

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I

**Der Einfluss des Blattkeims von Gerstenmalz auf die  
Geschmacksstabilität und weitere Qualitätsmerkmale von Bier**

Joachim Zürcher

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. Horst Weisser  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.-Ing., Dr.-Ing. habil. Werner Back  
2. Univ.-Prof. Dr.-Ing. Eberhard Geiger  
3. Priv.-Doz. Dr.-Ing. Annette Schwill-Miedaner

Die Dissertation wurde am 16.04.2003 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung  
und Umwelt am 26.06.2003 angenommen.

## **Danksagung**

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Werner Back, danke ich sehr herzlich für sein mir entgegengebrachtes Vertrauen bei der Überlassung des Arbeitsgebietes sowie für die großzügige Unterstützung meiner Arbeit und seine stets hohe Diskussionsbereitschaft.

Bei Herrn em. Prof. Dr. Ludwig Narziß möchte ich mich für sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit sowie seine zahlreichen Hinweise und wertvollen Anregungen bedanken.

Herrn Dr. Martin Krottenthaler danke ich herzlich für die umfangreiche Einarbeitung in die Thematik Sudhaustechnologie. Herrn Dipl.-Ing. (FH) Martin Zarnkow danke ich für seine große Hilfsbereitschaft und für vielseitige Lösungsvorschläge.

Mein besonderer Dank gilt den Kollegen und Mitarbeitern der Abteilung GC-/HPLC-Labor, allen voran Herrn Dipl.-Ing. Oliver Franz. Für die treue Unterstützung bei den durchgeführten Analysen danke ich besonders Herrn Thomas Hadwiger sowie Herrn Thomas Schneider.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinen Diplomanden und Semesterarbeitern, deren großes Engagement zum Erfolg der Arbeit beigetragen haben.

Ferner möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Lehrstuhls bedanken, die durch ihre stete Hilfs- und Diskussionsbereitschaft eine konstruktive Atmosphäre geschaffen haben.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, Gunda und Christian Zürcher, für die langjährige und großzügige Unterstützung meiner Ausbildung. Meinem Vater danke ich darüber hinaus für eine Vielzahl an wertvollen fachlichen Gesprächen, die mir immer wieder Ansporn gaben.

Mein bester Dank gilt meiner Freundin Stilla Gabler für die aufgebrachte Geduld, den Halt und den Ansporn in den vergangenen Jahren.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Die Bedeutung des Blattkeims von Gerstenmalz im Mälzungs- und Brauprozess</b>	<b>2</b>
2.1.	<b>Bedeutung des Keimlings im Mälzungsprozess</b>	<b>2</b>
2.1.1.	Morphologie des Embryos und des Gerstenkorns	3
2.1.2.	Vorgänge bei der Keimung von Gerste	5
2.1.3.	Keimungsbedingungen	6
2.1.4.	Regulation der Keimung durch Phytohormone	8
2.1.5.	Vorgänge beim Abdarren des Malzes	9
2.1.6.	Enzymatischer Lipidabbau im Mälzungsprozess	10
2.2.	<b>Bedeutung des Keimlings im Brauprozess</b>	<b>14</b>
2.2.1.	Inhaltsstoffe von Wurzel- und Blattkeimen	14
2.2.2.	Einfluss der Sudhaustechnologie auf die Qualität der resultierenden Biere	15
2.2.3.	Enzymatische Lipidoxidation im Brauprozess	20
2.2.4.	Bedeutung der Würzeinhaltsstoffe für die Bierqualität	24
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>28</b>
3.1.	<b>Aufbereitungsverfahren zur Blattkeimgewinnung</b>	<b>28</b>
3.2.	<b>Analytik zum Lipidabbau in Malz und Würze</b>	<b>28</b>
3.2.1.	Bestimmung der LOX-Aktivität	28
3.2.2.	Bestimmung der freien langkettigen Fettsäuren in Maische und Würze	30
3.2.3.	Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide	32
3.2.4.	Bestimmung des Nonenal-Potenzials von Würze	33
3.3.	<b>Malz- und Bieranalysen</b>	<b>35</b>
3.4.	<b>Aromastoffanalytik</b>	<b>35</b>
3.4.1.	Bestimmung der Würzearomastoffe	35
3.4.2.	Bestimmung der Bieraromastoffe	35
3.4.3.	Bestimmung der Alterungskomponenten	35
3.5.	<b>Bestimmung der endogenen antioxidativen Aktivität von Bier</b>	<b>36</b>
3.6.	<b>Sensorische Analysen</b>	<b>36</b>
3.6.1.	Verkostung der Biere nach DLG	36
3.6.2.	Alterungsverkostung nach <i>Eichhorn</i>	36

<b>3.7. Mühlentechnik</b>	<b>37</b>
<b>3.8. Kleinmälzung</b>	<b>37</b>
<b>3.9. Verfahren zur Hitzebehandlung von Malz</b>	<b>38</b>
3.9.1. Dampfkonditionierung	38
3.9.2. Konditionierung mit heißem Wasser	38
<b>3.10. Kleinsud</b>	<b>38</b>
3.10.1. Würzeherstellung	38
3.10.2. Gärung und Lagerung	39
3.10.3. Filtration und Abfüllung	39
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>40</b>
<b>4.1. Untersuchung des Blattkeims von Gerstenmalz</b>	<b>40</b>
<b>4.2. Einfluss von Gerstensorte und Anbaugebiet auf die LOX-Aktivität und das LOX-Potenzial von Malz</b>	<b>41</b>
<b>4.3. Einfluss der Abkühlgeschwindigkeit von Darrmalz auf die Lipidperoxidation</b>	<b>42</b>
<b>4.4. Einfluss der Malzlagerung auf die LOX-Aktivität des Malzes</b>	<b>44</b>
<b>4.5. Einfluss der Schrotung auf die Lipidperoxidation</b>	<b>45</b>
4.5.1. Einfluss der Schrotlagerung	45
4.5.2. Einfluss der Schrottemperatur	45
4.5.3. Einfluss der Schrotfeinheit	46
<b>4.6. Einfluss der Maischtemperatur auf die LOX-Aktivität</b>	<b>48</b>
<b>4.7. Einfluss der Malzkonditionierung auf die LOX-Aktivität</b>	<b>49</b>
4.7.1. Malzkonditionierung mit Sattdampf	49
4.7.2. Malzkonditionierung mit heißem Wasser im Labormaßstab	50
<b>4.8. Verhalten der Linolsäurehydroperoxide beim Maischen</b>	<b>51</b>
4.8.1. Einfluss der LOX auf die Linolsäurehydroperoxidkonzentration (HPOD) in Maische	51
4.8.2. Verhalten von zugegebenen Linolsäurehydroperoxiden (HPOD) in Maischwasser und Maische	52
<b>4.9. Untersuchung verschiedener Schrotungs- und Einmaischtechniken im industriellen Maßstab</b>	<b>53</b>
4.9.1. Vergleich einer Nassschrotung (Dispergierer) mit einer Trockenschrotung (Hammermühle) von Malz	53
4.9.2. Vergleich einer Hammermühlengerkleinerung mit einer kombinierten Walzen- und Hammermühlengerkleinerung von Malz	57

4.9.3.	Einfluss einer CO <sub>2</sub> -Begasung von Grießkasten und Anteigschnecke	58
4.9.4.	Einfluss der Heißkonditionierung von Malz auf die Bierqualität	60
4.9.5.	Einfluss der Schrotlagerung auf den Geschmack und die Geschmacksstabilität von Bier	62
4.9.6.	Versuche zur Verbesserung der Geschmacksstabilität durch Variation der Einmischtemperatur und pH-Korrektur der Maische	63
<b>4.10.</b>	<b>Brauversuche mit Zugabe von Lipoxygenase zur Maischen</b>	<b>67</b>
<b>4.11.</b>	<b>Maischversuche mit steigendem Blattkeimgehalt im Labormaßstab</b>	<b>69</b>
<b>4.12.</b>	<b>Ergebnisse der Brauversuche im halbtechnischen Maßstab mit steigendem Blattkeimgehalt</b>	<b>72</b>
4.12.1.	Ergebnisse der Brauversuche mit bespelztem Gerstenmalz	72
4.12.2.	Ergebnisse der Brauversuche mit dem Hochkurz-Maischverfahren	80
4.12.3.	Ergebnisse der Brauversuche mit Maischesäuerung	82
<b>4.13.</b>	<b>Einfluss von Nacktgerstenmalz mit steigendem Blattkeimgehalt auf die Würze- und Bierqualität</b>	<b>83</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>85</b>
<b>5.1.</b>	<b>Der Blattkeim von Gerstenmalz im Mälzungs- und Brauprozess</b>	<b>85</b>
<b>5.2.</b>	<b>Zusammensetzung des Blattkeims</b>	<b>86</b>
<b>5.3.</b>	<b>Oxidativer Lipidabbau im Brauprozess</b>	<b>86</b>
5.3.1.	Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des oxidativen Lipidabbaus	86
5.3.2.	Lipidabbau im Malz und Schrot	88
5.3.3.	Lipidabbau beim Maischen	90
5.3.4.	Blanchieren von Malz	92
5.3.5.	Praxisuntersuchungen	93
<b>5.4.</b>	<b>Brauversuche mit Zugabe von Blattkeimen</b>	<b>94</b>
<b>5.5.</b>	<b>Schlussfolgerungen für die Praxis</b>	<b>96</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>98</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>101</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>116</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Längsschnitt eines geweichten, entspelzten Gerstenkorns (A: Blattkeim mit <i>Coleoptile</i> , S: Schildchen, N: Knotenregion, R: Wurzelorgan, C: <i>Coleorhiza</i> ) (Lichtmikroskopische Aufnahme)[] .....	4
Abbildung 2: Prozentuale Verteilung der freien höheren Fettsäuren in einem Kaltwasserextrakt aus Blattkeimen (BK) und Gerstenmalz (GM); Tabellenangaben in mg/l.....	41
Abbildung 3: LOX-Aktivität im Rohextrakt, der aufgereinigten Gelfraktion und LOX-Potenzial von Malz (Wert). (A) Mittelwerte der Sorten aus sieben Anbaugebieten. (B) Mittelwerte der Anbaugebiete aus sechs Sorten: a = Dachwig, b = Hartenhof, c = Wörrstadt, d = Gießen, e = Rethmar, f = Döggingen, g = Nossen.....	42
Abbildung 4: LOX-Aktivität von poliertem Malz; S = <i>Scarlett</i> , P = <i>Pasadena</i> ; 1, 2, 3: siehe Tabelle 4.....	43
Abbildung 5: Konzentration der höheren ungesättigten Fettsäuren und deren Hydroperoxide in Maische (Probenahme: Ende der 72 °C Rast); Sorten: S = <i>Scarlett</i> , P = <i>Pasadena</i> ; 1, 2, 3: siehe Tabelle 4 .....	44
Abbildung 6: LOX-Aktivität von Malz bei der Malzlagerung .....	44
Abbildung 7: Konzentration der höheren ungesättigten Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide in Maische in Abhängigkeit der Schrotlagerdauer.....	45
Abbildung 8: Konzentration der Linolsäurehydroperoxide (HPOD) in Maische in Abhängigkeit von der Temperatur des Schrotes und der Schrotlagerdauer (Maischdauer 5 min, Maischtemperatur 50 °C); FM: Fächerschlägermühle, AM: Analysenmühle.....	46
Abbildung 9: LOX-Aktivität beim Maischen in Abhängigkeit der Schrotfeinheit. Aktivitäten (%) bezogen auf die LOX-Aktivität der Pulverschrotmaische; Probenahme 15 min nach Einmaischen (50 °C) .....	47
Abbildung 10: LOX-Aktivität der Maische in Abhängigkeit der Feinheit des Blattkeims (isotherm 45 °C); Std. = Standard, BK = Blattkeim .....	47
Abbildung 11: Linolsäure (18:2) und Linolsäurehydroperoxide (HPOD) 5 Minuten (5' ) bzw. 60 Minuten (60' ) nach dem Einmaischen (isotherm 62 °C); GS: Grobschrot; FS: Feinschrot .....	48
Abbildung 12: LOX-Aktivität in isothermen Maischen .....	49
Abbildung 13: Verlauf der LOX-Aktivität und der Wasseraufnahme von Malz bei der Konditionierung mit Sattdampf.....	50
Abbildung 14: Verlauf der LOX-Aktivität von Malz bei der Weichkonditionierung mit unterschiedlichen Weichwassertemperaturen (Malz-Wasser-Verhältnis 1:4) .....	50

Abbildung 15: Konzentration der Linolsäurehydroperoxide (HPOD) während des Maischens (isotherm 50 °C). Zugaben: LOX: 4 U/ml; Linolsäure (18:2): 10 mg/l.....	52
Abbildung 16: Linolsäurehydroperoxide (HPOD) während des Maischens (isotherm 50 °C). A: HPOD-Zugabe zum Einmaischwasser (ca. 25 mg/l); B: HPOD-Zugabe zu einer teilweise inaktivierten Maische bzw. einem gleich behandelten Wasser (ca. 25 mg/l).....	53
Abbildung 17: Temperaturverlauf und Verlauf der LOX-Aktivität beim Maischen; Mittelwerte (n = 6); HM = Hammermühlenmaische, DP = Dispergiermaische, (<=>) = Dauer des Einmaisvorganges .....	54
Abbildung 18: LOX-Aktivität beim Maischen, Mittelwerte (n = 3); HM = Hammermühle, 6-WM = Sechswalzenmühle, (<=>) = Dauer des Einmaisvorganges .....	58
Abbildung 19: Anlagenschema – Schrotrei [10].....	58
Abbildung 20: Verlauf der LOX-Aktivität beim Maischen; Mittelwerte (n = 3), (<=>) = Dauer des Einmaisvorganges .....	59
Abbildung 21: Höhere ungesättigte Fettsäuren und deren Hydroperoxide in Maische: (A) Linolsäure (18:2) und Linolensäure (18:3); (B) Linolsäurehydroperoxide (HPOD) und Linolensäurehydroperoxide (HPOT), EE = Ende Einmais, 20 min = 20 min nach EE .....	60
Abbildung 22: LOX-Aktivität in Maische nach Weichkonditionierung bei 65 °C bzw. 80 °C (Heißkonditionierung); Mittelwerte (n = 7).....	61
Abbildung 23: LOX-Aktivität der Maische am Ende des Einmaisens; MS = Maischesäuerung.....	64
Abbildung 24: Summe der Alterungskomponenten (µg/l) der frischen und forciert gealterten Biere aus den Versuchen zur Maischesäuerung und Anhebung der Einmischtemperatur.....	66
Abbildung 25: Gewichtete Noten der Alterungsverkostung nach <i>Eichhorn</i> der frischen und forciert gealterten Biere; Versuche zur Maischesäuerung (MS) und Anhebung der Einmischtemperatur (Einzelwerte siehe Tabelle A-24) .....	66
Abbildung 26: Gewichtete Note der Alterungsverkostung der frischen und forciert gealterten Biere mit und ohne Zugabe von LOX beim Maischen (n = 2).....	68
Abbildung 27 A und B: LOX-Aktivität der Maischen der Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt in der Schüttung (Std-MV); EE = Einmischende, BK = Blattkeime (n = 3) .....	73
Abbildung 28 A und B: Zinkgehalt der Pfannevoll- und Ausschlagwürzen der Brauversuche mit steigendem Blattkeimanteil im Kleinsudmaßstab (Std-MV); BK = Blattkeime (n = 3) .....	75

Abbildung 29: Freies DMS und DMS-P in der Pfannevoll- und der Ausschlagwürze der Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimanteil (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeim (n = 3) .....	75
Abbildung 30: Nonenal-Potenzial ( $\mu\text{g/l}$ ) der Pfannevoll- und der Ausschlagwürzen aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimgehalt; BK = Blattkeim (n = 2).....	76
Abbildung 31: Gärverlauf der Brauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt im Kleinsudmaßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2).....	77
Abbildung 32: Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil (Std-MV); BK = Blattkeime, A = Alterungskomponenten, W = Wärmeindikatoren, S = Sauerstoffindikatoren (n = 2).....	79



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bewertung nach dem Alterungschema.....	36
Tabelle 2: Zusammensetzung von Blattkeim und Ausgangsmalz .....	40
Tabelle 3: Verteilung der LOX-Aktivität im Malzkorn .....	41
Tabelle 4: Nachbehandlungsvarianten der abgedarrten Versuchsmalze.....	43
Tabelle 5: Analysenergebnisse der Malze nach Heißkonditionierung (Dauer der Wasserweiche: 0 bis 60 s; Temperatur des Weichwassers: 80 °C).....	51
Tabelle 6: LOX-Aktivität der unlöslichen Maischebestandteile und Konzentration der höheren ungesättigte Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide am Ende des Einmaischens; HM = Hammermühle, DP = Dispergierer; Mittelwerte (n = 6).....	55
Tabelle 7: Analysenergebnisse der Würzen aus Kühlmitte von Dispergiersuden (DP) und Hammermühlensuden (HM); Konz. bez. auf 12 % Stw.; Mittelwerte (n = 6).....	56
Tabelle 8: Analysenergebnisse der abgefüllten Biere von Dispergiersuden (DP) und Hammermühlensuden (HM); Mittelwerte (n = 2).....	57
Tabelle 9: Analysenergebnisse der Kühlmittwürzen der Sude mit Weichkonditionierung bei 65 °C bzw. 80 °C (Heißkonditionierung); Mittelwerte (n = 7) .....	61
Tabelle 10: Analysenergebnisse der Biere mit Weichkonditionierung des Malzes bei 65 °C bzw. 80 °C .....	62
Tabelle 11: Zusammengefasste Ergebnisse zur Untersuchung von Geschmack und Geschmacksstabilität des Bieres bei der Schrotlagerung.....	63
Tabelle 12: Zusammensetzung der Ausschlagwürzen der Versuche zur Maischesäuerung und Einmischtemperatur; MS = Maischesäuerung.....	65
Tabelle 13: Würzearomastoffe (µg/l) der Brauversuche mit und ohne Zugabe von LOX zur Maische (Ausschlagwürze) .....	67
Tabelle 14: Bieraromastoffe der Brauversuche mit und ohne Zugabe von LOX zur Maische .....	68
Tabelle 15: Würzeanalyse der Laborwürzen mit steigendem Blattkeimanteil; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 3) .....	69
Tabelle 16: Zuckerzusammensetzung von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimgehalt; Konzentrationsangaben in GG-%; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte = $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte = $A * 0,85 + B * 0,15$ .....	70
Tabelle 17: Freie höhere Fettsäuren von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimgehalt; Konzentrationsangaben in mg/l; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte = $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte = $A * 0,85 + B * 0,15$ .....	70
Tabelle 18: Aminosäurenkonzentrationen von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimanteil; Angaben in mg/l; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte = $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte = $A * 0,85 + B * 0,15$ .....	72

Tabelle 19: Pfannevoll- und Auschlagwürzen der Brauversuche mit steigendem Blattkeimanteil im Kleinsudmaßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime, n.b. = nicht bestimmt (n = 3).....	74
Tabelle 20: Diacetylgehalt (mg/l) der Jungbiere am Ende der Hauptgärung (HG) und Reifung; Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2) .....	77
Tabelle 21: Analysenergebnisse der Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 3) .....	78
Tabelle 22: DLG-Verkostung der frischen und forciert gealterten Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2) .....	79
Tabelle 23: Alterungsverkostung der frischen und forciert gealterten Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime, $\Delta$ Akzeptanz = Akzeptanz <sub>frisch</sub> – Akzeptanz <sub>forciert</sub> (n = 2) .....	80
Tabelle 24: Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (HK-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2) .....	81
Tabelle 25: Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV mit Maischesäuerung); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2) .....	83
Tabelle 26: Kleinbrauversuche mit Nacktgerstenmalz und steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV); NGM = Nacktgerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2) .....	84

## Abkürzungsverzeichnis

14:0	=	Myristinsäure
16:0	=	Palmitinsäure
18:0	=	Stearinsäure
18:1	=	Ölsäure
18:2	=	Linolsäure
18:3	=	Linolensäure
$\alpha$	=	Irrtumswahrscheinlichkeit
A	=	Alterungskomponente
ABA	=	Abscisinsäure
al.	=	alii (andere)
ATP	=	Adenosin-5'-triphosphat
Aufl.	=	Auflage
aufschl.	=	aufschließbar
ausw.	=	auswaschbar
Bd.	=	Band
BK	=	Blattkeim(e)
CO <sub>2</sub>	=	Kohlendioxid
Congr.	=	Congress
Conv.	=	Convention
DLG	=	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V.
DMS/DMS-P	=	Dimethyl-Sulfid/Dimethyl-Sulfid-Vorstufe (Precursor)
DNA	=	Desoxyribonucleinsäure
EE	=	Einmischende
EBC	=	European Brewery Convention
ELG	=	Eiweißlösungsgrad
Eur. Food Res. Technol.	=	European Food Research Technology
FAN	=	Free Amino Nitrogen (Freier Aminstickstoff)
GA	=	Gibberellinsäure
GC	=	Gaschromatograph, Gaschromatographie
Gesamt-N	=	Gesamtstickstoff
GG-%	=	Gewichts-Gewichtsprozente
GM	=	Gerstenmalz
H <sub>2</sub> O	=	destilliertes bzw. entmineralisiertes Wasser
HG	=	Hauptgärung
HK-MV	=	Hochkurzmaisverfahren
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography

HPOD	=	Hydroperoxyoctadecadiensäure (Linolsäurehydroperoxid)
HPOT	=	Hydroperoxyoctadecatriensäure (Linolensäurehydroperoxide)
Hrsg.	=	Herausgeber
ISTD	=	interner Standard
J.	=	Journal
JA	=	Jasmonsäure
J. Agric. Food Chem.	=	Journal of Agricultural Food Chemistry
J. ASBC	=	Journal of American Society of Brewing Chemists
J. Biosc. Bioeng.	=	Journal of Bioscience and Bioengineering
J. Biol. Chem.	=	Journal of Biological Chemistry
J. Food Sci.	=	Journal of Food Science
J. Inst. Brew.	=	Journal of the Institute of Brewing
koag. N	=	koagulierbarer Stickstoff
lfr.	=	lufttrocken
lösl. N	=	löslicher Stickstoff
LOX	=	Lipoxygenase
MBAA Techn. Quat.	=	Master Brewers Association of the Americas Technical Quaterly
MEBAK	=	Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission
MgSO <sub>4</sub> -N	=	Magnesiumsulfat-fällbarer Stickstoff
Monatsschr. f. Brauwiss.	=	Monatsschrift für Brauwissenschaft
MS	=	Massenspektrometer, Massenspektrometrie
MV	=	Maischverfahren
n	=	number (Anzahl)
n.a.	=	nicht auswertbar
n.b.	=	nicht bestimmt
n.n.	=	nicht nachweisbar
NGM	=	Nachtgerstenmalz
NPN	=	non-protein Nitrogen
PI	=	Polymerisationsindex
Plant J.	=	Plant Journal
Plant Physiol.	=	Plant Physiology
ppb	=	parts per billion (µg/l)
ppm	=	parts per million (mg/l)
Proc.	=	Proceedings
Prog. Lipid Res.	=	Progress in Lipid Research
PVPP	=	Polyvinylpolypyrrolidon

rel.	=	relativ
rd.	=	rund
S	=	Sauerstoffindikator
SIM	=	Einzel-Ionen Modus (Selective Ion Monitoring)
Std.	=	Standard
Stw.	=	Stammwürze
T	=	Indikator für die thermische Belastung
TBZ	=	Thiobarbitursäurezahl
TrS	=	Trockensubstanz
U	=	Units
V <sub>s</sub>	=	Scheinbarer Vergärungsgrad
v <sub>u</sub>	=	Umfangsgeschwindigkeit
W	=	Wärmeindikator
wfr.	=	wasserfrei
Z. Lebensm. Unters. Forsch.	=	Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung
Z. Phys. Chem.	=	Zeitschrift für physikalische Chemie
Z. Naturforsch. C	=	Zeitschrift für Naturforschung C, Journal of Biosciences
Zeits. f. d. ges. Brauwesen	=	Zeitschrift für das gesamte Brauwesen

## 1 Problemstellung

Der Zusammenhang zwischen Geschmacksstabilität und dem Gehalt des Bieres an Carbonylen war in den letzten Jahrzehnten immer wieder Gegenstand zahlreicher Forschungsarbeiten. Besondere Bedeutung wird dabei dem Abbau der Lipide und deren Oxidationsprodukten beigemessen, die als Vorläufer alterungsrelevanter Aromastoffe angesehen werden [1,2,3,4].

Die Bildung von Aromastoffen aus den ungesättigten Fettsäuren des Malzes erfolgt einerseits durch enzymatische Oxidation beim Maischen, insbesondere durch Lipoxygenasen (LOX), andererseits durch Autoxidation. Die gebildeten Fettsäurehydroperoxide sind instabil und werden zu kurzkettigen Carbonylen und Säuren abgebaut. Es konnte gezeigt werden, dass einige dieser Abbauprodukte im Bier die Entstehung des Alterungsgeschmacks hervorrufen [5,6]. Welcher der beiden Bildungswege bei der Entstehung der Hydroperoxide dominiert, ist noch nicht abschließend geklärt. Auch der Zusammenhang zwischen dem Hydroperoxidgehalt von Maische und den Abbauprodukten im Bier ist nicht weit genug untersucht worden, um abgesicherte Aussagen über die Bedeutung von LOX am Alterungsprofil zu treffen.

Da Lipide und lipidabbauende Enzyme vornehmlich im Keimling des Malzkorns (embryonale Axis, Schildchen, Wurzelkeim- und Blattkeimanlage) lokalisiert sind [7], besteht die Herausforderung an die Maschinenteknik, den Blattkeim abzutrennen bzw. ihn bei der Malzzerkleinerung zu schonen (protektive Schrotung). Während Wurzelkeime relativ einfach in Entkeimungsmaschinen der Mälzerei abgetrennt werden, erwiesen sich alle bisherigen Malzaufbereitungsversuche, mit denen eine Abtrennung des Blattkeims erreicht wird, als nicht praxistauglich [8,9]. Spezielle Schrotungssysteme, mit denen eine Schonung des Blattkeims bei der Malzzerkleinerung erreicht wird, zeigten bei konsequenter Anwendung einer Prozesstechnologie, die die bekannten Einflussfaktoren der Geschmacksstabilität berücksichtigt, eine abgeschwächte Entstehung von Alterungscarbonylen [10,11]. Diese Verfahren gestalten sich jedoch relativ aufwändig und erfordern höhere Investitionen. Aufgrund kinetischer Überlegungen ist die Geschwindigkeit der enzymatischen Peroxidation durch LOX unmittelbar nach dem Einmaischen am höchsten [12]. Daher erscheint es sinnvoll, die Reaktionsbedingungen für LOX bereits beim ersten Kontakt des Malzes bzw. Schrotes mit Wasser technologisch zu beeinflussen.

