und blieben bis ins abgefüllte Bier etwa gleich. Der Gehalt an Anthocyanogenen lag in der Reihe 1 schon vor dem Filter niedriger als in Reihe 2, war allerdings im Drucktank auf gleichem Niveau. In beiden Versuchen nahm diese Fraktion während der Filtration ab. Die Fraktion der Tanninoide war nur in Reihe 2 vor dem Filter nachweisbar.

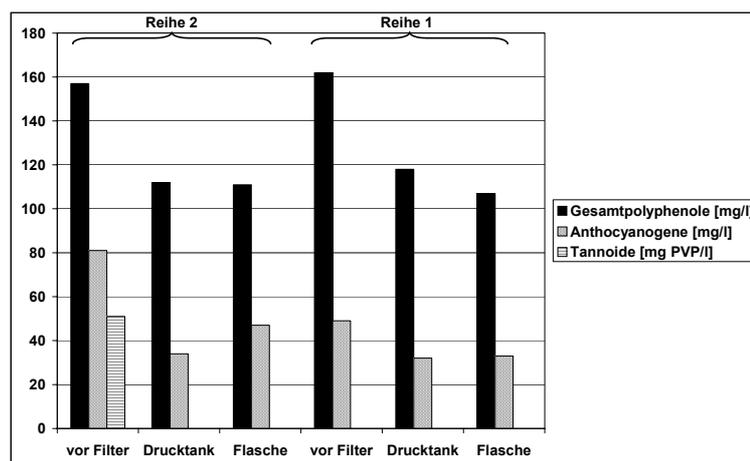


Abbildung 121: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Pils.

Die antioxidativen Tests der Biersorte Pils sind in Abbildung 122 dargestellt. Die Lag-Time Werte verringerten sich in der Reihe 1 während der Filtration. Dies war mit der Verwendung der Filterhilfsmittel erklärbar. In Reihe 2 kam es zu einer Zunahme, was wiederum nur auf schlechte Probennahme zurückzuführen war. Das antiradikalische Verhalten nahm bei der Reihe 1 wie die Lag-Time ab. Das antiradikalische Potenzial nahm während der Filtration entsprechend wie die Polyphenole ab. Das Reduktionsvermögen wurde bei beiden Versuchsreihen bis zur abgefüllten Flasche verringert.

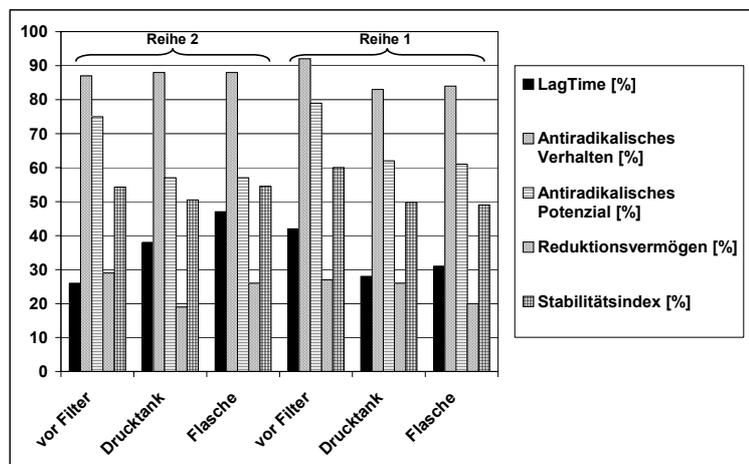


Abbildung 122: Veränderung der antioxidativen Tests bei der Biersorte Pils.

Der Stabilitätsindex lag in Reihe 2 auf fast konstantem Level. In Reihe 1 nahm er wie alle Einzelanalysen bis in das abgefüllte Bier ab. Die Werte waren wie das Helle gerade noch auf durchschnittlichem Niveau. Der Biertyp Pils zeigte keine gesteigerten antiradikalischen Effekte gegenüber dem Typ Helles.

5.19.3 Untersuchung des Biertyp Export

In der Biersorte Export schwankten die Gehalte an Gesamtpolyphenolen in allen Proben sehr stark (Abbildung 123). Die Anthocyanogene nahmen in der Reihe 2 aufgrund der bisherigen Ergebnisse nachvollziehbar ab. In Reihe 1 kam es erst während der Abfüllung zu einer Reduzierung. Die Tannoide nahmen in Reihe 1 mit

der Stabilisierung auf einen nicht nachweisbaren Gehalt ab. In Reihe 2 waren sie noch im Drucktank zu messen.

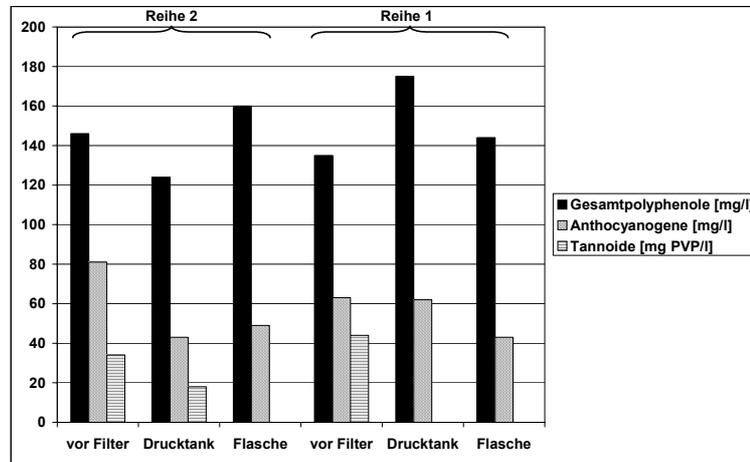


Abbildung 123: Veränderung der phenolischen Substanzen in der Biersorte Export.

Die Lag-Time (Abbildung 124) veränderte sich in der Versuchreihe 1 nicht, lag jedoch auf einem sehr niedrigen Niveau. In der 2. Reihe kam es zu einem nicht erklärbaren Anstieg.

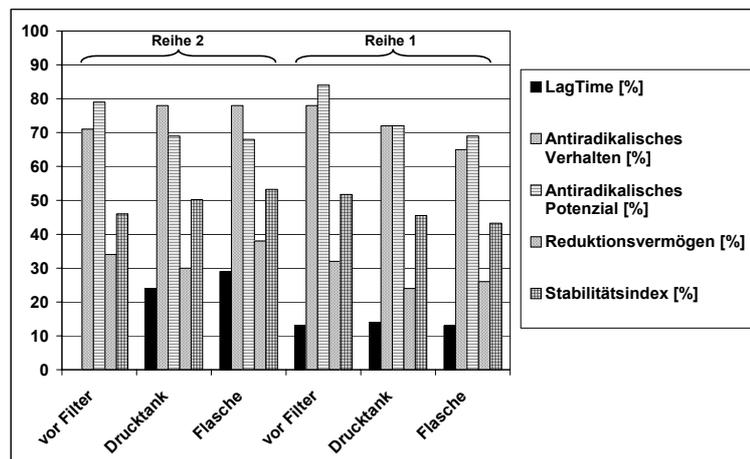


Abbildung 124: Veränderung der antioxidativen Tests bei der Biersorte Export.

Das antiradikalische Verhalten nahm in der Reihe 1 deutlich ab, was wiederum auf die Verwendung von Filterhilfsmitteln zurückzuführen ist. Zum einen ist der klärende Effekt verantwortlich, zum anderen können prooxidative Substanzen

zugeführt worden sein. Das antiradikalische Potenzial nahm ebenfalls parallel zur Entfernung der Polyphenole ab. In der ersten Versuchsreihe verringerte sich das Reduktionsvermögen, in der zweiten nahm es zu. Da auch die Lag-Time zunahm, musste hier ebenfalls mit einer Problematik bei der Probennahme argumentiert werden.

Der Stabilitätsindex stieg in der zweiten Versuchsreihe auf über 50 %. Allerdings war die Zunahme insgesamt nicht nachvollziehbar. So waren die Probennahmen vor dem Filter und im Drucktank kritisch zu betrachten. In der ersten Reihe verringerte sich der Stabilitätsindex entsprechend den Ergebnissen der einzelnen Analysen und lag von allen untersuchten Bieren am niedrigsten.

5.19.4 Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen aller untersuchten Biere innerhalb der Brauerei

Neben den antioxidativen Tests wurden auch Alterungsindikatoren und die Alterungsverkostung durchgeführt, um den Einfluss der Stabilisierung auf die Geschmacksstabilität beurteilen zu können. Da die antioxidativen Tests stark beeinflusst wurden, sollte geprüft werden, ob schon im Lagerkellerbereich die zu erwartende Geschmacksstabilität, zum Beispiel durch die Gehalte an Tannoiden, gemessen werden konnte. Wie schon in Kapitel 5.12 gezeigt wurde, ergaben sich innerhalb einer Brauerei, bei gleicher technologischer Verfahrensweise, insofern Zusammenhänge. Dazu wurden alle Ergebnisse der untersuchten Biere miteinander verglichen.

Abbildung 125 zeigt, dass in der ersten Versuchsreihe das Exportbier die höchste Summe an Alterungsindikatoren im forciert gealterten Zustand aufwies. Es hatte auch den niedrigsten Stabilitätsindex. Alle drei Sorten hatten im frischen Zustand schon ein höheres Niveau als in Reihe 2, welche insgesamt besser abschnitt. Jedoch waren die Werte zwischen 180 und 200 µg/l in der Summe der Alterungsindikatoren grundsätzlich schlechter als die erfahrungsgemäß durchschnittlichen Ergebnisse bei dieser Analyse.

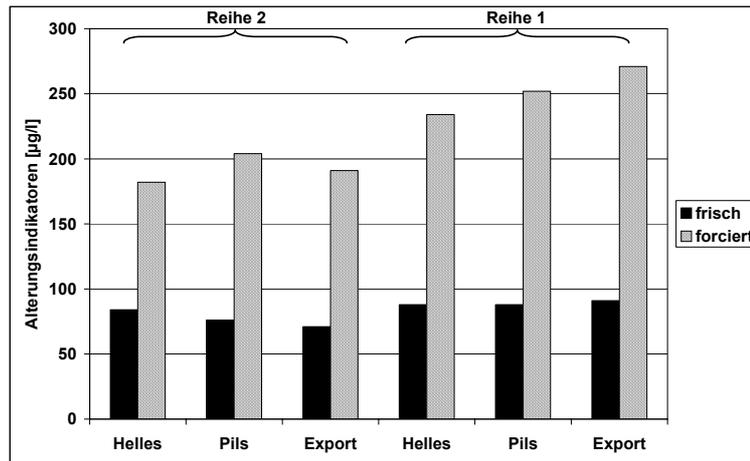


Abbildung 125: Alterungsindikatoren der untersuchten frischen und forciert gealterten abgefüllten Biere.

Wurden alle Ergebnisse miteinander verglichen, so zeigten sich brauereispezifische Zusammenhänge, die sich aufgrund der angewandten Technologie ergaben.

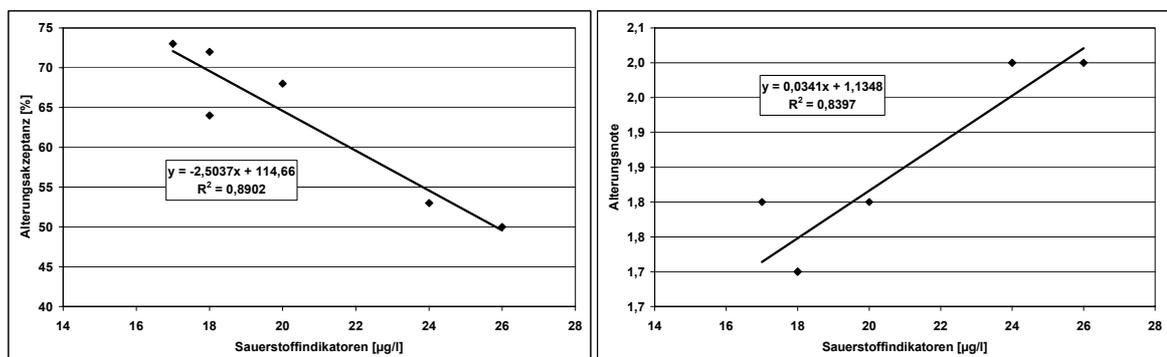


Abbildung 126: Zusammenhang zwischen den Sauerstoffindikatoren im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz (links) bzw. der Alterungsnote (rechts) im forciert gealterten Bier.

Abbildung 126 zeigt, dass mit der Zunahme der Summe an Sauerstoffindikatoren im abgefüllten Bier die Alterungsakzeptanz ab- und die Alterungsnote der forciert gealterten Biere zugenommen hatten. Die großen Unterschiede in den Gehalten an Sauerstoffindikatoren sprachen für eine unkontrollierte Sauerstoffaufnahme während der Filtration oder Abfüllung. Der Einfluss der Wärmeindikatoren zeigte dagegen keinen Zusammenhang mit den sensorischen Eindrücken.

Es wurde des Weiteren der Stabilitätsindex dem Gehalt an Alterungsindikatoren gegenübergestellt. Abbildung 127 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Stabilitätsindex der untersuchten Biere vor dem Filter, im Drucktank und in der abgefüllten Flasche und der Summe an Alterungsindikatoren in den abgefüllten Bieren.

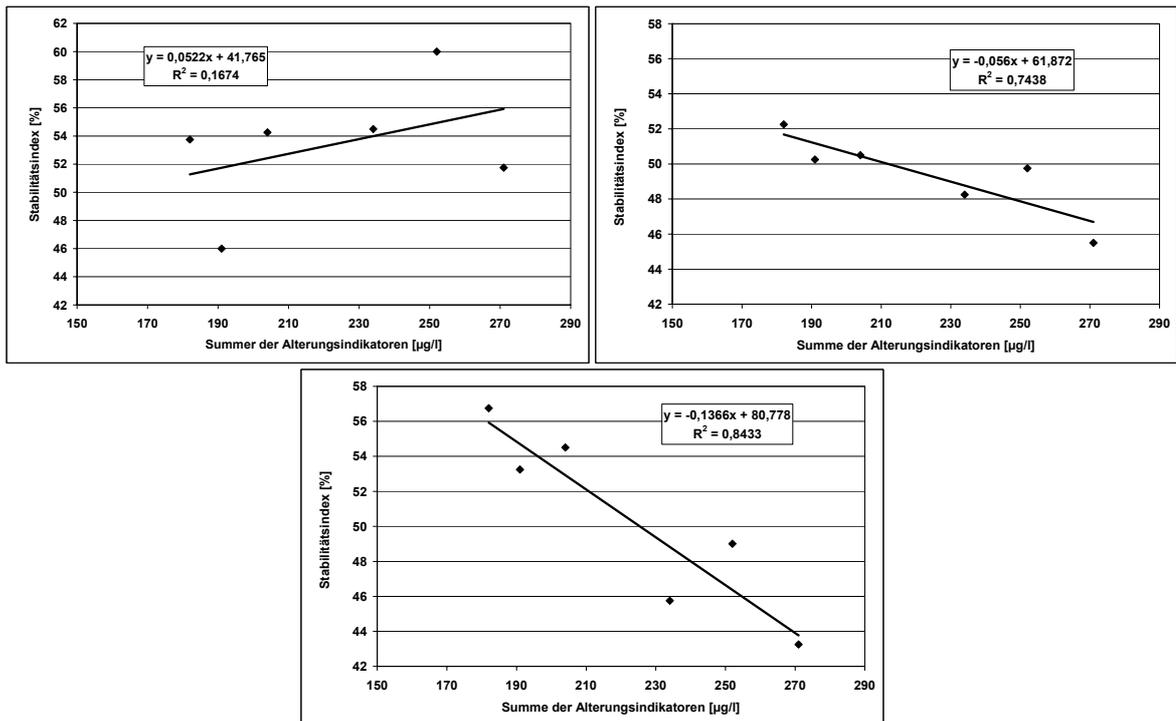


Abbildung 127: Zusammenhang zwischen der Summe der Alterungsindikatoren der forciert gealterten Biere und dem Stabilitätsindex der Biere vor dem Filter (oben links) im Drucktank (oben rechts) und im abgefüllten Bier (unten).

In der Probe vor dem Filter konnte kein Zusammenhang zwischen dem Stabilitätsindex und der Summe an Alterungsindikatoren in den abgefüllten Bieren nachgewiesen werden. Der Zusammenhang wurde allerdings bis zum abgefüllten Flasche hin deutlicher. Es konnte somit keine Aussage über die zu erwartende Geschmacksstabilität mittels Stabilitätsindex vor dem Filter getroffen werden. Im abgefüllten Bier zeigte sich, dass je größer der Index, umso geringer war der Gehalt an Alterungsindikatoren. Dieser Zusammenhang wurde in erster Linie durch die Wärmeindikatoren geprägt. Der Stabilitätsindex zeigte entsprechend keinen Zusammenhang mit den Sauerstoffindikatoren und den sensorischen

Ergebnissen, wie er vorher dargestellt wurde. Die Einzelanalysen und der Gehalt an Schwefeldioxid zeigten keinerlei Zusammenhang mit den sensorischen Ergebnissen.

Ein sehr guter Zusammenhang zeigte sich zwischen dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen, nicht jedoch an Tannoiden, vor dem Filter und der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere. Durch die Verringerung der Polyphenole am Filter war dieser Zusammenhang im Drucktank nicht mehr nachweisbar. Hier lies sich ein Ansatz erkennen, dass die Fraktion an phenolischen Substanzen im Lagerkellerbereich als Indikator für ein sauerstoffreies Arbeiten während des Brauprozesses steht und so einen Hinweis für die zu erwartende Geschmacksstabilität geben kann.

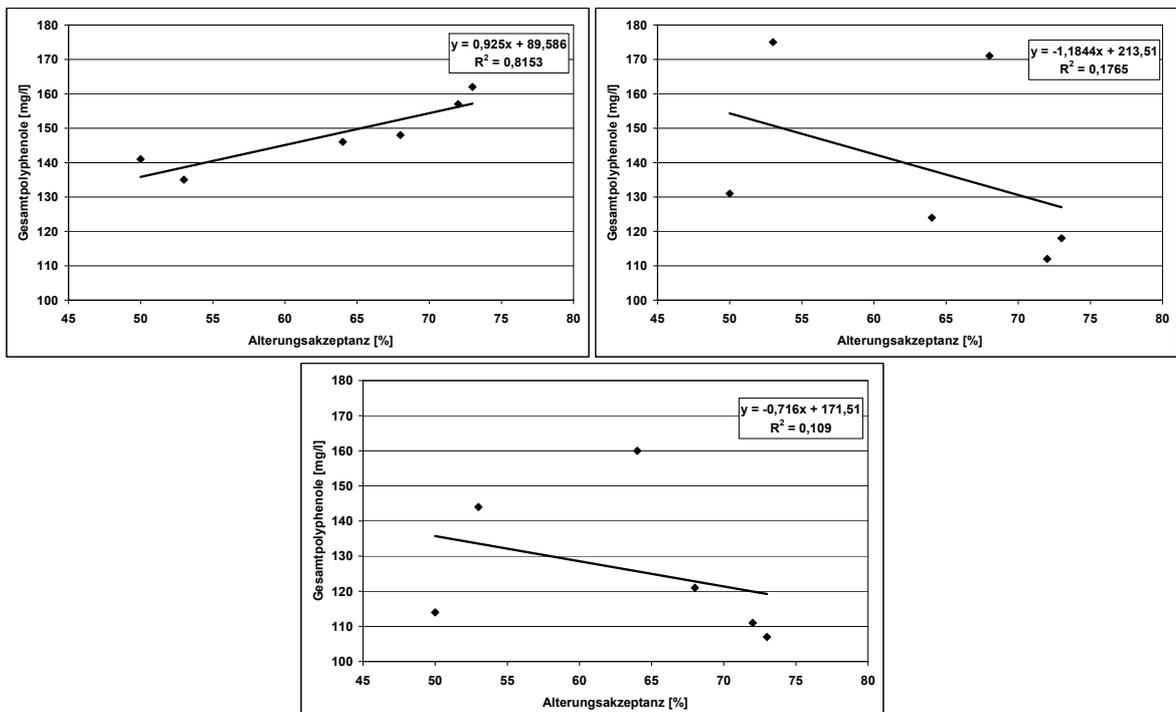


Abbildung 128: Zusammenhang zwischen der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten abgefüllten Biere und dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen vor dem Filter (oben links), Drucktank (oben rechts) und im abgefüllten Bier (unten).

Die Veränderung des Spektrums an phenolischen Substanzen durch die Stabilisierung und die eventuelle Aufnahme von Sauerstoff am Füller ließen keinen direkten Zusammenhang in der abgefüllten Flasche mehr erkennen.

Die Ergebnisse zeigten, dass tendenziell die phenolischen Fraktionen vor der Stabilisierung eine Aussage über die oxidative Belastung in einer Brauerei machen können. Die Stufenkontrolle zeigte jedoch, dass es wichtig ist, dass die folgende Filtration, Stabilisierung und Abfüllung keinen negativen Einfluss mehr in den Produktionsprozess einbringt. Dies war in diesem Praxisbetrieb wohl nicht der Fall. Zusätzlich zeigte sich die Probennahme als sehr schwierig und so müssen die Ergebnisse vor dem Filter und im Drucktank mit Vorsicht betrachtet werden. Interessant war der Einfluss des Sauerstoffs auf die Sensorik, der durch die antioxidativen Tests nicht erfasst wurde. Diese reagierten dagegen auf die thermische Belastung.

Abschließend kann gesagt werden, dass diese Stufenkontrolle zeigte, dass die Untersuchungen ganz spezifisch in Brauereien durchgeführt werden müssen. Das Beispiel zeigte zudem, wie schwierig sich derartige Kontrollen im Praxismaßstab darstellen. Es sind noch weitere Projekte nötig, um die Zusammenhänge zwischen der Qualität des Bieres im Lagerkeller und der zu erwartenden Geschmacksstabilität zu erforschen. Aber es konnte gezeigt werden, wie leicht die Beurteilung der Geschmacksstabilität durch technologische Maßnahmen beeinträchtigt werden kann.

5.20 Gegenüberstellung des antioxidativen Potenzials phenolischer Substanzen und ihr Beitrag zur Trübung

Phenolische Substanzen können mit Eiweißfraktionen zu Trübungen führen und so die kolloidale Stabilität des Bieres negativ beeinflussen. Es stellte sich die Frage, ob die antioxidative Reaktivität einzelner Substanzen mit ihrer Trübungsbildung zusammenhängt.

Um einen Einblick in diese Problematik zu bekommen, wurde ein einfacher Versuchsansatz gewählt. Es wurden einzelne Substanzen solange 10 ml Bier dosiert, bis sich eine dauerhafte Trübung eingestellt hatte. Um eine bessere Lösung der Substanzen zu gewährleisten und frühzeitige Trübungen zu vermeiden, wurden die Proben in ein Ultraschallbad gestellt. Da es nicht möglich

war, derart große Konzentrationen wie es für eine Trübung notwendig war, in einer Lösung bereitzustellen, mussten die Reinsubstanzen als Feststoff dem Bier zugegeben werden. Die Einwaage betrug je Dosage 20 mg. Aus der insgesamt zudosierten Menge konnte die benötigte Stoffmenge der Substanzen aufgrund der Molmasse bestimmt werden. Das (-)-Epicatechin, das in diesem Fall schon bei einer einmaligen Dosage zur Dauertrübung führte, wurde als Referenz herangezogen und hatte den Trübungsfaktor von 100. Abbildung 129 zeigt, in welchem Verhältnis die anderen Substanzen zu dieser Referenz standen, das heißt um wie viel geringer ihre Trübungsreaktivität lag. Als Einstufungsparameter wurde ein Trübungsfaktor definiert. Dieser zeigte deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Substanzen.

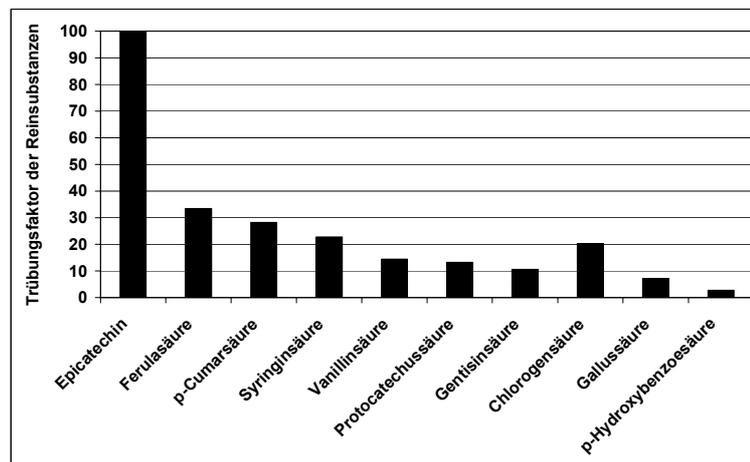


Abbildung 129: Trübungsfaktor der phenolischen Reinsubstanzen.

Es zeichnete sich ab, dass die typisch antioxidative Struktur, die di-Hydroxygruppe, mit diesen Ergebnissen keinen Zusammenhang ergab. So zeigte die Gallussäure mit der tri-Hydroxystruktur eine deutlich niedrigere Aktivität als das (-)-Epicatechin. Die Protocatechus- und Chlorogensäure, beide mit einer di-Hydroxygruppe versehen, lagen ebenso auf unterschiedlichem Niveau.

Die Trübungsfaktoren der phenolischen Substanzen wurden nun auf durchschnittliche Gehalte im Bier (KRÜGER und ANGER 1995) berechnet. Daraus ergab sich die zu erwartende Trübungsaktivität der einzelnen Substanzen im Bier. Diese Werte wurden ebenfalls mit dem (-)-Epicatechin in Bezug gesetzt.

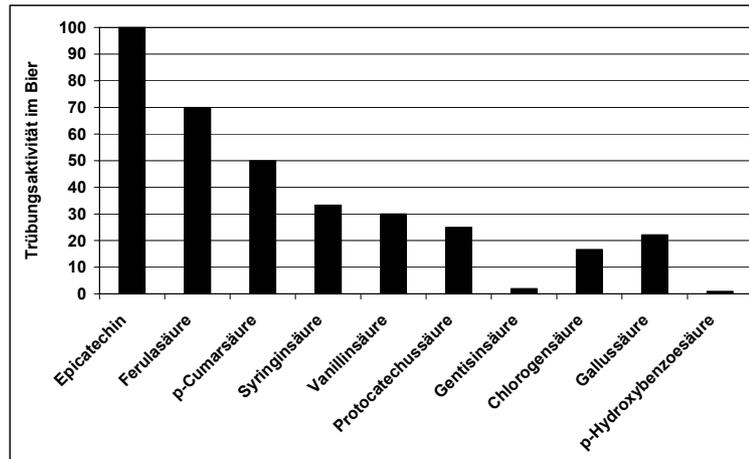


Abbildung 130: Trübungsaktivität phenolischer Substanzen berechnet auf den durchschnittlichen Gehalt in Bier.

Auch bei dieser Berechnung ergaben sich klare Unterschiede zwischen den Substanzen, die trotz des einfachen Versuchansatzes einen Überblick über deren Beteiligung an Trübungen geben könnten.

Auf der anderen Seite wurde das antiradikalische Potenzial ebenfalls auf den durchschnittlichen Gehalt der Substanzen in Bier berechnet. Als Bezugsgröße für den relativen antioxidativen Beitrag diente wieder das (-)-Epicatechin und wurde mit 100 dargestellt.

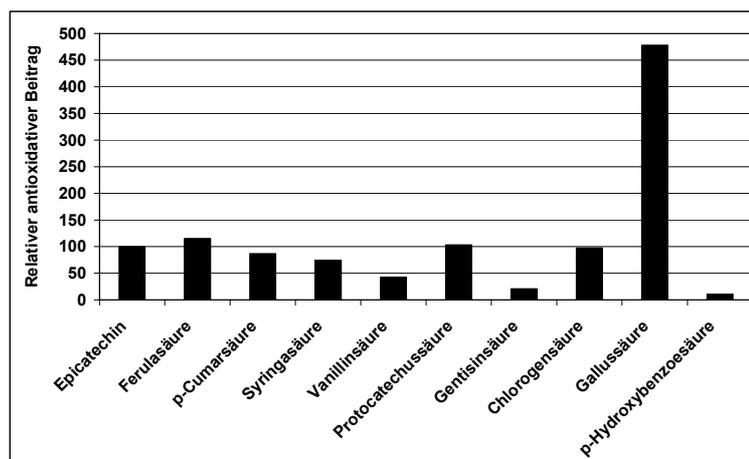


Abbildung 131: Relativer antiradikalischer Beitrag phenolischer Substanzen in Bier.

Die Gallussäure lag aufgrund ihres sehr guten ARP und hohen Gehaltes in Bier deutlich über diesem Niveau.

Abbildung 132 zeigt, dass kein direkter Zusammenhang zwischen der Beteiligung an Trübungen und dem antiradikalischen Potenzial einzelner Substanzen vorlag.

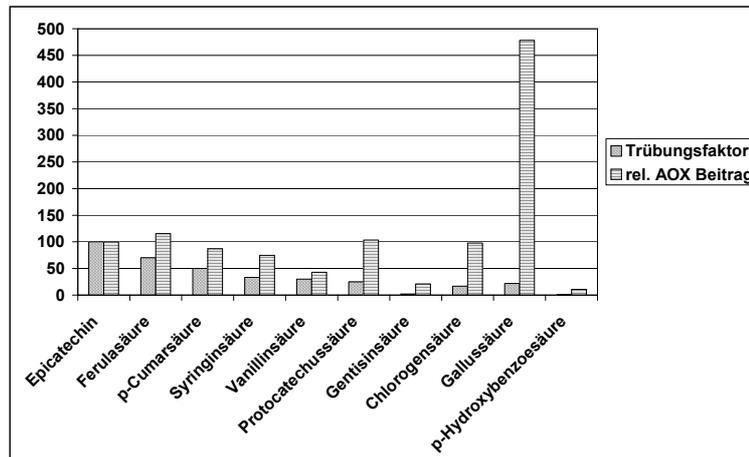


Abbildung 132: Vergleich des Trübungsfaktors und des relative antioxidativen Beitrages einzelner phenolischer Substanzen in Bier.

Gerade die Phenolcarbonsäuren zeigten klare Unterschiede. Dies hätte zur Folge, dass die trübungsaktiven Substanzen, die mittels PVPP entfernt werden können, für das antioxidative Potenzial des Bieres nicht im Vordergrund stehen und dieser technologische Schritt somit keinen negativen Effekt auf die Geschmacksstabilität haben muss. In diesem Zusammenhang könnte sogar argumentiert werden, dass antioxidativ relevante Komponenten trotz Stabilisierung in das Bier gelangen, vom Körper aufgenommen werden und so eine physiologisch wertvolle Rolle spielen können.