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss des Blattkeims auf die Qualitätsmerkmale des Bieres herauszuarbeiten. Zusätzlich sollten die Einflussfaktoren im Bereich der Schrotung und der Würzebereitung untersucht werden, mit denen die Vorgänge im Rahmen des enzymatischen Lipidabbaus minimiert werden können. Die im Pilotmaßstab gewonnenen Erkenntnisse wurden zur Beurteilung und Optimierung von Schrotungs- und Einmaischsystemen im Praxismaßstab verwendet.

## 2 Die Bedeutung des Blattkeims von Gerstenmalz im Mälzungs- und Brauprozess

Eine der Hauptaufgaben des Mälzens ist die Erzeugung von Enzymen, welche die Lösung und den Abbau des Mehlkörpers beim Maischen bewirken [13]. Dem Embryo mit seiner Wurzel- und Blattkeimanlage kommt bei der Regulation der Enzymproduktion und der Lösungsvorgänge während der Keimung eine Schlüsselrolle zu [14,15]. Zum Erreichen der gewünschten Umsetzungen im Mälzungsprozess darf das Wachstum des Keimlings aber nur in einem begrenzten Umfang stattfinden. Eine Überlösung von Malz führt zu höheren Mälzungsverlusten und ist mit einem zu weitgehenden Abbau hochmolekularer Malzinhaltstoffe verbunden. Daraus resultieren Nachteile für wesentliche Qualitätsmerkmale wie Farbe, Schaumhaltbarkeit, Geschmack und Geschmacksstabilität des Bieres. Eine Unterlösung des Malzes ist wiederum mit Nachteilen verbunden, die auf einen unzureichenden Abbau der Malzinhaltstoffe beim Mälzen und Maischen zurückgeführt werden können. Unterlöste Malze liefern Würzen, die in der Regel bereits bei der Läuterarbeit zu Verarbeitungsschwierigkeiten führen, eine unzureichende Ausstattung an Nährstoffen für die Hefe aufweisen und zu einer langsameren Gärung und Reifung des Bieres führen. Die Biere zeichnen sich durch eine schlechte Filtrierbarkeit aus und lassen qualitative Nachteile, insbesondere bei der chemisch-physikalischen Stabilität, erkennen [16].

Eine Untersuchung des Blattkeims von Gerstenmalz für die Bierqualität sollte daher nicht allein die Inhaltsstoffe des Blattkeims und deren Bedeutung im Brauprozess zum Gegenstand haben, sondern auch die Funktion der embryonalen Anlage im Mälzungsprozess berücksichtigen.

### 2.1. BEDEUTUNG DES KEIMLINGS IM MÄLZUNGSPROZESS

Für die Malzbereitung wird überwiegend die zweizeilige bespelzte Sommerbraugerste (*Hordeum vulgare*) verwendet. Die in den letzten 30 Jahren intensiv betriebenen Selektionsarbeiten im Bereich der Gerstensortenzüchtung führten neben einer Ertragssteigerung auch zu einer deutlichen Verbesserung der Qualität des Braumalzes sowohl beim Extrakt als auch bei den zytolytischen und proteolytischen Lösungseigenschaften [17,18].

Der Mälzungsprozess kann unterteilt werden in drei Schritte: das Weichen, das Keimen und das Darren. Durch Anpassung und Steuerung der Mälzungsbedingungen kann in modernen pneumatischen Mälzungssystemen die Verarbeitung großer Gerstenchargen zu einem gleichmäßig gelösten, enzymstarken Malz erreicht werden. Nebenprodukt der Malzerzeugung sind die Malzkeime. Diese bestehen überwiegend aus den Wurzelkeimen des Gerstenkorns,

die während der Keimung aus dem Korn hervortreten und in Entkeimungsanlagen vom Braumalz abgetrennt werden.

Die Malzkeime fallen normalerweise in einer Menge von 3 bis 5 % der Malztrockensubstanz an. Der hohe Proteingehalt, verbunden mit einem hohen Gehalt an gut verdaulichen Kohlenhydraten und Mineralstoffen, macht die Malzkeime zu einem wertvollen Futtermittel.

Es ist heute noch geübte Praxis im fertigen Malz die Länge des Blattkeims zur Beurteilung der zytolytischen Lösung des Endosperms heranzuziehen. Die mittlere Blattkeimlänge besitzt jedoch nur eine begrenzte Aussagekraft zur Beurteilung der Modifikation und der Homogenität des Malzes (Bestimmtheitsmaße für die Modifikation und die Homogenität:  $R^2 = 0,62$  bis  $0,85$  bzw.  $R^2 = 0,79$  [19,20]). Einfacher und aussagekräftiger kann der Auflösungszustand des Malzes über die speziellen Kennzahlen der Zytolyse, Proteolyse und Amylolyse ermittelt werden [21].

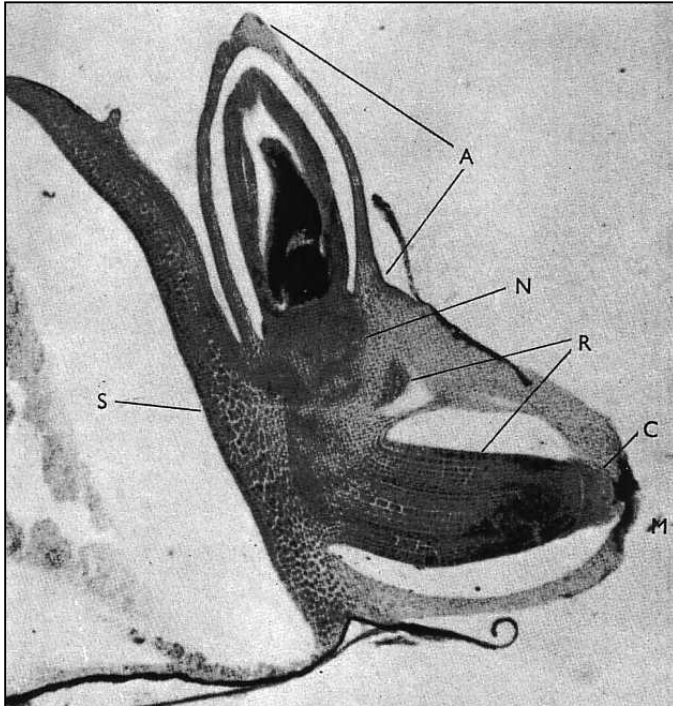
### 2.1.1. Morphologie des Embryos und des Gerstenkorns

Das Gerstenkorn ist eine Schalenfrucht, bei der im reifen Korn die beiden Hüllspelzen verwachsen sind. Die drei Hauptteile des Korns sind Keimling (Embryo), Mehlkörper (Endosperm) und Umhüllung (Spelzen, Frucht- und Samenschale).

Der Keimling befindet sich am unteren Ende der Rückenseite und stellt den lebenden Teil des Korns dar. In ihm finden sich die Anlagen der künftigen Achsenorgane. Abbildung 1 zeigt einen Längsschnitt eines entspelzten Gerstenkorns. Dabei lassen sich vier verschiedene Regionen im Keimling unterscheiden:

1. Blattkeim, setzt sich zusammen aus der Blattanlage, die aus drei bis vier embryonalen Blättern besteht, und einer sie umgebenden Blattkeimscheide (*Coleoptile*).
2. Wurzelkeim, bestehend aus der Wurzelanlage und einem Hauptwürzelchen, welches in die Wurzelscheide (*Coleorhiza*) eingehüllt ist.
3. Stammanlage (Knotenregion). Sie stellt eine Verbindung zwischen Blatt- und Wurzelkeim dar. In der Stammanlage befindet sich das sog. *Mesocoyl*, eine Verbindung zwischen Blattkeimscheide und Schildchen.
4. Schildchen (*Scutellum*). Es befindet sich an der dem Mehlkörper zugewandten Seite. Innerhalb des Schildchens kann unterschieden werden zwischen dem Aufsaugeepithel, einer einzelnen Schicht von Epithelzellen, die an das Endosperm grenzt, und dem darunter liegenden Gewebe. Das Schildchen dient dem Embryo als Nährstoffreserve, ist aber auch Ort der Stärke- und Saccharosesynthese. Zu Beginn der Keimung bildet sich im Schildchen ein vaskuläres System aus, das dem Transport von Wuchs- und Nährstoffen dient.





**Abbildung 1: Längsschnitt eines gewichteten, entspelzten Gerstenkorns (A: Blattkeim mit *Coleoptile*, S: Schildchen, N: Knotenregion, R: Wurzelorgan, C: *Coleorhiza*) (Lichtmikroskopische Aufnahme) [22]**

Der Mehlkörper des Korns liegt unmittelbar neben dem Keimling und dient diesem vorwiegend als Nährstoffspeicher. Der Mehlkörper besteht aus den stärkeführenden und den fettführenden Zellen. Letztere befinden sich am Rand des Mehlkörpers in einer dreilagigen Zellschicht, der Aleuronschicht. In der Nähe des Keimlings weist die Aleuronschicht lediglich eine Zelllage auf. Zwischen Embryo und Endosperm befindet sich eine Schicht aus leeren Zellen, die im Stadium der Embryonalentwicklung verbraucht wurden (Intermediärschicht) [23]. Der Kern des Mehlkörpers besteht aus stärkeführenden Zellen, in deren Protoplasma Stärkekörner eingebettet sind. Die Zwischenräume der Zellen sind mit eiweiß- und gummiartigen Stoffen mehr oder weniger ausgefüllt [21].

Da die Reservestoffe größtenteils in Form von hochmolekularen Substanzen vorliegen, müssen sie zunächst zu diffusionsfähigen Spaltprodukten abgebaut werden, ehe sie dem wachsendem Keimling zugeführt werden können. Die Aufnahme der hydrolysierten Nährstoffe erfolgt über das Aufsaugeepithel des Schildchens. Aus den Aminosäuren baut der Keimling das Eiweiß seiner neuen Gewebe auf, wozu auch Moleküle aus dem Kohlenhydratabbau und Mineralstoffe verwendet werden. Die zur Synthese notwendige Energie gewinnt der Keimling durch die Veratmung von Kohlenhydraten und Fetten [24].

Die Umhüllung des Korns besteht aus einer Bauch- und einer Rückenspelze. Unterhalb der Spelzen befinden sich die Fruchtschale (*Pericarp*) und die Samenschale (*Testa*), die dem

Keimling einen natürlichen Schutz vor mechanischen und chemischen Einflüssen bieten. Die Spelzen bestehen aus größtenteils wasserunlöslichen Stoffen. Die löslichen Stoffe der Spelze, wie Kieselsäure, Polyphenole, Lipide und bestimmte Eiweißverbindungen, sind vom brautechnologischen Standpunkt aus geschmacklich als auch für die chemisch-physikalische Stabilität des Bieres nachteilig. Die Umhüllung wird aber im Sudhaus beim Abläutern der Würze als Filterschicht benötigt [21].

### 2.1.2. Vorgänge bei der Keimung von Gerste

Der Keimvorgang ist durch drei zum Teil schon äußerlich wahrnehmbare Erscheinungen charakterisiert: durch die Wasseraufnahme des Korns, durch die einsetzende Entwicklung des Keimlings und durch die Umwandlung der im Mehlkörper vorhandenen Reservestoffe. Die endogenen Reserven reichen aus, den Keimling für längere Zeit von einer Nährstoffzufuhr unabhängig zu machen [15].

Die Gestaltsveränderungen des Keimlings äußern sich zuerst an der Wurzel-, später an der Blattkeimanlage. Zunächst durchbricht das Hauptwürzelchen die Frucht- und Samenschale und die anliegende Spelze: das Korn „spitzt“. Dann werden die Zellen der Wurzelscheide zerrissen und einige Würzelchen treten heraus: das Korn „gabelt“. Der Blattkeim durchbricht zunächst die Frucht- und Samenschale und schiebt sich zwischen diesen und der Rückenspelze zur Spitze des Korns vor. Wächst der Blattkeim über die Kornspitze hinaus, spricht man von „Husarenbildung“ [21,25].

Bereits wenige Stunden nach dem Weichen der Gerste werden die im Embryonalgewebe lokalisierten löslichen Zucker nahezu vollständig veratmet. Der weitere Bedarf an Glucose wird durch die Mobilisierung der Endosperm-Stärke gedeckt [26]. Nach Depolymerisation werden die löslichen Zucker dem meristematischen Gewebe zum Zellaufbau zur Verfügung gestellt. Der glycosidische Abbau der Hexosen ist mit der ATP-Synthese in den Mitochondrien gekoppelt [27].

Der Abbau der Proteine erfolgt durch Endopeptidasen und andere hydrolytische Enzyme. Der Pool an Aminosäuren und Oligopeptiden wird entweder direkt für Neusynthesen von Proteinen verwendet oder liefert nach Transaminierung Bausteine für den Intermediärstoffwechsel [27]. Die Fettreserven werden nach Esterspaltung durch spezifische Lipasen zu Fettsäuren und Glycerin abgebaut. Über die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren wird Acetyl-CoA gebildet, das über den Glyoxylatzyklus in Richtung Gluconeogenese geschleust oder über den Citrat-Zyklus für die ATP-Gewinnung eingesetzt wird [15].

Aus dem Primärstoffwechsel hergeleitete Korninhaltsstoffe werden zur Biosynthese sekundärer Pflanzenstoffe verwendet. Diese dienen der Anpassung an extreme Umwelteinflüsse und bewirken eine Umstellung des Metabolismus der Pflanze. „Stress“-

Reaktionen werden z.B. durch Verwundungen, Trockenheit, Kälte, Nässe, Insektenfraß oder Pilzbefall hervorgerufen [28].

Das Zusammenspiel und die mögliche gegenseitige Ergänzung der einzelnen Enzymgruppen ist von großer Bedeutung für die Physiologie der Gerstenkeimung. Der Keimungsverlauf einzelner Gerstenpartien ist abhängig von Sorte, Anbauort, Klima, Vegetationszeit, Lagerungsbedingungen und Gerstensortierung [29,30,31]. Dies macht eine ständige Kontrolle und Anpassung des Mälzungsprozesses erforderlich.

### 2.1.3. Keimungsbedingungen

Um keimfähige Gerste zu keimen zu bringen, ist zunächst die Keimruhe zu überwinden. Die Keimruhe stellt einen natürlichen Schutz des Kornes vor einem frühzeitigen Auskeimen auf dem Feld dar. Sie ist auf Keimungsinhibitoren im Korn zurückzuführen, die eine Keimung der Gerste auch unter günstigen Keimungsbedingungen verhindern. Die Keimruhe wird durch eine längere Lagerzeit nach der Ernte überwunden, kann aber auch durch eine Wärmebehandlung der Gerste gebrochen werden.

Im Mälzungsprozess werden die Keimungsbedingungen so gesteuert, dass die gewünschte Enzyymbildung und die Auflösungsvorgänge im Korn in kürzester Zeit und mit einem möglichst geringen Mälzungsschwand erreicht werden. Besondere Bedeutung hat dabei die Gleichmäßigkeit des Ankeimens und des Haufenwachstums. Inhomogenitäten im Keimgut, hervorgerufen durch „Ausbleiber“ und unterlöste Körner, können, vor allem wegen der schlechteren Zytolyse, zu erheblichen Verarbeitungsschwierigkeiten im Brauprozess führen [32,33].

#### 2.1.3.1. Wassergehalt

Die Keimung wird durch die Wasseraufnahme des hygrokopischen Samens eingeleitet. Die Wasseraufnahme beginnt mit der Quellung, einem rein physikalischen und reversiblen Prozess. An die Wasseraufnahme durch Quellung schließt sich die mit der Keimung verbundene Wasseraufnahme an. Besonders die im Zuge der Keimung stattfindende Zellstreckung basiert auf einer intensiven Wassereinlagerung. Nach Aktivierung des Stoffwechsels setzt das irreversible Wachstum des Embryos ein [34]. Zellteilungen im Embryonalgewebe wurden bereits 12 bis 18 Stunden nach Beginn des Weichprozesses nachgewiesen [14].

Eine Erhöhung des Wassergehaltes ist mit einer Intensivierung der Atmungsvorgänge verbunden [35]. Im Hinblick auf die Empfindlichkeit der Gerste gegenüber einer übermäßigen Wasseraufnahme, sollte durch lange Trockenweichen beim Weichen die Atmung des Kornes unterstützt und die Wasseraufnahme begrenzt werden [36]. Nach Untersuchungen von *Sims* [37] und *Narziß* [38] keimt Gerste bei einem Wassergehalt zwischen 37 und 40 % am

raschesten und gleichmäßigsten an. Erst anschließend sollte der maximale Feuchtigkeitsgehalt von etwa 44 bis 48 % eingestellt werden, mit dem gezielt Einfluss auf die Aktivierung entsprechender Enzymgruppen genommen werden kann [39,40]. Häufiges Aufspritzen während der Keimung forciert das Wachstum der Keimanlagen [41].

### 2.1.3.2. Sauerstoff

Die für den Aufbau von neuen Zellen notwendige Wachstumsenergie des Keimlings wird in Form von ATP bereitgestellt, das aus der Substratketten- und der Atmungskettenphosphorylierung stammt. Im jungen Keimling überwiegt zunächst die Glykolyse und damit die Substratkettenphosphorylierung. Später kommt es dann zum Einschalten der Mitochondrien mit ihrer Atmungskette. Das Funktionieren der Atmungskette setzt jedoch voraus, dass genügend Luftsauerstoff vorhanden ist [15]. Der Substanzverlust, der durch die Veratmung eines Teils der Korninhaltsstoffe entsteht, ist mit der Entstehung von Kohlendioxid, Wasser und einer Wärmefreisetzung verbunden.

Ein übermäßiger Anstieg des Kohlendioxidgehaltes der Haufenluft führt zu intrazellulärer Atmung (Gärung) des Korns. Dabei entstehen Ethanol und Fuselöle sowie Essig-, Milch-, Propion- und Buttersäure, die den Keimling empfindlich schädigen können [24,42]. In modernen pneumatischen Mälzungssystemen wird das Keimgut daher mit einem mit Feuchtigkeit gesättigten Luftstrom belüftet. Neben der Austragung der Atmungskohlensäure dient dieser der Temperierung des Keimgutes [44]. Erst nachdem ein gleichmäßiges Gabeln des Haufens zu beobachten ist, kann ein Anstieg des CO<sub>2</sub>-Gehaltes auf 4 bis 8 % dazu genutzt werden, das Wachstum des Keimlings zu verlangsamen [43,44].

### 2.1.3.3. Temperatur

Neben Keimverfahren mit konstanten Keimtemperaturen, werden auch steigende oder fallende Keimtemperaturen angewendet. Bei Anwendung von fallenden Keimtemperaturen wird mit relativ hohen Temperaturen in der „biologischen“ Phase (16 bis 20 °C) gearbeitet und nach etwa drei Keimtagen eine rasche Abkühlung des Haufens auf 11 bis 14 °C vorgenommen [40,45]. Höhere Keimtemperaturen beschleunigen erwartungsgemäß das Wachstum und die Lösungsvorgänge des Korns. Keimtemperaturen über 20 °C bereiten jedoch Schwierigkeiten, das Keimgut gleichmäßig zu führen. Damit verbunden sind ein höherer Mälzungsschwand und eine schlechtere Homogenität des Malzes [42].

Der Feuchtigkeitsverlust durch die Kühlung kann durch Aufspritzen ausgeglichen werden [21]. Spezielle Wendervorrichtungen im Keimkasten besorgen einen Wendeeffekt und eine Auflockerung des Keimgutes und verhindern so das Zusammenwachsen der Wurzelkeime.

#### 2.1.3.4. Zeit

Mit zunehmender Keimdauer wird das Wachstum am Wurzel- und Blattkeim immer deutlicher sichtbar. Gleichzeitig kann ein Fortschreiten der Auflösungsvorgänge und eine Steigerungen der Enzymaktivität festgestellt werden [45,46]. Da Grünmalzanalysen schlecht reproduzierbar sind, beurteilt der Mälzer das Grünmalz nach seinen äußeren Eigenschaften, um daraus Rückschlüsse über den Ablauf des Mälzungsprozesses und die Zweckmäßigkeit der angewendeten Maßnahmen zu ziehen. Neben der visuellen Kontrolle des Haufens (Aussehen und Länge der Wurzel- und Blattkeime) können über den Geruch, die Zerreiblichkeit und den Feuchtigkeitsgehalt Aussagen über einzuleitende Maßnahmen getroffen werden. Diese erfolgen unter Berücksichtigung des gewünschten Malztyps und der zu erwartenden Umsetzungen beim Schwelken und Darren [21].

Das Wachstum des Blattkeims erreicht bei der Herstellung heller Malze gewöhnlich die 0,7-fache Kornlänge, die Wurzelkeime etwa die 2- bis 2,5-fache Kornlänge [21]. Eine Reduzierung des Mälzungsschwandes kann durch Maßnahmen, die das Wachstum und die Atmung des Keimlings begrenzen, wie kalte Haufenführung, niedrige Keimgutfeuchte, Kohlensäurerastverfahren und Wiederweiche, erreicht werden. Im Ausland sind Zusätze bei der Keimung erlaubt, mit denen das Wachstum und die Atmungsvorgänge des Korns beeinflusst werden können (z. B. Gibberellinsäure, Kaliumbromat, Salpetersäure, Kumin, Kupfersulfat) [24,47].

#### 2.1.4. Regulation der Keimung durch Phytohormone

Die Bedeutung des Embryos für die Kontrolle der Speicherstoffmobilisierung ist seit Ende des 19. Jahrhunderts Gegenstand intensiver Untersuchungen [48]. Bereits 1890 vermutete *Haberlandt* [49], dass der Stärkeabbau von einem nicht-enzymatischen Kontrollsignal des Embryos abhängig ist und wies auf die Bedeutung der Aleuronschicht für die im Endosperm ablaufenden Prozesse hin. Von anderen Autoren wurde lange Zeit das *Scutellum* als Hauptquelle der  $\alpha$ -Amylase beschrieben [50,51,52]. Der von *Yomo* [53] und *Paleg* [54] fast gleichzeitig erbrachte Nachweis, dass exogene Gibberellinsäure (GA) in embryofreien Gerstensamen die Freisetzung von hydrolytischen Enzymen auslöst, führte zu der allgemein anerkannten Hypothese, dass der Stärkeabbau durch vom Embryo synthetisierte GA kontrolliert wird [23,55]. Durch die Isolierung von Aleuronzellen und Scutellum aus keimenden Gerstensamen konnte bestätigt werden, dass GA in der Aleuronzelle die Genexpression von  $\alpha$ -Amylase und anderen hydrolytischen Enzymen anschaltet [56,57].

Als Gegenspieler der GA wirkt die Abscisinsäure (ABA), die die Funktion der Aleuronzellen inhibiert. Eine hohe Konzentration an ABA im Embryo und eine hohe Sensitivität des Embryos gegenüber ABA wird für die Keimruhe des Korns verantwortlich gemacht [58]. Weiterhin ist ABA in verschiedene physiologische Prozesse, wie Samenreifung, Keimung,

Hitze und Kältetoleranz, sowie Wasser- und Salzstress involviert [28]. Die Biosynthese von ABA kann von Mevalonsäure über Carotinoide unter Beteiligung von Lipoxygenase (LOX) erfolgen [59]. Jasmonate (Jasmonsäure und sein Methylester) rufen ähnliche Reaktionen wie ABA in Pflanzen hervor [28,60,61]. Die Biosynthese von Jasmonsäure erfolgt aus Linolensäure unter Beteiligung von LOX und den hydroperoxidabbauenden Enzymen Allenoxidsynthase und Hydroperoxidlyase [60,62]. Darüber hinaus sind noch eine Reihe weiterer organischer Wirkstoffe bekannt, die den Stoffwechsel des Keimlings regulieren, wie z.B. Cytokinine, Zimtsäure, Kaffesäure und Ferulasäure [59].

Der Transport der Phytohormone erfolgt über ein Gefäßsystem, das von der embryonalen Axis über das *Scutellum* zu den Ausläufern der Aleuronschicht führt. Von dort findet ein apoplastischer Transport durch eine etwa 3 µm dicke Zellwand in die Aleuronschicht statt. In der Aleuronschicht kann der Transport zur Kornspitze symplastisch erfolgen, da die Zellen durch Plasmodesmen miteinander verbunden sind [63,64,65].

Über den primären Wirkungsmechanismus der Phytohormone im Regulationsgeschehen bei der Keimung kann jedoch nur in den seltensten Fällen eine Aussage getroffen werden. Durch ein ausgewogenes Zusammenspiel antagonistischer Wirkstoffe und über die Regulation der Synthese und des Abbaus zeigt sich vielmehr, dass die Phytohormone nur Teil eines komplexen Ganzen sind. Eine Keimung unter Bedingungen, die die weitere Entwicklung nicht gestatten, bedeutet den Tod des Keimlings [15].

#### 2.1.5. Vorgänge beim Abdarren des Malzes

Beim Darren werden die biochemischen Umsetzungen des Keimlings zu einem Abschluss gebracht und die Zusammensetzung des Malzes festgelegt. Daneben wird der rohfruchtartige Geruch und Geschmack des Grünmalzes zum Verschwinden gebracht und dem Malz ein je nach Typ charakteristisches Aroma verliehen [21].

Das Abdarren erfolgt gewöhnlich in zwei Stufen. Während des Schwelkens erfolgt eine Entwässerung des Grünmalzes bei niedrigen Temperaturen bis auf einen Wassergehalt von etwa 10 %. Das Abdarren von hellem Malz erfolgt bei Temperaturen von 80 °C bis 88 °C, wobei die Entwässerung bis auf 3,5 bis 4 % geführt wird. Neben physikalischen Veränderungen wie Volumenverlust und Farbzunahme finden chemische Veränderungen statt, die auf ein weiteres Wachstum des Keimlings und enzymatische Reaktionen zurückzuführen sind. Dunkle Malze werden bei Temperaturen von 90 bis 108 °C abgedarrt, wobei hier die Farb- und Aromabildung im Vordergrund steht [66].

Die Aromastoffe des Malzes können entsprechend ihres Bildungsweges und ihrer Veränderung beim Darren in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden. Die Aromastoffe aus dem Lipidstoffwechsel, welche vorwiegend auf enzymatischem Wege bei der Keimung entstehen,

sowie die Aromastoffe, die aus nicht-enzymatischen Reaktionen (insb. Maillardreaktion) hervorgehen.

Die Lipidabbauprodukte erfahren beim Schwelken eine starke Abnahme, die mit der Reduzierung des Wassergehaltes einhergeht. Gleichzeitig ist eine rasche Lipolyse sowie eine beschleunigte Lipidoxidation durch LOX festzustellen. In der Abdarrphase findet auf thermisch-oxidativem Weg eine beträchtliche Nachbildung der Fettabbauprodukte aus den entsprechenden Vorläufern statt [67]. Die LOX-Aktivität wird je nach Abdarrtemperatur deutlich reduziert [68,69].

Bei der Maillardreaktion reagieren Zucker mit Eiweißabbauprodukten wie Aminosäuren, Di- und Tripeptiden. Dabei entstehen eine Vielzahl von Aromastoffen und färbenden Substanzen wie Melanoidinen, Streckeraldehyden, Furanen und N-Heterocyclen [70]. Die Bildung dieser Substanzen ist vom Ausmaß der thermischen Belastung, gegeben durch Abdarrtemperatur und -zeit, abhängig [66,67,71].

Nach dem Darren des Malzes ist eine Abtrennung der Wurzelkeime notwendig, da diese hygroskopisch sind, zufärbend wirken und bitterschmeckende Substanzen enthalten, die den Biergeschmack nachteilig beeinflussen können [21]. Die Wurzelkeime können in den entsprechenden Entkeimungsvorrichtungen leicht und restlos entfernt werden. Trotz der hohen Abdarrtemperaturen und der Entkeimung ist nur ein teilweiser Verlust der Lebensfähigkeit des Malzkorns festzustellen. Die Wiederkeimfähigkeit von hellem Gerstenmalz liegt häufig noch zwischen 50 und 90 % [72,73].

#### 2.1.6. Enzymatischer Lipidabbau im Mälzungsprozess

Der Lipidgehalt von Gerste beträgt etwa 2,5 bis 4,4 %. *Ketterer* [74] konnte beobachten, dass während des Mälzungsprozesses bis zu 50 % der Gerstenlipide abgebaut werden. *Galliard* [75] berichtete, dass die Lipide bei der Keimung der Gerste überwiegend über den Atmungsstoffwechsel oder auch direkt im Keimling verwertet werden. Nach Untersuchungen von *Anness* [76] bilden die Triacylglycerole, mit einem Anteil von etwa 70 % an der Trockenmasse, den Hauptanteil der Lipide.

Der Lipidgehalt und seine Acylglycerolzusammensetzung sind überwiegend von der Gerstensorte abhängig. Beim Abbau der Lipide entstehen Aromastoffe, die unter anderem auch das typische Grünmalzaroma bedingen. *Ketterer* [74] zeigte, dass der Umfang des Lipidabbaus stark vom Weichgrad beeinflusst wird, jedoch keinen Zusammenhang zu anderen Abbauvorgängen wie Zytolyse oder Proteolyse erkennen lässt. Während bei einem hohen Wassergehalt die Monoglyceride im Verlauf der Keimung stetig abnehmen, steigt ihr Gehalt bei niedrigem Wassergehalt erst an, fällt dann aber ab dem 3. bis 4. Keimtag wieder. Die Menge an Diglyceriden verringert sich um bis zu 30 % [77]. Die

Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Lipidfraktionen ändert sich nur wenig [76], nur der Gehalt an freien Fettsäuren nimmt zu [78]. Mit einem Anteil von über 50 % stellt Linolsäure die konzentrationsstärkste Fettsäure in Gerste und Malz dar [79].

Verantwortlich für die Veränderungen und den Abbau der Lipide im Mälzungsprozess sind fettabbauende Enzyme, deren Aktivität im Verlauf der Keimung zunimmt, wie z.B. Lipoxygenasen (LOX), Hydroperoxidisomerasen, Lipasen und Phospholipasen. Der Autoxidation von Fettsäuren bei der Keimung wird von *Gardner* [80] eine nur geringe Bedeutung beigemessen. Die enzymatisch katalysierte Umsetzung mehrfach ungesättigter Fettsäuren mit einem (Z,Z)-1,4-Pentadiensystem (z.B. Linol- und Linolensäure) durch LOX führt zu enantiomerenreinen (S)-Fettsäurehydroperoxiden [81]. Die gebildeten Fettsäurehydroperoxide sind instabil und werden für die Entstehung einer Reihe von Aromastoffen verantwortlich gemacht, die auch bei der Alterung des Bieres eine Rolle spielen [4,5,82,83].

Nach dem erstmaligen Nachweis von LOX in Gerste durch *Franke* et al. [84] 1953 und der Entdeckung des zweiten Isoenzym LOX 2 durch *Yabuuchi* [85] 1976 folgten eine Reihe von Untersuchungen zur Charakterisierung der LOX-Isoenzyme. Hiernach katalysiert LOX 1 die Umsetzung von Linolsäure zu (9S)-Hydroperoxyoctadeca-10(E),12(Z)-diensäure (9-HPOD), während LOX 2 diese hauptsächlich zu (13S)-Hydroperoxyoctadeca-9(Z),11(E)-diensäure (13-HPOD) umsetzt [86,87]. Beide Isoenzyme haben dasselbe Molekulargewicht und ein ähnliches pH-Optimum. Unterschiede zeigten sich aber im Wirkungsbereich, dem isoelektrischen Punkt, der thermischen Stabilität und den Geschwindigkeitskonstanten [88,89]. *Holtman* et al. [90] berichteten, dass beide Isoenzyme auch veresterte Fettsäuren peroxidieren und wiesen auf mögliche Abbauwege der oxidierten Lipide im Keimling hin.

Die HPOD werden während des Mälzens von mehreren Enzymsystemen abgebaut. So wandelt eine Isomerase HPOD teilweise in die entsprechenden C<sub>18</sub>- $\alpha$ - bzw.  $\gamma$ -Ketole um, aus denen chemisch oder enzymatisch Mono-, Di- und Trihydroxyfettsäuren sowie Ketohydroxy- und Hydroxyepoxysäuren entstehen [6,91,92]. Die von *Schwarz* und *Pylar* [68] beschriebene Hydroperoxid-Isomerase erwies sich deutlich hitzestabiler als LOX. *Kuroda* et al. [93] zeigten, dass auch Peroxidasen am Abbau der HPOD zu Trihydroxyfettsäuren beteiligt sind. Nach *Clarkson* [94] kommen mindestens zehn Isoenzyme von Peroxidase in Gerste und Malz vor.

Der Metabolismus der ungesättigten Fettsäuren über die regio- und stereospezifische LOX-Katalyse und die Weiterreaktionen zu sog. Oxylipinen wird als „LOX-Pathway“ bezeichnet. *Feussner* und *Wasternack* [61] zeigten, dass mindestens sieben verschiedene Enzyme am Abbau der Fettsäurehydroperoxide in Pflanzen beteiligt sind. In einer Reihe weiterer Arbeiten sind verschiedene Theorien über die physiologische Funktion und die Regulation des LOX-Pathways entwickelt worden. *Hildebrand* und *Grayburn* [95] berichteten über die Bedeutung



der Oxylipine beim Wachstum der Pflanzen. Ein Zusammenhang zwischen der LOX-Aktivität und der JA-Biosynthese bei der Wundheilung von Pflanzen wurde von *Royo et al.* [96] nachgewiesen. *Wilson et al.* [97] konnten eine Beteiligung von LOX am Abwehrsystem der Pflanzen gegenüber Pilzinfektionen zeigen. Mithilfe der Klonierungstechnik und Expressionsanalyse konnten weitere Schaltfunktionen des LOX-Pathways aufgezeigt werden, die für die Pflanzenentwicklung von Bedeutung sind [61,98,99,100]. *Gardner et al.* [101] zeigten, dass von einigen der Lipidabbauprodukte, z.B. von (*E*)-2-Hexenal und (*E*)-2-Nonenal, eine inhibitorische Wirkung auf das Keimlingswachstum ausgeht.

Untersuchungen über den Aktivitätsverlauf der LOX im Mälzungsprozess haben gezeigt, dass LOX 2 erst im Verlauf der Keimung gebildet wird, während LOX 1 bereits in ruhender Gerste vorkommt. Beim Weichen der Gerste und in der Ankeimphase ist eine Abnahme der Gesamt-LOX-Aktivität zu beobachten [7,102]. Im weiteren Verlauf der Keimung nimmt die Aktivität der LOX-Isoenzyme wieder zu. *Hugues et al.* [89] konnten bis gegen Ende der Keimung eine 3,5-fache Erhöhung der Ausgangsaktivität der Gerste beobachten. Zu Beginn des Schwelkens wurden ebenfalls noch gewisse Zunahmen bemerkt, während das Abdarren zu einer deutlichen Abnahme der LOX-Aktivität führt [68,103,104]. LOX 2 ließ dabei eine stärkere Hitzeempfindlichkeit erkennen als LOX 1 [68]. *Billaud et al.* [105] zeigten, dass Malz auch Inhibitoren für LOX enthält, deren Bildung zum Teil während des Darrens erfolgt.

*Van Waesberghe* und *van Waesberghe* [106] berichteten, dass die LOX-Aktivität während des Mälzens durch kontrolliertes Mikroorganismenwachstum, programmierte Akkumulation von CO<sub>2</sub> in der zweiten Phase der Keimung sowie durch eine Optimierung der spezifischen Beladung der Darre reduziert werden kann. Obwohl zu Beginn des Schwelkens noch eine intensive lipolytische Aktivität festzustellen ist, wirken sich niedrige Schwelktemperaturen sowie über eine längere Phase ausgedehnte Schwelkverfahren günstig auf die Malz- und Bierqualität sowie auf die Geschmacksstabilität der Biere aus [67]. *Hämäläinen et al.* [107] entwickelten ein mathematisches Modell zur Vorhersage der LOX-Aktivität während des Darrens und konnten zeigen, dass die Inaktivierungsrate hauptsächlich vom Wassergehalt und von der Höhe der Abdarrtemperatur abhängig ist. *Kaukovirta-Norja et al.* [108] konnten nach 110 Tagen Lagerung des Malzes bei Raumtemperatur eine 50- bis 70-prozentige Abnahme der LOX-Aktivität feststellen.

Der Abbau der HPOD führt zu einem Produktspektrum aromaintensiver Stoffe, wie z. B. dem (*E*)-2-Nonenal, das bereits ab einer Konzentration von 0,1 ppb den Alterungsgeschmack im Bier bestimmen kann („cardboard-flavour“) [109]. *Tressl et al.* [6] zeigten Ende der siebziger Jahre, dass 50 weitere aromaintensive Verbindungen, wie Hexanal, Hexenal, Nonadienal sowie Alkohole, Oxysäuren und Lactone aus dem Abbau der Linol- und Linolensäure entstehen. In der Folgezeit wurden eine Reihe von Abbauwegen, welche zur Bildung von geschmacksaktiven Aldehyden und insbesondere des (*E*)-2-Nonenals führen, aufgeklärt.

Umfassende diesbezügliche Übersichten lieferten beispielsweise *Barker* et al. [110] sowie *Wackerbauer* und *Hardt* [111]. Die Theorie der Oxidation von ungesättigten Fettsäuren als Precursor-Mechanismus der Carbonyle stellt sich dabei als Schwerpunkt heraus, wobei *Drost* et al. [5] bereits zu Beginn der siebziger Jahre einen Zusammenhang zwischen den Hydroxyfettsäuren aus Linolsäure und den geschmacksaktiven Aldehyden herstellten.

In Gerste und Malz wurden eine große Anzahl an regio- und stereoisomeren Monohydroxyfettsäuren, Dihydroxyfettsäuren, und Trihydroxyfettsäuren nachgewiesen [112,113,114]. *Wackerbauer* und *Meyna* [115] zeigten, dass ein großer Teil der Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz in veresterter Form (Triacylglycerole, Phospholipide) vorkommt. Weiterhin wurde berichtet, dass die Konzentration dieser Substanzen in Gerste höher ist als in dem korrespondierenden Malz, woraus eine intensive Aktivierung von LOX bereits in der Gerstenpflanze abgeleitet wurde. *Kuroda* et al. [93] berichteten, dass Trihydroxyfettsäuren auch beim Maischen gebildet werden und bis in das fertige Bier gelangen und dort schaumschädigend wirken. *Kobayashi* et al. [116] wiesen in diesem Zusammenhang auf die Bedeutung der Lipasen hin, welche beim Mälzen und Maischen die Freisetzung glyceridisch gebundener HPOD und Hydroxyfettsäure katalysieren. Von *Möller-Hergt* [91] wurde berichtet, dass Mono- und Dihydroxyfettsäuren im Brauprozess stärkeren Veränderungen unterworfen waren als Trihydroxyfettsäuren. Untersuchungen von *Garbe* [117] zeigten, dass der Abbau der gesättigten und ungesättigten Hydroxy-Fettsäuren durch die Stereoselektivität der peroxisomalen Enzyme der Hefe *S. cerevisiae* bestimmt wird.

Zur einfachen und schnellen Vorhersage der zu erwartenden geschmacklichen Stabilität eines Bieres auf Basis des (*E*)-2-Nonenal als Indikatossubstanz entwickelten *Drost* et al. [4] 1990 die analytische Methode des sog. Nonenal-Potenzials. Dieses wurde definiert als die Fähigkeit von Malz, Würze bzw. Bier unter bierähnlichen Bedingungen und einer forcierten Alterung (*E*)-2-Nonenal zu bilden. Es wurde gezeigt, dass das Nonenal-Potenzial sehr gut mit der LOX-Aktivität des Malzes korreliert und ferner eine gute Korrelation zu dem sich bei Bieralterung bildenden (*E*)-2-Nonenal besteht. Von *De Buck* et al. [103] wurde sogar ein Zusammenhang zwischen dem individuell bestimmten Nonenal-Potenzial des Malzes und der sensorischen Beurteilung eines Bieres nach einer forcierten Alterung gefunden. Gleichzeitig existiert aber auch Kritik an der Eignung von (*E*)-2-Nonenal als Leitsubstanz der Bieralterung, wie beispielsweise bei *Narziß* et al. [3], *Wackerbauer* et al. [118] und teilweise auch bei *Dalgliesh* [119] nachzulesen ist.

## 2.2. BEDEUTUNG DES KEIMLINGS IM BRAUPROZESS

Da bislang noch keine systematischen Untersuchungen über den Einfluss des Blattkeims im Brauprozess durchgeführt wurden, wird im folgenden auf den in der Literatur beschriebenen Einfluss der Wurzel- und Blattkeiminhaltstoffe auf die Bierqualität verwiesen. Darüber hinaus wird ein Überblick über technologische Verfahren bei der Würzebereitung gegeben, mit denen die Qualität des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität beeinflusst wird.

### 2.2.1. Inhaltsstoffe von Wurzel- und Blattkeimen

Malzkeime sind ein wertvolles Abfallprodukt der Mälzerei. Ihr Anteil am Gesamtgewicht des Malzes beträgt etwa 3 bis 4 %. Gerstenmalzkeime bestehen überwiegend aus Wurzelkeimen; Malzkeime aus Weizenmalz enthalten zusätzlich Blattkeime [120]. Aus technologischer Sicht ist das Entkeimen des Darmmalzes notwendig, da die Malzkeime rasch wieder Wasser anziehen, bitterschmeckende Substanzen enthalten und zufärbend wirken [21,41].

Erste eingehende Untersuchungen der Malzkeime wurden bereits 1865 von *Lermer* [121] durchgeführt. Der Autor konnte in den Gerstenmalzkeimen elf Säuren und neun sog. indifferente Stoffe nachweisen, von denen jedoch ein großer Teil nicht sicher identifiziert werden konnte. *Baumann* [122] zeigte etwa 50 Jahre später in seinen Arbeiten, dass die Zusammensetzung der Malzkeime von der verwendeten Gerste, vor allem aber vom Mälzungsverfahren und der Länge des Gewächses abhängt. Der Rohproteingehalt variierte bei seinen Untersuchungen zwischen 20 und 35 %. In neueren Arbeiten wurde darüber berichtet, dass bis zu 50 % der Stickstoffverbindungen NPN-Verbindungen sind. Der Gehalt an stickstofffreien Extraktstoffen der Malzkeime liegt bei über 40 %, der Rohfettgehalt bei etwa 1 bis 2 %. Darüber hinaus ist ein hoher Gehalt an Mineralstoffen (vor allem Phosphate), Vitaminen (Vitamin A, Vitamine des B-Komplexes, Vitamin D) und Wuchsstoffen gegeben [21,123,124].

Für den Futtermiteinsatz wird ein Rohproteingehalt der Malzkeime von über 23 % gefordert (Normtyp) [120]. Malzkeime werden vorrangig dem Konzentrat für Wiederkäuer als Proteinergänzung zugegeben. Gut getrocknete Malzkeime haben eine goldgelbe Farbe, schmecken leicht bitter und „werden von Rindern gerne gefressen“ [120]. Höhere Einsatzmengen bei der Rinderfütterung führen nach *Jeroch et al.* [125] dazu, dass die Milch einen herben Geschmack aufweist. Der Einsatz von Malzkeimen bei der Nichtwiederkäuerfütterung wird neben dem hohen NPN-Gehalt auch durch den hohen Rohfasergehalt (15 bis 20 % der TrS) begrenzt. Zudem enthalten Malzkeime Hordenin, das bei trächtigen Tieren Abortus verursachen kann [126].

Die Keime von niedrig abgedarrten Malzen werden auch als Hefenährmittel in der Presshefenfabrikation eingesetzt [127]. Die Verwendung von Malzkeimen in Hefereinzuchtanlagen der Brauerei wurde erstmals von *Reift* et al. [128] beschrieben. In einer neueren Arbeit von *Methner* [129] wurde berichtet, dass durch Zusatz von gemahlene, autoklavierten Wurzelkeimen zur Würze eine bessere Hefevermehrung und ein deutlicher Anstieg der maximalen Zellkonzentration bei der Hefepropagation erreicht werden kann. Die Ursachen für die stärkere Hefevermehrung wurde in der bessere Ausstattung der Würze mit Nähr- und Wuchsstoffen, wie Zink, ungesättigte Fettsäuren und Spurenelemente, vermutet.

*Bonnely* et al. [130] entwickelten ein Extraktionsverfahren zur Gewinnung eines antioxidativen Extraktes aus Malzkeimen. Die antioxidative Wirkung des alkoholischen Extraktes zeigte sich insbesondere gegenüber der Oxidation von Fetten und wurde auf das Vorhandensein von gebundenen phenolischen Substanzen zurückgeführt. Ein Vergleich mit Rosmarinextrakt zeigte eine stärkere antioxidative Wirkung des Malzkeimextraktes. Aufgrund der geringeren Herstellungskosten stellen Malzkeime nach Meinung der Autoren eine interessante Quelle zur Gewinnung natürlicher Antioxidantien dar.

### 2.2.2. Einfluss der Sudhaustechnologie auf die Qualität der resultierenden Biere

Die Zusammensetzung der Würze und damit auch die Qualität der resultierenden Biere wird neben den Malzinhaltstoffen in hohem Maße auch durch die Sudhaustechnologie bestimmt. Hinsichtlich des Blattkeims von Gerstenmalz haben die Prozessschritte Schrotten, Maischen und Läutern eine besondere Bedeutung, da hier die Gewinnung der löslichen Malzinhaltstoffe erfolgt. Die gewonnene Malzwürze stellt eine komplexe Matrix verschiedener Stoffgruppen dar, deren Zusammensetzung in den nachfolgenden Prozessstufen der Würze- und Bierbereitung noch wesentlichen Veränderungen unterliegt.

#### 2.2.2.1. Technologische Grundlagen der Würzebereitung

Ziel der Maisch- und Läuterarbeit ist die Gewinnung des Malzextraktes in Form einer wässrigen Lösung. Ein Teil der Extraktstoffe liegt dabei im Malz schon in wasserlöslicher Form vor. Der Hauptteil der hochmolekularen Substanzen, z. B. Stärke, Hemicellulosen, Eiweiß, muss jedoch durch die im Malz vorhandenen Enzyme in die lösliche Form überführt werden. Dem enzymatischen Lösungsprozess der Inhaltsstoffe geht die mechanische Zerkleinerung der eingesetzten Rohstoffe, das Schrotten, voraus. Diesem rein mechanischen Prozess kommt für die chemisch-biologischen Umsetzungen beim Maischen, für die qualitative Zusammensetzung der Würze sowie für die Höhe der erzielbaren Extraktausbeute eine grundlegende Bedeutung zu [21,131].

Die Zerkleinerung von Malz ist mit einem Erhöhen des Dispersitätszustandes verbunden, was zu einer Vergrößerung der Oberfläche des Körnerkollektivs, einer Verkleinerung der

Weglänge der erforderlichen Stofftransportvorgänge und einer Freilegung des Substrates für den enzymatischen Abbau führt. Da die Schrotzusammensetzung die Läutereigenschaften des Treberkuchens beeinflusst, sind Mühlentyp und Mühleneinstellung auf das Würzetrennsystem abzustimmen. [21,132,133].

Über den Nutzen der Feinvermahlung auf die Effizienz und die Geschwindigkeit der Abbauvorgänge beim Maischen besteht im Schrifttum keine Einigkeit. Als Vorteile einer hohen Schrotfeinheit werden geringere Ansprüche bei der Malzqualität, eine Verbesserung der proteolytischen Enzymaktivität, ein verbessertes In-Lösung gehen der bereits im Malz vorkommenden löslichen Bestandteile sowie eine höhere Sudhausausbeute aufgeführt [134,135,136]. *Richter* [137] und *Einsiedler* [131] kamen bei ihren reaktionskinetischen Untersuchungen des Maischvorganges zu der Auffassung, dass die Schrotfeinheit nur einen geringen Einfluss auf den Stärkeabbau hat. Eine wesentliche Beschleunigung der Maischarbeit ist nach Meinung der Autoren erst durch die Zerkleinerung der Stärkekörner (5-20 µm) möglich, die mit konventioneller Schrotungstechnik jedoch nicht zu erreichen ist. Die Befürchtung, dass beim Einsatz von Pulverschrot Probleme durch eine verstärkte Anreicherung unedler Substanzen auftreten könnte, konnte nicht bestätigt werden [32,134,136,138].

Die beim Maischen ablaufenden Vorgänge lassen sich in zwei Gruppen unterteilen. Die erste Gruppe sind reine Stoffübergänge (Diffusion). Hierunter ist sowohl die Benetzung des Schrotes mit Wasser und das Eindringen in die Poren als auch der Übergang von löslichen Komponenten in das Wasser zu verstehen. Die zweite Gruppe sind chemische Reaktionen, in der Hauptsache enzymatische Abbauvorgänge. Sie hängen nicht direkt von der äußeren geometrischen Oberfläche ab. Hier spielen die Enzymmenge, die Substratmenge und andere Einflüsse die Hauptrolle [139].

Die Amylolyse (Stärkeabbau) zählt zu den wichtigsten enzymatischen Vorgängen beim Maischen. Für den Abbau der *Stärke* sind hauptsächlich die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amylase verantwortlich. Während die  $\alpha$ -Amylase das Molekül vornehmlich im Innern angreift und bei Temperaturen von 70-75 °C noch aktiv ist, arbeitet die  $\beta$ -Amylase bei Temperaturen von 60-65 °C und spaltet Maltoseeinheiten vom nichtreduzierenden Ende her ab. Ein kleiner Teil der Stärke wird durch andere Enzyme wie  $\alpha$ -Glucosidase oder Grenzdextrinase abgebaut. Diese spielen jedoch für die Zuckerzusammensetzung der Würze eine untergeordnete Rolle [140].

Im Gegensatz zur Malzstärke als einheitliche Substanz stellen die im Malzkorn vorhandenen *Eiweißstoffe* ein Gemisch verschiedener stickstoffhaltiger Gruppen dar. Je nach Temperatur beim Einmaischen tritt durch die proteolytischen Enzyme ein Abbau in niedermolekulare Gruppen ein. Die Menge der Aminosäuren als Endprodukt dieses Abbaus nimmt dabei zu. Auch ursprünglich unlösliche Eiweißstoffe werden angegriffen und in eine lösliche Form übergeführt [21,141]. Bei den im Malz vorhandenen proteolytischen Enzymgruppen handelt

es sich um Endo- und Exopeptidasen. Die Endopeptidasen (Proteinasen) greifen die Makromoleküle der Eiweißverbindungen von innen her an und spalten sie in kleine Bruchstücke. Die Exopeptidasen wirken vom Molekülende her und bilden niedermolekulare Einheiten. Hauptsächlich durch Carboxypeptidasen-Aktivität werden aus diesen Produkten Aminosäuren freigesetzt [142,143,144].

Die *Hemicellulosen* und *Gummistoffe* sind die Stütz- und Gerüstsubstanzen der Zellwände des Gerstenendosperms. Sie bestehen zu 80 bis 90 % aus  $\beta$ -Glucanen und zu 10 bis 20 % aus Pentosanen [21]. Der  $\beta$ -Glucan-Abbau erfordert eine Reihe von Enzymen, die eine entsprechende Spezifität gegenüber  $\beta$ -1,3- und  $\beta$ -1,4-Bindungen aufweisen. Ein Großteil der Aktivität geht dabei von Endo- $\beta$ -1,3-, Endo- $\beta$ -1,4- und unspezifischen Endo- $\beta$ -Glucanasen aus. Als Abbauprodukte entstehen niedermolekulare Glucandextrine oder Oligosaccharide. Von Bedeutung für den  $\beta$ -Glucan-Abbau ist weiterhin die  $\beta$ -Glucan-Solubilase, ein Enzymsystem, das imstande ist, hochmolekulares  $\beta$ -Glucan aus Esterbindungen freizusetzen [21,145,146]. Andere  $\beta$ -glucanabbauende Enzyme, wie z.B. Exo- $\beta$ -Glucanase, Cellobiase und Laminaribiase, spielen bei der Zytolyse keine große Rolle. Die Pentosane sind nur geringen Veränderungen unterworfen. Ihr Beitrag an der Würze- und Bierviskosität ist zudem gering [147].

Als Folgen eines ungenügenden Stärke-, Eiweiß-, oder  $\beta$ -Glucanabbaus können Geschmacksfehler, mangelhafte Vergärung oder Abläuter- und Filtrationsprobleme beispielhaft genannt werden. Ein zu weitgehender Abbau der Malzinhaltstoffe ist wiederum mit einer ungenügenden Vollmundigkeit sowie einer schlechteren Schaum- und Geschmacksstabilität des Bieres verbunden [21,142,145,148,149].

Nach dem Maischen schließt sich die Gewinnung der Würze mittels Fest-Flüssigtrennung an. Das Läutern der Würze dient neben der Abtrennung der Treber von der Vorderwürze auch zum Auswaschen des in den Trebern verbliebenen Extraktes. Für die Würzegewinnung im industriellen Maßstab werden praktisch ausschließlich Läuterbottich- und Maischefiltersysteme eingesetzt. Die genannten Läutersysteme sind der statischen Filtration zuzuordnen, bei der die Filtrationswirkung durch die Ablagerung der Feststoffe auf einem grobporigen Filtermittel zustande kommt [32]. Die Läutereigenschaften des Treberkuchens werden anhand des Filtrationsverhaltens, den Rückhalteeigenschaften und der Auswaschausbeute beurteilt. Technologisch beeinflusst wird die Läuterarbeit durch die Malzqualität, die Schrotzusammensetzung, Scherbeanspruchung und Oxidationsreaktionen während des (Ein-)Maischens, die Intensität des Maischverfahrens sowie die Auswahl und Arbeitsweise des Würzetrennsystems [16,136,134,147,150].