5.21 Zusammenhang zwischen der nasschemischen Analytik von Polyphenolen und den Gehalten an einzelnen phenolischen Substanzen

Bei den Untersuchungen der Veränderung phenolischer Substanzen während der Stabilisierung mit PVPP konnten klare Zusammenhänge zwischen den Gehalten an einzelnen phenolischen Substanzen und den Ergebnissen der nasschemischen Untersuchungen erkannt werden. So zeigte sich ein sehr guter Zusammenhang ($r = 0,90$) zwischen dem Gehalt an Catechin und der Bestimmung der Tannoide (Abbildung 133). Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient lag bei der Messung für die Flavonoide sogar bei $r = 0,99$.

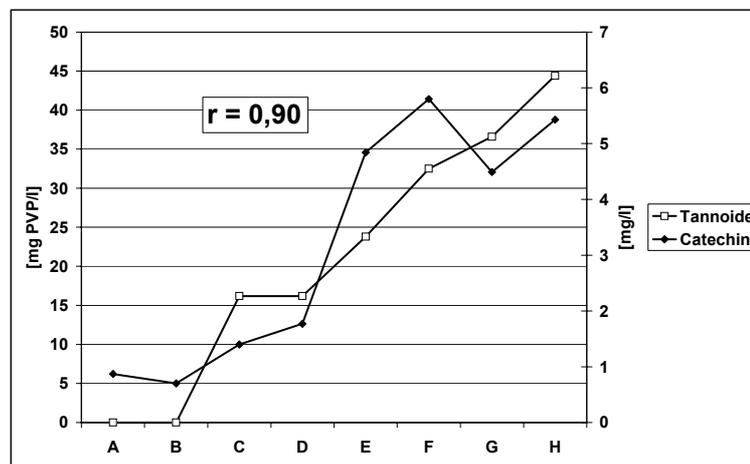


Abbildung 133: Zusammenhang zwischen der Bestimmung der Tannoide und dem Gehalt an Catechin in Bier.

Die Tabelle 9 zeigt die Pearsonschen Korrelationskoeffizienten zwischen weiteren bestimmten phenolischen Substanzen und den nasschemischen Untersuchungen. In diesem Zusammenhang wurde auf eine graphische Darstellung für jede einzelne Substanz verzichtet.

Tabelle 9: Zusammenhang zwischen den nasschemischen Analysen phenolischer Substanzen und den Gehalten an einzelnen Komponenten im abgefüllten Bier (N = 8).

n.a. nicht auswertbar (aufgrund des geringen Probenumfangs konnte bei diesen Substanzen keine Korrelation berechnet werden)

Irrtumswahrscheinlichkeiten:

* => $\alpha = 0,05$

** => $\alpha = 0,01$

*** => $\alpha = 0,001$

	Tannoinde [mg PVP/l]	Gesamt- polyphenole [mg/l]	Antho- cyanogene [mg/l]	Flavonoide [mg/l]
m/z 609 GG	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
m/z 593 GC	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
m/z 897 GGC	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Prodelphinidin B3	0,95 ***	0,89 **	0,90 **	0,89 **
m/z 451 C-hexosid	0,83 *	0,77 *	0,75 *	0,76 *
m/z 593 GC	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
m/z 577 CC	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Procyanidin B3	0,95 ***	0,92 **	0,92 **	0,92 **
Catechin	0,90 **	0,97 ***	0,95 ***	0,99 ***
Epicatechin	0,76 *	0,94 **	0,92 **	0,95 ***
Protocatechussäure	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
p-Hydroxybenzoesäure	-0,20	-0,10	-0,04	-0,12
Vanillinsäure	0,56	0,74	0,75 *	0,74
Kaffeesäure	-0,28	-0,18	-0,20	-0,23
p-Cumarsäure	-0,34	-0,37	-0,31	-0,42
Ferulasäure	-0,58	-0,48	-0,49	-0,54
Sinapinsäure	0,15	0,32	0,19	0,28
t-Zimtsäure	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Es zeigte sich, dass mit der nasschemischen Analytik in erster Linie Proanthocyanidine gemessen wurden. Die Phenolcarbonsäuren hatten dagegen kaum einen Einfluss auf die Messungen. Eine Ausnahme bildete die Vanillinsäure, die mit der Messung der Anthocyanogene einen signifikanten Zusammenhang erkennen lies. Es ist noch ein langer Weg, bis die einzelnen phenolischen Substanzen aus dem Malz und Hopfen identifiziert sind und den nasschemischen Untersuchungen zugeordnet werden können.

Die Ergebnisse bestätigen nochmals, dass zwischen der Fraktion der Tannoide und den Phenolcarbonsäuren kein Zusammenhang vorlag und diese entsprechend mit PVPP nicht oder nur im geringen Maße reagieren.

5.22 Untersuchung der Geschmacksstabilität abgefüllter Biere

5.22.1 Einfluss der Alterung auf die Gehalte an phenolischen Substanzen

Um den Einfluss von Polyphenolen auf die Geschmacksstabilität des abgefüllten Bieres zu untersuchen, wurde sowohl in den frischen, als auch den forciert gealterten Proben der Gehalt an einzelnen phenolischen Substanzen gemessen. Des Weiteren wurden die antioxidativen Tests und Verkostungen der Biere durchgeführt. Tabelle 10 zeigt stellvertretend für die jeweilige Substanzgruppe, dass weder die Gruppe der Proanthocyanidine, vertreten durch das Catechin, noch die Phenolcarbonsäuren, hier die Ferulasäure, einen Zusammenhang mit der Alterungsverkostung aufzeigten. Die Daten sind im Anhang auf den Seiten 258 bis 265 aufgelistet.

Tabelle 10: Gegenüberstellung des Gehaltes an phenolischen Substanzen und der Alterungsakzeptanz forciert gealterter Biere.

	H3	P8	P5	P7	P4	H4	H5	H9
Catechin [mg/l]	5,80	1,77	0,70	4,49	1,40	0,87	5,43	4,84
Ferulasäure [mg/l]	1,15	1,02	2,38	1,46	1,86	1,50	1,22	1,51
Alterungsakzeptanz [%]	83	78	67	65	63	60	58	45

In der Tabelle 11 sind die Pearsonschen Korrelationskoeffizienten der weiteren Substanzen aufgelistet. Die Sinapinsäure zeigte als einzige Substanz einen Zusammenhang mit der Alterungsakzeptanz. Allerdings war ein negativer Koeffizient berechnet worden, das hieß, je mehr von dieser Phenolcarbonsäure im frischen Bier vorhanden war, umso schlechter war die Akzeptanz des gealterten Bieres.

Für die Alterungsnote der forciert gealterten Biere ergaben sich vergleichbare Ergebnisse. Der Korrelationskoeffizient für die Sinapinsäure war bei diesem Vergleich +0,77. Es wird zu klären sein, ob es sich tatsächlich um einen statistischen oder vielleicht zufälligen Zusammenhang handelte.

Tabelle 11: Pearsonscher Korrelationskoeffizient zwischen dem Gehalt an phenolischen Substanzen im frischen Bier und der Alterungsakzeptanz der forciert gealterten Biere (N=7, Sinapinsäure: $\alpha = 0,05$).

Substanz	Pearsonscher Korrelationskoeffizient
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,17
m/z 451 C-hexosid	0,12
m/z 577 CC Procyanidin B3	0,12
Catechin	-0,06
Epicatechin	-0,36
p-Hydroxybenzoesäure	0,18
Vanillinsäure	0,00
Kaffeesäure	-0,31
p-Cumarsäure	-0,11
Ferulasäure	-0,27
Sinapinsäure	-0,77 *

Die Veränderungen der Gehalte an phenolischen Substanzen vom frischen zum forciert gealterten Bier waren laut Institut für Lebensmittelwissenschaft und Lebensmittelchemie an der Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn nicht signifikant. Es war somit nicht möglich, einen Zusammenhang zwischen diesen Substanzen und einer schützenden Wirkung bei der Bieralterung messbar nachzuvollziehen. Die phenolischen Substanzen wurden zudem im Bereich ppm bestimmt, während die Entstehung von Alterungscarbonylen im ppb-Bereich liegt. Es war die Frage, ob die Menge an eventuell beteiligten Substanzen mit dieser Analytik nachgewiesen werden konnte. Hierfür wäre eine empfindlichere Messmethode nötig.

Wie in Kapitel 5.5.2 schon beschrieben, war bei Bier-pH keine antiradikalische Aktivität messbar, was diese Ergebnisse erklären könnte.

5.22.2 Einfluss der Alterung auf das antiradikalische Potenzial

Es wurde in einer weiteren Versuchsreihe das antiradikalische Potenzial in zwei Biertypen (Helles und Pils) während der natürlichen Alterung (Dunkel bei Zimmertemperatur) und der forcierten Alterung gemessen.

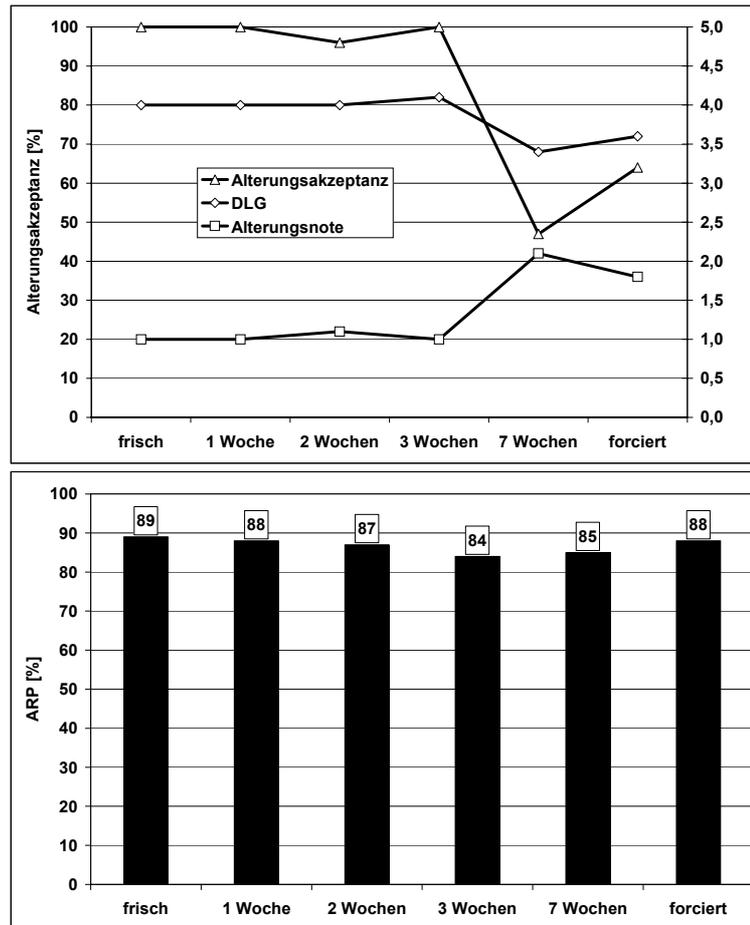


Abbildung 134: Verlauf des antiradikalischen Potenzials während der Alterung eines Bieres vom Typ Helles und die Ergebnisse der Alterungsverkostung.

Abbildung 134 zeigt, dass während der Alterung eines Bieres vom Typ Hell das antiradikalische Potenzial in den ersten drei Wochen leicht abnahm. Nach sieben Wochen blieb es auf einem fast konstanten Niveau. Die forcierte Alterung führte zu einer Abnahme, wie sie nach ein bis zwei Wochen natürlich gelagert entsprach. Die Unterschiede waren allerdings sehr gering und konnten nicht als signifikant angesehen werden. Auf der anderen Seite zeigte sich in der Verkostung, dass das

Bier nach 7 Wochen deutlich gealtert war. Der Alterungseindruck war sogar stärker als nach der forcierten Alterung.

Der Biertyp Pils verhielt sich ähnlich wie das Helle. In den ersten drei Wochen kam es zu einer leichten Abnahme des antiradikalischen Potenzials.

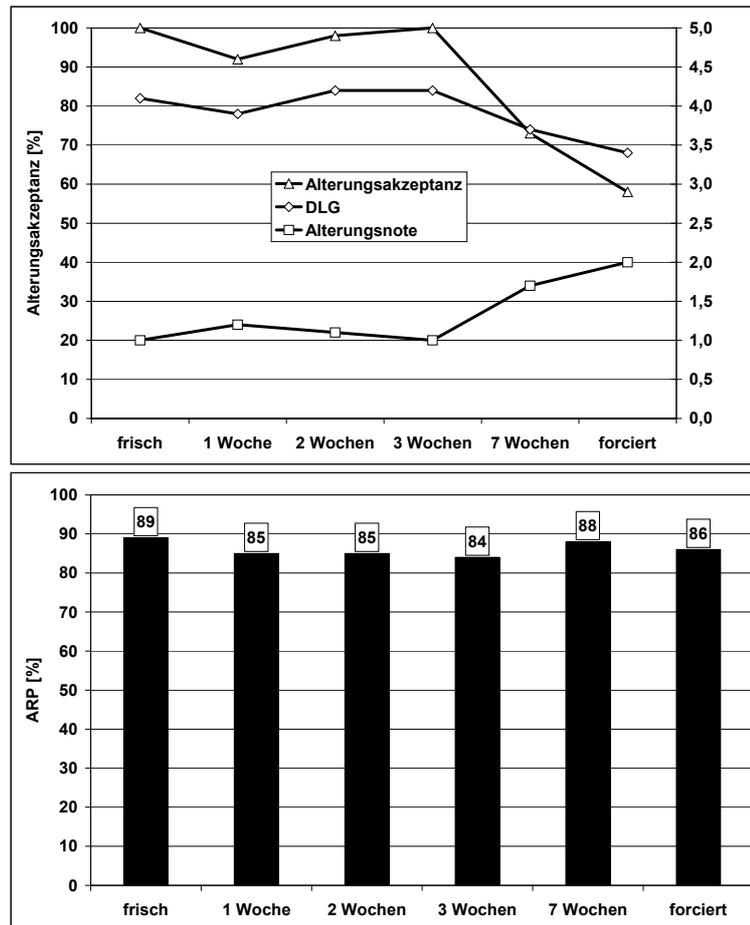


Abbildung 135: Verlauf des antiradikalischen Potenzials während der Alterung eines Bieres vom Typ Pils und die Ergebnisse der Alterungsverkostung.

Das Ergebnis nach sieben Wochen lag über dem Wert von der ersten Woche. Auch der Wert nach der forcierten Alterung lag über dem Wert nach der ersten Woche. Im Gegensatz zum Typ Helles fiel die Alterungsverkostung nach 7 Wochen besser aus. Die forcierte Alterung führte in diesem Fall zu schlechteren Ergebnissen als nach der natürlichen Lagerung. Die Schwankungen des ARP waren im Gegensatz zu den sensorischen Eindrücken zu vernachlässigen.

Die Untersuchung bestätigte die Ergebnisse zu den einzelnen phenolischen Substanzen. Es war keine Veränderung der antiradikalischen Aktivität während der Alterung messbar.

Die Zunahme des ARP zwischen der 3. und 7. Woche könnte damit erklärt werden, dass auch die antioxidative Aktivität von Melanoidinen mittels DPPH gemessen werden konnte und so mit der Entstehung von Maillard-Produkten in Verbindung gebracht werden kann (MORALES und JIMÉNEZ-PÉREZ 2001, KIM 2001).

5.22.3 Einfluss der Alterung auf die Lag-Time und Schwefeldioxid

Um den Verbrauch an Schwefeldioxid im abgefüllten Bier und einen Zusammenhang mit der Lag-Time zu verfolgen, wurde eine Charge eines Pilsener Bieres sowohl bei 0 °C als auch bei Zimmertemperatur dunkel gelagert. In bestimmten Zeitabständen wurden beide Parameter aus jeweils derselben Flasche gemessen.

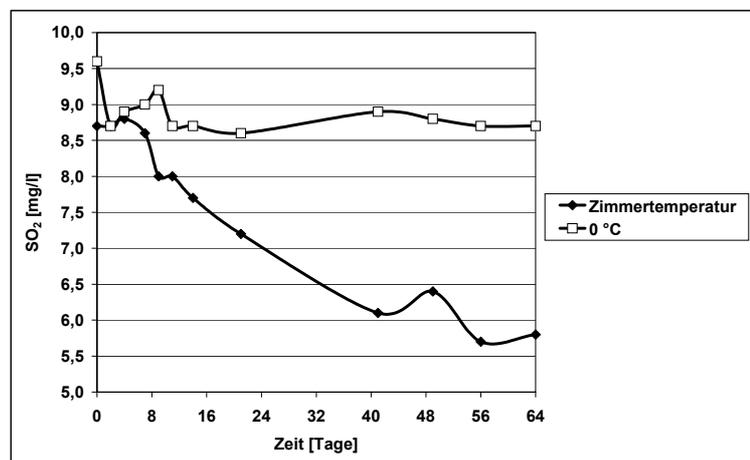


Abbildung 136: Verlauf des Gehaltes an Schwefeldioxid im abgefüllten Bier während der Lagerung.

Die Abbildung 136 zeigt, dass die Lagerung bei 0 °C zu keiner Abnahme des SO₂-Gehaltes führte. Die Lagerung bei Zimmertemperatur dagegen ließ den Gehalt

deutlich sinken. Auffällig waren die Schwankungen in den ersten 14 Tagen. Diese ließen sich im Verlauf der Lag-Time wiedererkennen (Abbildung 137). Es waren bei beiden Lagerungstemperaturen deutliche Schwankungen zu sehen. Im Gegensatz zum SO₂ ähnelten sich die Verläufe der Graphen sehr stark. Auffällig waren die nahezu gleichstarken Abweichungen zur selben Messzeit, unabhängig von der Lagertemperatur.

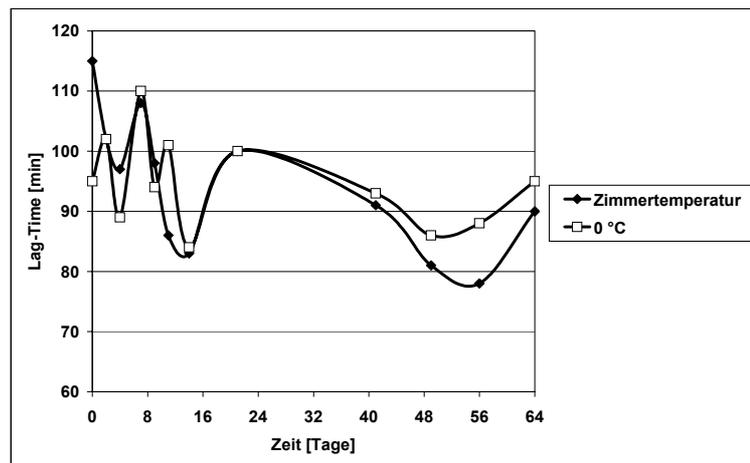


Abbildung 137: Verlauf der Lag-Time im abgefüllten Bier während der Lagerung.

Ingesamt nahmen die Lag-Time Werte während der Lagerung bei Zimmertemperatur von 115 auf 90 Minuten ab. Bei 0 °C blieb der Wert im Durchschnitt bei 95 Minuten. Zwischen dem Gehalt an Schwefeldioxid und der Lag-Time ergab sich somit bei der 0°C-Lagerung keine Korrelation. Die Lagerung bei Zimmertemperatur zeigte dagegen einen signifikanten Zusammenhang (N = 12, r = 0,69; $\alpha = 0,05$), da beide Werte über den gesamten Messzeitraum hinweg abnahmen. Die Lag-Time wird somit deutlich vom Gehalt an Schwefeldioxid beeinflusst.

Die kalte Lagerung führte zu keiner drastischen Abnahme des Gehaltes an SO₂ und die Lag-Time blieb entsprechend auf konstantem Niveau, was dafür spricht, dass kaum Oxidationsreaktionen stattgefunden hatten und die Geschmacksstabilität nicht beeinträchtigt wurde. Die gleichmäßigen Schwankungen konnten nicht erklärt werden und sollten Gegenstand weiterer Forschungen sein.

5.23 Marktanalyse von 40 Bieren zur Beurteilung der Anwendbarkeit der Analytik zur Bestimmung der Geschmacksstabilität

5.23.1 Beurteilung der Geschmacksstabilität forciert gealterter Biere

Um die Geschmacksstabilität zwischen Brauereien zu vergleichen, zeigte sich die Methode des Stabilitätsindex als sehr anfällig gegenüber einzelnen technologischen Schritten. Wie gezeigt, war die PVPP-Stabilisierung ein entscheidender Prozess, der aufgrund der ungleichmäßigen Veränderung des Polyphenolspektrums in den Bieren zu starken Schwankungen in den Ergebnissen der antiradikalischen Tests führte. Gerade das natürliche Gleichgewicht zwischen pro- und antioxidativ wirkenden Substanzen wurde dadurch deutlich verschoben.

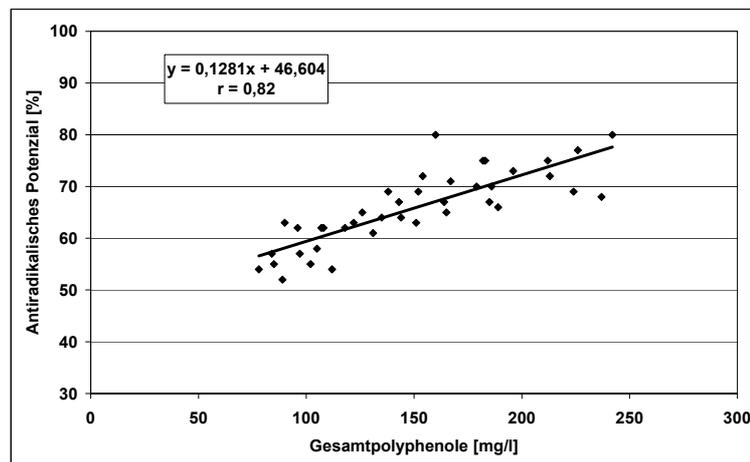


Abbildung 138: Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen und dem antiradikalischen Potenzial ($N = 40$; $r = 0,82$; $\alpha = 0,01$).

Abbildung 138 zeigt, dass das antiradikalische Potenzial sehr gut mit dem Gehalt an Gesamtpolyphenolen in den untersuchten Bieren zusammenhängt. Die Zusammenhänge mit den anderen Fraktionen waren ebenso sehr gut. So lag der Korrelationskoeffizient bei den Anthocyanogenen bei $r = 0,88$. Die Korrelation mit den Tannoiden lag obwohl sie teilweise nicht mehr nachweisbar waren, noch bei $r = 0,79$ ($N = 26$). Die Analytik war entsprechend wie die Polyphenole von der Stabilisierung beeinträchtigt worden. Da die phenolischen Substanzen keinen messbaren Einfluss auf die Geschmacksstabilität im fertigen Bier hatten, konnte

auch die Analyse des ARP im Gegensatz zu den Ergebnissen von KANEDA et al. (1995) nicht zur Beurteilung der Stabilität herangezogen werden.

Auch die Lag-Time zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit der Alterungsverkostung ($r = 0,21$) forciert gealterter Biere. Dies konnte bei dem antiradikalischen Verhalten und dem Reduktionsvermögen ebenso festgestellt werden. Der Gehalt an Schwefeldioxid korrelierte nur knapp signifikant ($r = 0,32$; $\alpha = 0,05$) mit den Verkostungsergebnissen bei dieser Vielzahl von untersuchten Bieren.

Innerhalb einer Brauerei, wo die technologischen Verfahren konstant gehalten wurden, konnte dagegen eine hohe Signifikanz zwischen der Analytik und den sensorischen Eindrücken erkannt werden. Diese zeigte sich auch bei einem Vergleich von Bieren, die ähnlich stabilisiert wurden, dass heißt zum Beispiel so stark, dass keine Tannine mehr nachweisbar waren, wodurch bei einer großen Probenzahl ein statistischer Zusammenhang erreicht wurde (siehe Korrelation in Kapitel 5.3). Bei einem direkten Vergleich zweier Biere aus unterschiedlichen Brauereien sind daher diese Einflüsse auf die Analytik zu berücksichtigen.

Bei dieser Untersuchung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Bestimmung der Summe an Alterungsindikatoren und den sensorischen Eindrücken der forciert gealterten Biere (Abbildung 139).

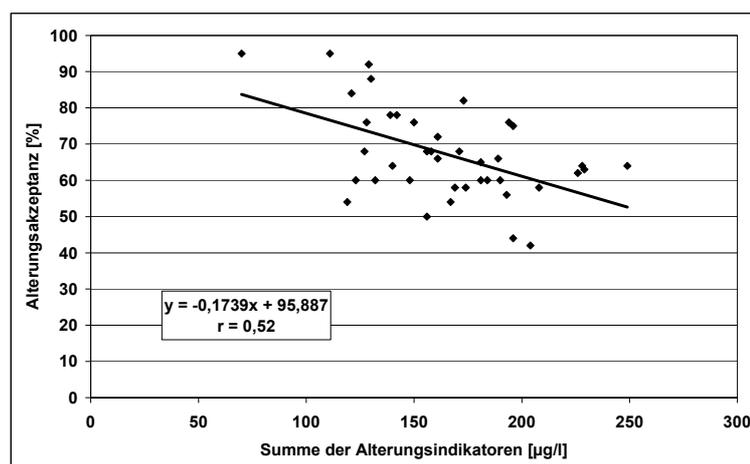


Abbildung 139: Zusammenhang zwischen der Bestimmung der Alterungsindikatoren und der Alterungsakzeptanz in forciert gealterten Bieren ($N = 40$; $r = 0,52$; $\alpha = 0,01$).

Besonders die Sauerstoffindikatoren waren für diese gute Korrelation verantwortlich. Wurden diese Indikatoren der Verkostung gegenüber gestellt, ergab sich ein Pearsonscher Korrelationskoeffizient von $r = 0,60$ und entsprechend eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,01$.

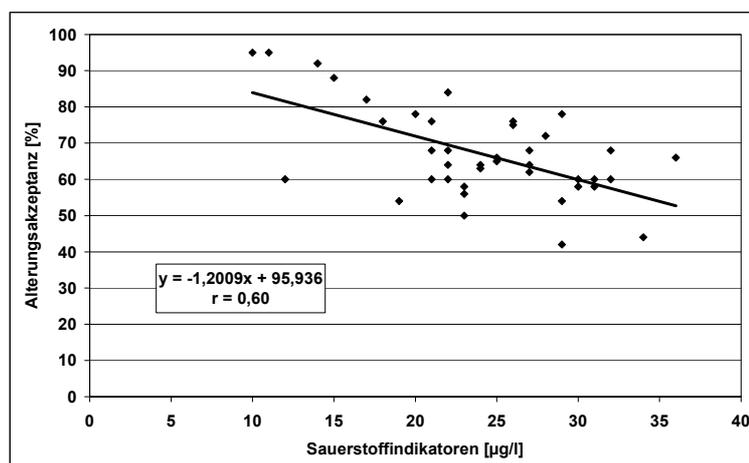


Abbildung 140: Zusammenhang zwischen den Sauerstoffindikatoren und der Alterungsverkostung in forciert gealterten Bieren ($N = 40$; $r = 0,60$; $\alpha = 0,01$).

Die Korrelation mit den Wärmeindikatoren lag etwas niedriger. Dies deutete darauf hin, dass die Sauerstoffbelastung einen größeren Einfluss auf die Alterung hatte. Insgesamt konnte die Bestimmung der Alterungsindikatoren in frisch und forciert gealterten Bieren zur analytischen Beurteilung der sensorischen Eindrücke des Alterungsaromas sehr gut herangezogen werden. Die antioxidativen Tests zeigten bei der Beurteilung von Bieren unterschiedlicher Brauereien im Forciertest keinen signifikanten Zusammenhang.

5.23.2 Beurteilung der Geschmacksstabilität natürlich gealterter Biere

Eine weitere Untersuchung beschäftigte sich mit den unterschiedlichen Einflüssen während der forcierten Alterung und der natürlichen Lagerung (3 Monate bei Zimmertemperatur im Dunkeln) der abgefüllten Biere, da der Forciertest teilweise in Kritik geraten war. Abbildung 141 zeigt, dass das Niveau der Alterungsindikatoren in den natürlich gelagerten Bieren um etwa 50 µg/l über der forcierten Lagerung lag.

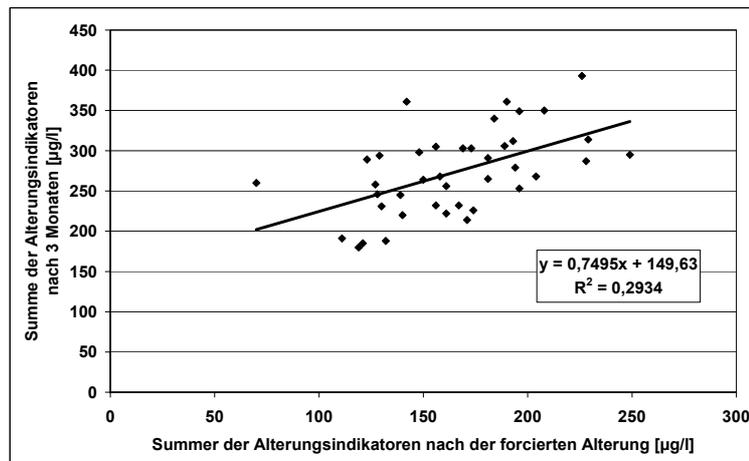


Abbildung 141: Gegenüberstellung der Summe an Alterungsindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren.

Eine genauere Betrachtung der Untergruppen zeigte eine Auffälligkeit bei den Sauerstoffindikatoren.

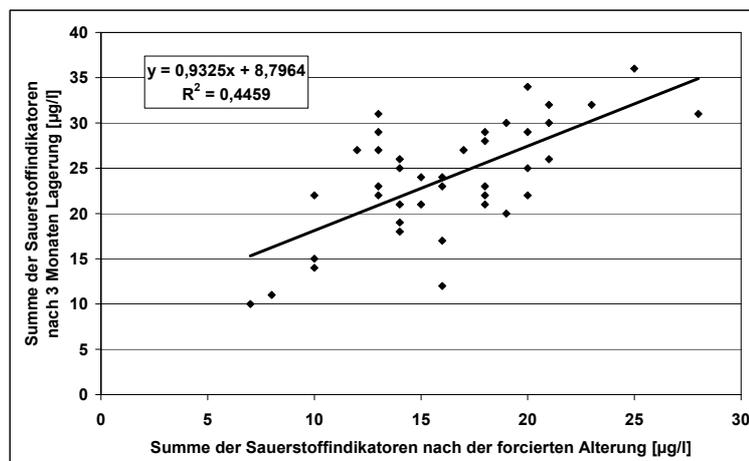


Abbildung 142: Gegenüberstellung der Sauerstoffindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren.