Über die Notwendigkeit klarer Läuterwürzen wurde immer wieder kontrovers diskutiert. Als Nachteile einer trüben Abläuterung wurden höhere Jodwerte, höhere Hopfenbitterstoffverluste, größere Heißtrubmengen, eine schlechtere Schaumhaltbarkeit und

eine schlechtere Geschmacksstabilität der Biere benannt. Letztere wird auf die erhöhte Menge an Fettsäuren und Lipidabbauprodukten in trüben Läuterwürzen zurückgeführt [119,151,152,153,154]. Bezüglich des Hefestoffwechsels wird aber wiederum ein gewisser Gehalt an ungesättigten Fettsäuren der Anstellwürze als positiv angesehen [21,155, 156].

#### 2.2.2.2. Malzzerkleinerung und Einmaischen unter Beachtung der Oxidation

Neben dem eigentlichen Ziel des Schrotens, auch bei schwankenden Malzqualitäten eine gleichmäßige und hochwertige Schrotqualität bereitzustellen, wird bei modernen Schrotungs- und Einmaischsystemen vermehrt darauf geachtet, den Kontakt des Malzschrotes mit Sauerstoff sowie eine Sauerstoffaufnahme beim Einmaischen zu vermeiden. Sauerstoffabhängige Oxidationsreaktionen sind aus zweierlei Hinsicht als nachteilig zu bewerten. Zum einen findet ein Abbau reduzierender Malzinhaltstoffe, wie Melanoidine, Polyphenole, Proteine und Lipide statt, der zu einer beschleunigten Bildung alterungsrelevanter Aromastoffe führt. Zum anderen wird die Entstehung von Radikalen eingeleitet, die andere Inhaltsstoffe, wie Vitamine, Farbstoffe, Phenole und Proteine angreifen können [10,83,157,158,159].

Wie eine übermäßige Sauerstoffaufnahme im Brauprozess vermieden werden kann ist bei *Lie et al.* [160] sowie bei *Zürcher* und *Gruß* [161] nachzulesen. Mit Hilfe von Sulfitmaischen konnten die stärksten Sauerstoffaufnahmen beim Einmaischen sowie bei den Gefäßwechseln bemerkt werden. Durch eine Anpassung der Pumpen- und Rührerleistung ließ sich die Sauerstoffaufnahme deutlich reduzieren.

Die Herstellung von Trockenschrot für Läuterbottiche und klassische Maischefilter erfolgt in der Regel mit Mehrwalzenmühlen, bevorzugt mit Sechswalzenmühlen. In Sechswalzenmühlen wird das Malz in drei übereinander angeordneten Walzenpaaren mit abnehmender Spaltweite zerkleinert. Über eine Zwischensiebung werden einzelne Schrotbestandteile den entsprechenden Walzenpaaren zugeführt bzw. vorzeitig aus der Mühle ausgetragen. Für die Läuterbottichtechnik zeigte es sich von Vorteil, das Malz vor der Zerkleinerung zu befeuchten. Die Malzkonditionierung erhöht die Elastizität der Spelzen und ermöglicht eine intensive und Spelzen-schonende Zerkleinerung des Malzes. Die Unversehrtheit der Spelzen ist zum einen von Bedeutung für die Läutereigenschaften des Treberkuchens. Zum anderen sollen unedle Inhaltsstoffe der Spelzen nicht verstärkt in Lösung gebracht werden [21]. Hierzu besteht in Verbindung mit der Walzenmühlenschrotung weiterhin die Möglichkeit der Spelzentrennung [21,145,162].

Für die Herstellung von Trockenschrot für Dünnschichtmaischefilter werden üblicherweise Hammermühlen eingesetzt, die eine deutlich höhere Schrotfeinheit als Walzenmühlen erreichen. Die mit hohen Umfangsgeschwindigkeiten ( $v_u = 70-120$  m/s) rotierenden Zerkleinerungswerkzeuge sind gelenkig angeordnet und nehmen durch die entstehenden

Zentrifugalkräfte eine radiale Schlagstellung ein. Das über eine Schleuse eintretende Mahlgut wird von den Schlägern erfasst und überwiegend durch Prallbeanspruchung zerkleinert. Das Mahlgut muss durch ein Sieb hindurchtreten, bevor es den Arbeitsraum der Maschine verlassen kann [163,164]. Nach *Manger* [157] sind Prallmühlen zwar für die Feinvermahlung sehr gut geeignet, aus der Sicht der Oxidationsvermeidung jedoch nachteilig zu bewerten.

*Ketterer* [74] zeigte in seinen Untersuchungen, dass die am feinsten vermahlenden Schrotfraktionen zwar niedrige Fettgehalte, aber die höchsten Anteile mehrfach ungesättigter Triacylglycerole aufweisen. Demnach sind gerade die Fraktionen mit den kleinsten Partikeln und damit auch der größten Oberfläche gegenüber autoxidativen Angriffen am empfindlichsten. *Prabhasankar* und *Rao* [165] konnten bei einem Vergleich verschiedener Trockenschrotmühlen eine forcierte Oxidation der ungesättigten Fettsäuren des Mahlgutes (Weizen) mit zunehmender Schrotfeinheit und Schrotungstemperatur feststellen.

Trockenschrot besitzt einen rechnerischen Sauerstoffanteil von etwa 300 g/t [166]. Zur Reduzierung der Sauerstoffaufnahme beim Einmaischen werden spezielle Anteig- und Vormaischsysteme eingesetzt. In diesen wird eine pumpfähige Vormaische bereitete, die durch Schwerkraft oder Pumpe in das Maischgefäß befördert wird. Eine wirksame Reduzierung der Sauerstoffaufnahme wird durch das Einmaischen „von unten“ erreicht. Bereits mehrfach vorgeschlagen und auch schon großtechnisch erprobt ist die Nutzung der Inertgastechnik zur Begasung der (gekapselten) Schrotmühle. Auch eine Begasung des Schrotrumpfes und der Anteigschnecke sowie eine Entgasung des Brauwassers wurde als vorteilhaft erachtet. Eine Verbesserung der Bierqualität wurde aber insbesondere dann erreicht, wenn die Maßnahmen zur Minimierung der Sauerstoffaufnahme konsequent über den gesamten Würzebereitungsprozess umgesetzt wurden [10,157,158,167].

Da LOX vornehmlich im Keimling des Malzkorns (embryonale Axis, Schildchen, Wurzelkeim- und Blattkeimanlage) lokalisiert ist, wurden Malzaufbereitungsverfahren, mit denen eine Abtrennung des Blattkeims erreicht werden kann, auf ihre Praxistauglichkeit hin überprüft. Die Verfahrenstechnik hierzu stellte sich jedoch als zu aufwändig dar und war mit z. T. erheblichen Extraktverlusten verbunden [8,9,168]. Eine weitere Möglichkeit, den enzymatischen Lipidabbau beim Maischen zu minimieren, wurde in einem speziellen Schrotungssystem gesehen, mit dem eine Schonung des Blattkeims bei der Malzzerkleinerung erreicht wird. Verbunden mit einer CO<sub>2</sub>-Begasung der Grieße und der Anteigschnecke zeigte sich ein gebremster oxidativer Lipidabbau beim Maischen [10,11]. Den Vorteilen einer solchen Schrotungstechnik stehen jedoch deutlich höhere Investitions- und Betriebskosten gegenüber.

Bei der Nassschrotung mit Walzenmühlen wird das Malz unmittelbar vor der Zerkleinerung kurzzeitig (30 bis 60 s) in einem Weichschacht oder Weichrad befeuchtet. In Abhängigkeit von der Kontaktzeit des Malzes und der Temperatur des Weichwassers findet eine



Wasseraufnahme bis zu einem Feuchtigkeitsgehalt von etwa 25 % statt. Die Spelzen werden dabei hochelastisch und ermöglichen es, den Mehlkörper freizulegen, ihn bei hohem Zerkleinerungsverhältnis mechanisch aufzuschließen und die Spelzen praktisch unversehrt zu erhalten [21,145,169].

Eine weitere Möglichkeit der Nasszerkleinerung von Malz und Rohfruchtanteilen stellen Dispergiermaschinen dar. Bei den verwendeten Mehrkammerdispergiermaschinen handelt es sich um sog. Stiftmühlen. Die Beanspruchung des Mahlgutes erfolgt dabei zwischen zwei konzentrisch angeordneten Stiftreihen einer rotierenden und einer stehenden Scheibe. An den Kanten bilden sich hochturbulente Verwirbelungen (Turbulenzfelder), die eine hohe Scherbeanspruchung durch das umgebende Fluid erreichen. Überlagert durch Kavitations- und Prallbeanspruchung wird ein effektiver Aufschluss der eingesetzten Rohstoffe erreicht, der zu einer weitgehenden Zellwandzerstörung führen soll. Teilweise sollen durch die Dispergiertechnik sogar Stärkezellen aufgeschlossen werden [170]. Nach Untersuchungen von *Schwill-Miedaner* [9] sind keine stofflichen Umsatzsteigerungen im Vergleich zu Feinstschrot festzustellen gewesen. Der Vorteil der Dispergierer wurde jedoch unter dem brautechnischen und energiewirtschaftlichen Aspekt gesehen.

Die Nasszerkleinerung bietet zur Vermeidung von Oxidationsreaktionen folgende Vorteile:

- Minimierung der thermischen Belastung bei der Zerkleinerung,
- Vermeidung der Schrotlagerung unter Sauerstoffeinfluss,
- Schroten und Einmaischen fallen zusammen,
- Begrenzung der Sauerstoffaufnahme beim Einmaischen.

Aufgrund kinetischer Überlegungen ist die Geschwindigkeit der enzymatischen Peroxidation durch LOX unmittelbar nach dem Einmaischen am höchsten [12]. Daher erscheint es sinnvoll, die Reaktionsbedingungen für LOX bereits beim ersten Kontakt des Malzes bzw. Schrotes mit Wasser technologisch zu beeinflussen. In Verbindung mit einer modernen Sudhaustechnologie lassen sich hierdurch Vorteile für die Geschmacksstabilität des Bieres erwarten [171,172].

### 2.2.3. Enzymatische Lipidoxidation im Brauprozess

Die enzymatische Lipidoxidation während des Maischens wurde in verschiedenen Veröffentlichungen als wichtiger Beitrag zur Entstehung alterungsrelevanter Aromastoffe angesehen [4,5,173,174]. Dabei wurden Maßnahmen, mit denen eine Kontrolle der Abbauvorgänge erfolgen kann, als Schlüssel zur Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres beschrieben. *Drost et al.* [5] konnten zeigen, dass (*E*)-2-Nonenal aus dem Abbau der Lipide entsteht und diese Substanz einen Alterungsgeschmack im Bier hervorruft. Als Vorstufen der Alterungscarbonyle wurden Trihydroxyfettsäuren angesehen, die bereits im

Malz vorkommen und teilweise bis in das fertige Bier gelangen [114,115]. Nach *Anness* und *Reed* [175] werden bei einem normalen Maischverfahren bis zu 30 % der Malzlipide oxidiert.

Die Bedeutung der LOX-Aktivität im Brauprozess für die Entstehung alterungsrelevanter Aromastoffe wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Nach *Baxter* [7] findet die Oxidation der ungesättigten Fettsäuren hauptsächlich durch die LOX-Aktivität beim Maischen statt. *Drost et al.* [4] konnten eine hohe Korrelation zwischen der LOX-Aktivität des Malzes und dem Nonenal-Potenzial der Würze nachweisen. Zudem wurde ein Zusammenhang zwischen dem Nonenal-Potenzial der Würze und der Bieralterung erkannt. Auf der anderen Seite wird von *Schwarz* und *Pylar* [68] angenommen, dass LOX kaum eine Bedeutung haben dürfte, da das Enzym nach dem Einmaischen rasch inaktiviert wird.

*Martel et al.* [102] folgerten aus ihrer Beobachtung, dass während des Maischens keine Abnahme der Fettsäurenkonzentration festzustellen ist, dass Linolsäure nur zu einem geringen Teil durch LOX umgesetzt wird. *Kobayashi et al.* [174,176,177] fanden dagegen, dass die Bildung von Fettsäurehydroperoxiden während des Maischens mit steigender LOX-Aktivität des Malzes zunimmt. Die Zugabe eines spezifischen LOX-Inhibitors (ETYA) zur Maische war wiederum mit einer abgeschwächten HPOD-Zunahme verbunden. Die Autoren schlossen daraus, dass die LOX-Aktivität des Malzes ein wichtiger Faktor bei der Bildung von „off flavour-Komponenten“ ist.

Der von *Drost* [4] beschriebene Zusammenhang zwischen der LOX-Aktivität des Malzes und dem Nonenal-Potenzial der Würze konnte von anderen Autoren nicht bestätigt werden [103,118]. *Bamforth et al.* [178] nahmen vielmehr an, dass das Nonenal-Potenzial der Würze eher dazu geeignet sei, Hinweise auf die Aktivität des Enzyms während der Mälzung zu erhalten. Eine Korrelation zwischen dem Nonenal-Potenzial der Würze und dem Alterungsgeschmack des Bieres ist wiederholt gefunden worden [103,179].

Beim Maischen von Grobschrot gehen nach *Yang* und *Schwarz* [173] nur etwa ein Drittel der gesamten LOX des Malzes in Lösung. Die höchsten Aktivitäten beim Maischen wurden zwischen 45 und 55 °C gefunden [7,68]. *Lulai* und *Baker* [88] berichteten, dass die LOX des Malzes ein pH-Optimum bei 6,0 und ein Temperaturoptimum bei 47 °C besitzen. Obwohl die LOX-Aktivität unter Maischbedingungen rasch abnimmt, wird eine vollständige Inaktivierung erst nach dreißigminütiger Rast bei 65 °C festgestellt [68]. Saccharose schützt die LOX-Aktivität vor denaturierenden Temperatureinflüssen [180].

*Walker et al.* [181] fanden in Maischen aus Malzen mit höherer LOX-Aktivität auch höhere HPOD-Konzentrationen. Das Verhältnis von 9-HPOD zu 13-HPOD nahm während des Maischens von 2:1 auf 10:1 zu, was die Autoren auf eine höhere Aktivität von LOX 1 während des Maischens zurückführten. *Kobayashi et al.* [174] untersuchten den Einfluss der Maischtemperatur auf die HPOD-Konzentration der Maische. Bei 35 und 50 °C blieb der

Gehalt an Fettsäurehydroperoxiden in isotherm geführten Maischen nahezu konstant, was auf einen regulierten Entstehungs- und Abbaumechanismus zurückgeführt wurde. Das Maximum der HPOD-Bildung wurde bei einer Rasttemperatur von 65 °C erreicht. In einer bei 72 bzw. 80 °C geführten Maische kam es jedoch nicht, wie zu erwarten gewesen wäre, zu einem Stillstand der HPOD-Bildung, sondern der Gehalt an HPOD stieg innerhalb der ersten 30 Minuten kontinuierlich an, obwohl LOX bereits nach 5-10 Minuten vollständig inaktiviert war. Verantwortlich für die weitere Zunahme sind nach Angaben der Autoren unspezifische Lipasen, die eine Freisetzung von Fettsäurehydroperoxiden aus glyceridischen Bindungen (Lipidhydroperoxiden) katalysieren.

*Grill* und *Puspök* [151] konnten zwei Temperaturoptima der Lipasen bei 35 °C und 70 °C feststellen. Während des Maischens wurde ein kontinuierlicher Anstieg an freien höheren Fettsäuren beobachtet. *Bender* [155] zeigte, dass über die Einmaischttemperatur und das Maischverfahren Einfluss auf den Fettsäuregehalt der Maische genommen werden kann. In einer nach einem Infusionsverfahren hergestellten Maische wurden deutlich niedrigere Konzentrationen an freien Fettsäuren gefunden als in einer Maische, die nach einem Dekoktionsverfahren hergestellt wurde. Über den Verlauf der Lipaseaktivität in isothermen Maischen wurde von *Narziß* und *Sekin* [182] berichtet. Sie fanden u.a., dass eine rasche Inaktivierung erst bei einer Temperatur von 70 °C erreicht wird. *Tressl* [183] berichtete, dass auch Phospholipasen an der Freisetzung von Fettsäuren und hydroxylierten Fettsäuren beim Maischen beteiligt sind.

Die Trihydroxyfettsäuren des Bieres wurden erstmals von *Drost* et al. [184] als mögliche Vorläufer alterungsrelevanter Aromastoffe beschrieben. Untersuchungen von *Esterbauer* und *Schauenstein* [113] zeigten allerdings, dass Trihydroxysäuren im Bier sehr stabil sind. Abnahmen wurden weder bei einer einjährigen Lagerung bei 8 °C, noch bei mehrtägigem Erhitzen des Bieres auf 70 °C gemessen. Erst bei pH-Werten um 2,0 und unter Hitzeeinwirkung wurde ein Abbau der Trihydroxyfettsäuren festgestellt. *Hamberg* [92] konnte wiederum leichte Abnahmen der Trihydroxyfettsäuren bei der Bieralterung feststellen. Aufgrund der unzureichenden Analysengenauigkeit und dem Umstand, dass Trihydroxyfettsäuren in einer bis zu 10.000fach höheren Konzentration als bekannte Alterungscarbonyl im Bier vorkommen, wird diesen Substanzen dennoch eine große Bedeutung als mögliche Vorläufer alterungsrelevanter Aromastoffe beigemessen [114,185].

*Wackerbauer* et al. [186] berichteten kürzlich, dass der Gehalt an Trihydroxyfettsäuren bei der Lagerung von Gerste und Malz zunimmt. Ein negativer Einfluss der Rohstofflagerung auf die Geschmacksstabilität des Bieres konnte aber nicht gefunden werden. *Möller-Hergt* [114] zeigte, dass der Gehalt der Würze an Mono-, Di- und Trihydroxyfettsäuren neben den Rohstoffen auch von der Maischttemperatur abhängt. Das Maximum der Hydroxyfettsäurenbildung wurde bei einer Maischttemperatur von 57 °C gefunden. Die

niedrigsten Gehalte wurden bei einer Maischtemperatur von 65 °C gemessen. Die Bildung der Monohydroxyfettsäuren ließ eine deutlichere Temperaturabhängigkeit als die Bildung der Di- und Trihydroxyfettsäuren erkennen. Das Verhältnis von 9-Hydroxyoctadecensäuren zu 13-Hydroxyoctadecensäure in Würze wurde von dem Autor als kleiner eins bestimmt, was einen gewissen Widerspruch zu den bereits beschriebenen Untersuchungen von *Walker et al.* [181] darstellt, die für die Fettsäurehydroperoxide in Maische ein deutlich höheres Verhältnis von 9-HPOD zu 13-HPOD feststellen konnten (vgl. S. 21).

Neben den Rohstoffen, der Schrotzusammensetzung und den Maischparametern nehmen auch das Würzetrennsystem sowie die Läuterarbeit Einfluss auf den Gehalt der Würze an Lipiden und Lipidabbauprodukten. Die Konzentration an höheren freien Fettsäuren in Pfannevollwürze schwankt nach Angaben verschiedener Autoren in einem weitem Bereich zwischen von 8,2 und 112 mg/l [21,77,175,151]; Hydroxyfettsäuren kommen nach *Möller-Hergt* in einer Höhe von 4,2 bis 14,0 mg/l vor [91,187]. HPOD sind nach *Kobayashi et al.* [177] bereits in der Läuterwürze nicht mehr nachzuweisen.

Hohe Trübungen und Feststoffgehalte führen im allgemeinen auch zu einem hohen Gehalt an freien Fettsäuren der Läuterwürze [21]. Die abgetrennten Treber sind reich an Lipiden und Lipidabbauprodukten [175]. *Schwill-Miedaner* [9] konnte im Oberteig des Treberkuchens den höchsten Gehalt an Fettsäuren nachweisen. Zudem fanden *Yasui et al.* [188] in den Trebern ein hohes Nonenal-Potenzial und *De Buck et al.* [103] und *van Waesberghe et al.* [166] sogar noch eine beträchtliche LOX-Aktivität. Weiterhin wurde ein Zusammenhang zwischen der LOX-Aktivität der Treber, der Ablaufgeschwindigkeit der Würze und der Geschmacksstabilität des Bieres festgestellt. Biere, bei deren Herstellung Treber mit hoher LOX-Aktivität anfallen, neigen demnach zu einer schlechteren Geschmacksstabilität [103,189].

Bezogen auf den Extraktgehalt weisen die Nachgüsse einen stark erhöhten Gehalt an freien Fettsäuren [190] und ein deutlich höheres Nonenal-Potenzial [191] als die Vorderwürze auf. *Yasui et al.* [188,191] zeigten in ihren Untersuchungen, dass durch gröberes Schroten, das Ansäuern der Nachgüsse, niedrigere Nachgusstemperaturen sowie eine Aktivkohlebehandlung der Würzen eine Reduzierung des Nonenal-Potenzials der Würzen erreicht wird. In einer Reihe weiterer Veröffentlichungen wurden Maßnahmen zur Reduzierung des oxidativen Lipidabbaus und des Lipideintrags im Brauprozess beschrieben, die als notwendige Voraussetzungen zur Verbesserung der Bierqualität anzusehen sind [114,147,151,152,153,192].

#### 2.2.4. Bedeutung der Würzeinhaltsstoffe für die Bierqualität

Die Zusammensetzung der Würze nimmt Einfluss auf den Produktionsprozess sowie die Qualität des fertigen Bieres. Eine mangelhafte Ausstattung der Würze mit Nähr- und Wuchsstoffen für die Hefe kann zu erheblichen Störungen bei der Hauptgärung, einer verstärkten Bildung von Gärungsnebenprodukten sowie zu einer Verzögerung der Reifung führen. Die Würzezusammensetzung beeinflusst weiterhin den Vergärungsgrad, die Klärung und die Filtrierbarkeit des Bieres. Darüber hinaus hat sie eine große Bedeutung für die chemisch-physikalische Stabilität, die mikrobiologische Stabilität, den Schaum, den Geschmack und die Geschmacksstabilität des Bieres [21,145,200].

Beim Kochen der Würze treten eine Reihe von gewünschten Effekten auf, wie die Enzyminaktivierung, die Einstellung der Würzekonzentration, die Isomerisierung der Hopfenbitterstoffe, die Farb- und Aromabildung, die Eiweißkoagulation sowie die Ausdampfung flüchtiger Verbindungen [21,145]. Die flüchtigen Carbonyle der Würze werden beim Würzekochen aber nur zu einem Teil ausgetrieben. Je nach Kochintensität und Verdampfung finden sich in der Anstellwürze noch gewisse Mengen alterungsrelevanter Aromastoffe, wie z.B. 1 bis 2 µg/l (*E*)-2-Nonenal [4]. Eine effiziente Ausdampfung sowie eine Begrenzung der thermischen Belastung der Würze bringen Vorteile für den Geschmack, die Geschmacksstabilität und die Schaumhaltbarkeit des Bieres [10,111].

Der beim Würzekochen entstehende Heißtrub sollte in einem nachgeschalteten Whirlpool bzw. Dekanter, Zentrifuge oder Würzefilter möglichst vollständig abgetrennt werden, um ein Verschmieren der Hefe zu verhindern. Im Anschluss an die Heißtrubabtrennung wird die Würze auf Gärtemperatur abgekühlt, belüftet und dem Gärprozess zugeführt. Auf eine Abtrennung des Kühltrubes kann neueren Untersuchungen zufolge verzichtet werden, falls eine sichere Heißtrubabtrennung und ein einwandfreies Hefemanagement in der Brauerei vorhanden sind [193].

Die durch den Abbau der Stärke gebildeten Zucker bilden das Hauptsubstrat für die Hefe und bestimmen damit maßgeblich den Verlauf der Fermentation und die Entstehung von Aromastoffen. Große Bedeutung als Nähr- und Wuchsstoffe für die Hefe haben weiterhin Aminosäuren, Mineralstoffe, insbesondere Zink, und einige Vitamine [194,195]. Die höheren ungesättigten Fettsäuren werden von der Hefe zum größten Teil assimiliert. Im fertigen Bier beträgt ihr Gehalt meist deutlich weniger als 0,1 mg/l [77,114]. Hydroxylierte Fettsäuren werden von der Hefe regio- und stereospezifisch metabolisiert. Während Monohydroxyfettsäuren rasch und nahezu vollständig von der Hefe aufgenommen werden, lassen sich bestimmte Di- und insbesondere die Trihydroxyfettsäuren in nahezu unveränderter Konzentrationen im Bier nachweisen [117]. Den Großteil der Trihydroxyfettsäuren im Bier stellen die Isomere 9,10,12- und 9,12,13-Trihydroxyoctadecenfettsäuren. Die Summe der Di- und Trihydroxyfettsäuren im Bier liegt bei 10-15 mg/l und damit deutlich höher als der Gehalt

an Fettsäuren [91,114,187]. Nach *Kuroda* et al. [93] besitzen die Trihydroxyfettsäuren neben ihrer Bedeutung als Vorstufen alterungsrelevanter Aromastoffe auch schaumzerstörende Eigenschaften.

Im Verlauf der Gärung und Lagerung kommt es zu einer Reihe von Ausscheidungsvorgängen, an denen Proteine, Gerbstoffe, Hopfenharze, Polysaccharide und Mineralstoffe beteiligt sind. Die Ausscheidung trübungsaktiver Substanzen vor der Filtration wirkt sich positiv auf die Filtrationseigenschaften und die chemisch-physikalische Stabilität des Bieres aus. Als Ursache nichtbiologischer Trübungen wird insbesondere die Bildung von Polyphenol-Protein-Komplexen gesehen [196]. Die Ausscheidungsvorgänge werden durch rasches Angären, verbunden mit einem steilen und weitgehenden pH-Abfall, sowie eine lange und kalte Lagerung des Bieres beschleunigt. Gebräuchlich ist weiterhin der Einsatz von Stabilisierungsmitteln, mit denen die an der Trübung beteiligten Stoffgruppen gezielt entfernt werden können, wie z.B. PVPP, Kieselgel [194,197].

Hinsichtlich der Schaumeigenschaften von Bier sind Stoffe mit schaumfördernden und schaumzerstörenden Eigenschaften von Bedeutung. Proteine bilden die wichtigste Fraktion der Schaumbildner. Darüber hinaus haben Polysaccharide, Hopfenbittersäuren, Glykoproteine, Lipoproteine und Metallionen eine Bedeutung [198,199]. Aufgrund ihrer Oberflächenaktivität reichern sich die Stoffe an der Grenzfläche der Schaumblase an und können dort in Wechselwirkung mit weiteren Molekülen treten. Anzahl und Anordnung der Moleküle in der Schaumlamelle beeinflussen die Stabilität des Schaumgerüsts und den Widerstand der herablaufenden Flüssigkeit [200]. Schaumzerstörend wirken Substanzen, die eine stabile Anordnung der Moleküle verhindern. Zu ihnen zählen Lipide, Alkohole und basische Aminosäuren [201]. Proteinase, die von der Hefe an das Gärmedium abgegeben werden, besitzen schaum-schädigenden Einfluss, indem sie die hochmolekularen Schaumproteine im Bier abbauen [202].