Aus der Streuung der Punkte in Abbildung 142 ist zu erkennen, dass einzelnen Werten der forciert gealterten Biere mehrere unterschiedliche Gehalte in den natürlich gelagerten Bieren gegenüberstanden. Dies könnte auf die unterschiedlichen Qualitäten der Compoundmassen in den Kronenkorken und die entsprechende Sauerstoffmigration in den jeweiligen Flaschen während der Lagerung zurückzuführen sein. Diese unterschiedlichen Anfälligkeiten zeigten sich erst während der natürlichen Lagerung.

Die Summe der Wärmeindikatoren und entsprechend die thermische Belastung lag in den natürlich gelagerten Bieren deutlich, um etwa 100 µg/l, über den forciert gealterten Bieren.

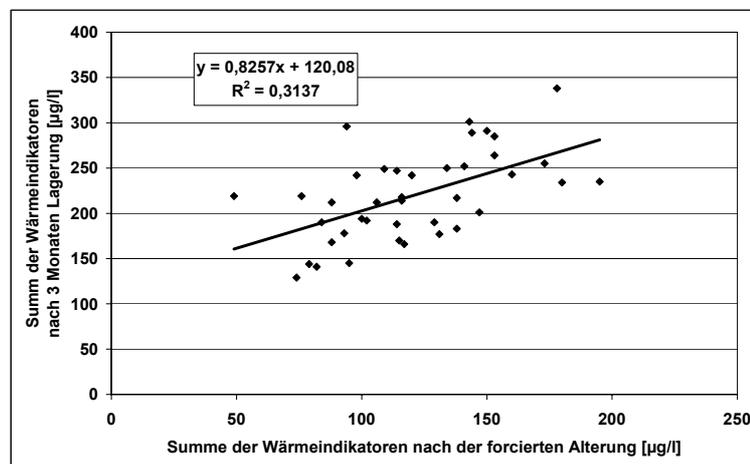


Abbildung 143: Gegenüberstellung der Wärmeindikatoren in forciert gealterten und 3 Monate natürlich gelagerten Bieren.

Interessanterweise gab es zwischen den Wärmeindikatoren und der Alterungsverkostung nach 3 Monaten keinen Zusammenhang. Dies traf ebenso auf die Alterungsindikatoren zu. Auch die Sauerstoffindikatoren korrelierten deutlich schlechter ($r = 0,47$) mit der Alterungsakzeptanz als im Forciertest (Abbildung 144). Die starke Streuung bestätigte die nicht vergleichbaren Alterungsvorgänge aufgrund der unterschiedlichen Sauerstoffbelastungen in den Flaschen.

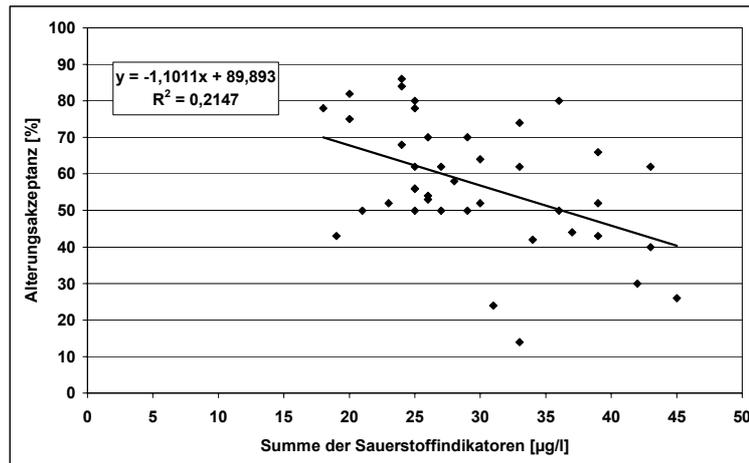


Abbildung 144: Zusammenhang zwischen der Summe an Sauerstoffindikatoren und der Alterungsakzeptanz in 3 Monate natürlich gelagerten Bieren.

Diese starke Streuung zeigte sich auch bei der Gegenüberstellung der Alterungsakzeptanzen beider Alterungsmethoden. Nach 3 Monaten fielen ein paar Biere mit Werten sogar unter 30 % deutlich heraus. Im Gegenzug wurden Biere auch besser bewertet als nach der forcierten Alterung.

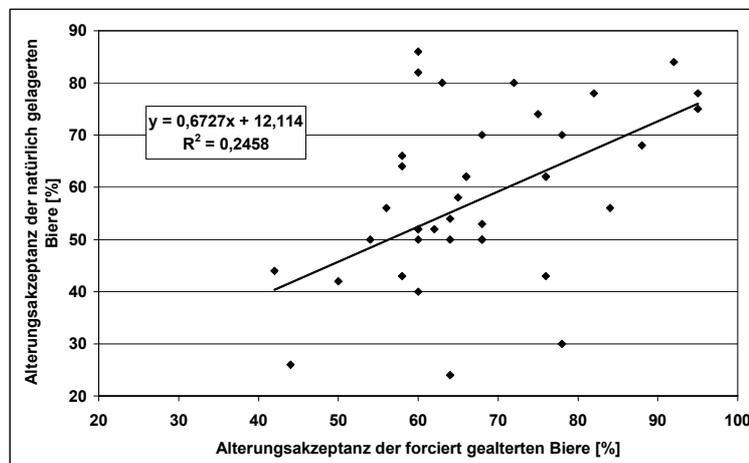


Abbildung 145: Gegenüberstellung der Alterungsakzeptanz forciert gealterter und 3 Monate natürlich gelagerter Biere.

Nach 3 Monaten korrelierte die Alterungsverkostung, speziell die Alterungsnote, deutlich besser mit der Lag-Time ($r = 0,38$; $\alpha = 0,05$) als es bei den forciert gealterten Bieren der Fall war. Auch der Gehalt an Schwefeldioxid zeigte nun

einen besseren Zusammenhang mit der Sensorik ($r = 0,43$; $\alpha = 0,05$). Dies führte auch bei der Anwendung des Stabilitätsindex zu besseren Ergebnissen, jedoch noch nicht zu einer Signifikanz. Die Fraktionen der Polyphenole konnten wiederum in keinen Zusammenhang mit der Verkostung gebracht werden.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Analytik nicht nur von brauereitechnologischen Maßnahmen beeinflusst wurde, sondern auch durch die Art und Weise der Lagerung. So gut die gaschromatographischen Messungen auf die forcierte Alterung ansprachen, so schlecht war ihre Aussagekraft während der natürlichen Alterung. Bei den antioxidativen Tests verhielt es sich gegenläufig. Grundsätzlich zeigte sich, dass der Forciertest nicht mit einer dreimonatigen Lagerung vergleichbar war, sondern einer deutlich kürzeren Lagerperiode entsprach. Es ist somit dringend nötig, den Forciertest anzupassen, um eine entsprechende natürliche Lagerdauer zu repräsentieren.

6 ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurden technologische Einflussfaktoren auf die endogene antioxidative Aktivität von Bier untersucht. Es ist bekannt, dass Sauerstoff im Brauprozess zu unerwünschten Oxidationsreaktionen führen kann und die Geschmacksstabilität beeinträchtigt. Entsprechend ist es wichtig, dass von Seiten der Rohstoffe natürliche Antioxidanzien dem Brauprozess zugeführt werden. Neben dem stark reduzierend wirkenden Schwefeldioxid, spielen in dieser Hinsicht phenolische Substanzen eine wichtige Rolle. Des Weiteren zeigen Melanoidine reduzierende Eigenschaften. Aufgrund dieser großen Vielzahl an Substanzen, die zur Beurteilung des antioxidativen Potenzials des Bieres, aber auch seiner Zwischenprodukte, herangezogen werden können, war es nötig neue Methoden zu erarbeiten. Neben der bekannten Lag-Time Messung, die durch den Gehalt an Schwefeldioxid stark geprägt ist, wurde die Radikalentstehung pro Zeit während des gleichen Forciertests verfolgt. Das so genannte antiradikalische Verhalten diente in erster Linie zur Beurteilung von Würzen, da hier keine Lag-Time zu messen war. Der Parameter wurde deutlich durch den Gehalt an reduzierend wirkenden Substanzen beeinflusst, wobei das Milieu der Probe, wie pH-Wert und Extraktgehalt, einen Einfluss auf die Analytik hatte. Ein weiterer Aspekt war das antiradikalische Potenzial, das sehr spezifisch auf den Gehalt an phenolischen Substanzen reagierte. Es diente ebenso zur Beurteilung des Potenzials einzelner Substanzen. Mit dem Reduktionsvermögen, das in erster Linie auf Maillard-Produkte reagierte, wurde ein Summenparameter aus den vier erwähnten Analysen entwickelt. Der sogenannte Stabilitätsindex sollte das antioxidative Potenzial einer Probe aus mehreren Blickwinkeln beschreiben. Mit der erweiterten Analytik wurde der Brauprozess verfolgt.

Es konnte bereits in Gerste und Weizen das antioxidative Potenzial bestimmt werden. Inwieweit sich dieses während der Mälzung veränderte, konnte nicht untersucht werden.

Malze konnten in ihrem antioxidativen Potenzial unterschieden werden, das sich als abhängig von Sorte und vor allem vom Anbaugebiet zeigte. Malze von Gersten

aus einem wärmeren und feuchteren Gebiet enthielt eine größere Menge an Radikalen, aber zugleich höhere Gehalte an phenolischen Substanzen.

Mit Hilfe der Chemilumineszenz-Detektion war es möglich, Oxidationsreaktionen während des Einmischens der Malze zu verfolgen. Waren aufgrund des antioxidativen Potenzials des Malzes die Oxidationsreaktionen niedrig, so äußerte sich dies in einem höheren Gehalt an Tannoiden in der Würze. Zugleich zeigten die Würzen weitere bekannte positive Effekte, wie niedrigere Gehalte an Strecker-Aldehyden.

Die biologische Maischesäuerung zeigte ebenfalls positive Effekte auf die Würzequalität, wie einen erhöhten Tannoidgehalt. Die antioxidativen Eigenschaften der resultierenden Biere waren ebenfalls verbessert. Dies äußerte sich in einer gesteigerten Geschmacksstabilität. Die Fraktion der Tannoide bzw. das Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in der Würze stellte sich als ein sehr guter Indikator für die Stabilität des fertigen Bieres dar.

Die Würzesäuerung führte teils zu besseren Analyseergebnissen als die Maischesäuerung. Dieser Effekt äußerte sich allerdings nicht in den Verkostungsergebnissen.

Während der Würzekochung konnte kein signifikanter Einfluss auf das antioxidative Potenzial erkannt werden. Dieser technologische Schritt unter Einbezug jeglicher Hopfenprodukte und Gabevarianten muss in einer eigenen Arbeit überprüft werden.

Das von der Hefe gebildete Schwefeldioxid wird stark durch die Anstelltechnologie beeinflusst. Es konnte gezeigt werden, dass der Hefestamm und der Zeitpunkt des Drauflassens einer belüfteten Würze die Bildung von Schwefeldioxid hauptsächlich bestimmten.

Die Verfolgung reduzierender Substanzen und der antioxidativen Tests während der Hauptgärung stellte sich als schwierig dar, da sich durch den pH-Sturz ein deutlicher Einfluss des Milieus auf die Analytik zeigte.

Dieser Einfluss machte sich während der Stabilisierung und Filtration des Bieres noch deutlicher bemerkbar. So veränderte die PVPP-Stabilisierung das Spektrum an phenolischen Substanzen und beeinflusste die Analytik direkt. Aber auch Kieselgel und Kieselgur hatten Einfluss aufgrund ihres Gehaltes an Eisen.

Es wurde aus diesem Grund versucht, die Indikatorfunktion der Tannoide schon im Lagerkeller zu nutzen. Im Rahmen eines Praxisversuches konnten Tendenzen erkannt werden, aber es zeigten sich klare Probleme in der Probennahme. Des Weiteren können sich negative Einflüsse wie Sauerstoffaufnahme im Filtrations- und Abfüllbereich besonders drastisch auf die Geschmacksstabilität auswirken, weshalb der Zusammenhang mit den Verkostungsergebnissen schwierig zu knüpfen ist.

Es konnte im fertigen Bier kein Einfluss phenolischer Substanzen auf die Geschmacksstabilität gemessen werden. Polyphenole zeigten bei einem pH-Wert von 4,3 keine antiradikalische Aktivität, was eine Begründung sein könnte. Bei pH-Werten, wie sie im Sudhaus vorkommen, konnten Aktivitäten gemessen werden, was die positiven Ergebnisse der Einmischversuche bestätigte.

Mit den antioxidativen Tests ließ sich die Geschmacksstabilität innerhalb einer Brauerei signifikant beschreiben. Bei der Beurteilung von Bieren verschiedener Brauereien musste die Wahl der Alterungsvariante berücksichtigt werden. Zeigten die antioxidativen Tests bei dem klassischen Forciertest keinen Zusammenhang mit der Verkostung, so verbesserte sich dieser deutlich bei einer natürlichen Lagerung von 3 Monaten.

Aus den Ergebnissen geht klar hervor, dass die Geschmacksstabilität durch die Rohstoffe, den gesamten Brauprozess und letztlich durch die angewandte Analytik geprägt ist. Folgende Kontrollbereiche haben sich herauskristallisiert und sollten berücksichtigt werden:

- Wahl der Gerstensorte und des Anbaugebietes -> Gehalt an phenolischen Substanzen ist abhängig vom Anbaugebiet.
- Antioxidative Qualität des Malzes -> Beurteilung des Einmischverhaltens mittels Chemilumineszenz-Detektion.
- Verhältnis von Gesamtpolyphenolen zu Tannoiden in der Anstellwürze -> sehr guter Indikator für die oxidative Belastung während des Maischens und die zu erwartende Geschmacksstabilität innerhalb eines Betriebes.
- Mit der Wahl des Hefestammes und der Anstelltechnologie kann Einfluss auf den Gehalt an Schwefeldioxid genommen werden.

- PVPP-Stabilisierung hat keinen nachvollziehbaren Einfluss auf die Geschmacksstabilität, aber auf die angewandte Analytik zur Beurteilung.
- Gehalt an löslichem Eisen aus Kieselgel und Kieselgur führt zu deutlicher Verschlechterung der Geschmacksstabilität.
- Wahl der Compoundmasse im Kronenkorken -> Sauerstoffmigration in die Flasche während der natürlichen Lagerung.
- Alle Punkte müssen betrachtet werden, um eine maximale Geschmacksstabilität zu erreichen.

Gerade der letzte Punkt zeigt, wie wichtig die angewandte Analytik zur Beurteilung der Geschmacksstabilität ist, da möglichst alle Faktoren berücksichtigt werden sollten. In dieser Hinsicht hat sich der Stabilitätsindex als Beurteilungskriterium innerhalb eines Betriebes bewährt. Er kann als eine Art historischer Parameter angesehen werden, der aufzeigt, in welchen Bereichen noch Verbesserungsmöglichkeiten liegen.

Ein wichtiger Aspekt ist, dass oft versucht wird, neue Forschungsansätze mit alten Analysenmethoden zu beschreiben. Diese „Trägheit“ kann zu Fehlinterpretationen führen, da bestimmte Effekte nicht erkannt wurden. Es muss in Zukunft weiterhin daran gearbeitet werden, bestehende Analysen auf ihre Aktualität zu überprüfen, um gegebenenfalls neue Parameter einzuführen.

7 LITERATUR

- AERTS, G., COOMAN DE, L., ROUCK DE, G., PÉNZES, Z., BUCK DE, A., MUSSCHE, R. and WAESBERGHE VAN, J.: Evaluation of the addition of gallotannins to the brewing liquor for the improvement of the flavour stability of beer. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Budapest, 2001, 547 – 556.
- ANDERSEN, M.L. and SKIBSTED, L. H.: Electron Spin Resonance Spin Trapping Identification of Radicals Formed during Aerobic Forced Aging of Beer. In: J. Agric. Food Chem. 46, 1998, 1272 – 1275.
- ANDERSEN, M.L., OUTTRUP, H., RIIS, P. and SKIBSTED, L.H.: Do polyphenols influence the flavour stability of beer. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Cannes, 1999, 133 – 140.
- ANDERSEN, M.L., OUTTRUP, H. and SKIBSTED, L. H.: Potential Antioxidants in Beer Assessed by ESR Spin Trapping. In: J. Agric. Food Chem. 48, 2000, 3106 – 3111.
- ARAKI, S., KIMURA, T., SHIMIZU, C., FURUSHO, S., TAKASHIO, M. and SHINUTSUKA, K.: Estimation of Antioxidative Activity and Its Relationship to Beer Flavor Stability. In: American Society of Brewing Chemists. 57 (1), 1999, 34 – 37.
- ARUOMA, O., MURCIA, A., BUTKER, J. and HALLIWELL, B.: Evaluation of the Antioxidant and Prooxidant Actions of Gallic Acid and Its Derivates. In: J. Agric. Food Chem. 41, 1993, 1880 - 1885.
- BACK, W. und FORSTER, C.: Hefemanagement und Anstelltechnologie mit ihren Auswirkungen auf Geschmack und Geschmacksstabilität. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Cannes, 1999, 627 – 636.
- BAMFORTH, C. and PARSONS, R.: New Procedures to Improve the Flavor Stability of Beer. In: Am. Soc. Brew. Chem. 43, 1985, S. 201 f.
- BAMFORTH, C.: Enzymatic and Non-Enzymatic Oxidation in the Brewhouse: A Theoretical Consideration. In: J. Inst. Brew. 105 (4), 1999, 237 – 242.
- BELLMER, H.-G.: Studie über die Polyphenole und deren Polymerisationsindex in den Rohstoffen des Bieres und ihre Veränderungen während der Bierbereitung. Dissertation TU München, 1976.

- BELLMER, H.-G.: Polyphenole und Alterung des Bieres. In: Brauwelt 20, 1977, 660 - 669.
- BELLMER, H.-G., GALENSA, R. und GROMUS, J.: Bedeutung der Polyphenole für die Bierherstellung (Teil 1). In: Brauwelt 28/29, 1995, 1372 - 1379.
- BELLMER, H.-G., GALENSA, R. und GROMUS, J.: Bedeutung der Polyphenole für die Bierherstellung (Teil 2). In: Brauwelt 30, 1995, 1477 - 1496.
- BELITZ, H.-D. und GROSCH, W.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 4. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1992.
- BISHOP, D. F., STERN, G., FLEISCHMAN, M. and MARSHALL, L. S.: Hydrogen Peroxide Catalytic Oxidation Of Refractory Organics In Municipal Wastewaters. In: Ind. Eng. Chem., Process Design & Development Vol. 7, 1968, 110 - 117.
- BOURDAUDHUI, G., DILLEMANS, M., NEDERFELDE VAN, L. and DEBOURG, A.: Improved yeast resistance to stress using antioxidants extracted from *Saccharomyces cerevisiae*. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Dublin, 2003, 586 – 597.
- BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M.J. and BERSET, C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. In: Food Science and Technology, 28, 1995, 25 - 30.
- BREWER, I.D. and FENTON, M.S.: The formation of sulphur dioxide during Fermentation. In: Proceedings of the 16th Convention of the Institute of Brewing (Australia & New Zealand Section), Sydney, 1980, 155 – 164.
- CHEN, J.H. and HO, C.-T.: Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. In: J. Agric. Food. Chem 45, 1997, 2374 – 2378.
- DALGLIESH, C. E.: Flavour Stability. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Amsterdam, 1977, 623 – 658.
- DELCOUR, J. A.: The effects of gamma-irradiation of Pilsner beer. J. Inst. Brew. 92, 1986, 591 - 593.
- DELCOUR, J. and VAREBEKE DE, D. J.: A new colourimetric assay for flavanoids in pilsner beers. In: J. Inst. Brew. 91, 1985, 37 – 40.

- DUFOUR, J.P.: Influence of industrial brewing and working conditions on beer SO₂ level and flavour stability, In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Lissabon, 1991, 209 – 216.
- FANTOZZI, P., MONTANARI, L., MANCINI, F., GASBARRINI, A., ADDOLORATO, G., SIMONCINI, M., NARDINI, M., GHISELLI, A. and SCACCINI, C.: In vitro antioxidant capacity from wort to beer. In: Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 31, 1998, 221 – 227.
- FORSTER, C., SCHWIEGER, J., NARZIß, L., BACK, W., UCHIDA, M., ONO, M. und YANAGI, K.: Untersuchungen zur Geschmacksstabilität von Bier mittels Elektronenspinresonanz-Spektrometrie freier Radikale. In: Monatsschrift der Brauwissenschaft 5/6, 1999, 86 – 93.
- FORSTER, C und BACK, W.: Untersuchungen über den Einfluß der Anstell- und Befüllungstechnik zylindrokonischer Gärtanks auf die antioxidative Aktivität von Bier. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Cannes, 1999, 727 – 734.
- FRANZ, O.: Untersuchung der endogenen antioxidativen Aktivität (Lag-Time) während des Produktionsprozesses von untergärigen, hellem Bier in der Praxis. Diplomarbeit, TU München, 1998.
- GOUPY, O., HUGUES, M., BOIVIN, P. and AMIOT, M.J.: Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. In: J. Sci. Food Agric. 79, 1999, 1625 – 1634.
- GROMUS, J. und LUSTIG, S.: Einfluß von Polyphenolen und reduzierenden Verbindungen auf die Bierqualität und ihr Verhalten im Brauprozess. In: Brauwelt 44, 1999, 2028 - 2034.
- GYLLANG, H., WINGE, M. and KORCH, Ch.: Regulation of SO₂ formation during Fermentation. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Zürich, 1989, 347 – 354.
- HAGERMAN, A., RIEDL, K., JONES, G., SOVIK, K., RITCHARD, N., HARTZFELD, P. and RIECHEL, T.: High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. In: J. Agric. Food Chem. 36, 1998, 1887 - 1892.
- HALLIWELL, B. CUTTERIDGE, J. Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd Edition, Clarendon Press, Oxford, 1989.

- HOFFMANN, M.R., EDWARDS, J.O.: Kinetics of the Oxidation of sulfite by hydrogen peroxide in acidic solution, *J. Phys. Chem.* 79, 1975.
- ILETT, D.R.: Aspects of the analysis, role, and fate of sulphur dioxide in beer – a review, *Technical Quarterly* 32(4), 1995, 213 – 221.
- ISOE, A., KANAGAWA, K., ONO, M., NAKATANI, K. and NISHIGAKI, M.: Evaluation of dehusked malt and its influence on the brewing process and beer quality. In: *Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Lissabon, 1991*, 697 – 704.
- IWAHASHI, H., ISHII, T., SUGATA, R. and KIDO, R.: The effects of caffeic acid and its related catechols on hydroxyl radical formation by 3-hydroxyanthranilic acid, ferric chloride and hydrogen peroxide. In: *Arch. Biochem. Biophys.* 276, 1990, 242 – 247.
- JANZEN, E. G., KOTAKE, Y. and HINTON, R.: Stabilities Of Hydroxyl Radical Spin Adducts Of PBN-Type Spin Traps. In: *Free Radical Biology & Medicine*, 12, 1992, 169 – 173.
- JENDE-STRID, B.: Proanthocyanidin-free malting barley – a solution of the beer haze problem. In: *Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Maastricht, 1997*, 101-108.
- JERUMANIS, J.: Quantitative analysis of flavanoids in barley, hops and beer by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *J. Inst. Brew.* 91, 1985, 250 – 252.
- KANEDA, K., KANO, Y., OSAWA, T., RAMARATHNAM, N., KAWAKISHI, S. and KAMADA, K.: Detection of Free Radicals in Beer Oxidation. In: *J. Agric. Food Sci.* 53 (3), 1988, 885 – 888.
- KANEDA, H., KANO, Y., OSAWA, T., KAWAKISHI, S. and KAMADA K.: The Role of Free Radicals in Beer Oxidation. In: *Am. Soc. Brew. Chem.* 47 (2), 1989, 49 - 53.
- KANEDA, H., KANO, Y., KAMIMURA, M., OSAWA, T. and KAWAKISHI, S.: Detection of Chemiluminescence Produced during Beer Oxidation. In: *J. of Food Science*, 55(3), 1990, 881 – 882.
- KANEDA, H., KANO, Y., KAMIMURA, M., OSAWA, T. and KAWAKISHI, S.: Evaluation of Beer Deterioration by Chemiluminescence. In: *J. of Food Science*, 55(5), 1990, 1361 – 1364.

- KANEDA, H., KANO, Y. and KAMIMURA, M.: A study of beer staling using chemiluminescence analysis. In: J. Inst. Brew. 97, 1991, 105 – 109.
- KANEDA, H., KANO, Y., OSAWA, T., KAWAKISHI, S. and KOSHINO, S.: Role of active oxygens on deterioration of beer flavor. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Lissabon, 1991, 433 – 440.
- KANEDA, H., OSAWA, T., KAWAKISHI, S., MUNEKATA, M. and KOSHINO, S.: Contribution of carbonyl-bisulfite adducts to beer stability, J. Agric. Food Chem. 42, 1994, 2428 – 2432.
- KANEDA, H., KOBAYASHI, N., TSUCHIYA, Y., MUNEKATA, M. and KOSHINO, S.: Some Applications of Chemiluminescence Analysis to Brewing. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 52(4), 1994, 163 – 168.
- KANEDA, H., KOBAYASHI, N., FURUSHO, S., SAHARA, H. and KOSHINO, S.: Reducing Activity and Flavor Stability of Beer. In: MBAA Tech. Quart. 32, 1995.
- KANEDA, H., MASACHIKA, T. and TAMAKI, T.: Influence Of pH on Flavour Staling During Beer Storage. In: J. Inst. Brew. 103, 1997, 21 – 23.
- KIM, J.S.: Einfluss der Temperatur beim Rösten von Sesam auf Aroma und antioxidative Eigenschaften des Öls. Dissertation TU Berlin, 2001.
- KLIMOVITZ, J. and KINDRAKA, J.: The Impact of Various Antioxidants on Flavor Stability. In: MBAA Tech. Quart. 26, 1989, 70 - 74.
- KONDO, K., KURIHARA, M., MIYATA, N., SUZUKI, T. and TOYODA, M.: Mechanistic Studies of Catechins as Antioxidants against Radical Oxidation. In: Arch. Biochem. Biophys. 362 (1), 1999, 79 - 86.
- KOTAKE, Y. and JANZEN, E. G.: Decay and Fate of the Hydroxyl Radical Adduct of α -Phenyl-*N-tert*-butylnitron in Aqueous Media. In: J. Am. Chem. Soc. 113, 1991 9503 – 9506.
- KRETSCHMER, H.: Das Protein-Tannin-Gleichgewicht im Bier. In: Monatschrift für Brauwissenschaft. 3, 1983, 129 – 133.
- KRÜGER, E. und ANGER, H.-M.: Kennzahlen zur Betriebskontrolle und Qualitätssicherung in der Brauwirtschaft. Behr's Verlag, Hamburg, 1995.

- LAWS, D. R., MCGUINNESS, J. D. and BATH, N. A.: The Use of ¹⁴C-Labelled Dimeric Catechin to Study the Fate of Dimeric Polyphenols during Malting and Brewing. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 34, 1976, 170 – 173.
- MAILLARD, M.-N., SOUM, M.-H., BOIVIN, P. and BERSET, C.: Antioxidant Activity of Barley and Malt: Relationship with Phenolic Content. In: Lebensm.-Wiss. u. Techol., 29, 1996, 238 – 244.
- MCMURROUGH, I. and DELCOUR, J. A.: Wort Polyphenols. In: Ferment 3, 1994, 175 – 182.
- MCMURROUGH, I., MADIGAN, D. and KELLY, R. J.: The Role of Flavonoid Polyphenols in Beer Stability. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 54(3), 1996, 141 – 148.
- MEBAK: Brautechnische Analysenmethoden Band I – IV, Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission, Selbstverlag der MEBAK, Freising- Weihenstephan.
- MIKYSKA, A., HASKOVÁ, D., HRABÁK, M., SROGL, J. and HORÁK, T.: The role of polyphenols and oxidation processes in brewhouse on beer quality. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Budapest, 2001, 557 – 565.
- MOLL, M., FONKNECHTEN, G., CARNIELO, M. and FLAYEUX, R.: Changes in Polyphenols from Raw Materials to Finished Beer. In: MBAA Tech. Quart. 21(2), 1984, 79 – 87.
- MORALES, F.J. and JIMÉNEZ-PÉREZ, S.: Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as relates to colour and fluorescence. In: Food Chemistry 72, 2001, 119 – 125.
- NARZIß, L.: Die Technologie der Malzbereitung. 6. Auflage, Enke, Stuttgart, 1976.
- NARZIß, L., REICHENEDER, E. und NOTHAFT, H.: Über den Schwefeldioxid-gehalt des Bieres. In: Brauwelt 12, 1982,
- NARZIß, L.: Abriß der Bierbrauerei. 6. Auflage, Enke, Stuttgart, 1995.

- NARZIß, L., BACK, W., MIEDANER, H. und TAKAHASHI, Y.: Pilotversuche über den Einfluß der verschiedenen Maischparameter auf die Eigenschaften der Würze und des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität. In: Monatschrift der Brauwissenschaft 11/12, 2000, 204 – 216.
- NORDLÖV, H.: Formation of sulphur dioxide during beer fermentation. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Helsinki, 1985, 291 – 299.
- OHKUMA, T., KIRINO, Y. and KWAN, T.: Some Physicochemical Properties of 2-Methyl-2-nitrosopropane, Phenyl N-tert-Butyl Nitron, 5,5-Dimethylpyrroline-N-oxide, and 2,5,5-Trimethyl-pyrroline-N-oxide and the Feasibility of Their Use as Spin Traps in Aqueous Solution. In: Chem. Pharm. Bull. 29 (1), 1981, 25 – 28.
- OHNO, T. and TAKAHASHI, R.: Role of wort aeration in the brewing process. In: J. Inst. Brew. 92 (1), 1986, 84 – 92.
- QURESHI, A., BURGER, W. and PRENTICE, N.: Polyphenols and Pyrazines in Beer During Aging. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 37 (4), 1979, 161 - 163.
- RECHNER, R.: Einfluss der Verarbeitungstechnik auf die Polyphenole und antioxidative Kapazität von Apfel- und Beerenobstsäften. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Giessen, 2000.
- REINKE, L. A., KOTAKE, Y., MCCOY, P. B. and JANZEN E. G.: Spin-trapping studies of hepatic free radicals formed following the acute administration of ethanol to rats: In vivo detection of 1-Hydroxyethyl radicals with PBN. In: Free Rad. Biol. & Med. 11, 1991, 31 – 39.
- RICARDO DA SILVA, J., DARMON, N., FERNANDEZ, N. and MITJAVILA, S.: Oxygen Free Radical Scavenger Capacity in Aqueous Models of Different Procyanidins from Grape Seeds. In: J. Agric. Food Chem. 39, 1991, 1549 – 1552.
- RICE-EVANS, C., MILLER, N. and PAGANGA, G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. In: Free Rad. Biol. & Med. 20 (7), 1996, 933 - 956.
- RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J. and PAGANGA, G.: Antioxidant properties of phenolic compounds. In: Trends in plant science – reviews Vol. 2 (4), 1997, 152 – 159.