Große Bedeutung für den Geschmack und das Aroma des Bieres haben die Gärungsnebenprodukte der Hefe, wie höhere Alkohole, Ester und die vicinalen Diketone, insbesondere das Diacetyl, das auch als Reifungsparameter des Bieres anzusehen ist. Darüber hinaus besitzt die Hefe Enzyme, die eine Reduktion der in Würze vorkommenden Carbonyle katalysieren und damit für das Verschwinden des Würzearomas verantwortlich sind. Aufgrund von Oxidationsreaktionen bei der Alterung des Bieres können die gebildeten Alkohole wieder zu aromaintensiven Carbonylen umgesetzt werden [2,3,203].

Alterungsrelevante Aromastoffe werden weiterhin durch melanoidinkatalysierte Oxidation von höheren Alkoholen sowie durch Streckerabbau und Isohumulonabbau gebildet [149,204]. Aromastoffe aus dem Lipidabbau entstehen einerseits als Gärungsnebenprodukte der Hefe, andererseits auch durch autokatalytische Reaktionen [205]. Durch Lichteinfluss kann es darüber hinaus zu einer farbstoffsensibilisierten Photooxidation der Bierinhaltsstoffe

kommen [206]. Entstehende Carbonyle können mit Verbindungen, die ein freies Elektronenpaar besitzen, wie z.B. Alkohole, Thiole oder Amine, zu Acetalen, Thioacetalen oder Schiffsbasen weiterreagieren. Durch Aldolkondensation können aber auch aus Aldehyden ungesättigte langkettige Aldehyde entstehen, die ihrerseits einem sekundären oxidativen Abbau unterliegen [207]. *Collin et al.* [208] schlugen einen weiteren Mechanismus der Carbonyl-Entstehung bei der Bieralterung vor. Danach könnte (*E*)-2-Nonenal bereits bei der Würzebereitung mit Aminosäuren und Proteinen reagieren und das so entstehende Imin wäre vor einer Reduktion durch die Hefe geschützt. Erst bei niedrigeren pH-Werten während der Lagerung des Bieres würde dieses wieder freigesetzt werden.

Die Alterungsvorgänge im Bier werden durch die Lagerbedingungen, insbesondere durch Wärme, Sauerstoff, Metallionen und Licht beschleunigt. Einen günstigen Einfluss auf die Geschmacksstabilität von Bier haben die in Würze und Bier vorkommenden Antioxidantien, wie z. B. Reduktone, phenolische Substanzen und das von der Hefe gebildete Sulfit. Antioxidantien schützen die Inhaltsstoffe vor Oxidationen, indem sie als Radikalfänger wirken, vorhandene Hydroperoxide zu Hydroxyverbindungen reduzieren und den gelösten Sauerstoff verbrauchen. Reduktone entstehen überwiegend aus der Maillardreaktion von Kohlenhydraten und zeichnen sich durch eine Carbonylgruppe in Nachbarschaft zu einer Endiolgruppe aus [209]. Nach *Nakamura et al.* [210] ist die antioxidative Wirkung phenolischer Substanzen beim pH-Wert des Bieres gering, Sulfit dagegen besitzt die stärkste antioxidative Wirkung im Bier. *Nordlöv und Winell* [211] wiesen darauf hin, dass Sulfit auch mit Carbonylen reagieren kann. Dabei entstehen reversible Sulfit-Carbonyl-Komplexe mit einem deutlich höheren Schwellenwert als die Carbonyle selbst. Da sich gebundenes Sulfit im Gleichgewicht mit freiem Sulfit befindet, führt eine Gleichgewichtsverschiebung, z.B. durch die Oxidation von freiem Sulfit, wieder zu einer Freisetzung der Carbonyle.

Bei der Bieralterung handelt es sich um einen dynamischen Prozess, der durch die Bildung und den Abbau von Aromastoffen gekennzeichnet ist. Das Aromaprofil des Bieres ändert sich dabei ständig. *Dalgliesh* [119] zeigte, dass Alterungsattribute, wie malzig-süß, papierartig und beerenartig zu Beginn der Alterung zunehmen, während andere Eindrücke, wie z.B. die Bittere, abnimmt. Mit fortschreitender Alterung konnte wieder eine Abnahme einiger der Attribute und das Entstehen neuer, wie sherryartig und honigartig, beobachtet werden. *Eichhorn* [159] und *Lustig* [149] wiesen eine Reihe leichtflüchtiger Aromastoffe nach, die eine hohe Korrelation mit der Entstehung des Alterungsgeschmacks zeigten. Dabei konnte festgestellt werden, dass einige der Alterungsindikatoren einen deutlicheren Anstieg bei Wärmebelastung und andere bei erhöhter Sauerstoffbelastung zeigten. *Thum* [203] berichtete, dass Alterungsindikatoren, deren Schwellenwert im Bier zwar nicht erreicht wird, durch additive und synergistische Effekte dennoch Einfluss auf das Bieraroma nehmen können.

Für die Entstehung der an der Alterung beteiligten Substanzen werden mehrere Reaktionsmechanismen verantwortlich gemacht. Diese wirken einerseits isoliert, andererseits kombiniert mit anderen Entstehungswegen. Da die Vorstufen des Alterungsgeschmacks noch nicht eindeutig identifiziert wurden, konnte bis heute nicht geklärt werden, welche Bedeutung LOX bzw. LOX-reiche Malzfraktionen für die Geschmacksstabilität des Bieres haben. Bei den im folgenden vorzustellenden Untersuchungen soll der Einfluss des Blattkeims von Gerstenmalzes auf die Geschmacksstabilität und weitere Qualitätsmerkmale des Bieres aufgeklärt werden. Darüber hinaus werden technologische Maßnahmen vorgeschlagen, mit denen die qualitativen Nachteile des Blattkeims, insbesondere die LOX-Reaktion im Brauprozess, minimiert werden können.



## 3 Material und Methoden

### 3.1. AUFBEREITUNGSVERFAHREN ZUR BLATTKEIMGEWINNUNG

Zu Beginn der Untersuchung wurde ein Aufbereitungsverfahren entwickelt, mit dem ausreichende Mengen reiner Gerstenmalzblattkeime gewonnen werden konnte. Da eine Abtrennung des Blattkeims von bespelztem Gerstenmalz zur Gewinnung eines Blattkeimfreien Malzschrotes nicht möglich war, musste für die Brauersuche auf Blattkeime zurückgegriffen werden, die aus zwei verschiedenen Quellen stammten:

#### 1. Blattkeime aus Steinausleser:

Als Ausgangsmaterial des Aufbereitungsverfahrens diente der Siebdurchgang eines Steinauslesers einer Brauerei. Dieser bestand überwiegend aus Blattkeimen und anderem Feingut der Malzschüttung (Bruchkorn, Spelzenbestandteilen, Schwergut und anderen Fremdkörpern). Durch zweifache Siebung wurde die Fraktion  $500 \mu\text{m} < x < 1250 \mu\text{m}$  abgetrennt, die sich hauptsächlich aus Blattkeimen, Grieben und Spelzenbestandteilen zusammensetzte. Zur Abtrennung von Bruchkorn und Grieben wurde die erhaltene Fraktion mit einem Trieur weiter aufgereinigt. Die am Ganzkornabgang austretenden Blattkeime wiesen bis auf einige Spelzensplitter keine nennenswerten Verunreinigungen mehr auf. Um auch diese abzutrennen, musste die Fraktion mit einer Feinschrotmühle zerkleinert werden. Das Schrot ließ eine weitgehende und selektive Zerkleinerung der mürben Blattkeime erkennen, während Spelzen nahezu unversehrt blieben. Durch anschließende Siebung des Schrotes bei  $500 \mu\text{m}$  konnten die Spelzen nahezu vollständig entfernt werden.

#### 2. Blattkeime aus Nacktgerstenmalz:

Den Malzkeimen vermälzter Nacktgerste wurde nach Vorzerkleinerung und anschließender Sichtung ( $500 \mu\text{m} < x < 1000 \mu\text{m}$ ) eine nahezu reine Blattkeimfraktion abgetrennt.

### 3.2. ANALYTIK ZUM LIPIDABBAU IN MALZ UND WÜRZE

#### 3.2.1. Bestimmung der LOX-Aktivität

Die photometrische Aktivitätsmessung erfolgte nach einer Methode von *Surrey et al.* [212]. Vor der Messung wurden die Lipoxygenasen aus den Rohextrakten (Malzauszug, Maische) gelchromatographisch aufgereinigt.

##### 3.2.1.1. Bestimmung der LOX-Aktivität in Malz und Schrot

#### Herstellung eines Rohextraktes

Malzproben werden mit einer MEBAK-Mühle feinvermahlen. 5 g Malzschrot bzw. probengeteilte Schrotprobe werden mit 40 ml Phosphatpuffer (0,05 M; pH 7,0) vermischt und fünf Minuten in einem Schüttler (Typ Turbula) extrahiert. Zur Abtrennung der ungelösten

Malzbestandteile wird die Suspension 15 min bei 3000 U/min und 0 °C zentrifugiert. Der Überstand wird über einen Schwarzbandfilter (Schleicher Schüll) abfiltriert. Das Filtrat wird anschließend über eine 0,45 µm Membran filtriert (Rohextrakt).

#### Enzymaufreinigung

0,5 ml des Rohextraktes werden gelchromatographisch aufgereinigt. Die Auftrennung erfolgt über eine mit einem Superose-Gel gepackte Säule. Eluiert wird mit 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7,0) bei einer Fließgeschwindigkeit von 2,2 ml/min. Die Fraktion zwischen der 37. und der 41. Minute wird in einem gekühlten Wasserbad (0 °C) gesammelt. Die LOX-Aktivität der Gelfraktion, etwa 92 % der aufgegebenen LOX, wird anschließend photometrisch gemessen.

#### Trennbedingungen

Trennsäule:	Superose 12 prep grade, Pharmacia, 350 mm x 2,6 mm
Flußrate:	2,2 ml/min
Eluent:	0,05 M Phosphatpuffer (pH 7,0)
Injektionsvolumen:	0,5 ml
Geräte:	Gelchromatographie (Amersham Pharmacia), bestehend aus Controller LCC-500, zwei FPLC Pumpen P-500, UV-Detektor (LKB) und Integrator (Hewlett Packard) Zentrifuge (Type Variofuge 1.0R, Heraeus Christ) Verschraubbare Zentrifugenbecher (50 ml) Schwarzbandfilter (Schleicher + Schuell 589 <sup>1</sup> ) Membranfilter (Millipore, LCR 0,45 µm) Spektralphotometer (Dr. Lange, Cadas 200)
Chemikalien:	Kaliumdihydrogenphosphat (Riedel-de-Haen 30407) di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat (Merck 6576) Linolsäure (Sigma L-1376) Tween 20 (Merck 8.22184) Natriumhydroxid (Merck 6498) Natriumtetraborat (Riedel-de-Haen B 552/4286)

#### Aktivitätsmessung

Vor der enzymatischen Aktivitätsmessung wird die Gelfraktion in einem Wasserbad auf 20 °C temperiert. 2,5 ml der Gelfraktion werden mit 50 µl einer Linolsäurelösung (Substrat) in einer Quarzküvette vermischt und in den Küvettengang des Photometers gestellt. Als Maß zur Berechnung der LOX-Aktivität dient die Geschwindigkeit der HPOD-Bildung (konjugierte Diene), bestimmt anhand der Extinktionszunahme bei 234 nm (1 U = 1 E<sub>234</sub>/min). Mit Hilfe des Verdünnungsfaktors aus der Extraktion und der Aufreinigung erfolgt eine Umrechnung der Aktivität auf U/g. Der Variationskoeffizient der Analysenmethode beträgt 6 %.

### Substratherstellung für die LOX-Aktivitätsmessung

250 µl Linolsäure werden unter kontinuierlichem Rühren tropfenweise einer Lösung aus 5 ml 0,05 M Boratpuffer (pH 9,0) und 250 µl Tween 20 zugegeben. Die Dispersion klärt sich mit Zugabe von 0,65 ml 1 N NaOH. Nach Überführen der Lösung in einen 100 ml-Messzylinder wird mit dem Boratpuffer aufgefüllt (Substratkonzentration: 8,05 mM).

Zur Kontrolle wird 0,1 ml Substrat mit 2,9 ml destilliertem Wasser in einer Quarzküvette gemischt und die Extinktion bei 234 nm gegen destilliertes Wasser gemessen. Falls das Substrat mehr als 3 % konjugierte Diene enthält (Extinktion > 0,23;  $\alpha = 28.000 \text{ l/mol}\cdot\text{cm}$ ) wird es verworfen.

#### 3.2.1.2. Bestimmung der LOX-Aktivität in Maische

Die Maischeproben werden unmittelbar nach der Probenahme rasch auf 0 °C abgekühlt. Bei einem längeren Transport werden die Proben tiefgefroren. Die weitere Probenverarbeitung erfolgt in gleicher Weise wie unter 3.2.1.1 beschrieben. Einrechnend den Verdünnungsfaktor der Enzymaufreinigung erfolgt eine Umrechnung der LOX-Aktivität in U/ml.

#### 3.2.1.3. Bestimmung des LOX-Potenzials

Der Quotient aus LOX-Aktivität der aufgereinigten Gelfraktion und LOX-Aktivität des Rohextraktes (Phosphatpuffer 0,05 M, pH 7,0) wird als LOX-Potenzial bezeichnet (Gleichung 1). Das LOX-Potenzial gibt einen Faktor an, um den die HPOD-Bildung im Rohextrakt durch das Vorhandensein von Inhibitoren und einen gleichzeitigen Abbau der HPOD abgeschwächt wird.

$$\text{LOX-Potenzial} = \frac{\text{LOX-Aktivität der Gelfraktion (U/g)}}{\text{LOX-Aktivität des Rohextraktes (U/g)}} \quad (\text{Gleichung 1})$$

#### 3.2.2. Bestimmung der freien langkettigen Fettsäuren in Maische und Würze

Zur Abtrennung von Feststoffen wird die Probe 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert. 50 ml Probe werden 1 ml interner Standard (Pentadecansäure, 100 mg/l in Methanol) zugegeben. Der Überstand wird über einen 0,45 µm Membranfilter filtriert.

#### Extraktion

25 ml der filtrierten Probe werden mit der nachstehenden Festphasenextraktionsmethode (SPE) extrahiert. Das Eluat wird über einen 0,45 µm Membranfilter filtriert und im Stickstoffstrom auf 1 ml eingengt. Der Fettsäurextrakt wird anschließend mit einer Pasteurpipette in ein Konusvial überführt und gasdicht verschlossen.

SPE-Bedingungen

Festphase:	Chromabond, C18ec, 1000 mg, Macherey-Nagel
Konditionierung des Sorbens:	8 ml Methanol 8 ml H <sub>2</sub> O
Adsorption der Probe:	25 ml filtrierte Probe bei etwa 2 ml/min
Waschen der Probe:	4 ml H <sub>2</sub> O
Trocknungskartusche:	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 200 mg
Elution:	5 ml Dichlormethan bei 1 ml/min

Die Auftrennung und Auswertung erfolgt mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS). Dabei werden in der Hauptsache die Fettsäuren Myristinsäure (14:0), Palmitinsäure (16:0), Stearinsäure (18:0), Ölsäure (18:1), Linolsäure (18:2) und Linolensäure (18:3) erfasst.

GC-Bedingungen

Trennsäule:	INNOWAX (Agilent), l = 30 m; 0,25 mm i.D.; 0,25 µm Filmdicke
Trägergas:	Helium 6.0
Injektion:	1 µl splitless (Split open bei 1,5 min)
Splitverhältnis:	1:20
Injektortemperatur:	260 °C
Temperaturprogramm:	10 min 225 °C isotherm, aufheizen auf 230 °C mit 1 K/min, 10 min isotherm, weiter mit 5 K/min aufheizen auf 260 °C, 5 min bei dieser Temperatur ausheizen
Detektortemperatur:	280 °C
Base-Massen:	m/z 73, m/z 129 und m/z 185 für 14:0-16:0 m/z 83, m/z 97, m/z 129 und m/z 185 für 18:0-18:3
Geräte:	Hewlett Packard 5890 Gas Chromatograph Serie II mit 7673 A Autosampler, 5970 Massenspektrometer und Steuerungs-/Auswertungsrechner SPE-Station für 20 Proben (ICT)
Chemikalien:	Dichlormethan p.a. (Riedel-de-Haen No 3222, zusätzlich über Glasfüllkörperkolonne destilliert) Stickstoff 5.0 (Linde) Methanol (J.T. Baker 8402)
Referenzsubstanzen:	Myristinsäure (Sigma M-3128) Palmitinsäure (Sigma P-5585) Stearinsäure (Sigma S-4751) Linolsäure (Sigma L-1376) Linolensäure (Sigma L-2376)

Auswertung

Die Auswertung erfolgt im Einzel-Ionen Modus (SIM). Als interner Standard dient Pentadecansäure. Die Variationskoeffizienten lagen im relevanten Messbereich unter 10 %, bei den meisten Fettsäuren sogar unter 5 %.

## 3.2.3. Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide

## 3.2.3.1. Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide in Malz und Schrot

Herstellung eines Kaltauszuges

Malzproben werden mit einer MEBAK-Mühle feinvermahlen. 50 g Malzschrot bzw. 50 g probengeteilte Schrotprobe werden mit 200 ml H<sub>2</sub>O in einem Maischbecher klumpenfrei eingemaischt und im Labormaischbad bei Raumtemperatur 30 Minuten gerührt. Anschließend wird der Becherinhalt auf 450 g aufgewogen und über Faltenfilter filtriert. Die ersten 100 ml des Filtrats werden auf das Filter zurückgegeben. Die Filtration wird abgebrochen, wenn der Filterkuchen trocken erscheint. Das Filtrat wird über einen 0,45 µm Membranfilter filtriert und sofort weiterverarbeitet (Probe).

Extraktion

20 ml Probe werden mit der unten beschriebenen SPE-Methode extrahiert. Das Eluat wird an einem Rotationsverdampfer zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wird in 2 ml Acetonitril-Wasser-Essigsäuregemisch (80:19,95:0,05; v/v/v) aufgenommen und über einen 0,45 µm Membranfilter filtriert. Das Filtrat wird in ein Vial abgefüllt und verschlossen.

SPE-Bedingungen

Festphase:	Chromabond (C18ec, 1000 mg, Macherey-Nagel)
Konditionierung des Sorbens:	8 ml Methanol 8 ml H <sub>2</sub> O
Adsorption der Probe:	20 ml filtrierte Probe bei etwa 2 ml/min
Waschen der Probe:	4 ml H <sub>2</sub> O
Elution:	8 ml Tetrahydrofuran bei 1 ml/min

Die Auftrennung erfolgt mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). Zur Detektion wurde ein Dioden-Array-Detector (DAD) verwendet. Die Hydroperoxide werden bei 234 nm detektiert. Linolsäure und Linolensäure konnten im gleichen Lauf bei einer Wellenlänge von 215 nm bestimmt werden. Eine Auftrennung der Isomere der Fettsäurehydroperoxide war mit dieser Methode nicht möglich.

HPLC-Bedingungen

Trennsäule:	Kromasil Chromsa (M & W, 125 x 4,0 mm),
-------------	---

Eluent:	Acetonitril-Wasser-Essigsäuregemisch (80:19,95:0,05; v/v/v), isokratisch.
Flußrate:	1,5 ml/min
Injektionsvolumen:	25 µl
Wellenlängen:	215 nm für die höheren, ungesättigten Fettsäuren 234 nm für die Fettsäurehydroperoxide
Geräte:	Labormaischbad (Bender & Hobein) Rotationsverdampfer (Büchi, RE 111) Festphasenextraktionssäulen (C18ec, 1000 mg, Macherey-Nagel) Membranfilter (Millipore LCR, 0,45 µm)
Chemikalien:	Tetrahydrofuran (Merck 971) Acetonitril (Riedel-de-Haen 34881) Essigsäure (Fluka 45731) Methanol (J.T. Baker 8402)
Referenzsubstanzen:	Linolsäure (Sigma L-1376) Linolensäure (Sigma L-2376) Lipoxygenase, EC 1.1.11.12 (Sigma, TYP 1-B aus Soja, L 7395)

### Auswertung

Fettsäurehydroperoxidstandards wurden entsprechend der Methode von *Kermasha et al.* [213] hergestellt. Die quantitative Auswertung der höheren ungesättigten Fettsäuren erfolgte mittels der oben aufgeführten Referenzsubstanzen.

#### 3.2.3.2. Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide in Maische und Würze

Maische- und Würzproben werden unmittelbar nach der Probenahme auf 0 °C abgekühlt. Zur Abtrennung von Feststoffen wird die Probe 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird über einen 0,45 µm Membranfilter filtriert. Die weitere Probenverarbeitung erfolgt wie beim Kaltauszug unter 3.2.3.1 beschrieben.

#### 3.2.4. Bestimmung des Nonenal-Potenzials von Würze

300 ml Würze werden mit 0,1 N Phosphorsäure auf pH 4,0 eingestellt, 250 ml davon werden in ein verschließbares Becherglas gegeben und anschließend für 2 Stunden in ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach dem Abkühlen wird die Probe über einen Faltenfilter filtriert. 200 ml des Filtrates werden mit 1 ml des internen Standards (Nonanon) und einigen Tropfen Antischaum versetzt. Anschließend erfolgt eine Wasserdampfdestillation der Probe. Die ersten 100 ml Destillat werden in einem eisgekühlten Messzylinder gesammelt.

Extraktion

Die Extraktion des Wasserdampfdestillates wird in gleicher Weise durchgeführt, wie unter 3.2.2 beschrieben. Das Aufgabevolumen der SPE beträgt dabei 50 ml.

Die Auftrennung und Auswertung erfolgt durch Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS).

GC-Bedingungen

Trennsäule:	Permabond FFAP DF-0,25 (60 m x 0,25 mm i.D.; 0,25 µm Filmdicke, Macherey-Nagel)
Trägergas:	Helium 6.0
Injektionsvolumen:	1 µl splitless (Split open bei 2,0 min)
Splitverhältnis:	1:20
Injektortemperatur:	260 °C
Temperaturprogramm:	2 min 80 °C isotherm, aufheizen auf 110 °C mit 2 K/min, 10 min isotherm, weiter mit 10 K/min aufheizen auf 260 °C, 7 min bei dieser Temperatur ausheizen
Detektortemperatur:	280 °C
Base-Massen:	m/z 55, m/z 70, m/z 83 und m/z 96 für trans-2-Nonenal und 2-Nonanon
Geräte:	Hewlett Packard 5890 Gas Chromatograph Serie II mit 7673 A Autosampler, 5898 Massenspektrometer und Steuerungs-/Auswertungsrechner SPE-Station für 20 Proben (ICT) Modifizierte Büchi-Destillationsapparatur Turbula Schüttler pH-Meter (WTW, inolab) Kochbad (Julabo, SW-20C) Verschraubbare Bechergläser, 500 ml
Chemikalien:	Dichlormethan p.a. (Riedel-de-Haen No 3222, zusätzlich über Glasfüllkörperkolonne destilliert) Stickstoff 5.0 Phosphorsäure, 85 % (J.T. Baker 8402)
Referenzsubstanzen:	trans-2-Nonenal (Aldrich 25,565-3) 2-Nonanon (Aldrich 18,873-1)

Auswertung

Die Auswertung erfolgt im Einzel-Ionen Modus (SIM). Als interner Standard dient 2-Nonanon. Der Variationskoeffizient der Analysenmethode beträgt 14 %.

### 3.3. MALZ- UND BIERANALYSEN

Die Malz- und Bieranalysen wurden nach den Analysenvorschriften der MEBAK [214] durchgeführt.

### 3.4. AROMASTOFFANALYTIK

#### 3.4.1. Bestimmung der Würzearomastoffe

Mit der Bestimmung der wasserdampfvlüchtigen Aromastoffe werden vlüchtige Maillardprodukte, Streckeraldehyde, Aromastoffe aus dem Lipidabbau der Gerste sowie Hopfenaromakomponenten erfasst. Diese Substanzen besitzen zum Teil Indikatorfunktion, z.B. für die thermische Belastung oder als Maß der Ausdampfung beim Würzekochen. Vlüchtige Würzearomastoffe werden aus der Probe durch Wasserdampfdestillation ausgetrieben. Das Destillat wird alkalisch eingestellt und mit NaCl gesättigt. Die Aromastoffe werden durch Ausschütteln mit Dichlormethan extrahiert, die Phasen durch Zentrifugieren getrennt.

Die gaschromatographische Bestimmungsmethode ist im Prüfverfahren Nr. GC005/96 des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU München, Freising, beschrieben.

#### 3.4.2. Bestimmung der Bieraromastoffe

Vlüchtige Bieraromastoffe werden aus der Probe durch Wasserdampfdestillation ausgetrieben. Das ethanolische Destillat wird alkalisch eingestellt und mit NaCl gesättigt. Zur Abtrennung störender Carbonyle wird Kaliumbisulfit zugesetzt. Die Extraktion der Aromastoffe erfolgt durch Ausschütteln mit Dichlormethan, das Trennen der Phasen durch Zentrifugieren.

Die gaschromatographische Bestimmungsmethode ist im Prüfverfahren Nr. GC011/98 des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU München, Freising, niedergelegt.

#### 3.4.3. Bestimmung der Alterungskomponenten

Mit der Bestimmung der Alterungsindikatoren in Bier werden vlüchtige Substanzen erfasst, die bei der Lagerung des Bieres in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Sauerstoffgehalt des Bieres stetig ansteigen. Aus der Konzentrationszunahme der Alterungskomponenten während der Lagerung kann in Verbindung mit der sensorischen Analyse eine Aussage über die Geschmacksstabilität des Bieres getroffen werden.

Vlüchtige Aromastoffe werden aus der Probe durch Wasserdampfdestillation ausgetrieben. Das ethanolische Destillat wird alkalisch eingestellt und mit NaCl gesättigt. Durch Zugabe von Ammoniaklösung werden Säuren abgetrennt, die aufgrund von Koelution die Quantifizierung wichtiger Substanzen verhindern. Die Extraktion der Aromastoffe erfolgt



durch Ausschütteln mit Dichlormethan, das Trennen der Phasen durch Zentrifugieren. Die organische Phase wird im Stickstoffstrom weiter aufkonzentriert.

Zur Durchführung der gaschromatographischen Bestimmungsmethode wird das Prüfverfahren Nr. GC007/96 des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU-München, gewählt.

### 3.5. BESTIMMUNG DER ENDOGENEN ANTIOXIDATIVEN AKTIVITÄT VON BIER

Die Bestimmung der endogenen antioxidativen Aktivität von Bier (Lag-Time) erfolgt mittels Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR) entsprechend dem Prüfverfahren Nr. GC010/97 des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU München, Freising.