- ROEDER, A., LAM, T.M. und GALENSA, R.: Thermospray-LCMS-Untersuchungen über Proanthocyanidine und andere Polyphenole im Malz, Bier und Hopfen. In: Monatsschrift der Brauwissenschaft 11/12, 1995, 390 – 396.
- SHAHIDI, F. and WANASUNDARA, P.K.: Phenolic antioxidants. In: Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 32, 1992, 67 – 103.
- SPEAR, N. and AUST, S.D.: Effects of Glutathione on Fenton Reagent-Dependent Radical Production and DNA Oxidation. In: Arch. Biochem. Biophys. 324 (1), 1995, 111 – 116.
- TAKAOKA, S., KONDO, H., UCHIDA, M. and KAWASAKI, Y.: Improvement of Beer Flavor Stability by Applying ESR Method to Industrial Plant. In: MBAA Tech. Quart. 35(3), 1998, 157 – 161.
- TAKEMURA, O., OKA, K., UCHIDA, M., KAWASAKI, Y. and KAKIMI, Y.: Practice on the improvement of beer flavour stability by new technology and quality management. In: Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Maastricht, 1997, 545 - 552.
- WALTERS, M.: Natural Antioxidants and Flavour Stability. In: Ferment 10, 1997, 111 - 119.
- WALTERS, M., HEASMAN, A. and HUGHES, P.: Comparison of [+-]Catechin and Ferulic Acid as Natural Antioxidants and Their Impact on Beer Flavor Stability. Part 1: Forced-Aging. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 55 (2), 1997, 83 - 89.
- WALTERS, M., HEASMAN, A. and HUGHES, P.: Comparison of [+-]Catechin and Ferulic Acid as Natural Antioxidants and Their Impact on Beer Flavor Stability. Part 2: Extended Storage Trials. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 55 (3), 1997, 91 - 98.
- WATZL, B. und LEITZMANN, C.: Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. 2. Auflage, Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1999.
- WHITTLE, N., ELDRIDGE, H. and BARTLEY, J.: Identification of the Polyphenols in Barley and Beer by HPLC/MS and HPLC/Electrochemical Detection. In: J. Inst. Brew., 105 (2), 1999, 89 – 99.

- UCHIDA, M. and ONO, M.: Improvement for Oxidation Flavor Stability of Beer – Role of OH-Radical in Beer Oxidation. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 54, Nr. 4, 1996, 198 – 204.
- UCHIDA, M. SUGA, S. and ONO, M.: Improvement for Oxidative Flavor Stability of Beer – Rapid Prediction Method for Beer Flavor Stability by Electron Spin Resonance Spectroscopy. In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 54, Nr. 4, 1996, 205 – 211.
- UCHIDA, M. and ONO, M.: Determination of hydrogen peroxide in beer and its role in beer oxidation, In: J. Am. Soc. Brew. Chem. 57, Nr. 4, 1999, 145 – 150.
- UCHIDA, M. and ONO, M.: Technological Approach to Improve Beer Flavor Stability: Analysis of the Effect of Brewing Processes on Beer Flavor Stability by the Electron Spin Resonance Method. In: J. Am. Soc. Brew. Chem., 2000, 8 – 13.
- UCHIDA, M. and ONO, M.: Technological Approach to Improve Beer Flavor Stability: Adjustments of Wort Aeration in Modern Fermentation Systems Using the Electron Spin Resonance Method. In: J. Am. Soc. Brew. Chem., 2000, 30 – 37.
- UEDA, J.-I., SAITO, N., SHIMAZU, Y. and OZAWA, T.: A Comparison of Scavenging Abilities of Antioxidants against Hydroxyl Radicals. In: Arch. Biochem. Biophys. Vol. 333(2), 1996, 377 – 384.
- UMEMOTO, S., KANEDA, H., MUNTEKA, M. and KOSHINO, S.: Effekt of doubling fermentation method on sulfite content in beer, Journal of Fermentation and Bioengineering 78(4), 1994, 333 - 335.
- WEDZICHA, B.L.: Chemistry of sulphur dioxide in foods, Elsevier, London, 1984.
- YANAGI, K., ISHIBASHI, H, OKA, K. und UCHIDA, M.: Neue Methoden zur Beurteilung von Geschmacksstabilität ,Schaumeigenschaften und -stabilität von Bier. In: Brauwelt 21/22, 1997, 841 – 859.
- YOKOYAMA, A., INGLEDEW, W.M.: The Effect of Filling Procedures on Multi-Fill Fermentations. In: MBAA Tech. Quart. 34(1), 1997, 320 – 327.

8 ANHANG

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung A1: Verwendete Elektronenspinresonanz-Spektrometer	193
Abbildung A2: Antiradikalisches Potenzial der Chlorogensäure	194
Abbildung A3: Antiradikalisches Potenzial der p-Cumarsäure	195
Abbildung A4: Antiradikalisches Potenzial von (-)-Epicatechin	196
Abbildung A5: Antiradikalisches Potenzial von Epicatechingallat	197
Abbildung A6: Antiradikalisches Potenzial von Epigallocatechin	198
Abbildung A7: Antiradikalisches Potenzial von Epigallocatechin gallat	199
Abbildung A8: Antiradikalisches Potenzial der Ferulasäure	200
Abbildung A9: Antiradikalisches Potenzial der Gallussäure	201
Abbildung A10: Antiradikalisches Potenzial von Genistein	202
Abbildung A11: Antiradikalisches Potenzial der Gentsinsäure	203
Abbildung A12: Antiradikalisches Potenzial der p-Hydroxybenzoesäure	204
Abbildung A13: Antiradikalisches Potenzial von Isoxanthohumol	205
Abbildung A14: Antiradikalisches Potenzial von Kaffeesäure	206
Abbildung A15: Antiradikalisches Potenzial der Protocatechussäure	207
Abbildung A16: Antiradikalisches Potenzial von Rutin	208
Abbildung A17: Antiradikalisches Potenzial der Sinapinsäure	209
Abbildung A18: Antiradikalisches Potenzial der Syringinsäure	210
Abbildung A19: Antiradikalisches Potenzial der Vanillinsäure	211
Abbildung A20: Antiradikalisches Potenzial von Xanthohumol	212
Abbildung A21: Verdünnungsreihen von Bier mit Wasser (Aqua bidest.)	215
Abbildung A22: Verdünnungsreihen von Bier mit Wasser (5 % Vol. EtOH)	216
Abbildung A23: Verdünnungsreihen von Bier mit Acetatpuffer (pH 4,3)	217
Abbildung A24: Verdünnungsreihen von Bier mit Acetatpuffer (pH 4,3 und 5 % Vol. EtOH)	218

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle T1: Verwendete Reagenzien	192
Tabelle T2: Steigerung des antiradikalischen Potenzials von Bier nach Zugabe von phenolischen Substanzen	213
Tabelle T3: Korrelation zwischen Gesamtpolyphenolen in Bier und dem antiradikalischen Potenzial	213
Tabelle T4: Korrelation zwischen dem Stabilitätsindex und der Alterungsakzeptanz	214
Tabelle T5: Zusammenhang zwischen der Chemilumineszenzmessung und den Würzedaten	219
Tabelle T6: Gehalte an phenolischen Substanzen in Kaltauszügen von Getreide und Malzen	220
Tabelle T7: Antioxidative Tests in Kaltauszügen von Getreide und Malzen	221
Tabelle T8: Gehalt an phenolischen Substanzen in Malzen aus zwei Anbaugebieten	222
Tabelle T9: Gehalt an phenolischen Substanzen in Malz (Anbaugebiet A: Nossen)	223

Tabelle T10: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Würzesäuerung (Reihe1)	224
Tabelle T11: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe1)	226
Tabelle T12: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe2)	228
Tabelle T13: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Würzesäuerung (Reihe 1)	230
Tabelle T14: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe 1)	231
Tabelle T15: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe 2)	232
Tabelle T16: Daten zu den Maische- und Würzesäuerungsversuchen	233
Tabelle T17: Bierdaten zu den Maische- und Würzesäuerungsversuchen	234
Tabelle T18: Mischungsverhältnis zwischen Luft und Würze und der daraus resultierende Gehalt an gelöstem Sauerstoff	235
Tabelle T19: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang bei verschiedenen Gärvolumina	235
Tabelle T20: SO ₂ -Bildung zweier Hefen A und B in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang	235
Tabelle T21: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt einer zweiten Belüftung und SO ₂ -Bildung und wirklicher Vergärungsgrad am 12. Gärtag in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung	236
Tabelle T22: SO ₂ -Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung bei gleichem Vergärungsgrad	236
Tabelle T23: Veränderung der phenolischen Substanzen und antioxidativen Tests von der Würze bis zum Bier	237
Tabelle T24: Veränderung der Stammwürze, des Alkoholgehaltes und des pH-Wertes während der Stabilisierung, Filtration und Abfüllung	237
Tabelle T25: Alterungsindikatoren der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei (Reihe 1)	238
Tabelle T26: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 1 – Abgefüllte Biere	240
Tabelle T27: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 1 – Drucktank	241
Tabelle T28: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 1 – vor Filter	241
Tabelle T29: Ergebnisse der Alterungsverkostung der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 1	242
Tabelle T30: Analysenergebnisse der Biersorte Helles (Reihe 1)	243
Tabelle T31: Analysenergebnisse der Biersorte Pils (Reihe 1)	243
Tabelle T32: Analysenergebnisse der Biersorte Export (Reihe 1)	244
Tabelle T33: Alterungsindikatoren der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2	245
Tabelle T34: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2 – Abgefüllte Biere	247
Tabelle T35: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2 – Drucktank	248

Tabelle T36: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2 – vor Filter	248
Tabelle T37: Ergebnisse der Alterungsverkostung der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2	249
Tabelle T38: Analysenergebnisse der Biersorte Helles (Reihe 2)	250
Tabelle T39: Analysenergebnisse der Biersorte Pils (Reihe 2)	250
Tabelle T40: Analysenergebnisse der Biersorte Export (Reihe 2)	251
Tabelle T41: Daten der untersuchten Biere vom Typ Pils	252
Tabelle T42: Daten der untersuchten Biere vom Typ Helles	253
Tabelle T43: Daten der untersuchten Biere vom Typ Weizen	254
Tabelle T44: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H4	255
Tabelle T45: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P5	256
Tabelle T46: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P4	257
Tabelle T47: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P8	258
Tabelle T48: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H9	259
Tabelle T49: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H3	260
Tabelle T50: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P7	261
Tabelle T51: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H5	262
Tabelle T52: Untersuchung des Gehaltes von Schwefeldioxid und der Lag-Time während der Lagerung	263
Tabelle T53: Phenolische Substanzen in den 40 untersuchten Bieren	264
Tabelle T54: Antioxidative Tests der 40 untersuchten Biere	265
Tabelle T55: Bestimmung der Alterungsindikatoren in 40 Bieren (Teil 1)	266
Tabelle T56: Bestimmung der Alterungsindikatoren in 40 Bieren (Teil 2)	267
Tabelle T57: Alterungsakzeptanz der 40 Biere	268

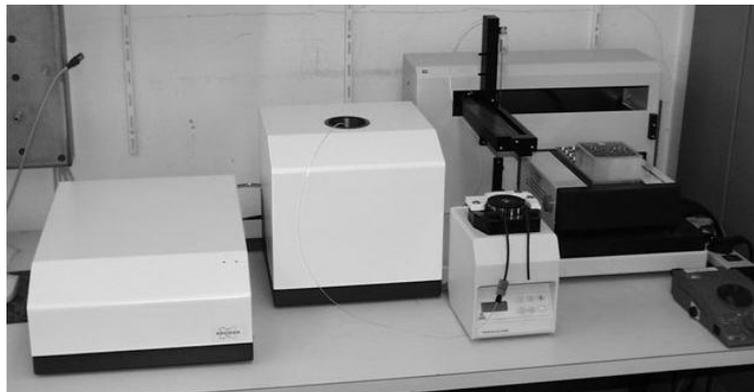
Tabelle T1: Verwendete Reagenzien

	Firma	Artikelnummer
Aminosäuren		
L-Cystein	Merck	2838
Phenolische Substanzen		
(+)-Catechin	Sigma	C1251
Chlorogensäure	Sigma	C3878
p-Cumarsäure	Aldrich	H2,320-1
(-)-Epicatechin	Sigma	E1753
(-)-Epicatechingallat (ECG)	Roth	6358
(-)-Epigallocatechin (EGC)	Sigma	E3768
(-)-Epigallocatechingallat (EGCG)	Sigma	E4143
Ferulasäure	Sigma	F3500
Gallussäure	Fluka	48630
Gentisinsäure	Sigma	G5254
Genistein	Sigma	G6649
p-Hydroxybenzoesäure	Sigma	H5376
Kaffeensäure	Sigma	C0625
Quercetin	Sigma	Q0125
Protocatechussäure	Roth	8274
Rutin	Sigma	R5143
Sinapinsäure	Sigma	D7927
Syringinsäure	Sigma	S6881
Vanillinsäure	Sigma	V2250
Freie Radikale		
DPPH	Sigma	D9132
4-Hydroxy-TEMPO	Aldrich	17,614-1
Spin-Trap-Reagenzien		
PBN	Aldrich	18,027-0
PBN	Alexis	430-082-0000
DMPO	Aldrich	19,458-1
Reagenzien für die Chemilumineszenz		
Luminol	Aldrich	12,307-2
CLA	TCI	

Abbildung A1: Verwendete Elektronenspinresonanz-Spektrometer



a) FR-JES 30 der Firma JEOL, Tokyo, Japan (Quelle: Eigene Aufnahme am Institut)



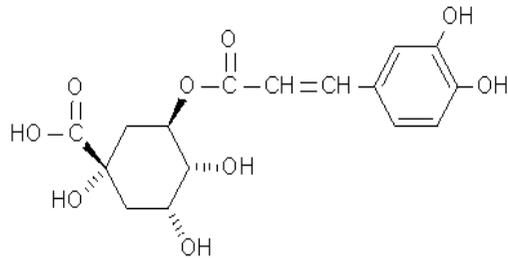
b) Escan der Firma Bruker, Rheinstetten, Deutschland (Quelle: Eigene Aufnahme am Institut)



c) Miniscope MS-100 der Firma Magnetech, Berlin, Deutschland (Quelle: Homepage der Firma Magnetech)

Abbildung A2: Antiradikalisches Potenzial der Chlorogensäure

- 3-[3,4-dihydroxycimtsäure]
- Chlorogenic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	58
2	47
3	37
4	33
5	32
6	31
7	25
8	26
9	24
10	24

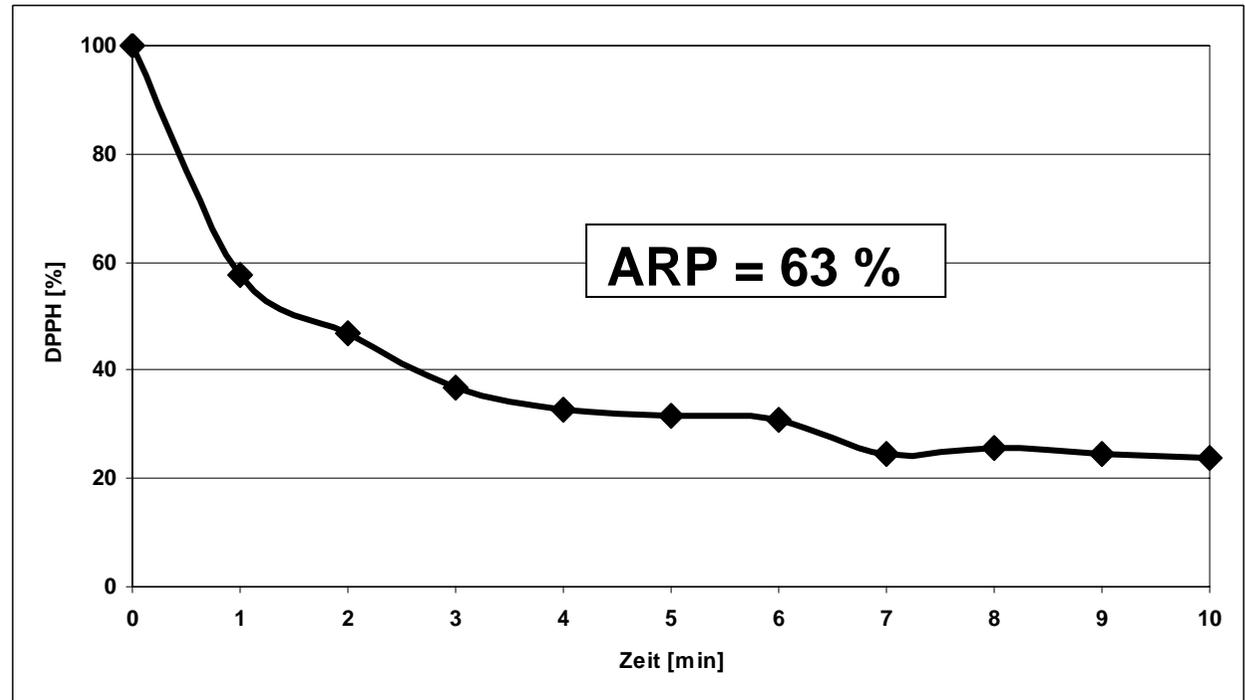
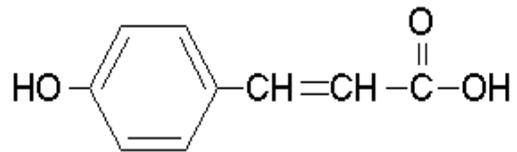


Abbildung A3: Antiradikalisches Potenzial der p-Cumarsäure

- trans-p-Hydroxy-zimtsäure
- p-Coumaric acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	93
2	90
3	78
4	74
5	74
6	67
7	67
8	59
9	59
10	58

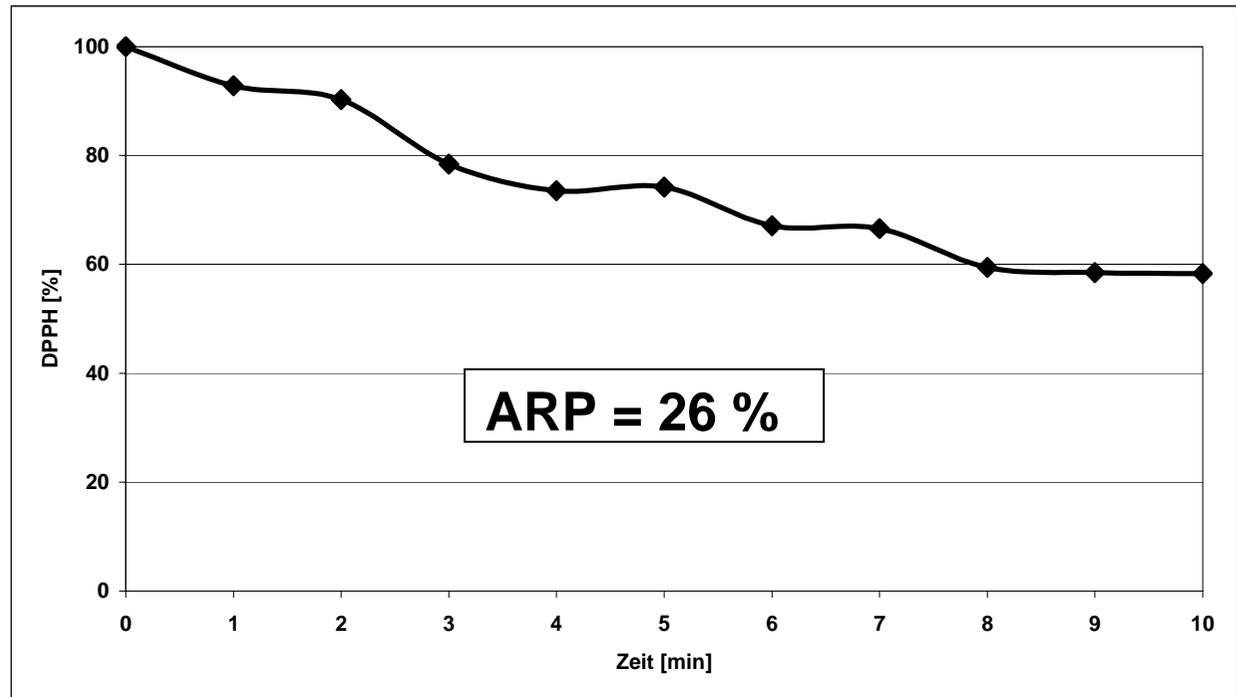
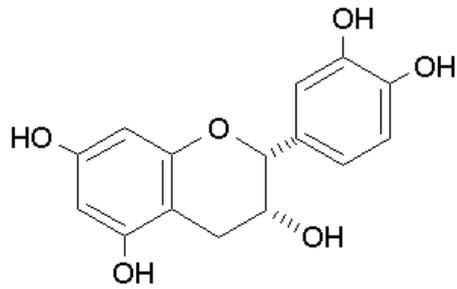


Abbildung A4: Antiradikalisches Potenzial von (-)-Epicatechin

- ((2R,3R)-2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol)



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	74
2	57
3	47
4	44
5	42
6	39
7	36
8	35
9	32
10	28

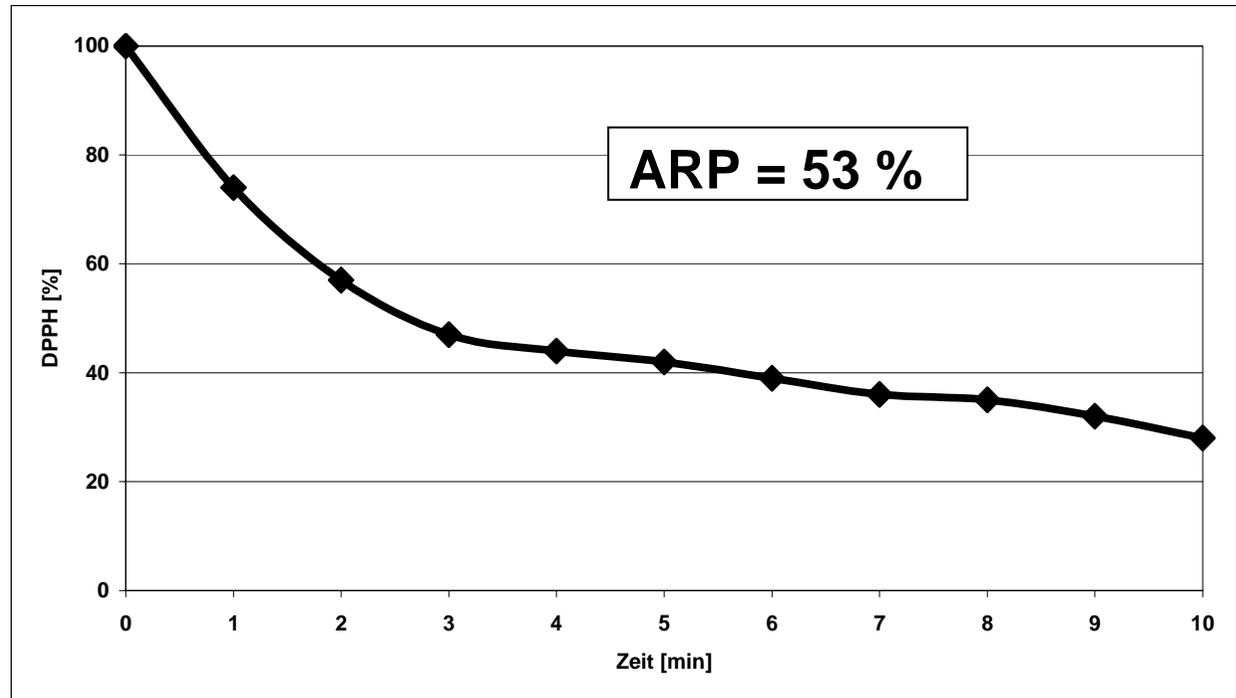
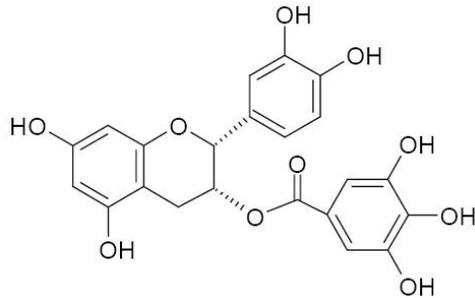


Abbildung A5: Antiradikalisches Potenzial von Epicatechingallat

- (2R,3R)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol-3-(3,4,5-trihydroxybenzoate)



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	89
2	80
3	78
4	74
5	76
6	77
7	72
8	68
9	72
10	68

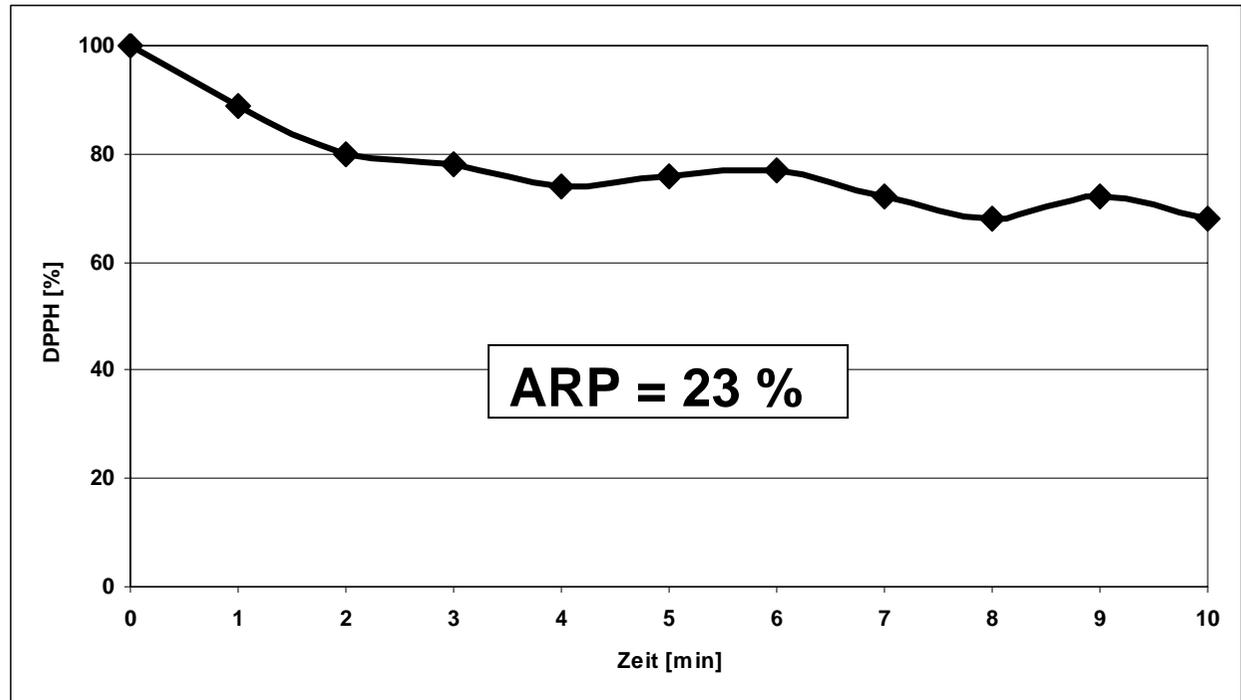
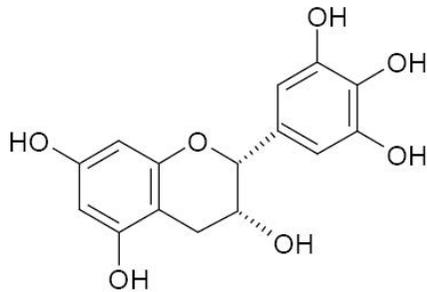


Abbildung A6: Antiradikalisches Potenzial von Epigallocatechin

- (2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	66
2	52
3	45
4	45
5	39
6	37
7	32
8	34
9	33
10	30

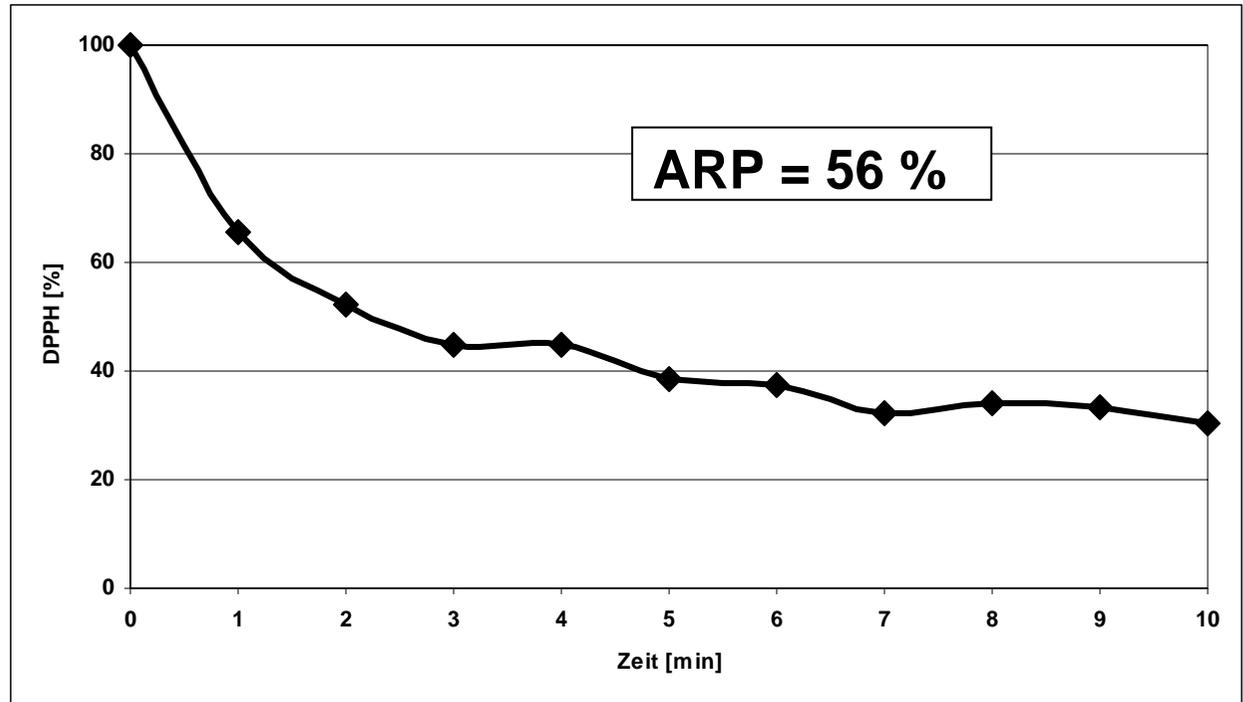
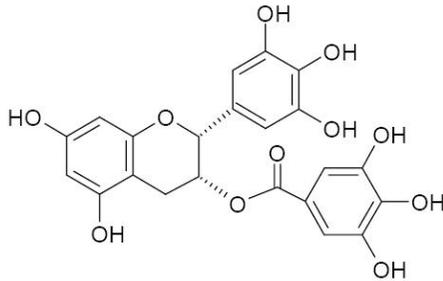


Abbildung A7: Antiradikalisches Potenzial von Epigallocatechin-gallat

- (2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol 3-(3,4,5-trihydroxybenzoate)



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	46
2	39
3	33
4	29
5	31
6	28
7	24
8	24
9	25
10	23

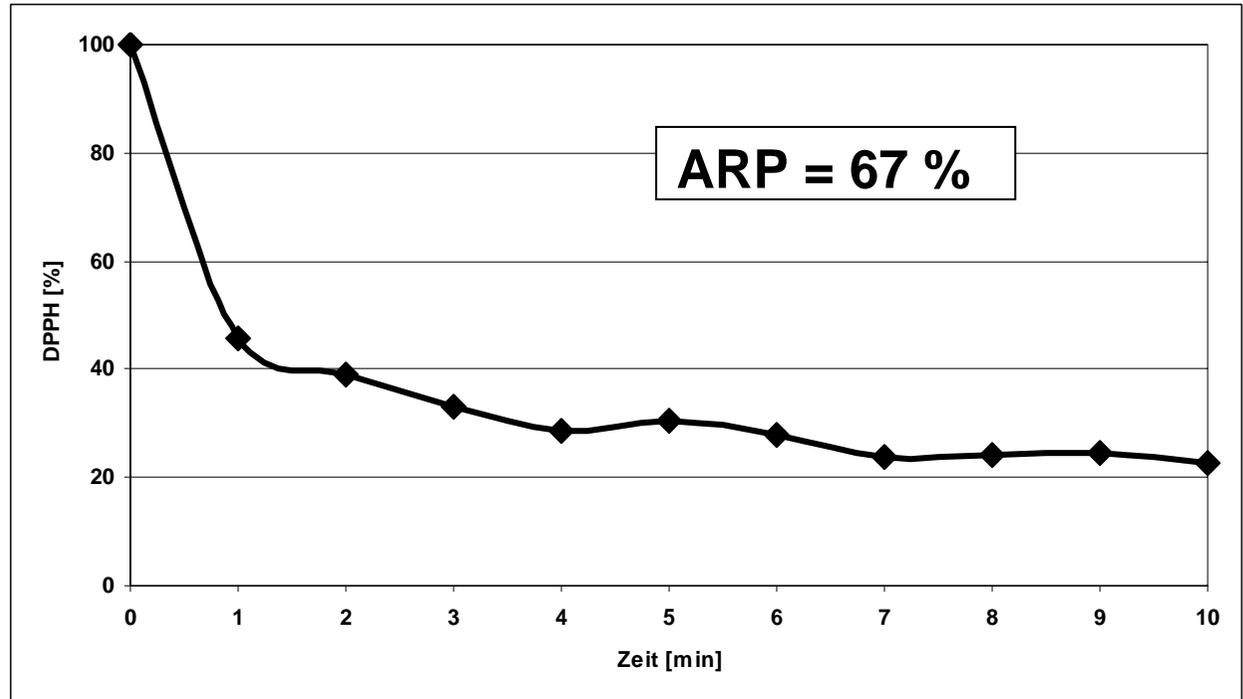
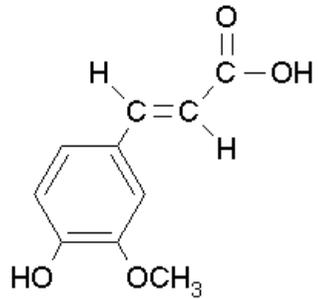


Abbildung A8: Antiradikalisches Potenzial der Ferulasäure

- 4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure
- Ferulic Acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	99
2	98
3	84
4	75
5	67
6	62
7	55
8	48
9	51
10	45

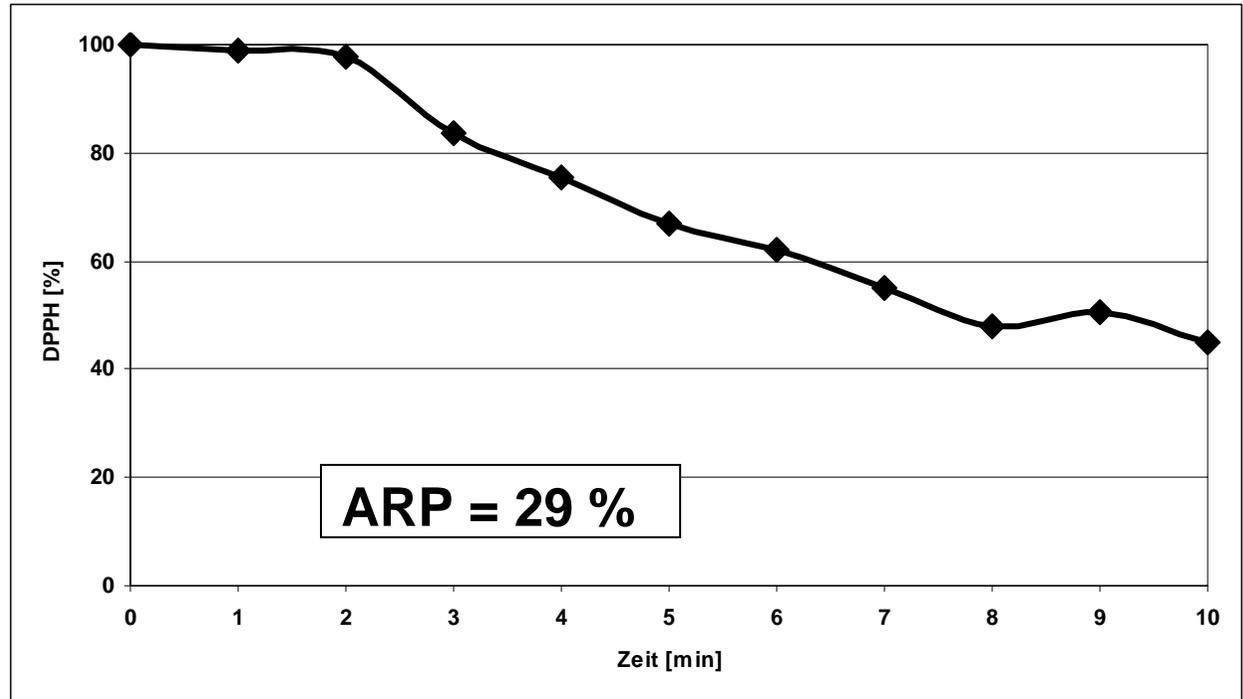
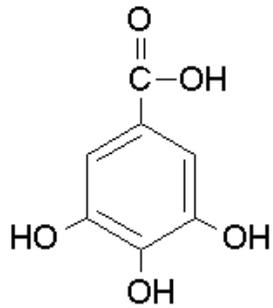


Abbildung A9: Antiradikalisches Potenzial der Gallussäure

- 3,4,5-Trihydroxy-benzoesäure
- Gallic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	35
2	26
3	20
4	17
5	12
6	10
7	8
8	7
9	7
10	5

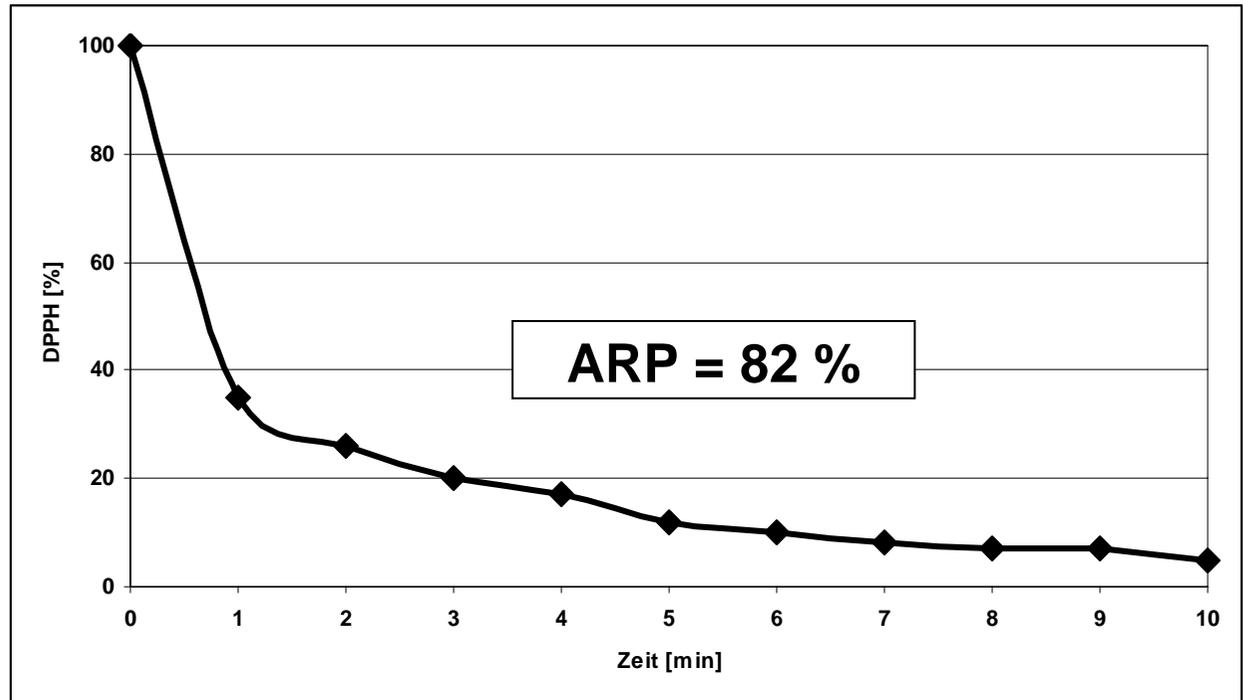
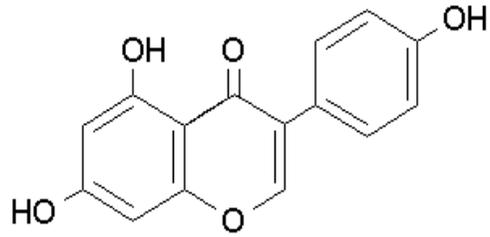


Abbildung A10: Antiradikalisches Potenzial von Genistein

- 5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-on 4',5,7-Trihydroxyisoflavon



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	95
2	91
3	95
4	96
5	94
6	95
7	95
8	94
9	95
10	94

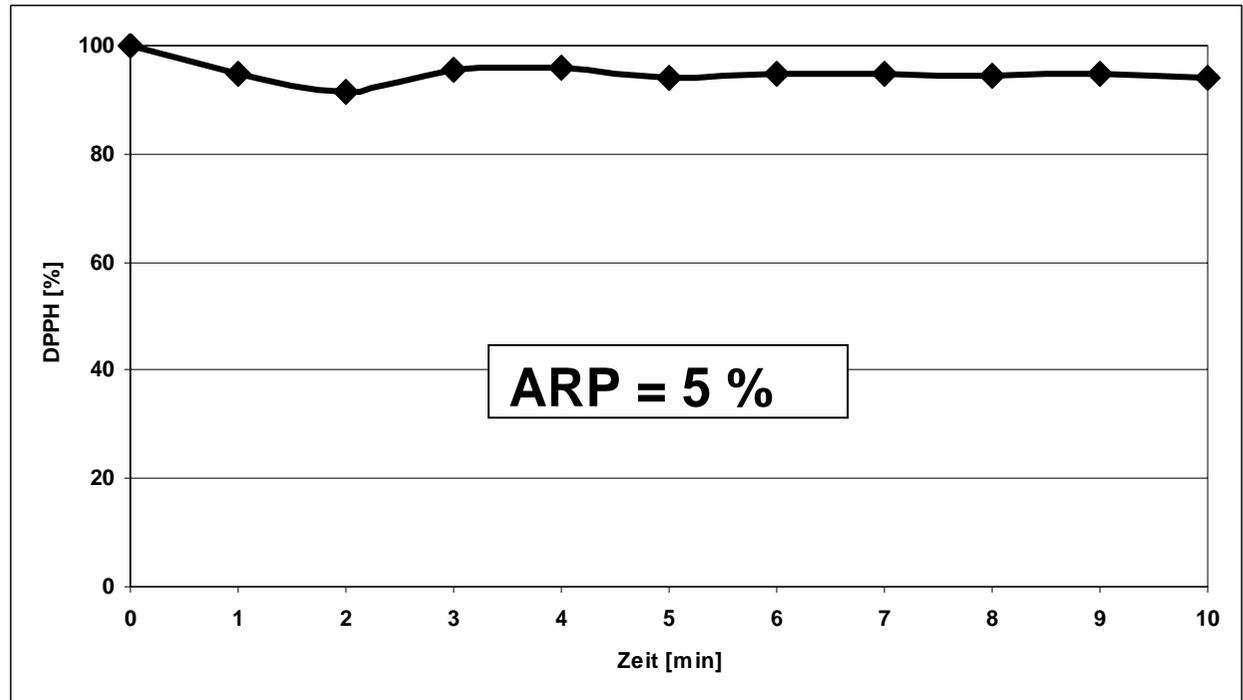
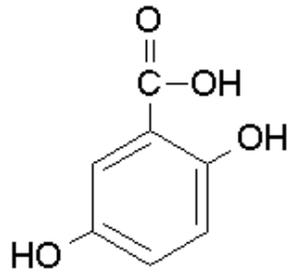


Abbildung A11: Antiradikalisches Potenzial der Gentisinsäure

- 2,5-Dihydroxybenzoesäure
- Gentisic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	74
2	56
3	49
4	42
5	36
6	31
7	28
8	25
9	22
10	19

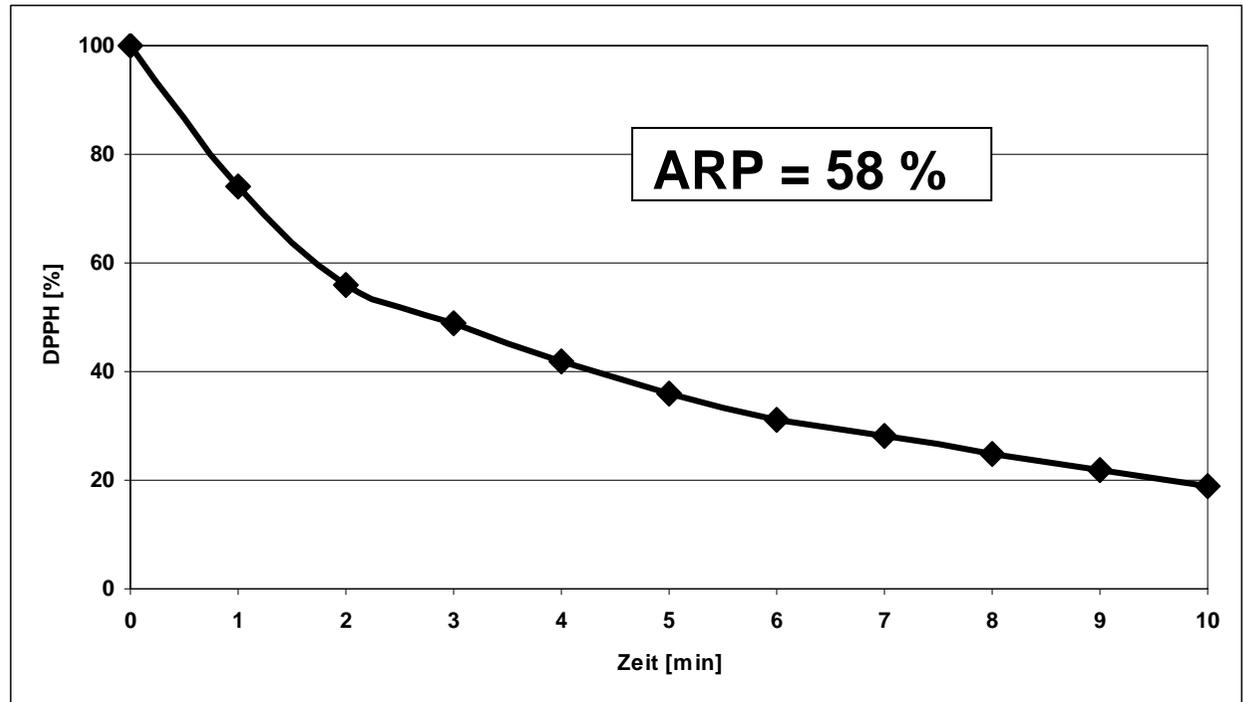
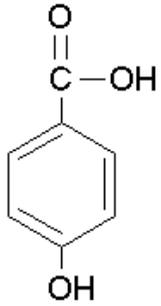


Abbildung A12: Antiradikalisches Potenzial der p-Hydroxybenzoesäure

- p-Hydroxybenzoic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	93
2	92
3	84
4	78
5	82
6	79
7	77
8	84
9	75
10	68

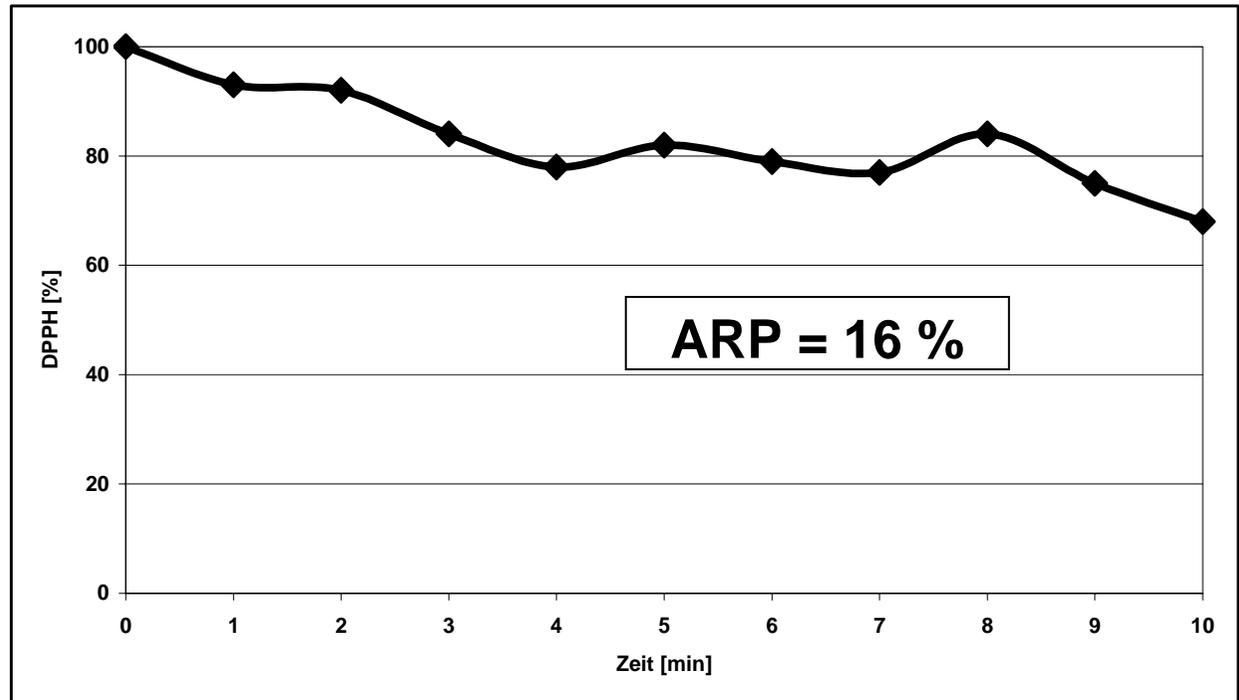
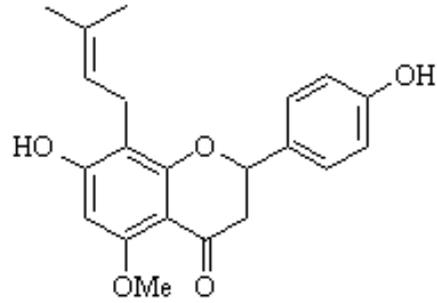


Abbildung A13: Antiradikalisches Potenzial von Isoxanthohumol



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	52
2	52
3	52
4	51
5	52
6	51
7	51
8	49
9	51
10	51

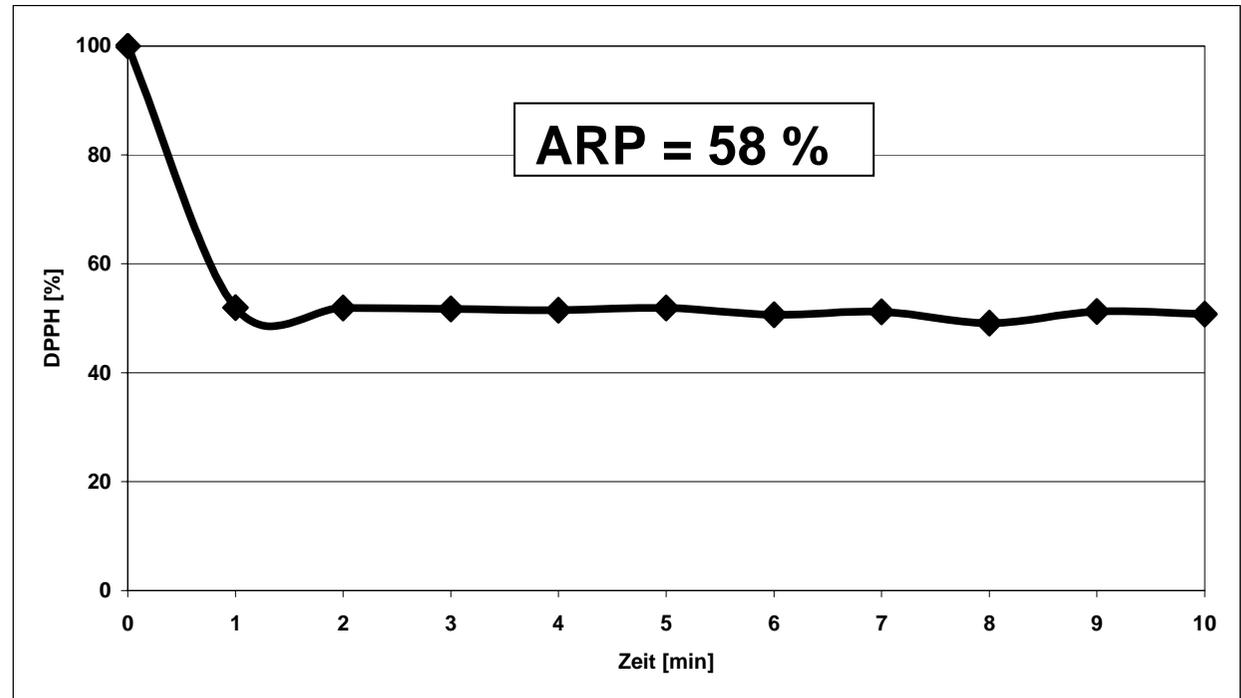
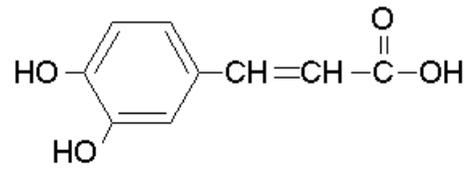


Abbildung A14: Antiradikalisches Potenzial von Kaffeesäure

- 3,4-Dihydroxymzimtsäure
- Caffeic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	45
2	39
3	31
4	29
5	28
6	24
7	24
8	21
9	23
10	20

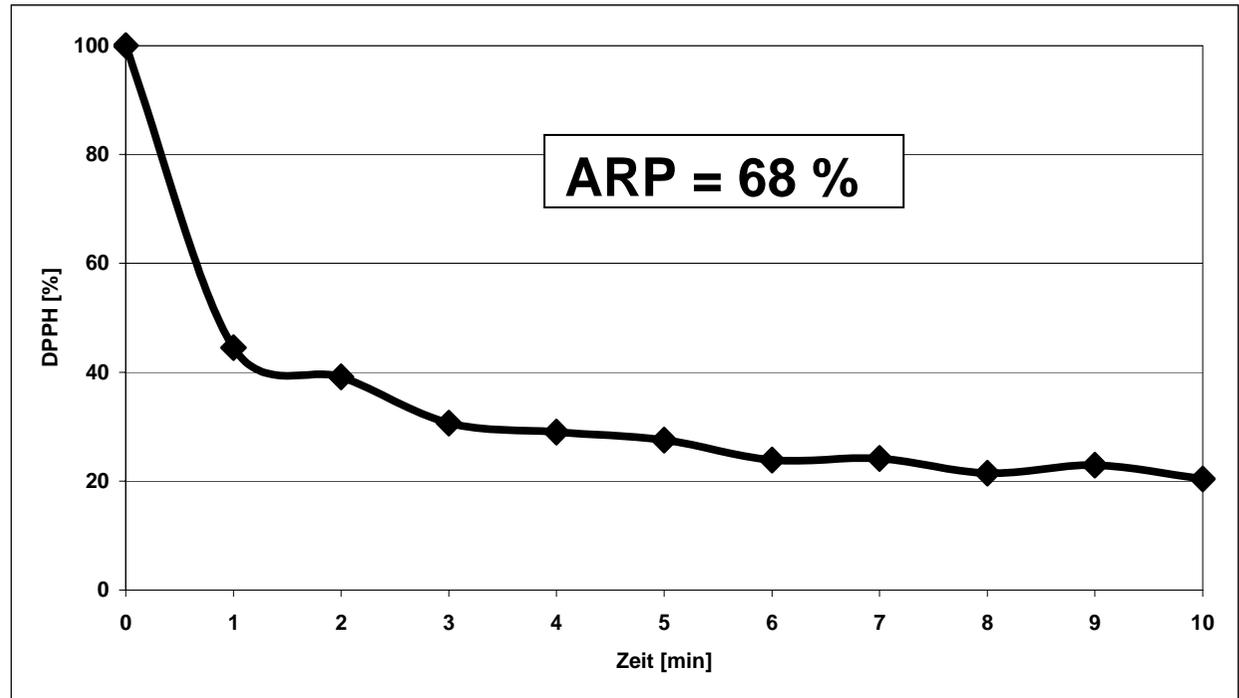
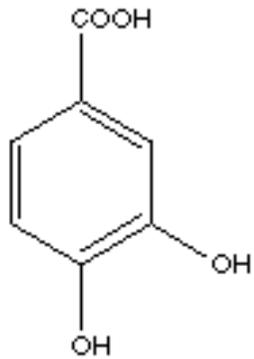


Abbildung A15: Antiradikalisches Potenzial der Protocatechussäure

- Protocatechic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	90
2	81
3	79
4	70
5	66
6	66
7	59
8	61
9	58
10	55

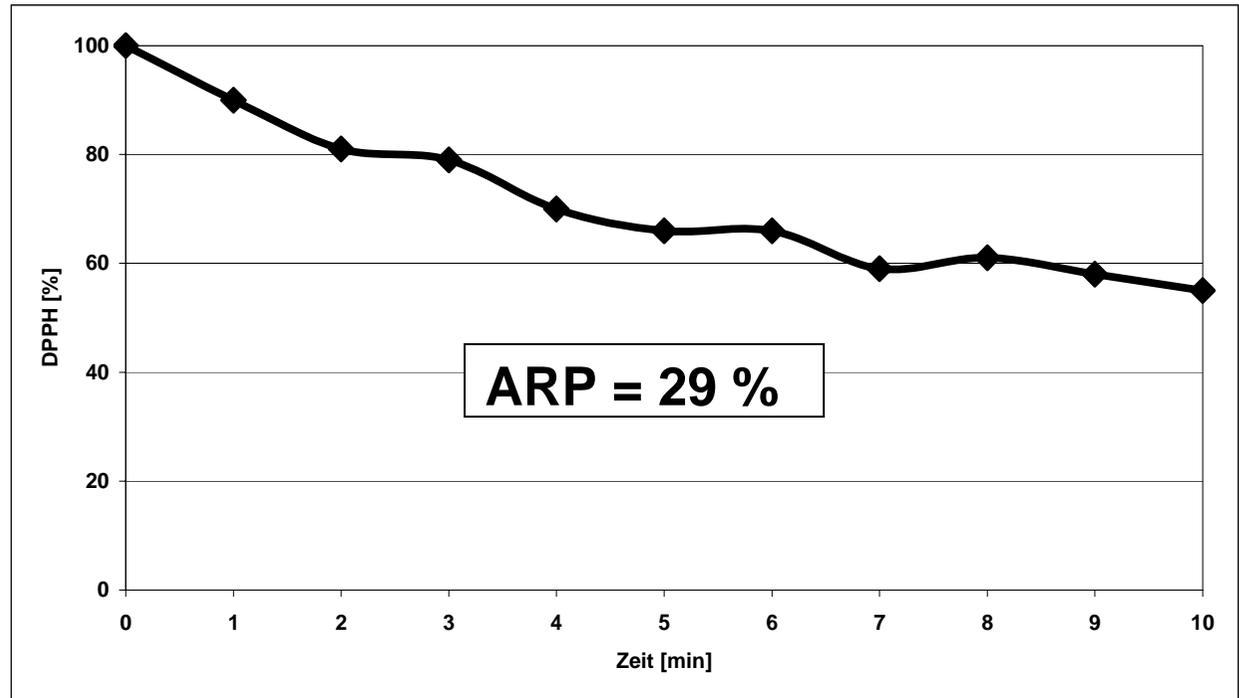
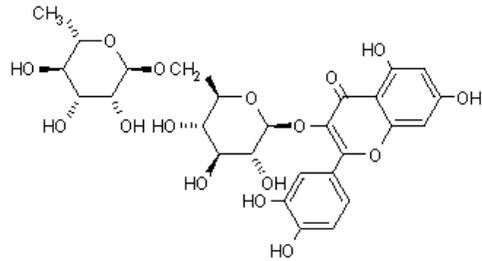