### 3.6. SENSORISCHE ANALYSEN

#### 3.6.1. Verkostung der Biere nach DLG

Die Verkostung der Biere wird gemäß dem Prüfverfahren für Bier der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft e.V. (DLG) durchgeführt. An der Verkostung nehmen mindestens fünf geschulte Verkoster teil, aus deren gewichteter Bewertung das arithmetische Mittel gebildet wird. Zur genaueren Differenzierung wurden Halbnotenschritte für die Bewertung der einzelnen Prüfmerkmale gewählt.

#### 3.6.2. Alterungsverkostung nach *Eichhorn*

Für eine weiterführende Beurteilung des Alterungszustandes von Bier, wird das Verkostungsschema nach *Eichhorn* [159] herangezogen. Dabei werden die Kriterien Geruch, Trunk und Bittere der frischen und der forciert gealterten Biere in vier Notenstufen bewertet. Die den einzelnen Noten entsprechenden Geschmackseindrücke sind Tabelle 1 zu entnehmen.

**Tabelle 1: Bewertung nach dem Alterungsschema**

---

Note 1: Frisches Bier, ohne eine Spur von Alterung.
Note 2: Bier mit einer leichten Alterung, das aber bis auf einen geringen Verlust an Genusswert noch ohne Schwierigkeiten trinkbar ist.
Note 3: Bier mit einer starken Alterungsnote, das nicht zum Weitertrinken anregt. Hier dürfte in etwa die Akzeptanzgrenze für den Verbraucher liegen.
Note 4: Bier mit einer extrem ausgeprägten Alterung, die auch vom Laien sofort als „off-flavour“ erkannt wird.

---

Die gewichtete Note der Alterungsverkostung wird mit nachstehender Gleichung 2 berechnet:

$$\text{Gew. Note} = \frac{2 * \text{Geruch} + 2 * \text{Trunk} + \text{Bittere}}{5} \quad (\text{Gleichung 2})$$

Die forcierte Alterung des Bieres erfolgt nach einem standardisierten Verfahren. Dazu wird das abgefüllte Flaschenbier 24 Stunden geschüttelt und anschließend für vier Tage bei 40 °C im Wärmeschrank gelagert.

### 3.7. MÜHLENTECHNIK

Für die Untersuchungen zur Malzzerkleinerung werden folgende Mühlentypen eingesetzt:

- Hammermühle (Typ Condux CHM)
- Fächerschlägermühle (Type 160 UPZ, Alpine)
- Analysenmühle (wassergekühlt, Ika, Typ A10)
- Zweiwalzenmühle (Künzel, Typ L.M.)

Die Benutzung der beiden erstgenannten Mühlen erfolgte mit freundlicher Genehmigung am Mühlenstand des Lehrstuhls für Maschinen- und Apparatekunde, TU München, Freising. Im Rahmen von Untersuchungen im industriellen Maßstab standen Schrotungssysteme der Firmen Ziemann, Steinecker und Künzel zur Verfügung.

### 3.8. KLEINMÄLZUNG

Die Herstellung einiger der Versuchsmalze erfolgte in der Kleinmälzung des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU München, Freising. Jeweils 1 kg gereinigte Gerste wurden mit nachstehendem Mälzungsverfahren, das zur Herstellung gut gelöster heller Gerstenmalze führte, vermälzt:

Weiche: 1. Weichtag: 5 h Nassweiche, 19 h Luftrast bei 14-15 °C  
 2. Weichtag: 4 h Nassweiche, 20 h Luftrast bei 14-15 °C  
 Sollweichgrad: 45 %

Keimung: Haufentemperatur konstant bei 14,5 °C, rel. Luftfeuchte: rd. 100 %  
 Keimzeit: 6 Tage

Darren: Gesamtdauer der Schwelke und des Abdarrens: 23 h  
 16 h Schwelken bei 50 °C  
 1 h 60 °C  
 1 h 70 °C  
 5 h Ausdarren bei 80 °C  
 30 min Abkühlen

Durch anschließendes Polieren des Darmmalzes wurden die Malzkeime abgetrennt.

### **3.9. VERFAHREN ZUR HITZEBEHANDLUNG VON MALZ**

#### **3.9.1. Dampfkonditionierung**

Die Konditioniersversuche mit Sattdampf erfolgten mit 500 g Malz, das in einem Edelstahlgefäß mit Siebboden (Konditionierkammer) für eine definierte Zeit mit Dampf beaufschlagt wurde. Der unterhalb des Siebbodens eingeleitete Sattdampf wird von einem drucklos betriebenen Dampferzeuger bereitgestellt, der über zwei Leistungsstufen verfügt. Mit einem Laborrührer wurde das Malz im Konditioniergefäß ständig durchmischt.

#### **3.9.2. Konditionierung mit heißem Wasser**

Die Versuche zur Malzkonditionierung mit heißem Wasser (Weichkonditionierung) wurden mit jeweils 1,0 kg hellem Braugerstenmalz durchgeführt, welches in 4,0 Liter temperiertem Wasser in einer Styropor-Box unter ständigem Rühren geweicht wurde. Nach definierten Zeiten wurde die Heisswasserweiche beendet, indem das Weichgut über ein Sieb geschüttet und durch kurzes Überschwallen mit Leitungswasser abgekühlt wurde. Für die nachfolgenden Analysen wurde das Malz gefriergetrocknet.

### **3.10. KLEINSUD**

Die Versuchsbiere wurden im Kleinsudwerk des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I, TU München, Freising, hergestellt. Die Brauversuche erfolgen unter standardisierten Bedingungen, die zu mittelstark gehopfter Vollbieren führten.

#### **3.10.1. Würzeherstellung**

Das Malz wurde mit einer Zweiwalzenmühle bei einem Walzenabstand von 0,8 mm geschrotet. Jeweils 1,5 kg Malzschrot wurden mit 6 Liter H<sub>2</sub>O eingemaischt. In den Untersuchungen kamen zwei unterschiedliche Maischprogramme zur Anwendung.

##### 1. Standardmaischverfahren (Std-MV):

Die Einmischtemperatur beim Std-MV beträgt 50 °C. Nach dem Einmischen wird diese Temperatur 30 Minuten gehalten. Anschließend wird die Maische mit einer Aufheizrate von 1 °C/min auf 65 °C aufgeheizt und wieder eine 30-minütige Rast gehalten. Daraufhin wird mit gleicher Aufheizrate auf 72 °C aufgeheizt und diese Temperatur 45 Minuten gehalten. Abgemaischt wird nach dem Aufheizen der Maische bei 78 °C.

##### 2. Hochkurzmaischverfahren (HK-MV):

Beim HK-MV wird mit 63 °C eingemaischt. Diese Temperatur wird 45 Minuten gehalten, bevor die Maische mit einer Aufheizrate von 1 °C/min auf 72 °C aufgeheizt wird. Nach einer Rastdauer von 60 Minuten wird die Maische auf 78 °C aufgeheizt und abgemaischt.

Das Abmaischen erfolgt in den vorgeheizten Läuterbottich. Nach einer Läuerrast von 5 Minuten wird mit dem Vorscheißen der Würze begonnen. Dabei wird jeweils eine Menge von 1 Liter Trübwürze in den Läuterbottich zurückgegeben. Die Vorderwürze sowie der drei Nachgüsse (1. Nachguss: 3 Liter, 2. Nachguss: 2 Liter, 3. Nachguss: 1 Liter) sollten innerhalb von 90 Minuten abgeläutert sein. Die Läutergeschwindigkeit muss über das Läuterventil und die Aufhackmaschine entsprechend geregelt werden.

Der Hopfen wird zu Kochbeginn in die Würze gegeben (Dosage: 65 mg  $\alpha$ -Säure/l; CO<sub>2</sub>-Extrakt). Die Kochdauer beträgt 70 Minuten. Nach Kochende dient das Kochgefäß als Sedimentationsgefäß. 15 Minuten nach Kochende wird die vom Heißtrub befreite Würze über einen Würzekühler auf etwa 10 °C abgekühlt und in einem Edelstahl-Container gesammelt.

### 3.10.2. Gärung und Lagerung

Nach Zugabe von 1 % dickbreiiger Hefe wird die Würze über eine Venturidüse belüftet und in das Gärgefäß umgedrückt. Die Gärung erfolgt in zylindrokonischen Gärtanks, die mit einer Konus- und einer Zargenkühlung ausgestattet sind. Die Gärtemperatur beträgt 10 °C. Nach Erreichen des Endvergärungsgrades wird das Jungbier in Edelstahl-Container geschlaucht. Die Container werden für eine Reifungsphase des Bieres 3 Tage bei 16 °C aufbewahrt und anschließend zwei Wochen bei 0 °C gelagert.

### 3.10.3. Filtration und Abfüllung

Die Biere wurden über Entkeimungsschichten (Seitz-KS 80, Seitz-Schenk) filtriert. Die Abfüllung erfolgte auf der lehrstuhleigenen Flaschenabfüllanlage, nach zweimaligem Vorevakuieren und Spülen der Flaschen mit CO<sub>2</sub>. Nach leichtem Überschäumen werden die Flaschen mit Kronenkorken verschlossen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1. UNTERSUCHUNG DES BLATTKEIMS VON GERSTENMALZ

Die Zusammensetzung des mit dem unter Abschnitt 3.1 beschriebenen Aufbereitungsverfahren gewonnenen Blattkeimmaterials sowie des Ausgangsmalzes sind in Tabelle 2 aufgeführt. Der Anteil des Blattkeims an der Gesamtmasse des normal gelösten Malzes betrug 4,8 %. Der Extraktgehalt der Blattkeime lag etwa 10 % unter dem Extraktgehalt des Malzes. Der Eiweißgehalt des Blattkeims war etwa 2,5 mal so hoch wie im Malz. Der lösliche Stickstoff sowie der FAN-Gehalt in den Blattkeimen waren ebenfalls deutlich erhöht (2,3 bzw. 1,8 mal). Fett- und Rohfasergehalt der Blattkeime lagen um etwa 20 % bzw. 10 % erhöht. Mehr als viermal so hohe Werte fanden sich für den Zink- und DMS-P-Gehalt der Blattkeime gegenüber dem Ausgangsmalz.

**Tabelle 2: Zusammensetzung von Blattkeim und Ausgangsmalz**

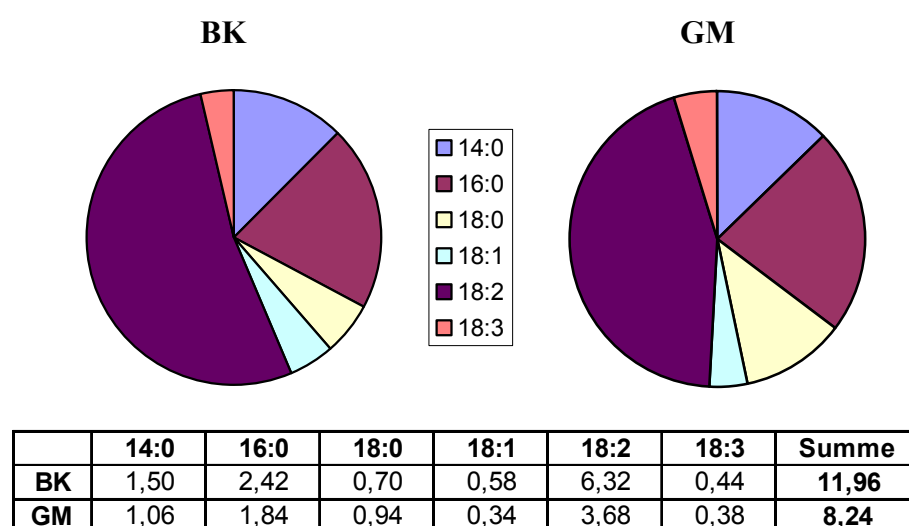
	Blattkeim	Malz
Anteil / GG-%	4,8	100
Extrakt / GG-% TrS	68,1	78,7
Wasser / GG-%	6,8	5,1
Protein / % TrS	28,4	11,1
lösl. N / mg/100g TrS	1699	751
Kolbachzahl / %	37,4	42,3
FAN / mg/100g TrS	303	164
Mürbigkeit / %	100	84,6
Rohfett / GG-%	2,0	1,6
Rohfaser / GG-%	3,6	3,3
DMS-P / mg/kg	20,5	6,3
Zink / mg/100g TrS	5,03	1,31

Um über die Verteilung der LOX-Aktivität im Malzkorn eine Aussage treffen zu können, wurde die Nacktgerstensorte *Taiga* vermälzt. Dem unbespelzten Darrmalz konnten beim Malzpolieren neben den Wurzelkeimen nahezu alle Blattkeime abgetrennt werden. Die Verteilung der LOX auf die Fraktionen Blattkeim, Wurzelkeim und Restkorn ist in Tabelle 3 aufgeführt. Je etwa ein Viertel der LOX-Aktivität des Darrmalzes wurden in den Blattkeimen und in den Wurzelkeimen nachgewiesen. Bezogen auf das geputzte Darrmalz enthielt der Blattkeim mehr als ein Drittel der LOX-Aktivität des Malzkorns.

**Tabelle 3: Verteilung der LOX-Aktivität im Malzkorn**

Fraktion	% - Anteil der LOX-Aktivität	
	bez. auf Darmmalz	bez. auf poliertes Malz
Wurzelkeim	22,7	-
Blattkeim	25,7	34,4
Restkorn	50,6	65,6

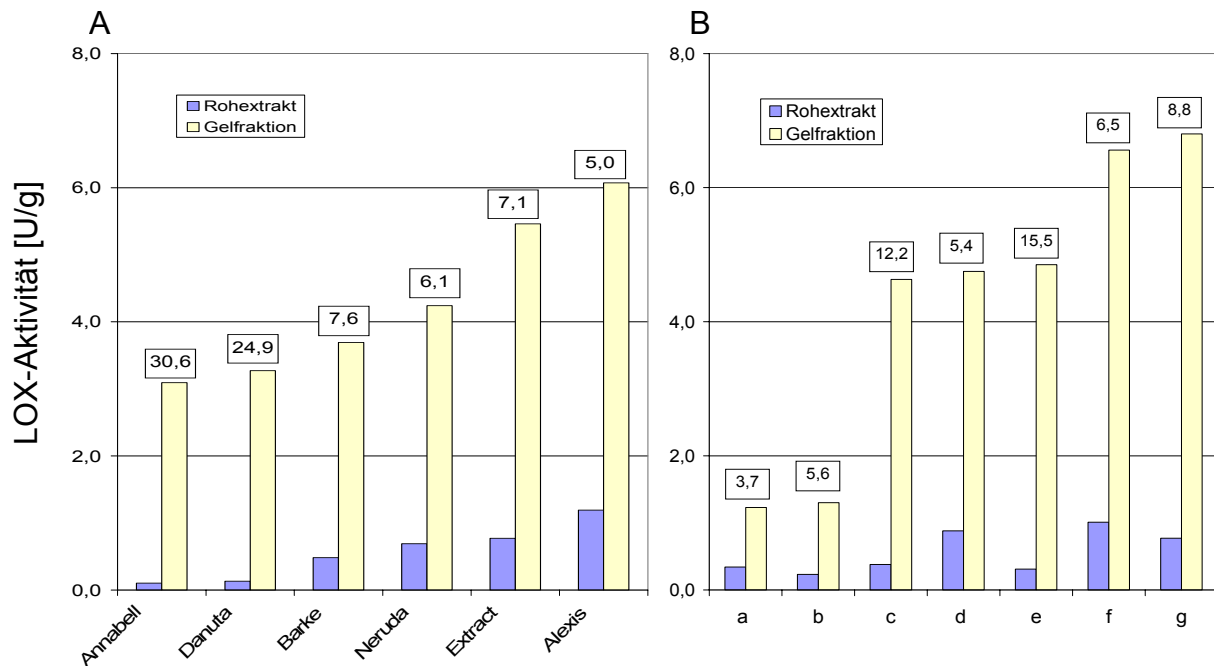
In einem Kaltwasserauszug aus Blattkeimen waren deutlich höhere Konzentrationen an freien Fettsäuren festzustellen als im Ausgangsmalz (Abbildung 2). Dies gilt insbesondere für die ungesättigten Fettsäuren Ölsäure und Linolsäure.



**Abbildung 2: Prozentuale Verteilung der freien höheren Fettsäuren in einem Kaltwasserextrakt aus Blattkeimen (BK) und Gerstenmalz (GM); Tabellenangaben in mg/l**

#### **4.2. EINFLUSS VON GERSTENSORTE UND ANBAUGEBIET AUF DIE LOX-AKTIVITÄT UND DAS LOX-POTENZIAL VON MALZ**

Die LOX-Aktivität und das LOX-Potenzial von Braumalz variieren in einem weiten Bereich. Eine Untersuchung der LOX-Aktivität von sechs verschiedenen Gerstensorten aus sieben unterschiedlichen Anbaugebieten, die unter standardisierten Mälzungsbedingungen zu hellem Gerstenmalz verarbeitet wurden, ergab die in Abbildung 3 zusammengefassten Mittelwerte der Sorten (A) und der Anbaugebiete (B). Aus dem Verhältnis der Mittelwerte von LOX-Aktivität der gelchromatographisch aufgereinigten LOX-Fraktion zur LOX-Aktivität des Rohextraktes wurde zusätzlich das LOX-Potenzial ermittelt.



**Abbildung 3: LOX-Aktivität im Rohextrakt, der aufgereinigten Gelfraktion und LOX-Potenzial von Malz (Wert). (A) Mittelwerte der Sorten aus sieben Anbaugebieten. (B) Mittelwerte der Anbaugebiete aus sechs Sorten: a = Dachwig, b = Hartenhof, c = Wörrstadt, d = Gießen, e = Rethmar, f = Döggingen, g = Nossen**

Die LOX-Aktivität der 42 Malze lag in einem Bereich von 0,88 bis 10,6 U/g in der aufgereinigten LOX-Fraktion und von 0 bis 1,5 U/g im Rohextrakt (Einzelwerte und Streuungsmerkmale siehe Tabellen A-1 und A-2). Eine hierzu durchgeführte Varianzanalyse (F-Test mit Varianzzerlegung) sollte prüfen, ob die gefundenen Unterschiede wesentlich (signifikant) oder zufällig sind. Für die Sorte konnte ein hochsignifikanter Einfluss ( $\alpha = 0,01$ ) auf die LOX-Aktivität des Rohextraktes gefunden werden und für das Anbaugebiet ein signifikanter Einfluss ( $\alpha = 0,05$ ) auf die LOX-Aktivität der aufgereinigten LOX-Fraktion. Malze mit einer niedrigen LOX-Aktivität des Rohextraktes bzw. einem hohen LOX-Potenzial, wie z.B. die Sorten Annabell und Danuta, erscheinen grundsätzlich geeignet, die enzymatische Lipidoxidation im Brauprozess zu minimieren.

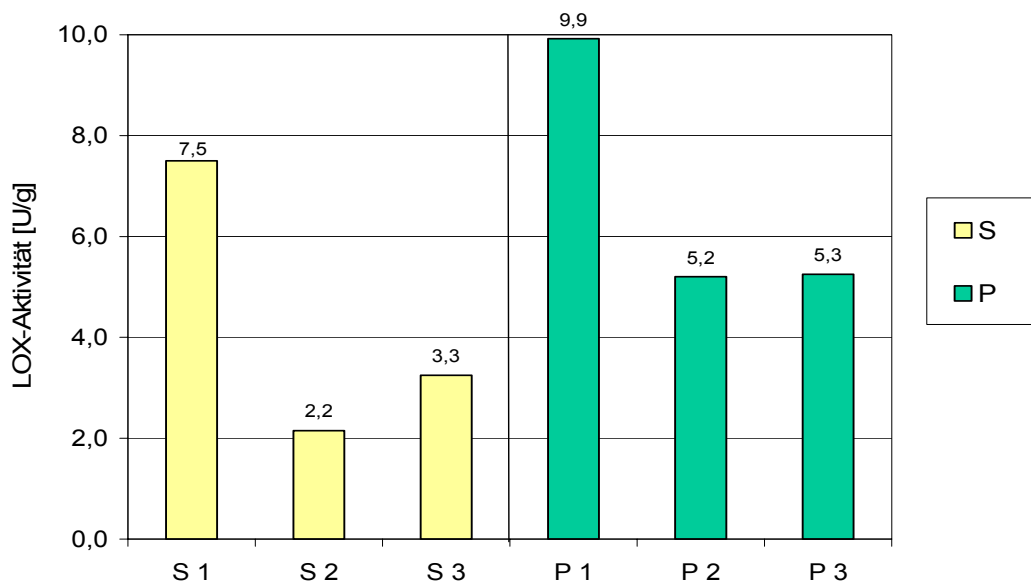
#### 4.3. EINFLUSS DER ABKÜHLGESCHWINDIGKEIT VON DARRMALZ AUF DIE LIPIDPEROXIDATION

Um den Einfluss der Abkühlgeschwindigkeit des Darrmalzes auf die Lipidoxidationsvorgänge zu untersuchen, wurde Darrmalz der Sorten *Scarlett* und *Pasadena* nach dem Abdarren entsprechend den in Tabelle 4 aufgeführten Varianten weiter behandelt.

**Tabelle 4: Nachbehandlungsvarianten der abgedarrten Versuchsmalze**

Probe	Spezifikation
1	Abkühlung erfolgte sofort nach Beendigung des Abdarrrens
2	Abkühlung erfolgte nach einer Heißhaltezeit von 5 h bei 80 °C
3	Abkühlung erfolgte nach einer Heißhaltezeit von 5 h bei 80 °C und 14 h bei 50 °C

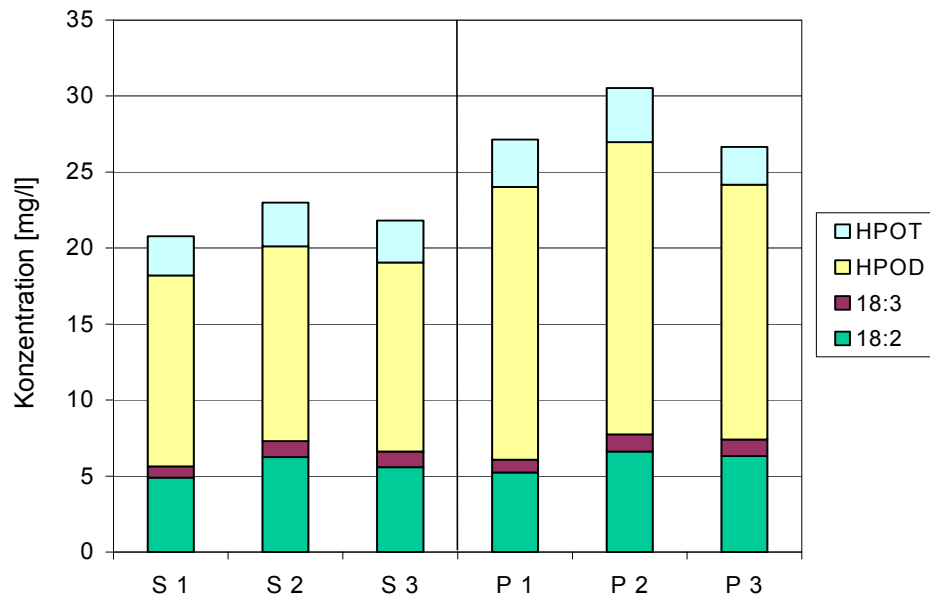
Die LOX-Aktivität der polierten Malze nahm durch die Heißhaltezeit bei 80 °C deutlich ab, bei der Sorte *Scarlett* um etwa 70 % und bei der Sorte *Pasadena* um etwa 50 % (Abbildung 4). Die anschließende Heißhaltezeit bei 50 °C war mit keiner weiteren Abnahme der LOX-Aktivität verbunden.



**Abbildung 4: LOX-Aktivität von poliertem Malz; S = *Scarlett*, P = *Pasadena*; 1, 2, 3: siehe Tabelle 4**

Die Malze wurden im Labormaßstab nach einem Standard-Maischverfahren verarbeitet. Zur Bestimmung der langkettigen ungesättigten Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide wurde am Ende der 72 °C-Rast eine Probe entnommen. In Abbildung 5 sind die gefundenen Konzentrationen der Einzelsubstanzen als aufsummierte Säulen dargestellt (Einzelwerte siehe Tabelle A-3). Die höheren ungesättigten Fettsäuren Linolsäure (18:2) und Linolensäure (18:3) sowie deren Hydroperoxide (HPOD bzw. HPOT) nehmen durch die Heißhaltezeit bei 80 °C zu. Die Zunahmen waren bei den Fettsäuren deutlicher ausgeprägt als bei den Hydroperoxiden. Die anschließende Heißhaltezeit bei 50 °C war wieder mit einer Abnahme, insbesondere der Fettsäurehydroperoxide, verbunden.

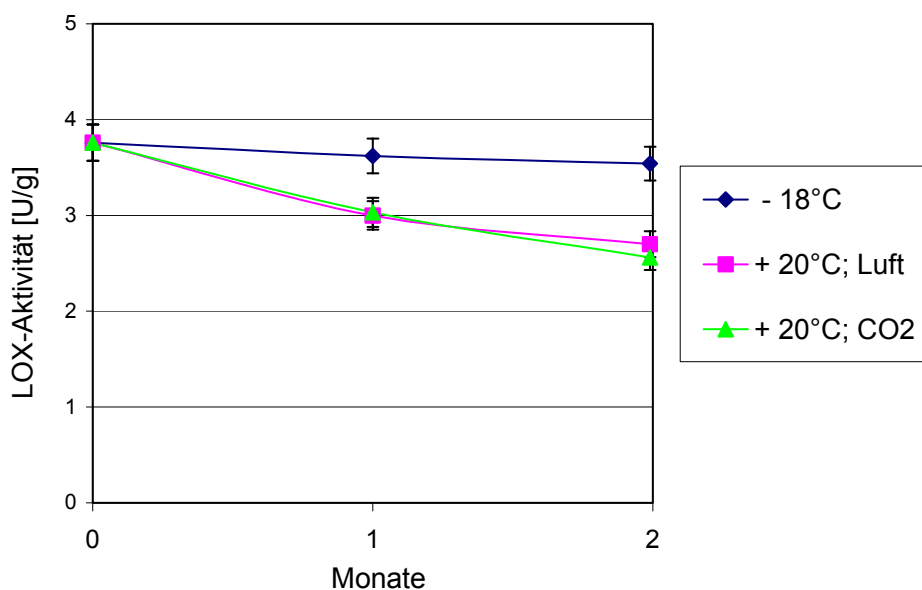




**Abbildung 5: Konzentration der höheren ungesättigten Fettsäuren und deren Hydroperoxide in Maische (Probenahme: Ende der 72 °C Rast); Sorten: S = *Scarlett*, P = *Pasadena*; 1, 2, 3: siehe Tabelle 4**

#### 4.4. EINFLUSS DER MALZLAGERUNG AUF DIE LOX-AKTIVITÄT DES MALZES

Der Einfluss der Lagerzeit und der Lagerbedingungen auf die LOX-Aktivität von Malz wurden an einem frisch abgedarrten hellen Gerstenmalz der Sorte *Alexis* untersucht. Die Lagerung des Malzes über einen Zeitraum von zwei Monaten bei Raumtemperatur war mit einer Abnahme der LOX-Aktivität um etwa 30 % verbunden (Abbildung 6). Dabei konnte kein Unterschied zwischen einer Lagerung unter CO<sub>2</sub>-Atmosphäre gegenüber einer Lagerung unter Luftsauerstoff festgestellt werden. Durch Einfrieren des Malzes (-18 °C) blieb die LOX-Aktivität innerhalb des Untersuchungszeitraums nahezu unverändert.