Abbildung A16: Antiradikalisches Potenzial von Rutin



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	76
2	72
3	70
4	52
5	63
6	64
7	60
8	59
9	43
10	59

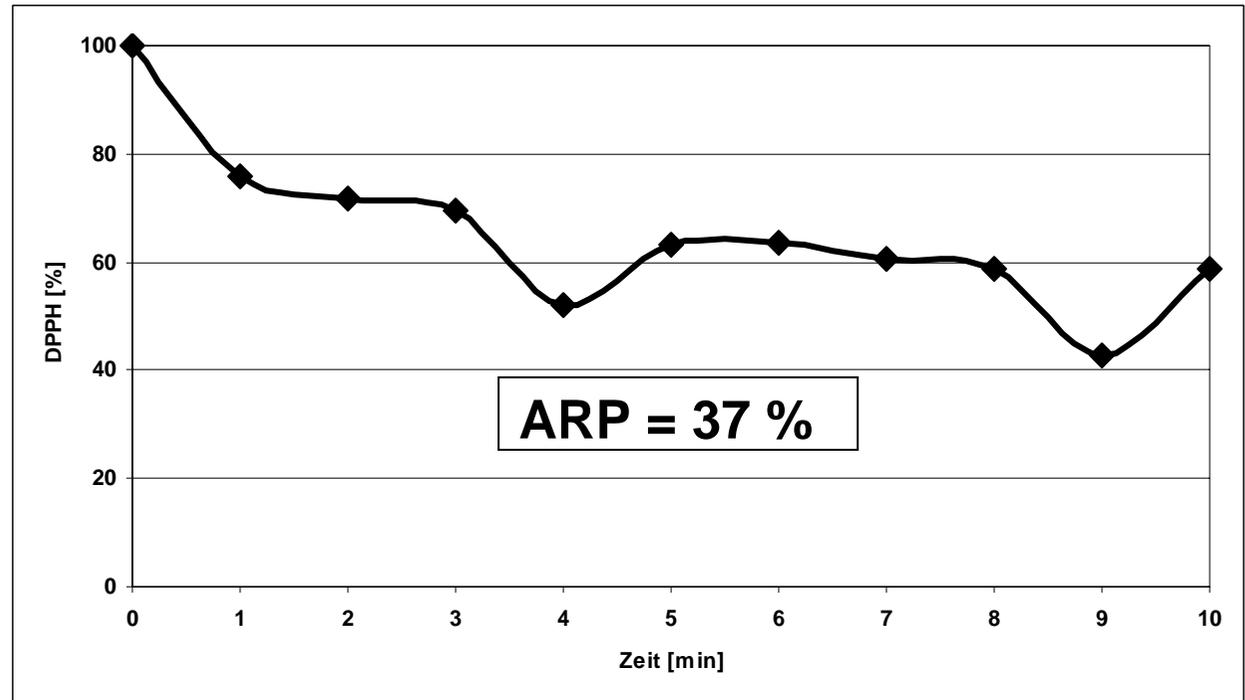
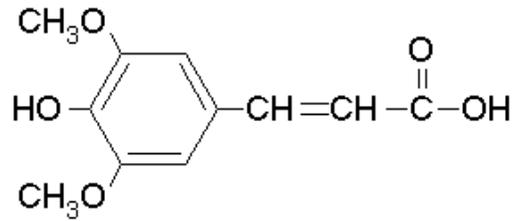


Abbildung A17: Antiradikalisches Potenzial der Sinapinsäure

- 3,5-Dimethoxy-4-hydroxyzimtsäure
- Sinapic acid, Sinapinic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	4
2	3
3	3
4	3
5	2
6	2
7	3
8	2
9	2
10	2

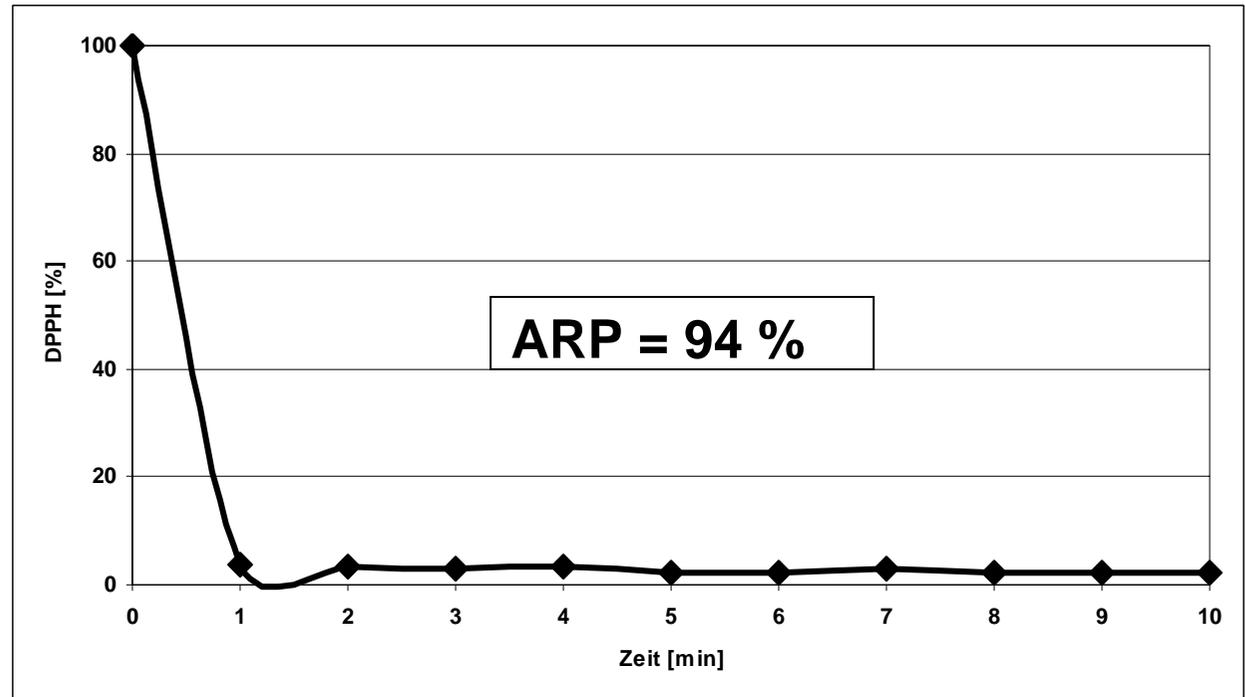
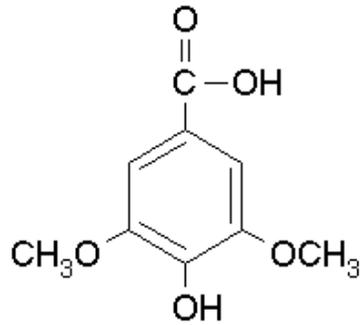


Abbildung A18: Antiradikalisches Potenzial der Syringinsäure

- 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoesäure
- Syringic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	89
2	78
3	77
4	73
5	65
6	74
7	66
8	62
9	63
10	63

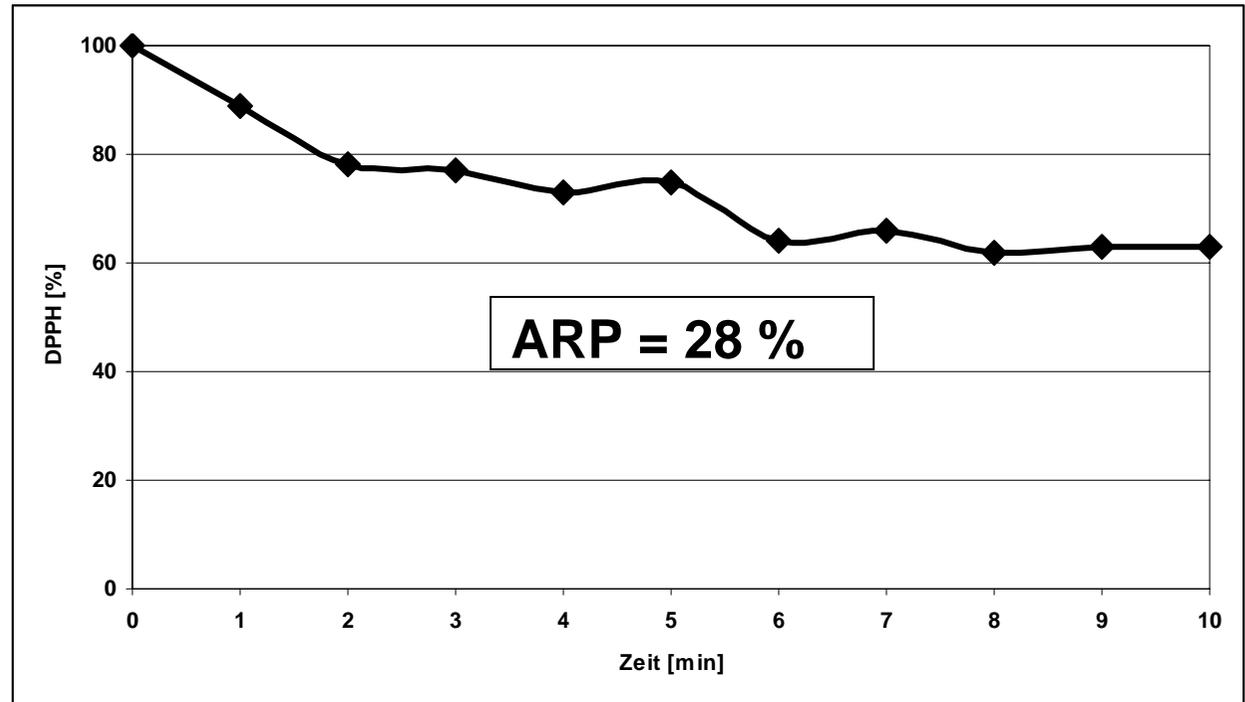
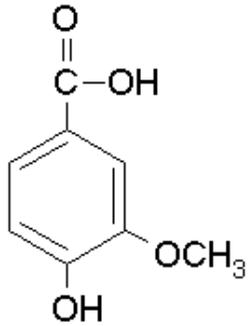


Abbildung A19: Antiradikalisches Potenzial der Vanillinsäure

- 4-Hydroxy-3-methoxybenzoessäure
- Vanillic acid



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	99
2	95
3	100
4	78
5	85
6	93
7	83
8	85
9	83
10	81

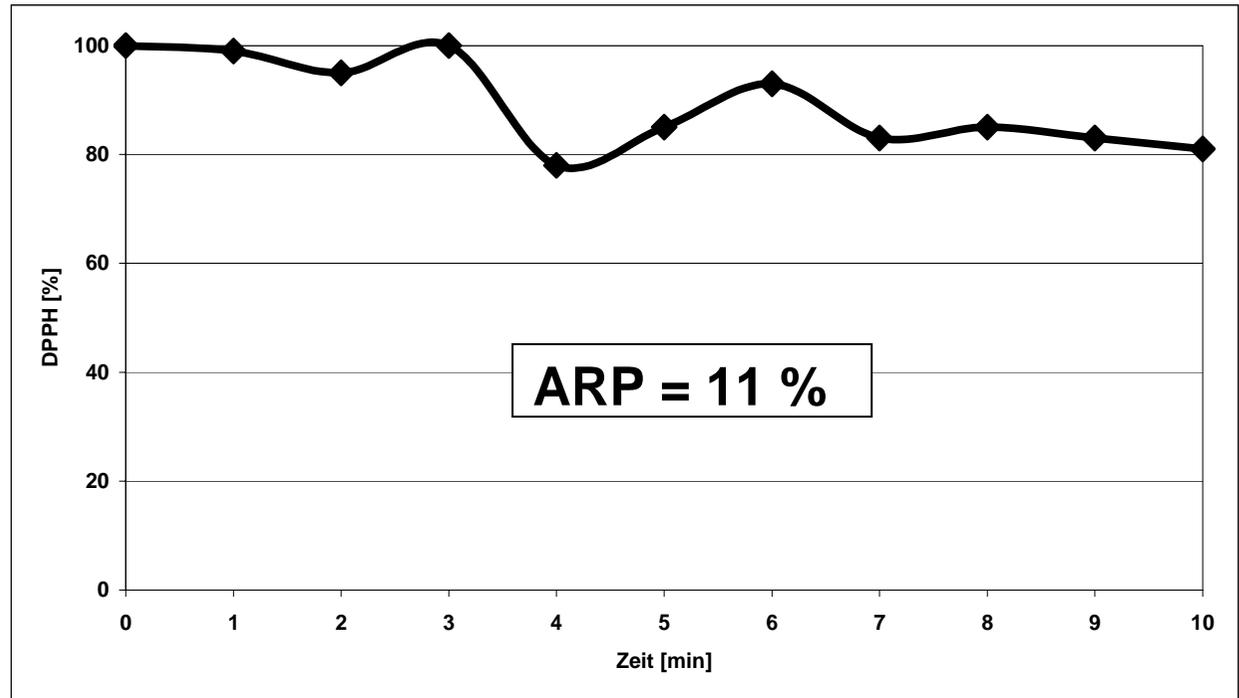
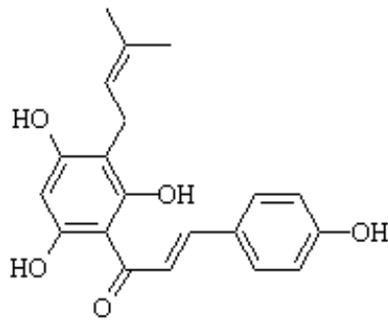


Abbildung A20: Antiradikalisches Potenzial von Xanthohumol

- Xanthohumol



Zeit [min]	DPPH [%]
0	100
1	47
2	47
3	48
4	46
5	47
6	46
7	45
8	44
9	43
10	43

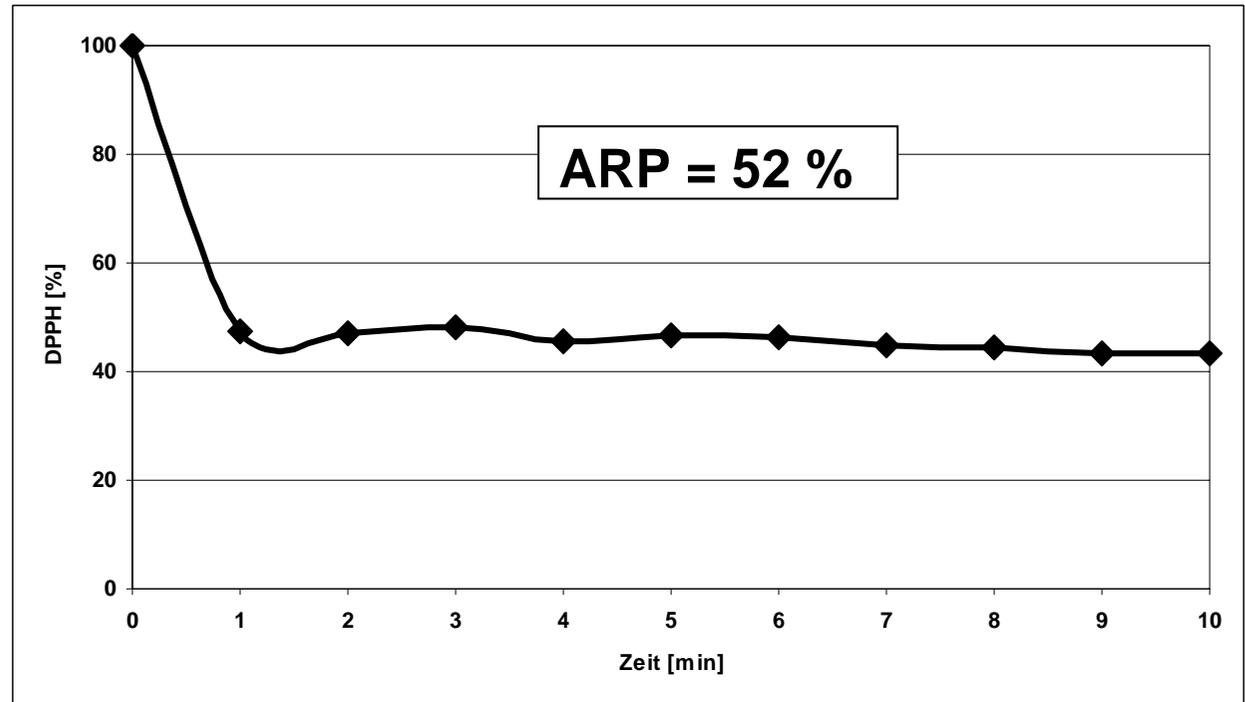


Tabelle T2: Steigerung des antiradikalischen Potenzials von Bier nach Zugabe von phenolischen Substanzen

Probe	Antiradikalisches Potenzial [%]
Bier (0-Probe)	77
Gallussäure	82
Bier + Gallussäure	93
Gentisinsäure	58
Bier + Gentisinsäure	87
Protocatechussäure	29
Bier + Protocatechussäure	82
Syriginsäure	27
Bier + Syriginsäure	81
p-Hydroxybenzoesäure	16
Bier + p-Hydroxybenzoesäure	78

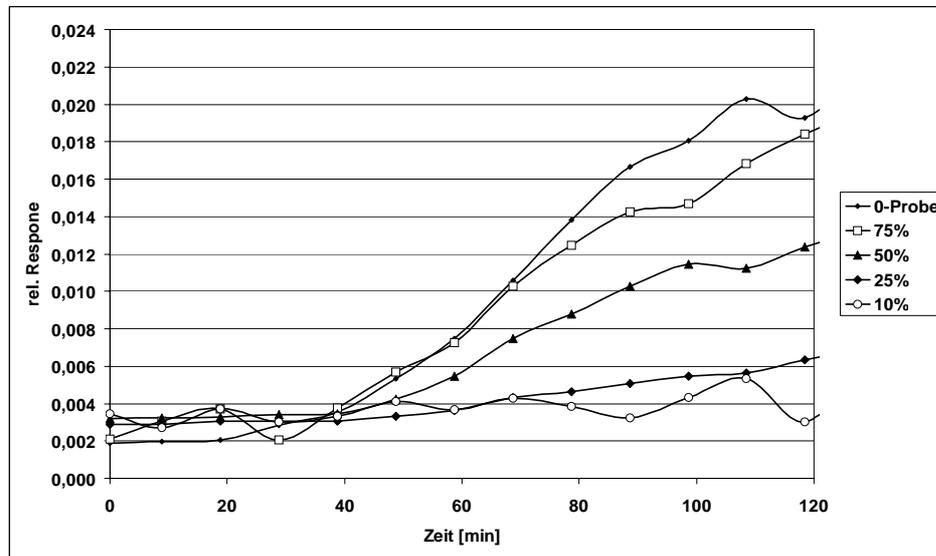
Tabelle T3: Korrelation zwischen Gesamtpolyphenolen in Bier und dem antiradikalischen Potenzial

Gesamtpolyphenole [mg/l]	Antiradikalisches Potenzial [%]	Gesamtpolyphenole [mg/l]	Stabilitätsindex [%]
142	73	100	46
141	78	114	66
177	62	102	68
84	64	132	66
192	70	166	63
85	46	122	69
99	47	96	68
105	53	180	80
187	84	152	75
86	52	166	81
109	57	189	66
36	58		

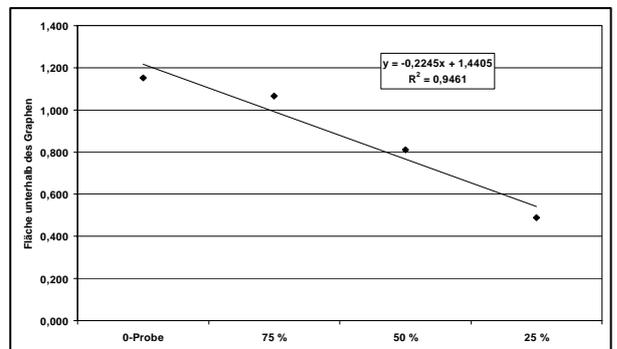
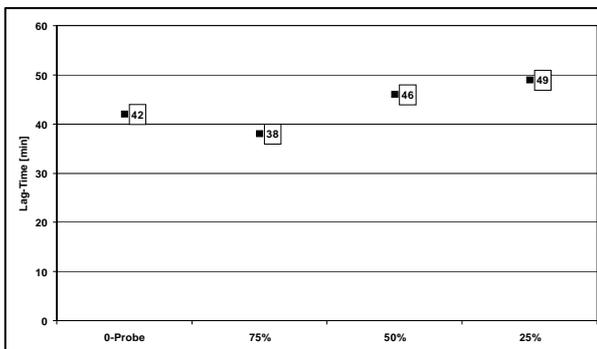
Tabelle T4: Korrelation zwischen dem Stabilitätsindex und der Alterungsakzeptanz

Alterungsakzeptanz	Stabilitätsindex	Alterungsakzeptanz	Stabilitätsindex
[%]	[%]	[%]	[%]
58	52	68	65
60	45	57	52
75	59	80	64
58	47	84	63
62	62	62	60
83	61	58	58
83	61	62	64
58	51	80	65
45	60	90	62
60	48	90	62
93	57	80	56
67	50	88	56
87	55	65	56
63	50	86	59
83	63	68	59
65	47	72	61
78	62	70	59

Abbildung A21: Verdünnungsreihen von Bier mit Wasser (Aqua bidest.):



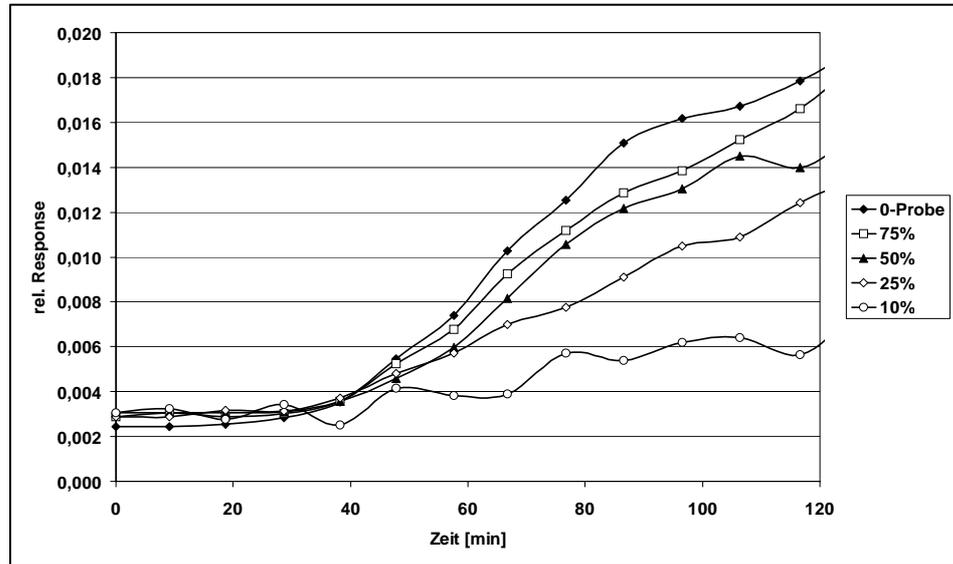
Radikalentstehung in Bier: Verdünnungsreihe mit Aqua bidest. Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an.



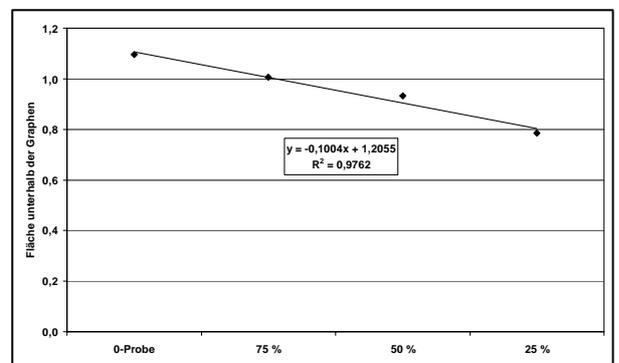
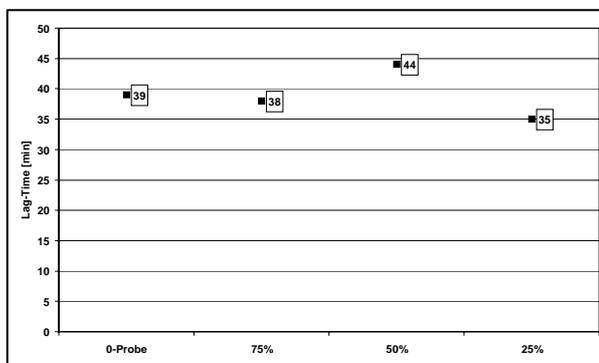
Verlauf der Lag-Time und der Fläche unterhalb der Graphen:

Verdünnungsreihe mit Aqua bidest. Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an. (Bei 10 % Bieranteil war die Auswertung der Lag-Time nicht mehr möglich)

Abbildung A22: Verdünnungsreihen von Bier mit Wasser (5 % Vol. EtOH):



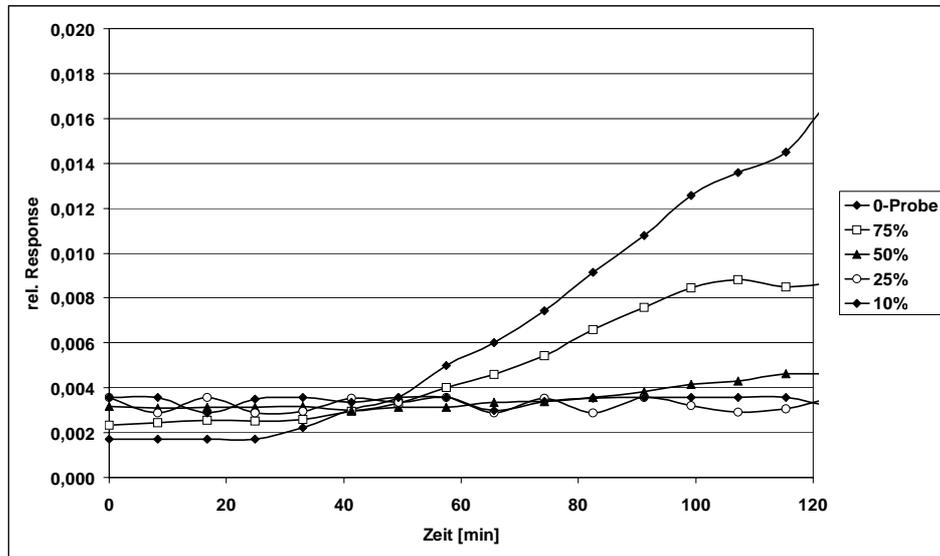
Radikalentstehung in Bier: Verdünnungsreihe mit Aqua bidest und EtOH. Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres in der Verdünnung an.



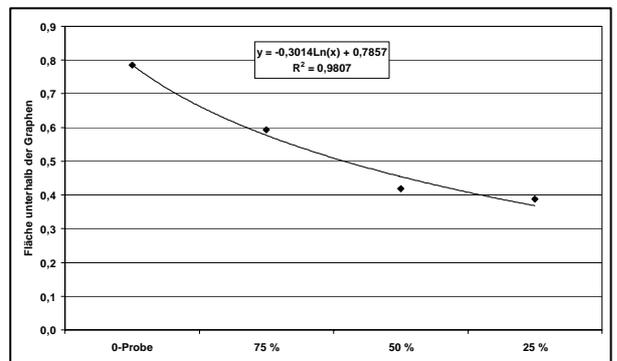
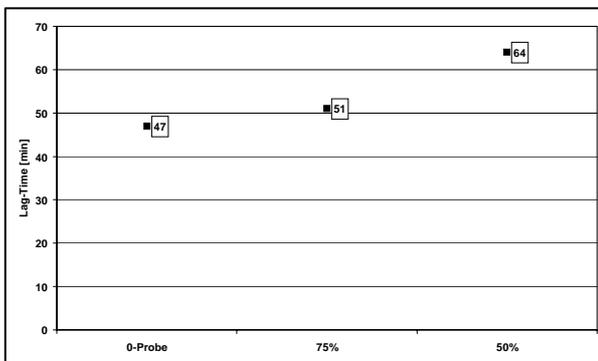
Verlauf der Lag-Time und der Fläche unterhalb der Graphen:

Verdünnungsreihe mit Aqua bidest (5 % Vol. EtOH). Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an. (Bei 10 % Bieranteil war die Auswertung der Lag-Time nicht mehr möglich)

Abbildung A23: Verdünnungsreihen von Bier mit Acetatpuffer (pH 4,3):



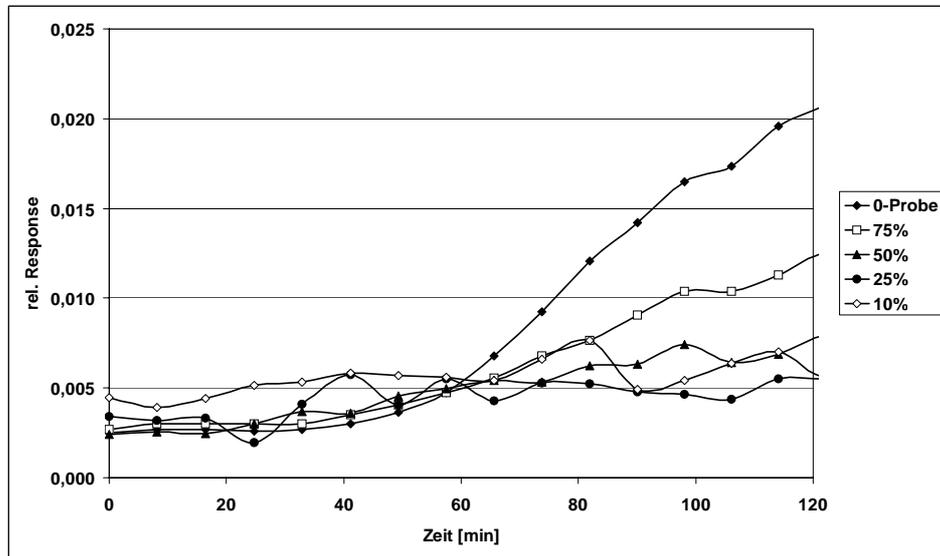
Radikalentstehung in Bier: Verdünnungsreihe mit Acetatpuffer(pH 4,3). Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an.



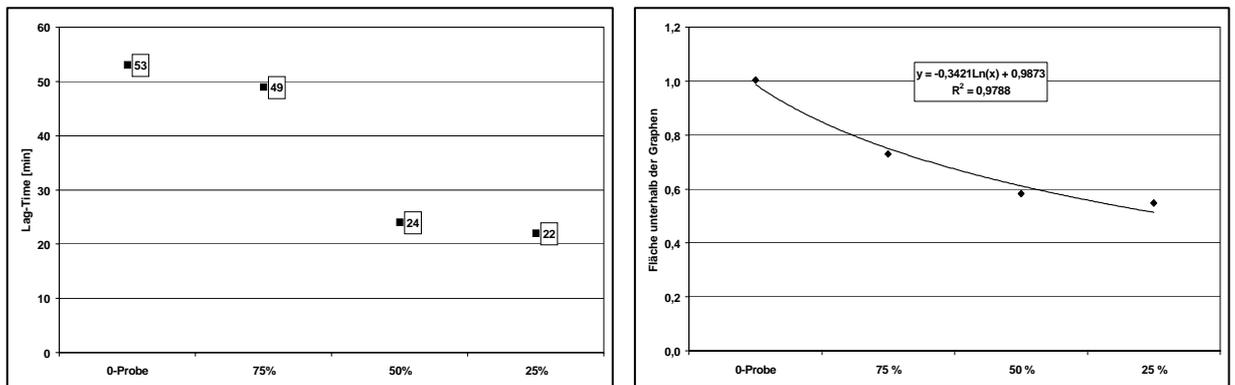
Verlauf der Lag-Time und der Fläche unterhalb der Graphen:

Verdünnungsreihe mit Acetatpuffer (pH 4,3). Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an. (Bei 25 % und 10 % Bieranteil war die Auswertung der Lag-Time nicht mehr möglich)

Abbildung A24: Verdünnungsreihen von Bier mit Acetatpuffer (pH 4,3 und 5 % Vol. EtOH):



Radikalentstehung in Bier: Verdünnungsreihe mit Acetatpuffer (pH 4,3 und 5%Vol. EtOH). Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres in der Verdünnung an.



Verlauf der Lag-Time und der Fläche unterhalb der Graphen: Verdünnungsreihe mit Acetatpuffer (pH 4,3 und 5 % Vol. EtOH). Die Prozentangabe gibt den Anteil des Bieres an. (Bei 10 % Bieranteil war die Auswertung der Lag-Time nicht mehr möglich)

Tabelle T5: Zusammenhang zwischen der Chemilumineszenzmessung und den Würzedaten.

	Einmisch- peak [Signal]	2. Peak [Signal]	Summe der Strecker-aldehyde [µg/l]	Gesamtpolyphenole [mg/l]	Tannine [mg PVP/l]	Anthocyanogene [mg/l]	Polymerisations- index	Gesamtpolyphenole/ Tannine
A	8200	3300	154	167	67	76	2,20	2,49
B	10700	4100	428	224	68	87	2,57	3,29
C	9400	2900	236	204	80	88	2,32	2,55
D	10700	2700	388	177	110	114	1,55	1,61
E	8800	2700	219	176	77	84	2,10	2,29
F	11800	3000	312	242	113	93	2,60	2,14
G	8200	2500	256	222	104	72	3,08	2,13

Tabelle T6: Gehalte an phenolischen Substanzen in Kaltauszügen von Getreide und Malzen.

	Extrakt [GG-%]	Gesamt- polyphenole [mg/l]	Gesamt- polyphenole [mg/g TrS.]	Tanninoide [mg PVP/l]	Tanninoide [mg PVP/g TrS.]	Anthocyano- gene [mg/l]	Anthocyano- gene [mg/g TrS.]	Flavonoide [mg/l]	Flavonoide [mg/h TrS.]
Gerste	0,92	51	5,9	24	2,8	18	2,1	50	5,8
Pilsner Malz	2,22	68	7,1	21	2,2	11	1,2	20	2,1
Münchner Malz	2,61	56	5,9	29	3,0	13	1,4	22	2,3
Wiener Malz	2,53	73	7,6	17	1,7	14	1,4	22	2,3
Melanoidin Malz	2,61	86	9,0	14	1,5	19	2,0	24	2,5
Weizen	1,07	23	2,7	-	-	1	0,1	34	4,0
Weizenmalz hell	2,12	19	2,0	-	-	2	0,2	20	2,1
Weizenmalz dkl.	2,38	19	2,0	-	-	3	0,3	19	2,0
Roggenröstmalz	5,52	690		n.n.		44		620	
Roggen	1,44	15		-		1		43	
Caramüch	2,88	114		25		36		60	
Carahell	2,19	44		8		15		26	
Carahell,Bio	1,00	75		20		18		50	
Biogerste	2,86	84		15		12		55	
Carafa	5,61	565		-		76		615	
Rauchmalz	2,35	94		41		20		40	
Schwarzer Reis	0,77	224		49		195		43	
Hirse	0,80	40		10		3		38	

n.n. = nicht nachweisbar

dkl. = dunkel

Tabelle 7: Antioxidative Tests in Kaltauszügen von Getreide und Malzen.

	Antiradika- lisches Verhalten [%]	Antiradika- lisches Potenzial [%]	Reduktions- vermögen [%]	Stabilitäts- index [%]
Gerste	84	76	46	56
Pilsner Malz	91	72	30	54
Münchner Malz	80	87	55	58
Wiener Malz	82	84	63	60
Melanoidin Malz	81	91	95	67
Weizen	88	49	18	40
Weizenmalz hell	86	53	25	44
Weizenmalz dkl.	78	71	56	54

dkl. = dunkel

Tabelle T8: Gehalt an phenolischen Substanzen in Malzen aus zwei Anbaugebieten.

A	Extrakt [GG-%]	pH	Gesamtpolyphenole [mg/l]	Anthocyanogene [mg/l]	Tannoiide [mg PVP/l]	Gesamtpolyphenole/ Tannoiide	PI	ESR Rel. Resp.
Pasadena	2,21	3,3	43	23	17	2,51	1,87	6,8
Adonis	2,18	3,2	40	21	21	1,93	1,90	7,0
Ursa	2,25	3,3	43	18	13	3,26	2,39	8,2
Auriga	2,29	3,2	35	20	15	2,30	1,75	7,5
Cellar	2,32	3,2	52	26	24	2,17	2,00	7,5
Breamar	2,27	3,3	49	20	17	2,85	2,45	7,9
B								
Pasadena	2,16	3,1	47	35	28	1,68	1,34	9,6
Adonis	2,13	3,0	62	36	35	1,79	1,72	12,0
Ursa	2,12	3,0	40	23	18	2,21	1,74	6,6
Auriga	2,16	3,0	50	29	29	1,71	1,72	9,9
Cellar	2,28	3,1	41	26	25	1,66	1,58	9,0
Breamar	2,19	3,1	27	26	19	1,42	1,04	11,0

Quelle der Sorten:

Erntegut WP3 Ernte 2001

A: Anbaugebiet Nossen (Sachsen)

B: Anbaugebiet Heimbach / Hergarten (Nordrhein-Westfalen)

Tabelle T9: Gehalt an phenolischen Substanzen in Malz (Anbaugebiet A: Nossen).

A	Sinapin- säure [mg/kg]	Ferula- säure [mg/kg]	m/z 609 GG [mg/kg]	m/z 897 GGC Prodelphinidin C2 [mg/kg]	m/z 594 GC Prodelphinidin B3 [mg/kg]	m/z 881 GCC [mg/kg]	m/z 881 CGC [mg/kg]	m/z 577 Procyanidin B3 [mg/kg]	m/z 865 CCC [mg/kg]	Catechin [mg/kg]
Pasadena	0,96	4,66	3,90	65,07	156,35	110,16	66,93	232,79	101,68	5,01
Adonis	0,86	4,84	5,73	82,67	182,32	102,96	67,08	229,96	89,50	3,56
Ursa	1,36	4,4	3,47	46,68	126,53	62,65	36,77	134,73	46,74	5,73
Auriga	1,21	5,14	3,97	56,03	139,03	77,81	46,19	168,00	59,84	4,52
Cellar	1,32	5,32	3,49	67,11	162,42	122,02	73,63	262,47	124,33	11,54
Breamar	1,35	3,81	3,64	44,82	112,23	63,95	42,93	149,63	58,34	5,33

Tabelle T10: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Würzesäuerung (Reihe1).

Alterungsindikatoren in µg/l	Vergleich		WS 1	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	2,8	n.a.	4,2
3-Methyl-Butanal (S,A)	15	10	13	18
2-Furfural (W,A)	31	103	31	47
5-Methyl-Furfural (A)	8,5	6,6	8,2	9,4
Benzaldehyd (S,A)	0,8	1,3	0,7	0,8
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	9,4	18	10	18
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	0,6	0,5	1,1	1,2
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	2,0	9,1	2,6	9,1
Phenylelessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,5	0,9	0,6	0,9
2-Acetyl-Furan (A)	n.a.	5,5	n.a.	7,3
2-Propionyl-Furan (A)	12	11	14	12
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon	16	19	11	14
gamma-Nonalacton (W,A)	13	36	18	17
Summe der Wärmeindikatoren	44	138	49	64
Summe der Sauerstoffindikatoren	25	29	23	37
Summe der Alterungskomponenten	91	192	96	131

S = Sauerstoffindikator

W = Wärmeindikator

A = Alterungsindikator

Sp. = Spuren

n.a. = nicht auswertbar

n. n. = nicht nachweisbar

WS 2

WS 3

Alterungsindikatoren in µg/l

frisch

forciert

frisch

forciert

2-Methyl-Butanal		n.a.	n.a.	n.a.	6,4
3-Methyl-Butanal	(S,A)	12	8,0	20	16
2-Furfural	(W,A)	31	36	32	78
5-Methyl-Furfural	(A)	7,9	5,3	11	9,5
Benzaldehyd	(S,A)	0,6	0,8	0,5	0,8
2-Phenyl-Ethanal	(S,A)	6,9	8,6	15	17
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	(A)	0,5	1,4	0,7	0,7
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		3,0	1,3	4,3	13
Phenylelessigsäure-Ethyl-Ester	(A)	0,6	0,7	0,3	1,0
2-Acetyl-Furan	(A)	n.a.	3,7	n.a.	n.a.
2-Propionyl-Furan	(A)	13	6,0	15	14
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		18	38	14	17
gamma-Nonalacton	(W,A)	14	20	14	20
Summe der Wärmeindikatoren		46	56	46	98
Summe der Sauerstoffindikatoren		19	17	35	34
Summe der Alterungskomponenten		87	90	108	157

S = Sauerstoffindikator

Sp. = Spuren

W = Wärmeindikator

n.a. = nicht auswertbar

A = Alterungsindikator

n. n. = nicht nachweisbar

Tabelle T11: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe1).

Alterungsindikatoren in µg/l	MS 1		MS 2	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	6,4	6,5	7,9
3-Methyl-Butanal (S,A)	11	14	12	16
2-Furfural (W,A)	28	64	26	55
5-Methyl-Furfural (A)	7,9	9,3	7,9	8,4
Benzaldehyd (S,A)	1,5	1,7	1,2	1,4
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	6,3	13	6,9	13
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	0,6	0,8	0,6	0,7
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	4,8	9,3	6,1	10
Phenylelessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,9	1,0	0,9	0,9
2-Acetyl-Furan (A)	7,0	7,3	7,0	7,2
2-Propionyl-Furan (A)	2,4	3,0	2,2	2,6
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon	17	18	13	15
gamma-Nonalacton (W,A)	17	20	18	19
Summe der Wärmeindikatoren	45	85	45	74
Summe der Sauerstoffindikatoren	19	30	20	30
Summe der Alterungskomponenten	82	136	84	124

S = Sauerstoffindikator

W = Wärmeindikator

A = Alterungsindikator

Sp. = Spuren

n.a. = nicht auswertbar

n. n. = nicht nachweisbar

MS 3

Alterungsindikatoren in µg/l frisch forciert

2-Methyl-Butanal		n.a.	6,6
3-Methyl-Butanal	(S,A)	15	17
2-Furfural	(W,A)	27	28
5-Methyl-Furfural	(A)	8,9	9,0
Benzaldehyd	(S,A)	0,8	1,0
2-Phenyl-Ethanal	(S,A)	8,5	14
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	(A)	0,9	0,9
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		3,9	8,5
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester	(A)	0,8	1,0
2-Acetyl-Furan	(A)	8,8	9,7
2-Propionyl-Furan	(A)	2,3	2,8
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		11	15
gamma-Nonalacton	(W,A)	15	19
Summe der Wärmeindikatoren		42	47
Summe der Sauerstoffindikatoren		24	32
Summe der Alterungskomponenten		88	103

S = Sauerstoffindikator

Sp. = Spuren

W = Wärmeindikator

n.a. = nicht auswertbar

A = Alterungsindikator

n. n. = nicht nachweisbar

Tabelle T12: Alterungsindikatoren zu den Versuchen der Maischesäuerung (Reihe2).

Alterungsindikatoren in µg/l	Vergleich		MS 4	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	n.a.	n.a.	8,5
3-Methyl-Butanal (S,A)	19	22	15	19
2-Furfural (W,A)	34	84	30	60
5-Methyl-Furfural (A)	8,2	11	9,1	9,6
Benzaldehyd (S,A)	0,7	1,9	0,7	1,2
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	13	14	8,2	17
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	0,7	0,9	0,6	0,9
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	5,1	10	5,1	10
Phenylelessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,6	0,9	0,8	1,0
2-Acetyl-Furan (A)	n.a.	2,1	7,3	8,6
2-Propionyl-Furan (A)	2,0	3,1	2,3	3,1
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon	17	19	12	18
gamma-Nonalacton (W,A)	16	20	16	19
Summe der Wärmeindikatoren	50	104	46	80
Summe der Sauerstoffindikatoren	33	38	24	37
Summe der Alterungskomponenten	95	160	90	140

S = Sauerstoffindikator

W = Wärmeindikator

A = Alterungsindikator

Sp. = Spuren

n.a. = nicht auswertbar

n. n. = nicht nachweisbar

Alterungsindikatoren in µg/l	MS 5		MS 6	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	19	n.a.	n.a.
3-Methyl-Butanal (S,A)	18	23	15	22
2-Furfural (W,A)	29	66	31	83
5-Methyl-Furfural (A)	9,7	9,9	9,2	10
Benzaldehyd (S,A)	0,7	1,2	0,6	0,9
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	9,4	18	8,9	22
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	0,9	1,2	0,6	1,0
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	5,6	10	3,9	10
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,9	1,1	0,9	1,2
2-Acetyl-Furan (A)	9,5	14	7,4	7,8
2-Propionyl-Furan (A)	2,3	3,1	2,1	2,9
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon	11	23	12	11
gamma-Nonalacton (W,A)	16	22	16	19
Summe der Wärmeindikatoren	45	88	47	102
Summe der Sauerstoffindikatoren	28	42	24	44
Summe der Alterungskomponenten	97	160	91	170

S = Sauerstoffindikator

W = Wärmeindikator

A = Alterungsindikator

Sp. = Spuren

n.a. = nicht auswertbar

n. n. = nicht nachweisbar

Tabelle T13: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Würze-säuerung (Reihe 1).

DLG	Vergleich frisch	Vergleich forciert	WS 1 frisch	WS 1 forciert
Geruch	4,2	2,9	4,3	3,3
Trunk	4,1	3,3	4,5	3,2
Vollmundigkeit	4,3	4,3	4,3	4,3
Rezenz	4,5	4,2	4,6	4,3
Bittere	4,1	3,9	4,1	3,9
Gewichtete Note	4,20	3,59	4,34	3,68

Alterungs- verkostung	Vergleich frisch	Vergleich forciert	WS 1 frisch	WS 1 forciert
Geruch	1,0	2,9	1,0	2,5
Trunk	1,0	2,5	1,0	2,5
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,4
Gewichtete Note	1,0	2,5	1,0	2,3
Akzeptanz (%)	100	25	100	35

DLG	WS 2 frisch	WS 2 forciert	WS 3 frisch	WS 3 forciert
Geruch	4,3	3,2	4,2	3,2
Trunk	4,3	3,3	4,1	3,3
Vollmundigkeit	4,4	4,3	4,3	4,3
Rezenz	4,7	4,3	4,6	4,3
Bittere	4,1	3,8	4,1	3,8
Gewichtete Note	4,31	3,65	4,21	3,65

Alterungsverkostung	WS 2 frisch	WS 2 forciert	WS 3 frisch	WS 3 forciert
Geruch	1,0	2,5	1,0	2,6
Trunk	1,0	2,3	1,0	2,4
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,5
Gewichtete Note	1,0	2,2	1,0	2,3
Akzeptanz (%)	100	47	100	37

Tabelle T14: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Maischensäuerung (Reihe 1).

DLG	MS 1 frisch	MS 1 forciert	MS 2 frisch	MS 2 forciert
Geruch	4,6	3,4	4,6	3,9
Trunk	4,5	3,3	4,4	3,9
Vollmundigkeit	4,9	4,5	4,8	4,6
Rezenz	4,5	4,4	4,4	4,6
Bittere	4,0	3,9	4,1	4,1
Gewichtete Note	4,45	3,76	4,43	4,13

Alterungsverkostung	MS 1 frisch	MS 1 forciert	MS 2 frisch	MS 2 forciert
Geruch	1,0	1,7	1,0	1,3
Trunk	1,0	2,2	1,0	1,3
Bittere	1,0	1,3	1,0	1,2
Gewichtete Note	1,0	1,8	1,0	1,3
Akzeptanz (%)	100	63	100	90

DLG	MS 3 frisch	MS 3 forciert
Geruch	4,4	3,8
Trunk	4,4	3,8
Vollmundigkeit	4,8	4,6
Rezenz	4,6	4,5
Bittere	4,1	4,1
Gewichtete Note	4,40	4,06

Alterungsverkostung	MS 3 frisch	MS 3 forciert
Geruch	1,0	1,5
Trunk	1,0	1,7
Bittere	1,0	1,2
Gewichtete Note	1,0	1,5
Akzeptanz (%)	100	77

Tabelle T15: Alterungsverkostung der Biere aus den Versuchen der Maischensäuerung (Reihe 2).

DLG	Vergleich frisch	Vergleich forciert	MS 4 frisch	MS 4 forciert
Geruch	4,5	3,1	4,1	3,3
Trunk	4,3	3,2	4,2	3,2
Vollmundigkeit	4,2	3,9	4,1	3,7
Rezenz	4,5	4,1	4,1	4,1
Bittere	3,8	3,9	4,0	3,9
Gewichtete Note	4,24	3,55	4,10	3,58

Alterungsverkostung	Vergleich frisch	Vergleich forciert	MS 4 frisch	MS 4 forciert
Geruch	1,0	2,5	1,0	2,0
Trunk	1,0	2,3	1,0	2,2
Bittere	1,0	1,2	1,0	1,2
Gewichtete Note	1,0	2,2	1,0	1,9
Akzeptanz (%)	100	50	100	57

DLG	MS 5 frisch	MS 5 forciert	MS 6 frisch	MS 6 forciert
Geruch	4,0	3,1	4,3	3,5
Trunk	4,2	3,6	4,2	3,5
Vollmundigkeit	4,2	3,8	4,1	3,8
Rezenz	4,1	4,1	4,3	4,1
Bittere	4,0	3,7	4,1	3,9
Gewichtete Note	4,09	3,59	4,20	3,71

Alterungsverkostung	MS 5 frisch	MS 5 forciert	MS 6 frisch	MS 6 forciert
Geruch	1,0	1,8	1,0	1,7
Trunk	1,0	1,7	1,0	1,8
Bittere	1,0	1,3	1,0	1,3
Gewichtete Note	1,0	1,7	1,0	1,7
Akzeptanz (%)	100	43	100	60

Tabelle T16: Daten zu den Maische- und Würzesäuerungsversuchen.

Würzedaten	Reihe 1							Reihe 2			
	Vergleich	WS 1	WS 2	WS 3	MS 1	MS 2	MS 3	Vergleich	MS 4	MS 5	MS 6
Pfannevollwürzemenge [l]	68	68	68	68	71	70	68	68	70	71	71
Extrakt der Pfannevollwürze [%]	10,6	10,4	10,2	10,3	10,4	10,7	10,2	10,2	10,6	10,5	10,4
Ausschlagwürzemenge [l]	60	61	60	59	62	62	59	59	62	63	64
Extrakt der Ausschlagwürze [%]	12,4	12,2	12,1	12,1	12,1	12,4	12,1	12,0	12,1	12,0	11,9
Sauergutmengemenge [l]	-	1,28	0,97	0,13	3,60	2,70	0,37	-	2,14	3,37	2,90
Milchsäurekonzentration [GV-%]	-	1,03	1,35	10	1,03	1,35	10	-	1,63	1,03	1,20
pH der Maische	-	-	-	-	5,12	5,18	5,18	5,80	5,08	5,14	5,17
pH der Ausschlagwürze	5,65	5,16	5,18	5,22	5,16	5,14	5,08	5,74	5,05	5,11	5,14
Farbe [EBC]	8,6	9,3	8,5	8,1	7,7	7,4	8,7	9,0	9,6	7,9	7,9
Gesamtpolyphenole [mg/l]	236	253	241	276	317	285	267	252	258	248	260
Anthocyanogene [mg/l]	88	121	120	104	74	72	97	92	128	120	125
Polymerisationsindex	2,68	2,09	2,01	2,65	4,28	3,96	2,75	2,74	2,02	2,07	2,08
Antiradikalisches Potenzial [%]	88	88	87	87	89	86	81	73	78	77	80
Reduktionsvermögen [%]	62	61	55	59	52	47	47	73	49	50	53

Tabelle T17: Bierdaten zu den Maische- und Würzesäuerungsversuchen.

Bierdaten	Vergleich	WS 1	WS 2	WS 3	MS 1	MS 2	MS 3	Vergleich	MS 4	MS 5	MS 6
Gesamtpolyphenole [mg/l]	203	195	201	191	218	214	205	198	180	188	192
Anthocyanogene [mg/l]	72	75	73	77	93	94	92	76	85	86	85
Polymerisationsindex	2,81	2,61	2,77	2,46	2,27	2,16	2,18	2,60	2,13	2,17	2,25
Tannoide [mg PVP/l]	38	44	47	39	71	74	68	38	55	56	57
Gesamtpolyphenole /Tannoide	5,34	4,43	4,28	4,90	3,07	2,89	3,01	5,21	3,27	3,36	3,37
SO ₂ [mg/l]	4,8	6,0	7,1	6,5	4,8	8,5	6,0	3,8	3,0	5,5	4,6
Lag-Time [%]	55	62	69	64	48	66	57	41	29	48	40
Antiradikalisches Verhalten [%]	52	70	78	66	53	74	64	34	11	41	29
Antiradikalisches Potenzial [%]	82	85	87	87	88	89	86	82	80	82	80
Reduktionsvermögen [%]	47	43	44	47	44	43	40	30	27	28	27
Stabilitätsindex [%]	59	65	70	66	58	68	62	47	37	50	44
pH	4,96	4,64	4,57	4,77	4,72	4,68	4,70	4,92	4,81	4,80	4,70

Tabelle T18: Mischungsverhältnis zwischen Luft und Würze und der daraus resultierende Gehalt an gelöstem Sauerstoff.

Volumenverhältnis Luft / Würze [l/l]	Volumenverhältnis Luft / Würze [l/l]	O₂ [mg/l] (Würze ohne Hefe)	O₂ [mg/l] (Würze mit Hefe)
0/20	0,00		
0,5/19,5	0,03	5,0	0,2
1/19	0,05	6,0	0,5
2/18	0,11	9,4	3,1
4/16	0,25	10,8	4,8
6/14	0,43		6,5
8/12	0,67	14,7	

Tabelle T19: SO₂-Bildung in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang bei verschiedenen Gärvolumina.

Volumenverhältnis Luft / Würze [l/l]	10 l	20 l
0,67	2	-
0,43	3	6,6
0,25	3,9	7,5
0,11	3,7	7,5
0,05	5	10,4
0,03	6,5	13,7
0,00	9,3	-

Tabelle T20: SO₂-Bildung zweier Hefen A und B in Abhängigkeit vom Belüftungsumfang.

Volumenverhältnis Luft / Würze [l/l]	Hefe A	Hefe B
0,03	13,7	8,5
0,05	10,4	6,1
0,11	7,5	3,4
0,25	7,5	2,7
0,43	6,6	1,8

Tabelle T21: SO₂-Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt einer zweiten Belüftung und SO₂-Bildung und wirklicher Vergärungsgrad am 12. Gärtag in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung.

Zeitpunkt der Zweitbelüftung [h]	SO₂ [mg/l] Am 12. Gärtag	Wirklicher Vergärungsgrad [%]	SO₂ [mg/l] Am 8. Gärtag
0	5,3	5,5	4,6
1	5,1	5,5	3,9
2	5,1	5,9	4,2
3	4,3	6,2	3,8
4	4,0	6,2	3,3
6	5,0	6,2	4,2
8	5,3	5,5	4,8
10	7,2	6,1	5,7

Tabelle T22: SO₂-Bildung in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zweitbelüftung bei gleichem Vergärungsgrad.

Zeitpunkt der Zweitbelüftung [h]	SO₂ [mg/l]	Wirklicher Vergärungsgrad [%]
0	5,3	5,5
1	5,1	5,5
2	4,2	5,3
3	3,8	5,6
4	3,3	5,6
6	4,2	5,6
8	5,3	5,5
10	5,7	5,6

Tabelle T23: Veränderung der phenolischen Substanzen und antioxidativen Tests von der Würze bis zum Bier.

	Würze	Jungbier	Bier
Gesamtpolyphenole [mg/l]	263	241	141
Anthocyanogene [mg/l]	94	71	34
Tannine [mg PVP/l]	116	50	0
Polymerisationsindex	2,80	3,39	4,15
Lag-Time [%]	n.n.	46	38
Antiradikalisches Verhalten [%]	81	67	63
Antiradikalisches Potenzial [%]	91	89	69
Reduktionsvermögen [%]	61	31	34
Stabilitätsindex [%]	58	58	51

Tabelle T24: Veränderung der Stammwürze, des Alkoholgehaltes und des pH-Wertes während der Stabilisierung, Filtration und Abfüllung.

	Reihe 1			Reihe 2		
	Vor Filter	Druck-tank	Flasche	Vor Filter	Druck-tank	Flasche
Pils						
Stammwürze [GG-%]	11,56	11,42	11,33	11,62	11,55	11,47
Alkohol [Vol.-%]	5,21	5,15	5,10	5,23	5,10	5,18
pH	4,41	4,36	4,30	4,24	4,18	4,22
Helles						
Stammwürze [GG-%]	11,83	11,65	12,41	11,62	11,45	11,46
Alkohol [Vol.-%]	5,32	5,24	5,49	5,26	5,16	5,16
pH	4,41	4,38	4,33	4,35	4,38	4,3
Export						
Stammwürze [GG-%]	12,79	12,48	11,62	12,74	12,5	12,51
Alkohol [Vol.-%]	5,66	5,52	5,22	5,51	5,41	5,43
pH	4,44	4,49	4,44	4,4	4,32	4,38

Tabelle T25: Alterungsindikatoren der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei (Reihe 1).