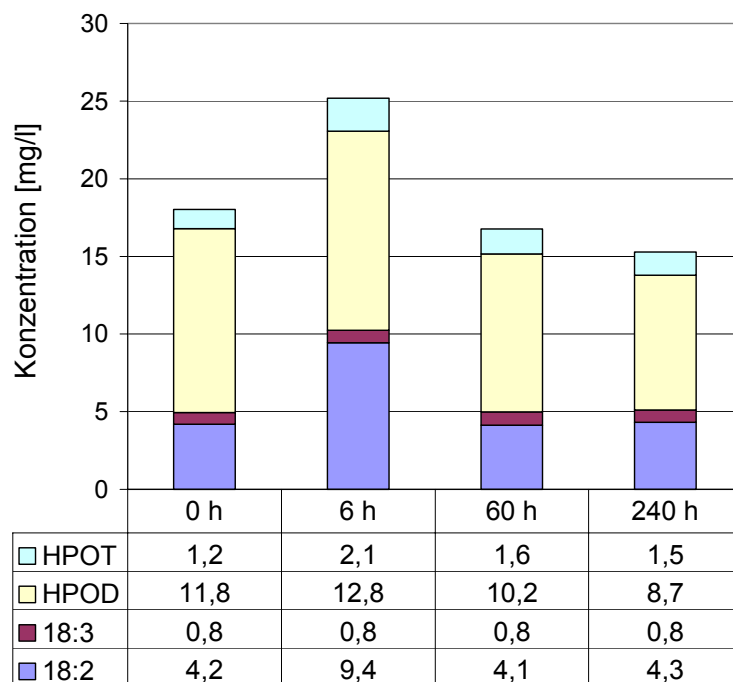


**Abbildung 6: LOX-Aktivität von Malz bei der Malzlagerung**

## 4.5. EINFLUSS DER SCHROTUNG AUF DIE LIPIDPEROXIDATION

### 4.5.1. Einfluss der Schrotlagerung

Um den Einfluss der Schrotaufbewahrung auf die Lipidoxidationsvorgänge im Schrot zu untersuchen, wurde Malz einer Malzcharge zu verschiedenen Zeitpunkten geschrotet und nach einer Aufbewahrungszeit von bis zu zehn Tagen eingemaischt. Die Aufbewahrung der Laborfeinschrote erfolgte trocken und dunkel bei Raumtemperatur. In der Maischeprobe, die am Ende der 72 °C-Rast eines Standardmaischverfahrens genommen wurde, zeigten sich auffällige Veränderungen der höheren ungesättigten Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide. In den ersten sechs Stunden der Schrotlagerung konnten Zunahmen bei den Fettsäuren, insbesondere bei der Linolsäure und den Fettsäurehydroperoxiden festgestellt werden. Nach einer Lagerdauer von 60 Stunden lagen die Konzentrationen in der Maische wieder nahe beim Ausgangsniveau. Lediglich bei den Fettsäurehydroperoxiden ging die Abnahme mit noch längeren Schrotlagerungszeiten weiter.



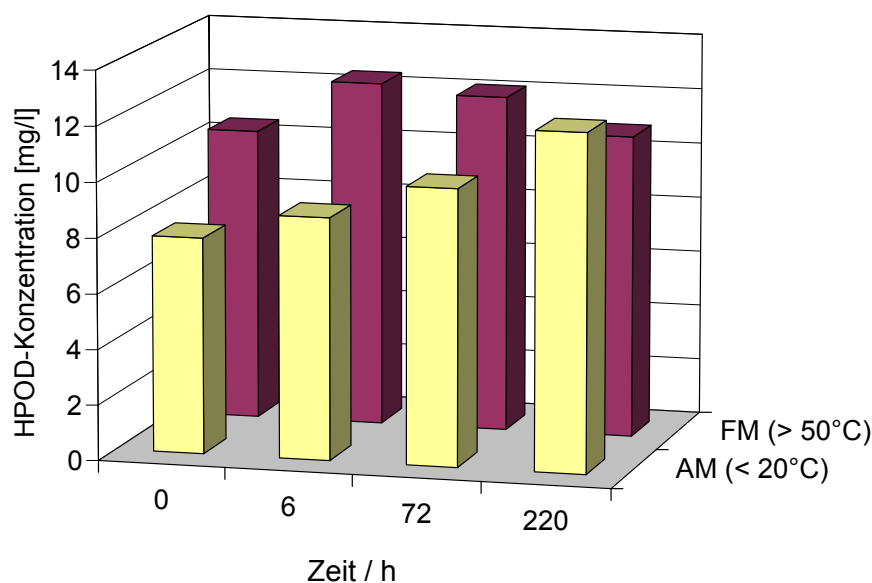
**Abbildung 7: Konzentration der höheren ungesättigten Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide in Maische in Abhängigkeit der Schrotlagerdauer**

### 4.5.2. Einfluss der Schrottemperatur

Von Bedeutung für die Oxidation des Malzlipide bei der Schrotlagerung ist auch die Temperatur des Schrotes bei der Zerkleinerung, wie im folgenden gezeigt werden soll. Verglichen wurde das Schrot einer Fächerschlägermühle, das unmittelbar nach der Zerkleinerung eine Schrottemperatur von über 50 °C aufwies, mit dem Schrot einer wassergekühlten Analysenmühle, das eine Schrottemperatur von unter 20 °C aufwies. In

Abhängigkeit von der Schrotlagerungszeit beider Schrote vor dem Einmaischen wurde in der Maische nach 5 Minuten die HPOD-Konzentrationen gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 grafisch dargestellt.

Bereits in der Maische des „frischen“ Fächerschlägermühlenschrotes konnte ein höheres Niveau an HPOD erkannt werden. Zudem war innerhalb der ersten sechs Stunden Schrotlagerung eine stärkere HPOD-Zunahme als beim Analysenmühlenschrot festzustellen. Eine noch längere Lagerdauer des Fächerschlägermühlenschrotes führte wieder zu einer Abnahme der HPOD-Konzentration in der Maische. In den Maischen des Analysenmühlenschrotes konnte dagegen über den gesamten Verlauf der Schrotlagerung eine Zunahme der HPOD-Konzentration festgestellt werden.

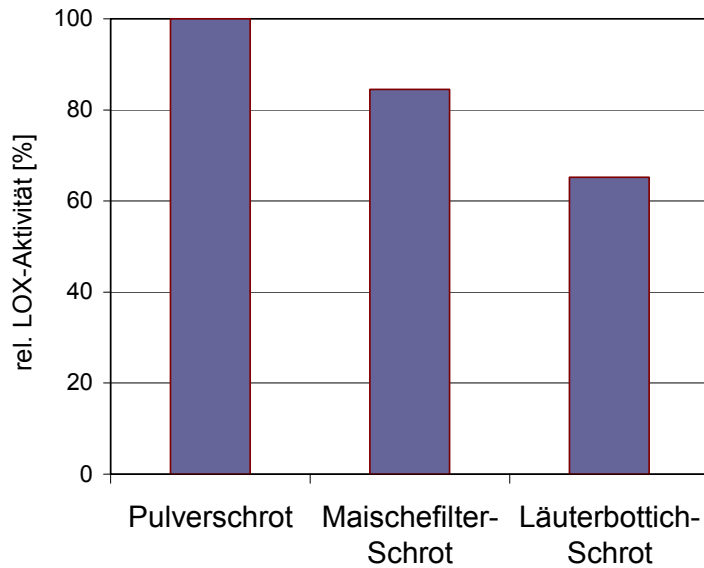


**Abbildung 8: Konzentration der Linolsäurehydroperoxide (HPOD) in Maische in Abhängigkeit von der Temperatur des Schrotes und der Schrotlagerdauer (Maischdauer 5 min, Maischtemperatur 50 °C); FM: Fächerschlägermühle, AM: Analysenmühle**

#### 4.5.3. Einfluss der Schrotfeinheit

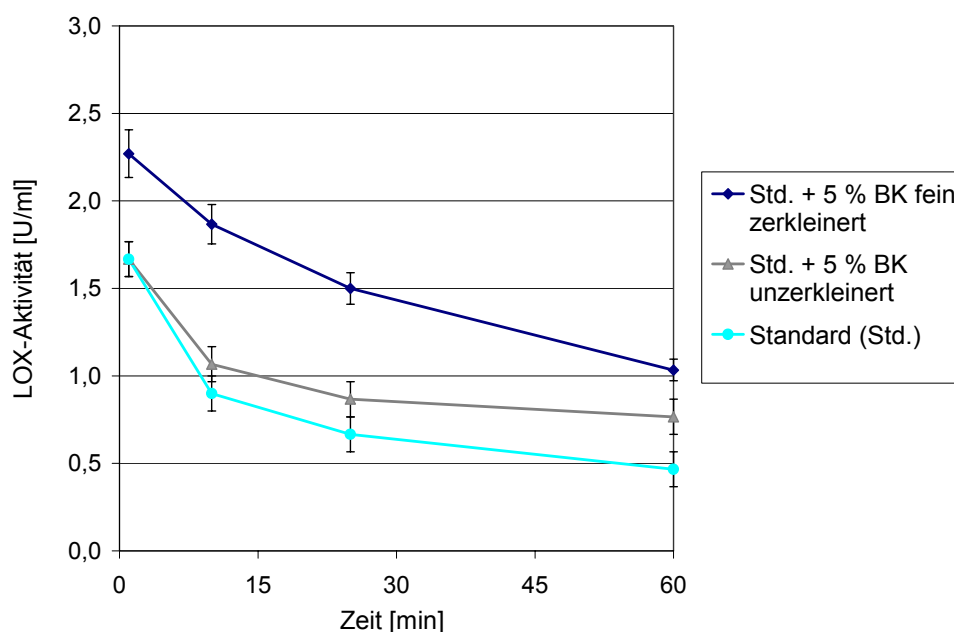
##### 4.5.3.1. Einfluss der Schrotfeinheit auf die Lipoxygenasen-Aktivität

Der Einfluss der Schrotfeinheit auf das In-Lösung gehen von LOX beim Maischen wurde in isothermen 50 °C-Maischen untersucht. Dabei konnte eine deutliche Zunahme der LOX-Aktivität mit steigender Schrotfeinheit festgestellt werden (Abbildung 9). Ein Pulverschrot (Feinprallmühlenschrot) mit einen Feingutanteil von 64 % < 125 µm zeigte 15 Minuten nach dem Einmaischen die höchste LOX-Aktivität. Das etwas gröbere Maischefilterschrot (Hammermühlenschrot) zeigte zu diesem Zeitpunkt nur etwa 84 % und das noch gröbere Läuterbottichschrot (Walzenmühlenschrot) sogar nur 64 % der LOX-Aktivität der Pulverschrotmaische. Die Ergebnisse der Schrotsortierung sind im Anhang (Tabelle A-4) aufgeführt.



**Abbildung 9: LOX-Aktivität beim Maischen in Abhängigkeit der Schrotfeinheit. Aktivitäten (%) bezogen auf die LOX-Aktivität der Pulverschrotmaische; Probenahme 15 min nach Einmaischen (50 °C)**

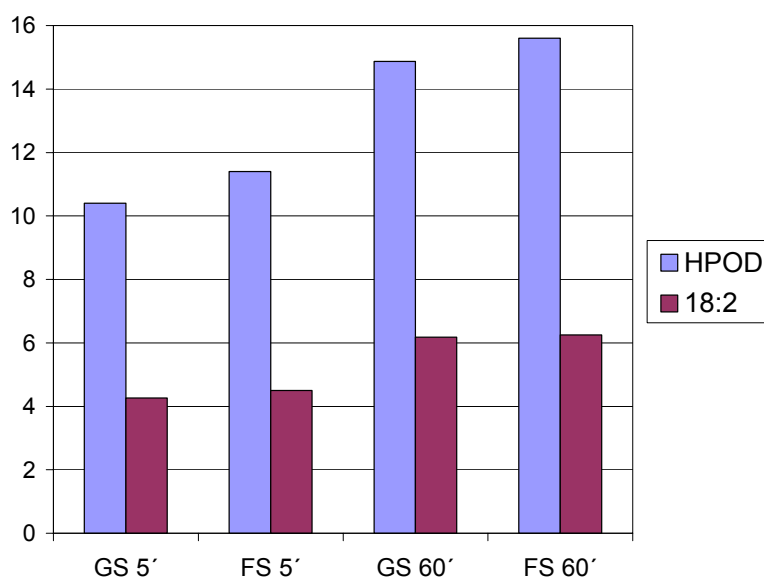
Ein verbessertes In-Lösung gehen der LOX konnte auch mit zunehmender Schrotfeinheit des Blattkeims festgestellt werden. Abbildung 10 zeigt den Verlauf der LOX-Aktivität in der 45 °C-Maische eines Standardschrotes mit und ohne Blattkeimzugabe. Die Blattkeime wurden einmal fein zerkleinert und ein andermal unzerkleinert dem Standardschrot zugegeben. Die Zugabe unzerkleinerter Blattkeime ließ erst nach 60 Minuten eine signifikant höhere LOX-Aktivität als in der Maische des Standardschrotes erkennen. Demgegenüber führte die Zugabe von fein zerkleinertem Blattkeimmaterial bereits kurz nach dem Einmaischen zu einer signifikanten Zunahme der LOX-Aktivität.



**Abbildung 10: LOX-Aktivität der Maische in Abhängigkeit der Feinheit des Blattkeims (isotherm 45 °C); Std. = Standard, BK = Blattkeim**

#### 4.5.3.2. Einfluss der Schrotfeinheit auf die Peroxidation von Linolsäure

Der Einfluss der Schrotfeinheit auf die HPOD-Konzentration in Maische wurde in einem Vergleich von Walzenmüllenschrot (Grobschrot) und Hammermüllenschrot (Feinschrot) untersucht. In der Feinschrotmaische konnte fünf Minuten nach dem Einmaischen (62 °C) eine nur geringfügig höhere HPOD-Konzentration gegenüber der Grobschrotmaische gemessen werden (Abbildung 11), die Konzentration von Linolsäure blieb dabei nahezu unverändert. Bei längerem Maischen stieg die Konzentration von Linolsäure als auch die von HPOD um etwa 40 % an. Die etwas höhere HPOD-Konzentration der Feinschrotmaische gegenüber der Grobschrotmaische war auch nach 60 Minuten noch festzustellen.



**Abbildung 11: Linolsäure (18:2) und Linolsäurehydroperoxide (HPOD) 5 Minuten (5') bzw. 60 Minuten (60') nach dem Einmaischen (isotherm 62 °C); GS: Grobschrot; FS: Feinschrot**

#### 4.6. EINFLUSS DER MAISCHTEMPERATUR AUF DIE LOX-AKTIVITÄT

Zur Untersuchung der Hitzestabilität von LOX wurde Malzfeinschrot bei verschiedenen Temperaturen eingemaischt und der Maische nach definierten Zeiten eine Probe zur Bestimmung der LOX-Aktivität entnommen. Den zeitlichen Verlauf der LOX-Aktivität gibt Abbildung 12 wieder. Dabei zeigte sich die LOX von Malz als relativ hitzeempfindlich gegenüber höheren Maischtemperaturen. Während die LOX-Aktivität in der isothermen 45 °C-Maische nach 60 Minuten noch 40 % der Ausgangsaktivität betrug, konnte in der 55 °C-Maische nach dieser Zeit bereits keine Aktivität mehr nachgewiesen werden. Bei einer Maischtemperatur von 60 °C war schon nach 30 Minuten keine LOX-Aktivität mehr festzustellen. Mit einer Maischtemperatur von 65 °C ließ sich die Inaktivierungsrate der LOX nochmals steigern, eine vollständige Inaktivierung wurde jedoch auch bei dieser Temperatur erst nach über 20 Minuten erreicht.

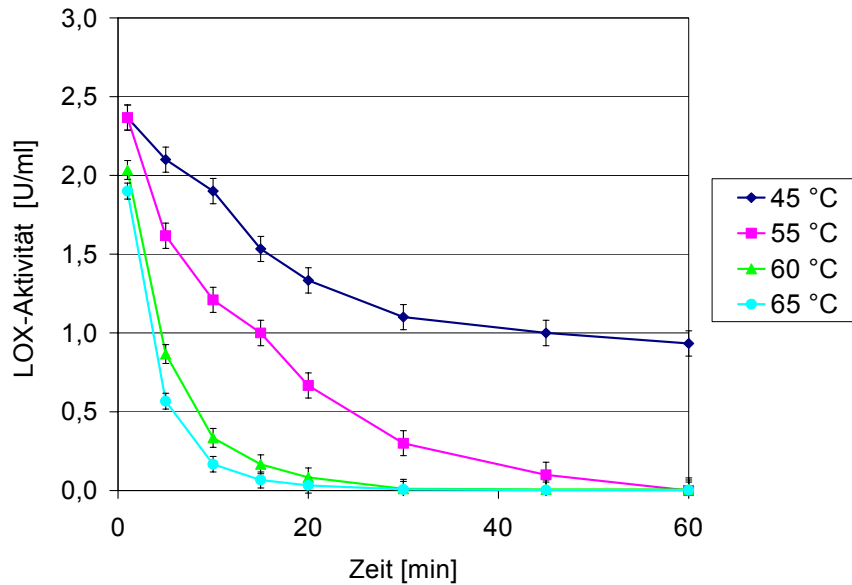


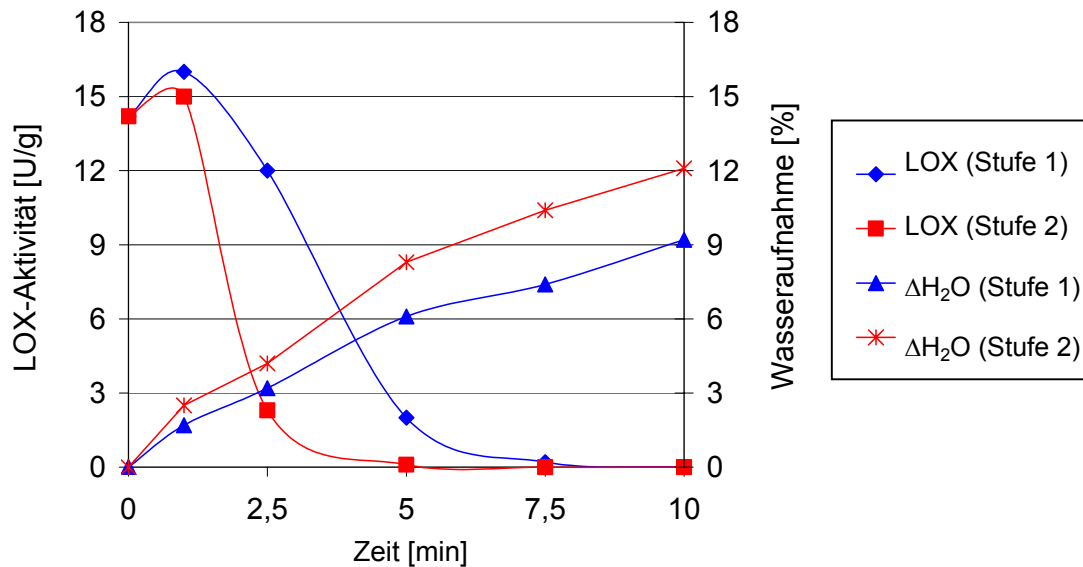
Abbildung 12: LOX-Aktivität in isothermen Maischen

#### 4.7. EINFLUSS DER MALZKONDITIONIERUNG AUF DIE LOX-AKTIVITÄT

Mit dem Ziel, die Lipoxygenasen des Malzes bereits vor dem Maischprozess zu inaktivieren, wurden zwei Verfahren zur Hitzebehandlung von Malz im Labormaßstab untersucht.

##### 4.7.1. Malzkonditionierung mit Sattdampf

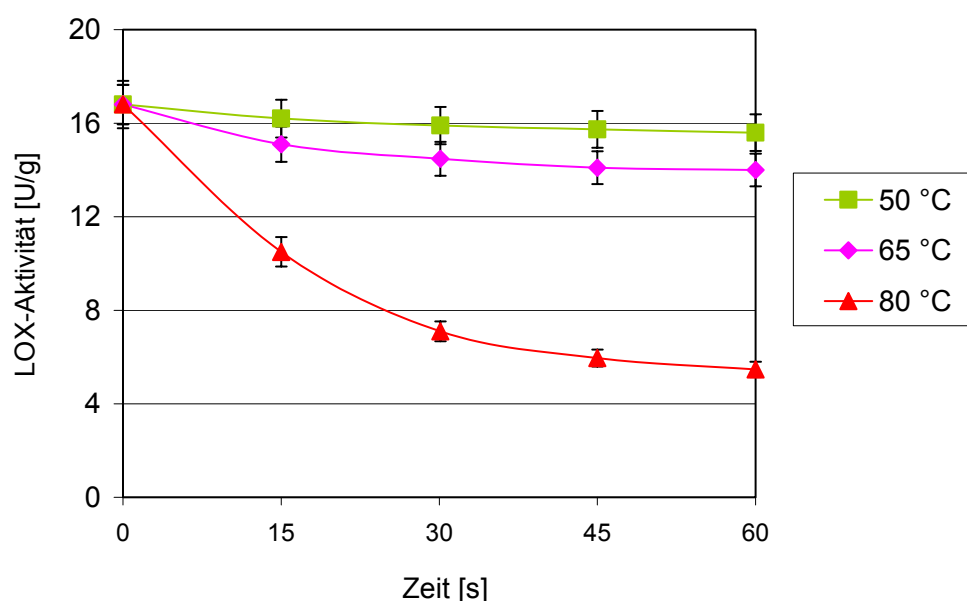
Die Konditionierung des Malzes mittels Sattdampf zeigte zunächst einen leichten Anstieg der LOX-Aktivität bis zu einer Wasseraufnahme von etwa 2 % (durch Dampfkondensation). Erst ab einer Wasseraufnahme von über 3 % trat eine schnelle Abnahme der LOX-Aktivität ein (Abbildung 13). Die Abnahme war dabei umso steiler, je intensiver das Malz mit Dampf beaufschlagt wurde, d.h. je höher die Dampfung pro Zeiteinheit war (Stufe 2 > Stufe 1). Bereits nach einer Konditionierzeit von 2,5 Minuten war es erforderlich, das Malz vor seiner Untersuchung zu trocknen, um ein Verkleben der Mühlen zu verhindern.



**Abbildung 13: Verlauf der LOX-Aktivität und der Wasseraufnahme von Malz bei der Konditionierung mit Sattdampf**

#### 4.7.2. Malzkonditionierung mit heißem Wasser im Labormaßstab

Der Einfluss der Malzkonditionierung mit heißem Wasser (Weichkonditionierung) auf die LOX-Aktivität von Malz wurde für verschiedene Weichwassertemperaturen und Konditionierzeiten untersucht. Eine wirksame Inaktivierung der LOX wurde erst bei einer Temperatur von 80 °C erreicht (Abbildung 14). Diese Temperatur führte in weniger als 30 Sekunden zu einer Halbierung der Ausgangsaktivität; nach einer Minute betrug die Inaktivierungsrate sogar annähernd 70 %. Weichwassertemperaturen von 50 und 65 °C ließen eine vergleichsweise langsame Inaktivierung der LOX erkennen.



**Abbildung 14: Verlauf der LOX-Aktivität von Malz bei der Weichkonditionierung mit unterschiedlichen Weichwassertemperaturen (Malz-Wasser-Verhältnis 1:4)**

Der Einfluss der Weichkonditionierung bei 80 °C (Heißkonditionierung) auf die Qualitätskriterien von Malz ist in Tabelle 5 zusammengefasst. Auffällige Unterschiede zum Ausgangsmalz zeigten sich lediglich beim  $\beta$ -Glucangehalt der Kongresswürze, was mit einer teilweisen Inaktivierung der Endo- $\beta$ -Glucanasen erklärt werden kann. Der  $\beta$ -Glucangehalt der VZ 65 °C-Würzen, der die zytolytischen Lösungs- und Abbauvorgänge der Praxis besser wiedergibt, zeigte sich dagegen wenig verändert. Die amylytischen Enzyme des heißkonditionierten Malzes wurden nur wenig geschädigt, so z. B. die Diastatische Kraft, deren Aktivität durch 30 Sekunden „Heißkonditionieren“ nur um etwa 7 % abnahm. Auch der Gehalt an löslichem Stickstoff und FAN erfuhr innerhalb dieser Zeit nur eine geringfügige Abnahme von etwa 5 %. Nahezu unverändert zeigten sich Extraktgehalt, pH-Wert, Farbe, Polyphenolgehalt und die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase.