Alterungsindikatoren in µg/l	Helles		Pils	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	n.a.	n.a.	21
3-Methyl-Butanal (S,A)	10	13	8,0	8,7
2-Furfural (W,A)	16	138	20	165
5-Methyl-Furfural (A)	5,0	5,8	5,3	6,1
Benzaldehyd (S,A)	1,0	1,2	Sp.	0,8
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	10	13	8,8	9,4
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	1,7	2,1	Sp.	2,4
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	n.a.	21	n.a.	18
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,6	0,8	Sp.	0,9
2-Acetyl-Furan (A)	11	14	6,2	8,8
2-Propionyl-Furan (A)	3,2	3,5	3,2	3,6
gamma-Nonalacton (W,A)	20	28	23	31
Summe der Wärmeindikatoren	36	166	43	196
Summe der Sauerstoffindikatoren	20	28	17	19
Summe der Alterungskomponenten	77	220	75	237

S = Sauerstoffindikator

Sp. = Spuren

W = Wärmeindikator

n.a. = nicht auswertbar

A = Alterungsindikator

n. n. = nicht nachweisbar

Export

Alterungsindikatoren in µg/l

frisch

forciert

	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	18
3-Methyl-Butanal (S,A)	11	15
2-Furfural (W,A)	20	168
5-Methyl-Furfural (A)	4,2	5,1
Benzaldehyd (S,A)	1,3	1,4
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	11	19
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	1,5	1,9
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	5,8	19
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,6	0,7
2-Acetyl-Furan (A)	7,6	11
2-Propionyl-Furan (A)	3,0	3,1
gamma-Nonalacton (W,A)	20	31
Summe der Wärmeindikatoren	40	199
Summe der Sauerstoffindikatoren	24	35
Summe der Alterungskomponenten	81	256

S = Sauerstoffindikator

Sp. = Spuren

W = Wärmeindikator

n.a. = nicht auswertbar

A = Alterungsindikator

n. n. = nicht nachweisbar

Tabelle T26: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:
Reihe 1 – Abgefüllte Biere

Abgefülltes Bier	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	17	38	16
LagTime [%]	14	31	13
Antiradikalisches Verhalten [%]	75	84	65
Antiradikalisches Potenzial [%]	68	61	69
Reduktionsvermögen [%]	26	20	26
Stabilitätsindex [%]	46	49	43
Schwefeldioxid [mg/l]	1,3	1,5	1,4
Gesamtpolyphenole [mg/l]	121	107	144
Anthocyanogene [mg/l]	43	33	43
Tannoide [mg PVP/l]	n.n.	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	2,81	3,24	3,35
DLG frisch	4,4	4,4	4,2
DLG forciert	3,8	3,8	3,7
Alterungsnote frisch	1,0	1,0	1,0
Alterungsnote forciert	1,8	1,8	2,0
Alterungsakzeptanz frisch [%]	100	100	100
Alterungsakzeptanz forciert [%]	68	73	53

Tabelle T27: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 1 – Drucktank

Drucktank	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	30	34	17
LagTime [%]	25	28	14
Antiradikalisches Verhalten [%]	79	83	72
Antiradikalisches Potenzial [%]	68	62	72
Reduktionsvermögen [%]	21	26	24
Stabilitätsindex [%]	48	50	46
Schwefeldioxid [mg/l]	n.a.	2,2	n.a.
Gesamtpolyphenole [mg/l]	171	118	175
Anthocyanogene [mg/l]	45	32	62
Tanninoide [mg PVP/l]	n.n.	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	3,80	3,69	2,82

Tabelle T28: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 1 – vor Filter

vor Filter	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	27	50	16
LagTime [%]	22	42	13
Antiradikalisches Verhalten [%]	85	92	78
Antiradikalisches Potenzial [%]	77	79	84
Reduktionsvermögen [%]	34	27	32
Stabilitätsindex [%]	54,5	60	51,75
Schwefeldioxid [mg/l]	1,2	n.a.	n.a.
Gesamtpolyphenole [mg/l]	148	162	135
Anthocyanogene [mg/l]	59	49	63
Tanninoide [mg PVP/l]	59	n.a.	44
Polymerisationsindex	2,51	3,31	2,14

Tabelle T29: Ergebnisse der Alterungsverkostung der Biere aus der Stufen-kontrolle in einer Brauerei: Reihe 1:

DLG	Helles frisch	Helles forciert	Pils frisch	Pils Forciert	Export frisch	Export forciert
Geruch	4,4	3,8	4,3	3,9	4,0	3,5
Trunk	4,5	3,3	4,4	3,4	4,0	3,4
Vollmundigkeit	4,5	4,1	4,5	4,0	4,4	4,0
Rezenz	4,6	4,4	4,6	4,1	4,6	4,4
Bittere	4,3	4,0	4,4	4,0	4,3	3,8
Gewichtete Note	4,42	3,81	4,39	3,83	4,19	3,70

Alterungs- verkostung	Helles frisch	Helles forciert	Pils frisch	Pils Forciert	Export frisch	Export forciert
Geruch	1,0	1,5	1,0	1,6	1,0	1,8
Trunk	1,0	2,3	1,0	2,1	1,0	2,4
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,5	1,0	1,6
Gewichtete Note	1,0	1,8	1,0	1,8	1,0	2,0
Akzeptanz (%)	100	68	100	73	100	53

Tabelle T30: Analysenergebnisse der Biersorte Helles (Reihe 1):

Helles	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	27	30	17
LagTime [%]	22	25	14
Antiradikalisches Verhalten [%]	85	79	75
Antiradikalisches Potenzial [%]	77	68	68
Reduktionsvermögen [%]	34	21	26
Stabilitätsindex [%]	55	48	46
Schwefeldioxid [mg/l]	1,2	n.g.	1,3
Gesamtpolyphenole [mg/l]	148	171	121
Anthocyanogene [mg/l]	59	45	43
Tannine [mg PVP/l]	59	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	2,51	3,80	2,81

Tabelle T31: Analysenergebnisse der Biersorte Pils (Reihe 1):

Pils	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	50	34	38
LagTime [%]	42	28	31
Antiradikalisches Verhalten [%]	92	83	84
Antiradikalisches Potenzial [%]	79	62	61
Reduktionsvermögen [%]	27	26	20
Stabilitätsindex [%]	60	50	49
Schwefeldioxid [mg/l]	0,9	2,2	1,5
Gesamtpolyphenole [mg/l]	162	118	107
Anthocyanogene [mg/l]	49	32	33
Tannine [mg PVP/l]	n.g.	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	3,31	3,69	3,24

Tabelle T32: Analysenergebnisse der Biersorte Export (Reihe 1):

Export	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	16	17	16
LagTime [%]	13	14	13
Antiradikalisches Verhalten [%]	78	72	65
Antiradikalisches Potenzial [%]	84	72	69
Reduktionsvermögen [%]	32	24	26
Stabilitätsindex [%]	52	46	43
Schwefeldioxid [mg/l]	0,8	n.g.	1,4
Gesamtpolyphenole [mg/l]	135	175	144
Anthocyanogene [mg/l]	63	62	43
Tannoide [mg PVP/l]	44	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	2,14	2,82	3,35

Tabelle T33: Alterungsindikatoren der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 2

Alterungsindikatoren in µg/l	Helles		Pils	
	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	4,3	4,8	6,4	7,6
3-Methyl-Butanal (S,A)	15	15	11	15
2-Furfural (W,A)	14	97	14	123
5-Methyl-Furfural (A)	3,6	6,2	6,5	4,7
Benzaldehyd (S,A)	0,8	1,1	1,2	1,1
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	11	11	6,3	11
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester A)	1,5	1,7	1,6	1,8
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	5,6	16	7,2	16
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,6	0,8	0,6	1,1
2-Acetyl-Furan (A)	4,9	8,0	5,6	6,2
2-Propionyl-Furan (A)	2,2	2,6	2,6	4,0
gamma-Nonalacton (W,A)	30	38	27	35
Summe der Wärmeindikatoren	45	136	41	158
Summe der Sauerstoffindikatoren	26	27	18	27
Summe der Alterungskomponenten	84	182	76	204

S = Sauerstoffindikator

W = Wärmeindikator

A = Alterungsindikator

Sp. = Spuren

n.a. = nicht auswertbar

n. n. = nicht nachweisbar

Export

Alterungsindikatoren in µg/l

frisch forciert

	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal	n.a.	n.a.
3-Methyl-Butanal (S,A)	10	12
2-Furfural (W,A)	10	111
5-Methyl-Furfural (A)	4,2	5,9
Benzaldehyd (S,A)	0,9	1,0
2-Phenyl-Ethanal (S,A)	7,0	12
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester (A)	2,0	2,1
Nicotinsäure-Ethyl-Ester	12	20
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester (A)	0,6	0,7
2-Acetyl-Furan (A)	7,1	11
2-Propionyl-Furan (A)	3,0	3,8
gamma-Nonalacton (W,A)	25	32
Summe der Wärmeindikatoren	36	143
Summe der Sauerstoffindikatoren	18	25
Summe der Alterungskomponenten	71	191

S = Sauerstoffindikator

Sp. = Spuren

W = Wärmeindikator

n.a. = nicht auswertbar

A = Alterungsindikator

n. n. = nicht nachweisbar

Tabelle T34: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 2 – Abgefüllte Biere

Abgefülltes Bier	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	62	56	35
LagTime [%]	52	47	29
Antiradikalisches Verhalten [%]	88	88	78
Antiradikalisches Potenzial [%]	60	57	68
Reduktionsvermögen [%]	27	26	38
Stabilitätsindex [%]	57	55	53
Schwefeldioxid [mg/l]	0,7	0,7	0,7
Gesamtpolyphenole [mg/l]	114	111	160
Anthocyanogene [mg/l]	44	47	49
Tannine [mg PVP/l]	n.n.	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	2,59	2,36	1,69
DLG frisch	3,94	4,44	4,35
DLG forciert	3,6	3,85	3,8
Alterungsnote frisch	1,0	1,0	1,0
Alterungsnote forciert	2,0	1,7	1,7
Alterungsakzeptanz frisch [%]	100	100	100
Alterungsakzeptanz forciert [%]	50	72	64

Tabelle T35: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 2 – Drucktank

Drucktank	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	46	46	29
LagTime [%]	38	38	24
Antiradikalisches Verhalten [%]	87	88	78
Antiradikalisches Potenzial [%]	61	57	69
Reduktionsvermögen [%]	23	19	30
Stabilitätsindex [%]	52	51	50
Schwefeldioxid [mg/l]	0,9	0,9	0,9
Gesamtpolyphenole [mg/l]	131	112	124
Anthocyanogene [mg/l]	41	34	43
Tannine [mg PVP/l]	18	n.n.	18
Polymerisationsindex	3,2	3,29	2,88

Tabelle T36: Analysenergebnisse aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei:

Reihe 2 – vor Filter

vor Filter	Helles	Pils	Export
Lag-Time [min]	30	31	n.n.
LagTime [%]	25	26	n.n.
Antiradikalisches Verhalten [%]	86	87	71
Antiradikalisches Potenzial [%]	73	75	79
Reduktionsvermögen [%]	31	29	34
Stabilitätsindex [%]	54	54	46
Schwefeldioxid [mg/l]	1,3	1,1	0,9
Gesamtpolyphenole [mg/l]	141	157	146
Anthocyanogene [mg/l]	70	81	81
Tannine [mg PVP/l]	46	51	34
Polymerisationsindex	1,94	1,94	1,69

Tabelle T37: Ergebnisse der Alterungsverkostung der Biere aus der Stufenkontrolle in einer Brauerei: Reihe 2:

DLG	Helles frisch	Helles forciert	Pils frisch	Pils forciert	Export frisch	Export forciert
Geruch	4,1	3,4	4,6	3,9	4,5	3,8
Trunk	3,6	3,0	4,6	3,5	4,4	3,2
Vollmundigkeit	4,1	4,0	4,4	4,2	4,3	4,1
Rezenz	4,2	4,0	4,3	3,6	4,3	4,1
Bittere	3,9	4,0	4,2	4,1	4,2	4,1
Gewichtete Note	3,94	3,60	4,44	3,85	4,35	3,80

Alterungs- verkostung	Helles frisch	Helles forciert	Pils frisch	Pils forciert	Export frisch	Export forciert
Geruch	1,0	1,7	1,0	1,5	1,0	1,4
Trunk	1,0	2,6	1,0	2,0	1,0	2,2
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,4	1,0	1,3
Gewichtete Note	1,0	2,0	1,0	1,7	1,0	1,7
Akzeptanz (%)	100	50	100	72	100	64

Tabelle T38: Analysenergebnisse der Biersorte Helles (Reihe 2):

Helles	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	30	46	62
LagTime [%]	25	38	52
Antiradikalisches Verhalten [%]	86	87	88
Antiradikalisches Potenzial [%]	73	61	60
Reduktionsvermögen [%]	31	23	27
Stabilitätsindex [%]	54	52	57
Schwefeldioxid [mg/l]	1,3	0,9	0,7
Gesamtpolyphenole [mg/l]	141	131	114
Anthocyanogene [mg/l]	70	41	44
Tanninoide [mg PVP/l]	46	18	n.n.
Polymerisationsindex	1,94	3,2	2,59

Tabelle T39: Analysenergebnisse der Biersorte Pils (Reihe 2):

Pils	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	31	46	56
LagTime [%]	26	38	47
Antiradikalisches Verhalten [%]	87	88	88
Antiradikalisches Potenzial [%]	75	57	57
Reduktionsvermögen [%]	29	19	26
Stabilitätsindex [%]	54	51	55
Schwefeldioxid [mg/l]	1,1	0,9	0,7
Gesamtpolyphenole [mg/l]	157	112	111
Anthocyanogene [mg/l]	81	34	47
Tanninoide [mg PVP/l]	51	n.n.	n.n.
Polymerisationsindex	1,94	3,29	2,36

Tabelle T40: Analysenergebnisse der Biersorte Export (Reihe 2):

Export	vor Filter	Drucktank	Flasche
Lag-Time [min]	n.n.	29	35
LagTime [%]	n.n.	24	29
Antiradikalisches Verhalten [%]	71	78	78
Antiradikalisches Potenzial [%]	79	69	68
Reduktionsvermögen [%]	34	30	38
Stabilitätsindex [%]	46	50	53
Schwefeldioxid [mg/l]	0,9	0,9	0,7
Gesamtpolyphenole [mg/l]	146	124	160
Anthocyanogene [mg/l]	81	43	49
Tannoide [mg PVP/l]	34	18	n.n.
Polymerisationsindex	1,69	2,88	1,69

Tabelle T41: Daten der untersuchten Biere vom Typ Pils.

Brauerei	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13
Stammwürze [°P]	11,6	11,3	11,7	11,2	11,5	11,2	11,1	11,3	11,3	11,2	11,5	11,5	11,6
Alkohol [Vol.-%]	5,13	4,78	5,16	4,54	4,97	4,97	4,63	4,88	5,01	4,95	4,84	5,04	4,76
pH	4,38	4,51	4,26	4,16	4,33	4,31	4,34	4,22	4,38	4,20	4,53	4,45	4,43
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13
Gesamtpolyphenole [mg/l]	109	36	100	114	102	132	166	122	96	180	152	166	189
Anthocyanogene [mg/l]	32	12	29	34	30	80	65	41	30	64	47	78	80
PI	3,41	3,00	3,45	3,35	3,40	1,65	2,55	2,98	3,20	2,81	3,23	2,13	2,36
Flavonoide [mg/l]	20,1	13,7	n.g.	22,1	20,3	29,8	39,7	26,1	13,1	38,2	28,5	45,2	23,8
Tannoide [mg PVP/l]	n.n.	n.n.	n.n.	16,2	n.n.	18,4	36,6	16,2	n.n.	33	17	49,4	44,6
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13
Lag Time [min]	15	59	27	21	15	76	18	58	38	51	17	41	63
Lag Time [%]	13	49	23	18	13	63	15	48	32	43	14	34	35
Antiradikalisches Verhalten [%]	73	91	82	84	76	93	79	94	85	93	71	86	92
Antiradikalisches Potenzial [%]	57	58	46	66	68	66	63	69	68	80	75	81	66
Reduktionsvermögen [%]	50	29	33	32	42	30	32	37	35	43	47	55	53
Stabilitätsindex [%]	48	57	46	50	50	63	47	62	55	65	52	64	61

n.n. : nicht nachweisbar

n.g. : nicht gemessen

Tabelle T42: Daten der untersuchten Biere vom Typ Helles.

Brauerei	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
Stammwürze [°P]	11,9	11,4	11,3	11,2	11,4	11,6	11,6	11,5	11,5	10,6
Alkohol [Vol.-%]	5,31	5,12	5,3	5,18	4,85	5	5,03	4,98	5,03	4,7
pH	4,35	4,53	4,23	4,28	4,33	4,29	4,31	4,35	4,59	4,16
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
Gesamtpolyphenole [mg/l]	142	141	177	84	192	85	99	105	187	86
Anthocyanogene [mg/l]	39	44	63	19	64	26	33	32	64	24
PI	3,64	3,20	2,81	4,42	3,00	3,27	3,00	3,28	2,92	3,58
Flavonoide [mg/l]	28,5	36	46,2	19,8	45,6	21,4	24	n.g.	42,9	19,4
Tannoide [mg PVP/l]	n.n.	16,4	31,5	n.n.	44,4	n.n.	n.n.	n.n.	23,8	n.n.
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10
Lag Time [min]	22	53	59	11	24	67	27	19	33	73
Lag Time [%]	18	44	49	9	20	56	23	16	28	61
Antiradikalisches Verhalten [%]	77	88	92	78	80	95	85	73	81	95
Antiradikalisches Potenzial [%]	73	78	62	64	70	46	47	53	84	52
Reduktionsvermögen [%]	40	35	42	30	35	39	31	46	48	40
Stabilitätsindex [%]	52	61	61	45	51	59	47	47	60	62

n.n. : nicht nachweisbar

n.g. : nicht gemessen

Tabelle T43: Daten der untersuchten Biere vom Typ Weizen.

Brauerei	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
Stammwürze [°P]	12,6	12,4	12,5	11,4	11,6	11,6	12,5	12,2	12,4	12,3	12,3
Alkohol [Vol.-%]	5,65	5,50	5,48	4,76	4,93	4,93	5,46	5,32	4,95	5,36	5,35
pH	4,80	4,38	4,35	4,46	4,39	4,40	4,51	4,58	4,47	4,32	4,28
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
Gesamtpolyphenole [mg/l]	106	48	67	68	59	38	70	39	55	27	34
Anthocyanogene [mg/l]	31	12	29	23	21	19	25	23	16	27	38
PI	3,42	4,00	2,31	2,96	2,81	2,00	2,80	1,70	3,44	1,00	0,89
Flavonoide [mg/l]	25,1	40,4	24,8	38,7	17,9	15,4	22,3	21,8	29,5	19,4	37,7
Tannoide [mg PVP/l]	11,2	12,5	7,7	n.n.	n.n.	11,1	n.n.	14,2	15,4	n.n.	14,9
	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
Lag Time [min]	13	12	9	13	11	12	15	10	13	22	10
Lag Time [%]	11	10	8	11	9	10	13	8	11	18	8
Antiradikalisches Verhalten [%]	26	66	54	65	57	37	3	64	85	58	81
Antiradikalisches Potenzial [%]	62	48	56	62	54	69	59	58	61	59	69
Reduktionsvermögen [%]	69	45	52	64	63	52	66	41	58	40	63
Stabilitätsindex [%]	42	42	43	51	46	42	35	43	54	44	55

n.n. : nicht nachweisbar

Tabelle T44: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H4.

Bier H4 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.n.	n.n.
m/z 593 GC	n.b.	n.b.
m/z 897 GGC	n.n.	n.n.
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,05	0,05
m/z 451 C-hexosid	0,16	0,16
m/z 593 GC	n.n.	n.n.
m/z 577 CC	n.n.	n.n.
m/z 577 CC Procyanidin B3	0,07	0,07
Catechin	0,87	0,85
Epicatechin	0,35	0,33
Protocatechusäure	0,03	0,03
p-Hydroxybenzoesäure	0,07	0,07
Vanillinsäure	0,15	0,16
Kaffeensäure	0,09	0,09
p-Cumarsäure	0,99	0,97
Ferulasäure	1,5	1,46
Sinapinsäure	0,24	0,24
t-Zimtsäure	0,08	0,09
Quercetin-3-O-rutinosid	0,09	0,1
Quercetin-3-O-glucosid	0,22	0,25
Kämpferol-O-hexosid	0,2	0,21
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.n.	n.n.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T45: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P5.

Bier P5 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.n.	n.n.
m/z 593 GC	n.n.	n.n.
m/z 897 GGC	n.n.	n.n.
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,08	0,09
m/z 451 C-hexosid	0,16	0,15
m/z 593 GC	n.n.	n.n.
m/z 577 CC	n.n.	n.n.
m/z 577 CC Procyanidin B3	0,14	0,13
Catechin	0,7	0,74
Epicatechin	0,38	0,39
Protocatechusäure	v	0,03
p-Hydroxybenzoesäure	0,1	0,09
Vanillinsäure	0,2	0,2
Kaffeensäure	0,14	0,14
p-Cumarsäure	2,37	2,32
Ferulasäure	2,38	2,21
Sinapinsäure	0,25	0,24
t-Zimtsäure	0,1	0,09
Quercetin-3-O-rutinosid	0,05	0,04
Quercetin-3-O-glucosid	0,31	0,33
Kämpferol-O-hexosid	0,26	0,26
Kämpferol-malonyl-hexosid	0,06	n.b.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T46: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P4.

Bier P4 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.n.	n.n.
m/z 593 GC	0,16	0,14
m/z 897 GGC	0,07	0,05
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,76	0,71
m/z 451 C-hexosid	0,35	0,35
m/z 593 GC	0,07	0,07
m/z 577 CC	0,08	0,07
m/z 577 CC Procyanidin B3	0,94	0,87
Catechin	1,4	1,46
Epicatechin	0,3	0,28
Protocatechusäure	v	v
p-Hydroxybenzoesäure	0,06	0,07
Vanillinsäure	0,15	0,15
Kaffeensäure	0,12	0,12
p-Cumarsäure	1,72	1,73
Ferulasäure	1,86	1,86
Sinapinsäure	0,26	0,23
t-Zimtsäure	v	v
Quercetin-3-O-rutinosid	n.n.	n.n.
Quercetin-3-O-glucosid	n.n.	n.n.
Kämpferol-O-hexosid	v	v
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.n.	n.n.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T47: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P8.

Bier P8 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.n.	n.n.
m/z 593 GC	0,21	0,2
m/z 897 GGC	n.n.	n.n.
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,66	0,63
m/z 451 C-hexosid	0,18	0,2
m/z 593 GC	n.b.	n.b.
m/z 577 CC	n.b.	n.b.
m/z 577 CC Procyanidin B3	0,84	0,8
Catechin	1,77	1,53
Epicatechin	0,54	0,52
Protocatechusäure	v	v
p-Hydroxybenzoesäure	0,1	0,09
Vanillinsäure	0,16	0,16
Kaffeensäure	0,05	0,05
p-Cumarsäure	0,7	0,7
Ferulasäure	1,02	0,97
Sinapinsäure	0,18	0,17
t-Zimtsäure	0,08	0,08
Quercetin-3-O-rutinosid	n.n.	n.n.
Quercetin-3-O-glucosid	n.n.	n.n.
Kämpferol-O-hexosid	v	v
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.n.	n.n.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T48: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H9.

Bier H9 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.b.	n.b.
m/z 593 GC	0,51	0,48
m/z 897 GGC	0,03	0,02
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	0,97	0,9
m/z 451 C-hexosid	0,3	0,27
m/z 593 GC	0,2	0,17
m/z 577 CC	0,4	0,39
m/z 577 CC Procyanidin B3	1,42	1,32
Catechin	4,84	4,73
Epicatechin	1,55	1,49
Protocatechusäure	0,01	0,01
p-Hydroxybenzoesäure	0,08	0,07
Vanillinsäure	0,2	0,19
Kaffeensäure	0,1	0,09
p-Cumarsäure	0,95	0,94
Ferulasäure	1,51	1,46
Sinapinsäure	0,28	0,26
t-Zimtsäure	0,09	0,08
Quercetin-3-O-rutinosid	n.n.	n.n.
Quercetin-3-O-glucosid	0,54	0,56
Kämpferol-O-hexosid	v	v
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.b.	n.b.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T49: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H3.

Bier H3 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	0,05	0,07
m/z 593 GC	0,48	0,47
m/z 897 GGC	0,07	0,06
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	1,78	1,69
m/z 451 C-hexosid	0,48	0,45
m/z 593 GC	0,22	0,2
m/z 577 CC	0,3	0,25
m/z 577 CC Procyanidin B3	2,31	2,18
Catechin	5,8	5,53
Epicatechin	1,05	1,05
Protocatechusäure	n.n.	n.n.
p-Hydroxybenzoesäure	0,07	0,06
Vanillinsäure	0,21	0,16
Kaffeensäure	0,09	0,08
p-Cumarsäure	0,77	0,77
Ferulasäure	1,15	1,2
Sinapinsäure	0,23	0,24
t-Zimtsäure	v	v
Quercetin-3-O-rutinosid	0,15	0,16
Quercetin-3-O-glucosid	0,87	0,93
Kämpferol-O-hexosid	0,61	0,66
Kämpferol-malonyl-hexosid	0,07	0,06

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T50: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier P7.

Bier P7 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.b.	n.b.
m/z 593 GC	0,55	0,5
m/z 897 GGC	0,07	0,06
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	1,31	1,2
m/z 451 C-hexosid	0,34	0,3
m/z 593 GC	0,22	0,19
m/z 577 CC	0,34	0,34
m/z 577 CC Procyanidin B3	1,63	1,5
Catechin	4,49	4,29
Epicatechin	1,12	1,06
Protocatechusäure	0,01	0,01
p-Hydroxybenzoesäure	0,08	0,07
Vanillinsäure	0,2	0,2
Kaffeensäure	0,1	0,1
p-Cumarsäure	1,7	1,76
Ferulasäure	1,46	1,45
Sinapinsäure	0,23	0,23
t-Zimtsäure	0,11	0,12
Quercetin-3-O-rutinosid	n.n.	n.n.
Quercetin-3-O-glucosid	0,28	0,31
Kämpferol-O-hexosid	0,17	0,17
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.n.	n.n.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt - Coelution

Tabelle T51: Veränderung phenolischer Substanzen während der forcierten Alterung in Bier H5.

Bier H5 Substanzen	Gehalt [mg/l]	
	frisch	forciert gealtert
m/z 609 GG	n.b.	n.b.
m/z 593 GC	0,59	0,54
m/z 897 GGC	0,09	0,07
m/z 594 GC Prodelphinidin B3	1,64	1,49
m/z 451 C-hexosid	0,41	0,45
m/z 593 GC	0,25	0,23
m/z 577 CC	0,43	0,39
m/z 577 CC Procyanidin B3	2,16	1,99
Catechin	5,43	4,88
Epicatechin	1,21	1,19
Protocatechusäure	0,01	0,01
p-Hydroxybenzoesäure	0,08	0,07
Vanillinsäure	0,2	0,22
Kaffeensäure	0,09	0,08
p-Cumarsäure	0,99	0,99
Ferulasäure	1,22	1,27
Sinapinsäure	0,27	0,27
t-Zimtsäure	0,09	0,09
Quercetin-3-O-rutinosid	0,06	0,06
Quercetin-3-O-glucosid	0,43	0,44
Kämpferol-O-hexosid	v	v
Kämpferol-malonyl-hexosid	n.b.	n.b.

n.n. : nicht nachweisbar

n.b. : nicht

v : verunreinigt – Coelution

Tabelle T52: Untersuchung des Gehaltes von Schwefeldioxid und der Lag-Time während der Lagerung.

	Zimmertemperatur		0 °C	
Tage	SO ₂ [mg/l]	Lag-Time [min]	SO ₂ [mg/l]	Lag-Time [min]
0	8,7	115	9,6	95
2	8,7	102	8,7	102
4	8,8	97	8,9	89
7	8,6	108	9,0	110
9	8,0	98	9,2	94
11	8,0	86	8,7	101
14	7,7	83	8,7	84
21	7,2	100	8,6	100
41	6,1	91	8,9	93
49	6,4	81	8,8	86
56	5,7	78	8,7	88
64	5,8	90	8,7	95

Tabelle T53: Phenolische Substanzen in den 40 untersuchten Bieren.

	Gesamtpolyphenole [mg/l]	Anthocyanogene [mg/l]	Tannoide [mg PVP/l]
A	84	20	n.n.
B	189	70	28
C	122	47	18
D	105	32	n.n.
E	78	21	n.n.
F	143	47	n.n.
G	135	44	n.n.
H	96	28	n.n.
I	118	32	n.n.
J	151	45	17
K	179	69	35
L	89	28	15
M	131	43	19
N	102	29	n.n.
O	196	74	36
P	97	31	n.n.
Q	112	30	15
R	107	31	n.n.
S	144	47	19
T	152	57	28
U	167	60	22
V	164	61	21
W	213	81	39
X	186	61	22
Y	126	36	n.n.
Z	154	64	31
AA	160	101	64
AB	85	29	n.n.
AC	90	27	n.n.
AD	183	73	32
AE	182	79	62
AF	185	82	45
AG	226	84	51
AH	224	98	54
AI	138	58	56
AJ	165	62	21
AK	242	101	74
AL	212	84	49
AM	237	85	52
AN	108	31	n.n.

Tabelle T54: Antioxidative Tests der 40 untersuchten Biere.

	Lag-Time [%]	Antiradi- kalisches Verhalten [%]	Antiradi- kalisches Potenzial [%]	Reduktions- vermögen [%]	Stabilitäts- index [%]
A	80	93	57	33	66
B	72	93	66	18	62
C	21	81	63	19	46
D	39	88	58	37	56
E	38	89	54	17	50
F	32	76	67	21	49
G	52	89	64	34	60
H	37	89	62	39	57
I	76	94	62	31	66
J	55	84	63	33	59
K	49	91	70	37	62
L	81	94	52	28	64
M	33	86	61	25	51
N	96	94	55	34	70
O	39	81	73	25	55
P	13	79	57	35	46
Q	43	81	54	19	49
R	52	83	62	38	59
S	38	79	64	37	55
T	62	92	69	24	62
U	9	78	71	35	48
V	10	77	67	27	45
W	61	90	72	44	67
X	66	91	70	32	65
Y	40	88	65	27	55
Z	38	86	72	37	58
AA	26	82	80	44	58
AB	29	88	55	26	50
AC	51	89	63	46	62
AD	65	92	75	38	68
AE	79	93	75	38	71
AF	53	89	67	31	60
AG	60	90	77	26	63
AH	31	78	69	31	52
AI	24	82	69	26	50
AJ	54	90	65	35	61
AK	52	88	80	36	64
AL	14	69	75	38	49
AM	13	74	68	38	48
AN	46	88	62	30	57

Tabelle T55: Bestimmung der Alterungsindikatoren in 40 Bieren (Teil 1)

	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der
	Wärmeindikatoren	Wärmeindikatoren	Wärmeindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Alterungsindikatoren	Alterungsindikatoren	Alterungsindikatoren
	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert
A	36	98	242	10	14	24	62	129	294
B	15	49	219	7	10	18	28	70	260
C	44	178	338	12	27	30	74	226	393
D	33	114	247	13	23	34	62	156	305
E	25	79	144	8	11	20	49	111	191
F	37	143	301	13	31	36	69	190	361
G	64	153	285	28	31	39	115	208	350
H	66	93	178	10	15	24	97	130	231
I	34	88	212	10	22	21	57	127	258
J	35	84	190	21	26	33	72	128	246
K	46	144	289	16	12	20	83	184	340
L	47	100	194	19	20	29	84	139	245
M	24	150	291	14	26	33	54	196	349
N	33	134	250	16	17	25	66	173	303
O	35	116	218	15	21	26	70	158	268
P	43	106	212	14	21	25	76	150	264
Q	36	173	255	15	24	25	69	229	314
R	33	138	217	20	25	28	68	181	265
S	32	117	166	23	32	26	72	171	214
T	43	131	177	18	23	30	77	174	226
U	40	129	190	14	19	25	68	167	232
V	28	114	188	17	27	27	59	156	232
W	26	138	183	20	34	45	64	196	253
X	26	76	219	19	30	43	59	123	289
Y	40	180	234	16	24	29	75	228	287

Tabelle T56: Bestimmung der Alterungsindikatoren in 40 Bieren (Teil 2)

	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der	Summe der
	Wärmeindikatoren	Wärmeindikatoren	Wärmeindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Sauerstoffindikatoren	Alterungsindikatoren	Alterungsindikatoren	Alterungsindikatoren
	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert	frisch	forciert gealtert	3 Monate gelagert
Z	14	74	129	20	29	33	43	119	180
AA	38	195	235	13	27	31	69	249	295
AB	35	160	243	14	18	19	64	194	279
AC	30	147	201	13	29	37	65	204	268
AD	33	95	145	20	22	24	68	132	188
AE	37	102	192	25	36	43	82	161	256
AF	40	115	170	18	28	36	70	161	222
AG	22	88	168	18	22	26	56	140	220
AH	23	116	214	21	32	39	73	181	291
AI	31	153	264	16	23	25	61	193	312
AJ	39	141	252	14	25	27	72	189	306
AK	28	82	141	13	22	25	52	121	185
AL	29	94	296	18	29	42	61	142	361
AM	52	120	242	21	30	39	88	169	303
AN	47	109	249	18	21	23	80	148	298

Tabelle T57: Alterungsakzeptanzen der 40 untersuchten Biere.

	Alterungsakzeptanz forciert gealtert [%]	Alterungsakzeptanz 3 Monate gelagert [%]
A	92	84
B	95	78
C	62	52
D	50	42
E	95	75
F	60	50
G	58	43
H	88	68
I	68	50
J	76	62
K	60	82
L	78	70
M	75	74
N	82	78
O	68	70
P	76	62
Q	63	80
R	65	58
S	68	53
T	58	64
U	54	50
V	68	50
W	44	26
X	60	40
Y	64	50
Z	54	14
AA	64	24
AB	76	43
AC	42	44
AD	60	86
AE	66	62
AF	72	80
AG	64	54
AH	60	52
AI	56	56
AJ	66	62
AK	84	56
AL	78	30
AM	58	66
AN	60	52