**Tabelle 5: Analysenergebnisse der Malze nach Heißkonditionierung (Dauer der Wasserweiche:**

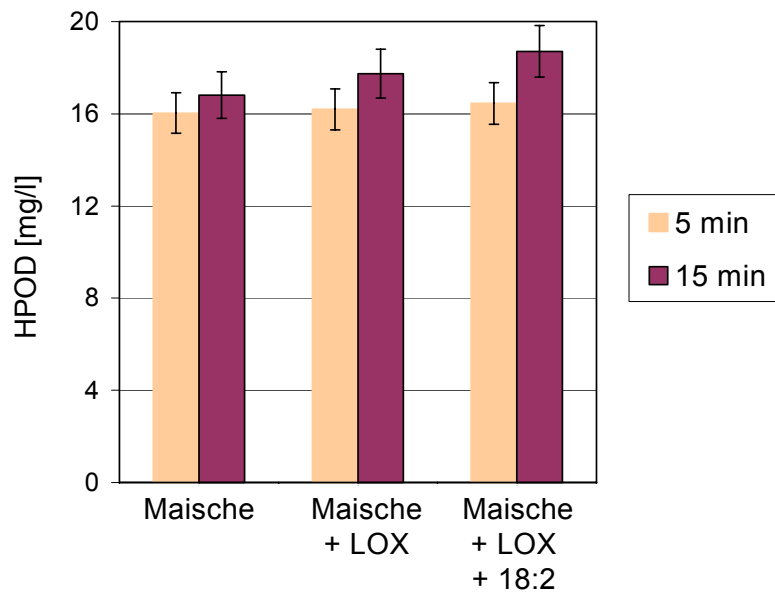
	0 s	15 s	30 s	45 s	60 s
Extrakt / % wfr.	81,7	81,9	81,5	81,6	81,7
Wasseraufnahme / %	0	20,1	22,5	23,2	24,2
pH	5,75	5,79	5,79	5,79	5,80
Farbe / EBC	3,5	3,5	3,0	3,5	3,0
lösl. N / mg/l	795	767	750	739	739
FAN / mg/100g MTrS	164	158	156	156	157
$\beta$ -Glucan (KW) / mg/l	241	310	333	320	329
$\beta$ -Glucan (65°C-Maische) / mg/l	436	430	455	414	427
Polyphenole / mg/l	178	170	172	169	167
DK / WK	251	237	233	232	224
$\alpha$ -Amylase / ASBC	36	39	37	36	35

#### 4.8. VERHALTEN DER LINOLSÄUREHYDROPEROXIDE BEIM MAISCHEN

##### 4.8.1. Einfluss der LOX auf die Linolsäurehydroperoxidkonzentration (HPOD) in Maische

Zur Untersuchung der enzymatischen Entstehung von HPOD in Maische wurden isotherme Maischversuche bei 50 °C durchgeführt, bei denen kommerzielle LOX (Sigma, L 7395) beim Einmaischen zugegeben wurde. Eine annähernde Verdoppelung der LOX-Aktivität in Maische durch Zugabe von 4000 U/ml ließ eine nur tendenzielle Zunahme der HPOD-Konzentration nach einer Maischdauer von 15 Minuten erkennen (Abbildung 15). Um einen Substratmangel auszuschließen, wurde ein weiterer Maischversuch mit einer kombinierten Zugabe von LOX und Linolsäure durchgeführt. Hier war die HPOD-Zunahme zwar etwas deutlicher, gegenüber der Vergleichsmaische betrug sie aber auch nur etwa 10 %.



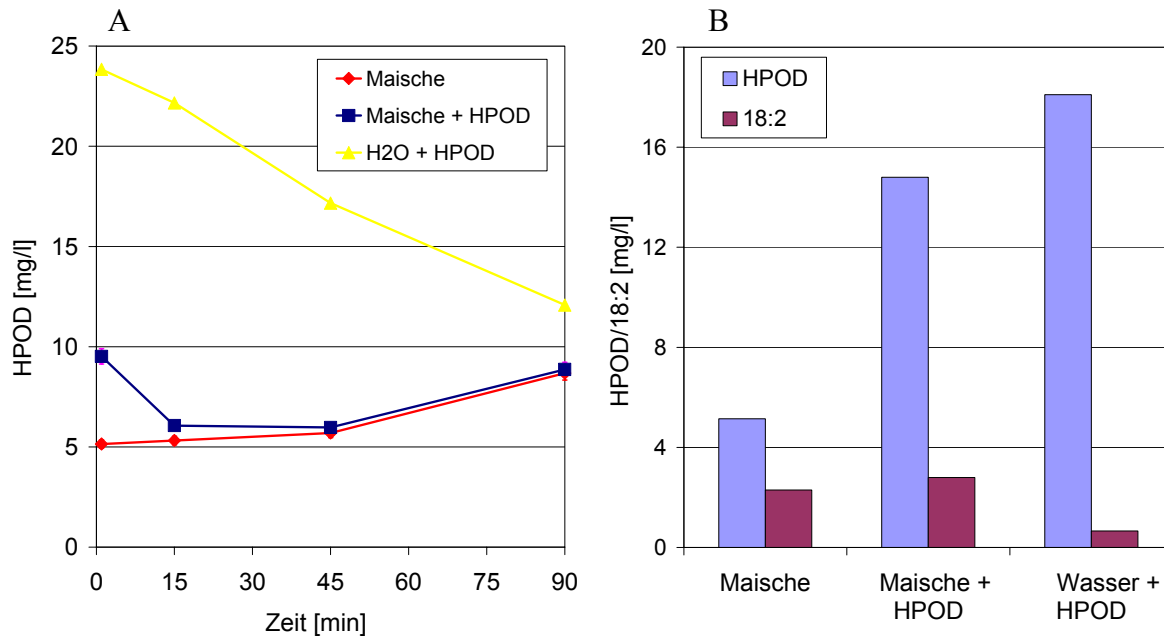


**Abbildung 15:** Konzentration der Linolsäurehydroperoxide (HPOD) während des Maischens (isotherm 50 °C). Zugaben: LOX: 4 U/ml; Linolsäure (18:2): 10 mg/l

#### 4.8.2. Verhalten von zugegebenen Linolsäurehydroperoxiden (HPOD) in Maischwasser und Maische

Die Zugabe eines enzymatisch hergestellten HPOD-Standards in 50-gradiges Wasser (ca. 25 mg/l) ließ eine lineare Abnahme der HPOD erkennen (ca. 10 mg in 90 Minuten). Wurde die gleiche Menge des HPOD-Standards der Maische beim Einmaischn (50 °C) zugegeben, konnte eine noch deutlich steilere Abnahme der HPOD beobachtet werden. Bereits 15 Minuten nach dem Einmaischn war nur noch eine leicht höhere HPOD-Konzentration als in der Vergleichsmaische festzustellen. (Abbildung 16 A). Die HPOD-Konzentrationen der Vergleichsmaische zeigte einen langsamen, aber stetigen Anstieg im Verlauf des Maischens.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der HPOD-Standard einer 50 °C-Maische, die zuvor 20 Minuten bei 80 °C temperiert wurde, zugegeben. Die teilweise Inaktivierung der Malzenzyme führte dazu, dass 15 Minuten nach dem Einmaischn noch eine deutlich höhere HPOD-Konzentration als in der Vergleichsmaische gefunden wurde. Die Konzentrationszunahme betrug in etwa die Hälfte der HPOD-Konzentration eines gleich behandelten Wassers (Abbildung 16 B). Die HPOD-Zugabe war mit einem leichten Anstieg der Linolsäurekonzentration verbunden, was auf eine nicht ganz vollständige Peroxidation des enzymatisch hergestellten HPOD-Standards hindeutet.



**Abbildung 16: Linolsäurehydroperoxide (HPOD) während des Maischens (isotherm 50 °C). A: HPOD-Zugabe zum Einmischwasser (ca. 25 mg/l); B: HPOD-Zugabe zu einer teilweise inaktivierten Maische bzw. einem gleich behandelten Wasser (ca. 25 mg/l).**

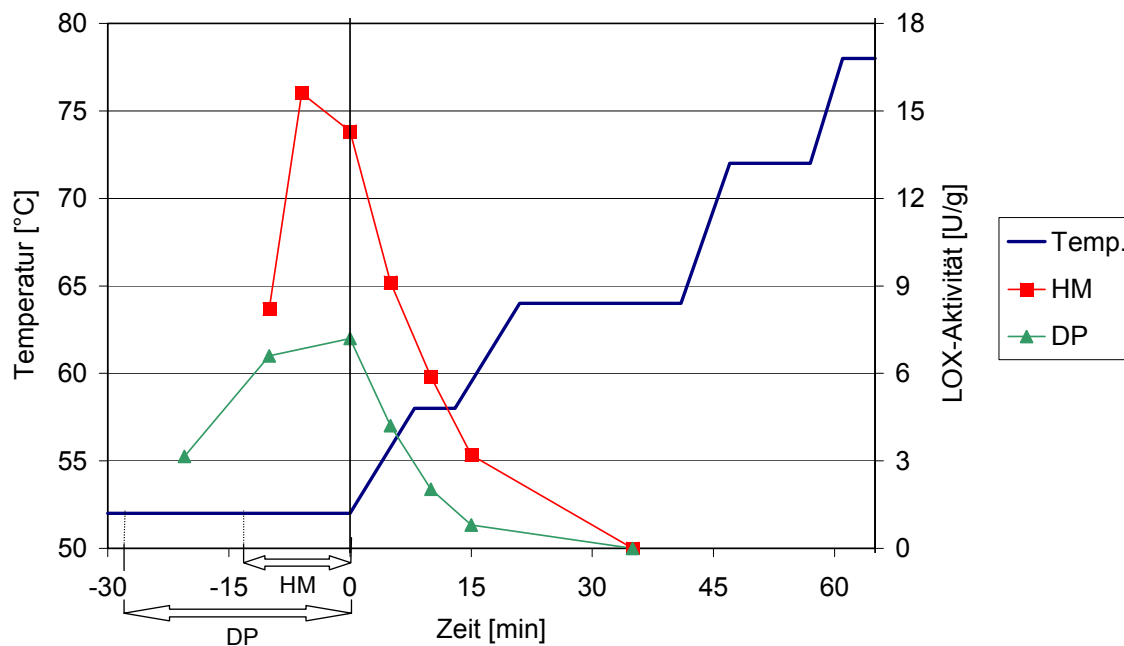
#### 4.9. UNTERSUCHUNG VERSCHIEDENER SCHROTUNGS- UND EINMAISCHTECHNIKEN IM INDUSTRIELLEN MAßSTAB

In ausgewählten Brauereien, in denen verschiedene Schrotungs- und Einmischsysteme unter nahezu identischen Maischbedingungen anzutreffen waren, wurden Vergleichs-Brauversuche durchgeführt. Außerdem wurde der Einfluss der Schrotlagerung und der Weichkonditionierung von Malz mit 80-gradigem Wasser auf die Würze- und Bierqualität auch in Praxisversuchen untersucht. In einer Altbierbrauerei wurde schließlich der Einfluss der Maischparameter auf die Geschmacksstabilität von Altbier untersucht.

##### 4.9.1. Vergleich einer Nassschrotung (Dispergierer) mit einer Trockenschrotung (Hammermühle) von Malz

Die Untersuchung wurde in einer Brauerei durchgeführt, die über einen Maischfilter verfügte und für die Malzzerkleinerung einerseits eine Hammermühle und alternativ einen Dispergierer verwendete. Dabei wurden jeweils drei Sude eines Schrotungssystems zu einer Sudgruppe zusammengefasst und nach einem einheitlichen Brauverfahren zu einem fertigen Bier verarbeitet. Die Versuchsreihe wurde zwei mal durchgeführt Die Malzschüttung betrug jeweils 7,6 Tonnen. Das vorgeschrotete Trockenschrot wurde in durchschnittlich 13 Minuten eingemaischt. Der Zerkleinerungs- und Einmischvorgang beim Dispergieren nahm dagegen 28 Minuten in Anspruch.

Die beiden Schrotungssysteme zeigten auffällige Unterschiede beim In-Lösung gehen der LOX während des Einmischvorganges (Abbildung 17). Während in den Maischen der Hammermühlenschrote schon zu Beginn des Einmischvorganges die höchste LOX-Aktivität festgestellt wurde, erreichten die Dispergiermaischen ihr Maximum erst am Ende des Einmischens. Während der ersten 15 Minuten nach dem Einmischen ist in den Hammermühlenmaischen eine etwa doppelt so hohe LOX-Aktivität wie in den Dispergiermaischen gemessen worden, nach 35 Minuten war aber in beiden Maischen keine Aktivität mehr nachzuweisen.



**Abbildung 17: Temperaturverlauf und Verlauf der LOX-Aktivität beim Maischen; Mittelwerte (n = 6); HM = Hammermühlenmaische, DP = Dispergiermaische, (↔) = Dauer des Einmischvorganges**

Eine Untersuchung der unlöslichen Maischebestandteile zum Ende des Einmischens ( $t = 0$ ) zeigte, dass in den Grießen der Dispergiermaischen noch ein hoher Anteil der LOX-Aktivität in ungelöster Form vorkommt (Tabelle 6). Bezogen auf die Gesamt-LOX-Aktivität der Maische, als Summe der LOX-Aktivität von flüssiger und fester Phase, betrug der Anteil ungelöster LOX in der Dispergiermaische etwa 42 %, in den Grießen der Hammermühlenmaische lag er dagegen bei etwa 10 %.

In den Dispergiermaischen wurde am Ende des um etwa 15 Minuten verlängerten Einmischvorganges ein höherer Gehalt an ungesättigten Fettsäuren nachgewiesen als in der Hammermühlenmaische. Die Konzentrationen an Fettsäurehydroperoxiden ließen dagegen keine auffälligen Unterschiede erkennen.

**Tabelle 6: LOX-Aktivität der unlöslichen Maischebestandteile und Konzentration der höheren ungesättigte Fettsäuren sowie deren Hydroperoxide am Ende des Einmaischens; HM = Hammermühle, DP = Dispergierer; Mittelwerte (n = 6)**

		Ø HM	Ø DP
LOX-Aktivität	U/g	1,6	5,2
18:2	mg/l	1,8	2,5
18:3	mg/l	0,6	0,8
HPOD	mg/l	7,3	7,7
HPOT	mg/l	1,4	1,3

Obwohl die Schrotzusammensetzung von Trockenschrot und Nassschrot nicht analysiert wurde, ließ sich allein durch eine optische Beurteilung der Maische eine gröbere Zusammensetzung der Dispergiermaische feststellen. Einen weiteren Hinweis auf eine höhere Feinheit des Hammermühlenschrotes gab die Treberanalyse. In den Trebern der Dispergiersude lag der aufschließbare Extrakt um etwa 73 % höher als in den Trebern der Hammermühlensude (Tabelle A-5). Der ebenfalls höhere auswaschbare Extrakt war zumindest teilweise auf eine Unterfüllung des Maischefilters bei den Dispergiersuden zurückzuführen.

Nach dem Würzekochen, bei dem eine Zugabe von Hopfen und etwa 25 % Glucosesirup erfolgte, und der Heißtrubabtrennung wurden Würzproben aus der Kühlmitte genommen und entsprechend der Kriterien in Tabelle 7 untersucht. Die Würzen wiesen hinsichtlich Extraktgehalt, EVG, Farbe, pH-Wert, phenolischer Substanzen und proteolytischer Kennzahlen keine ins Auge fallenden Unterschiede auf. Der bereits in der Würze der Hammermühlensude festgestellte hohe photometrische Jodwert wurde von der Dispergierwürze noch übertroffen. Bemerkenswert war der höhere Zinkgehalt der Dispergierwürze gegenüber der Würze des Hammermühlensudes. Der  $\beta$ -Glucangehalt der Dispergierwürze war dagegen deutlich niedriger als in der Hammermühlenwürze, ebenso der Bitterstoffgehalt, allerdings nur um 10 %. Eine Analyse der Zuckerzusammensetzung ließ keine auffälligen Unterschiede erkennen (Tabelle A-6). Von den Würzearomastoffen zeigten Streckeraldehyde, insbesondere 2-Phenylethanal, und 2-Furfural etwas höhere Konzentrationen in den Hammermühlenwürzen. Die Hexanalkonzentration lag dagegen in den Würzen der Dispergiersude etwas höher (Tabelle A-8).

**Tabelle 7: Analysenergebnisse der Würzen aus Kühlmittle von Dispergiersuden (DP) und**

		Ø HM	Ø DP
Extrakt	%	16,7	16,6
EVG	%	83,9	83,4
photom. Jodwert	$\Delta E_{578nm}$	1,73	2,46
pH		5,38	5,41
Farbe	EBC	5,4	5,4
FAN	mg/l	127	130
lösl-N	mg/l	645	634
Tannoide	mg/l	80	76
Polyphenole	mg/l	172	158
Anthocyanogene	mg/l	84	77
Polymerisationsindex		2,05	2,07
$\beta$ -Glucan	mg/l	79	33
Bitterstoffe	EBC	34,6	31,7
Zink	mg/l	0,04	0,07

Die High-Gravity-Würzen aus den jeweils drei Suden eines Schrotungssystems wurden in einem Gärtank angestellt und vergoren. Die Jungbiere wurden nach dem Schlauchen zehn Tage bei Temperaturen unter 0 °C gelagert und anschließend filtriert. Nach der Filtration, bei der eine Stabilisierung mit PVPP und Kieselgel erfolgte, wurden die Biere mit entgastem Brauwasser auf einen Stammwürzegehalt von 11,5 bis 11,7 % herunter verdünnt. Die Analysenergebnisse der abgefüllten Biere sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Die Biere der beiden Schrotungssysteme unterschieden sich in den meisten Analysenmerkmalen nur wenig. So wurden nahezu gleiche Farben, pH-Werte, Vergärungsgrade, Konzentrationen an löslichem Stickstoff und Diacetyl festgestellt. Auch die chemisch-physikalische Stabilität war in beiden Bieren gleichermaßen hoch. Das Bier des Dispergiervfahrens zeigte, wie bereits die entsprechenden Würzen, einen höheren photometrischen Jodwert sowie einen etwas niedrigeren Bitterstoffgehalt. Der Lag-Time-Wert und der SO<sub>2</sub>-Gehalt des Bieres der Dispergiersude waren geringfügig höher. Die Schaumhaltbarkeit der Biere lag auf einem ähnlich niedrigen Niveau.

Bei einer Verkostung der Biere nach DLG wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt, obwohl die Biere der Hammermühlensude mit etwas runder und ausgewogener beschrieben wurden. Die Alterungsverkostung zeigte eine geringfügig bessere Geschmacksstabilität des Dispergierbieres, die sich auch in einer etwas besseren Alterungsakzeptanz dokumentierte (Tabelle A-9). Bei den Alterungskomponenten der frischen und forciert gealterten Biere konnten deshalb erwartungsgemäß auch nur sehr kleine Unterschiede gefunden werden (Tabelle A-10).

**Tabelle 8: Analysenergebnisse der abgefüllten Biere von Dispergiersuden (DP) und**

		HM	DP
Stammwürze	%	11,5	11,7
pH		4,24	4,16
Vergärungsgrad	%	83,6	83,0
Farbe	EBC	7,9	7,8
lösl. N	mg/l	519	506
photom. Jodwert	$\Delta E_{578 \text{ nm}}$	1,36	1,88
Bitterstoffe	EBC-BU	17,5	15
Diacetyl	mg/l	0,08	0,09
Kälte trübung	WT	> 11	> 11
Schaum	R&C	112	110
Schaum	NIBEM	231	238
SO <sub>2</sub>	mg/l	2,5	3,1
Lag-Time	min	41	47
DLG-Verkostung		4,3	4,2
Alterungsverkostung		1,6	1,5

#### 4.9.2. Vergleich einer Hammermühlenerkleinerung mit einer kombinierten Walzen- und Hammermühlenerkleinerung von Malz

Der Vergleich konnte in einer Brauerei durchgeführt werden, die zur Herstellung Maischefiltertrockenschrots sowohl eine Hammermühle (HM), als auch eine Sechswalzenmühle (6-WM) einsetzt. Bei der Schrotung mit der Sechswalzenmühle werden die über eine Zentrifugal-Siebmaschine abgetrennten Spelzen in gleicher Hammermühle nachzerkleinert.

Die Schrotsortierung ließ eine etwas höhere Feinheit der Hammermühlenschrote gegenüber dem Gesamtschrot der kombinierten Zerkleinerung erkennen (Tabelle A-11).

Jeweils 2,4 Tonnen vorgeschrotetes Malz wurden innerhalb von 15 Minuten bei 58 °C über eine Anteigschnecke eingemaischt. Für eine Untersuchung der LOX-Aktivität in Maische wurden zu bestimmten Zeitpunkten des Maischverfahrens Proben genommen. Der aus jeweils drei Suden ermittelte Verlauf der LOX-Aktivität in Maische ist in Abbildung 18 dargestellt. Daraus kann abgeleitet werden, dass die LOX während des Einmaischens und zu Beginn des Maischprozesses in der Maische des Hammermühlenschrotes rascher in Lösung gegangen ist, dass aber auch die Inaktivierung der LOX anfangs deutlich schneller verlief als in der Maische des 6-WM + HM-Schrotes.

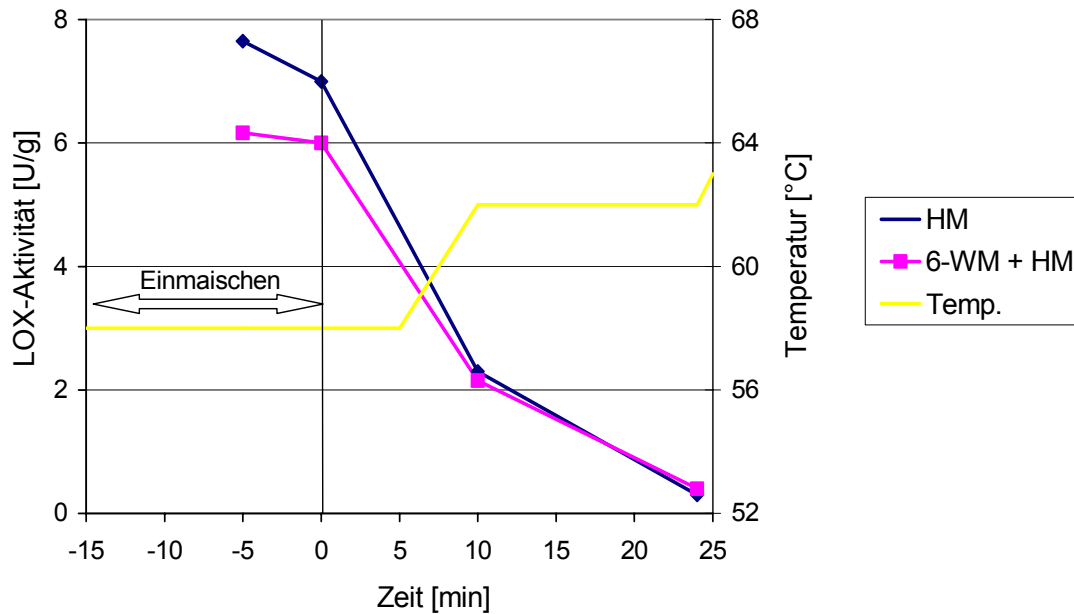


Abbildung 18: LOX-Aktivität beim Maischen, Mittelwerte ( $n = 3$ ); HM = Hammermühle, 6-WM = Sechswalzenmühle, ( $\Leftrightarrow$ ) = Dauer des Einmischvorganges

#### 4.9.3. Einfluss einer $\text{CO}_2$ -Begasung von Grießkasten und Anteigschnecke

Die Versuche wurden in einer Brauerei durchgeführt, in der mit einer neuartigen Walzenmühlenkombination Feinschrot für ein modernes Maischefiltersystem produziert wird (14 t/Sud). Neben einer geringen mechanischen und thermischen Belastung soll das Schrotungssystem die Blattkeime weitestgehend schonen, d.h. unversehrt lassen. Nach dem in Abbildung 19 dargestellten Anlagenschema werden dem Malz nach einem gezielten Vorbruch große Anteile der Blattkeime und Grieße in einem Plansichter abgetrennt. Lediglich die Grobgrieße und Spelzen werden in einer nachgeschalteten Grieß- und Spelzenmühle weiter zerkleinert.

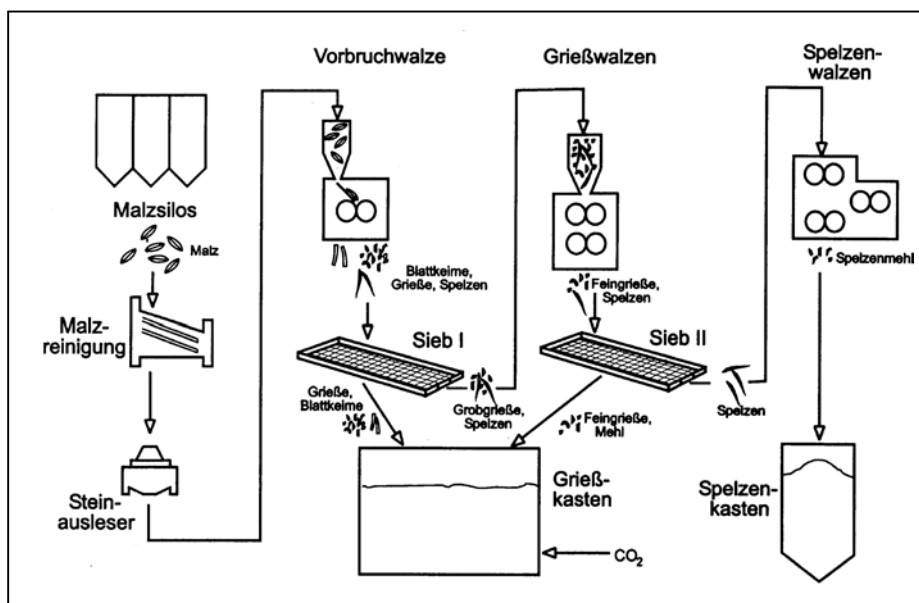
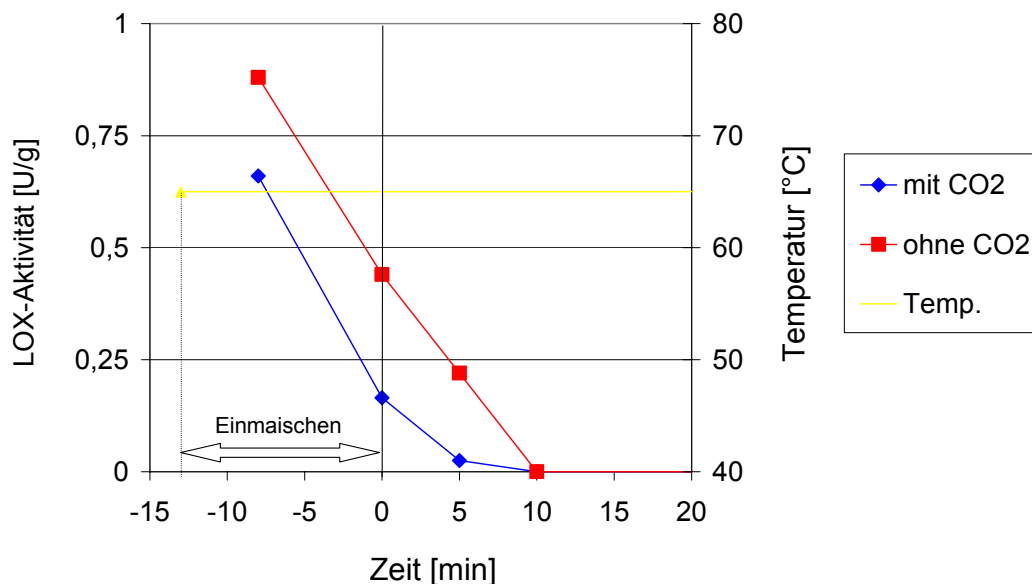


Abbildung 19: Anlagenschema – Schroterei [10]

Da bei diesem Schrotungskonzept die Möglichkeit bestand, den Grießkasten sowie die Anteigschnecke mit CO<sub>2</sub> zu begasen, wurde eine vergleichende Untersuchung des Lipidabbaus beim Maischen mit dieser Option durchgeführt. In Abbildung 20 ist der Verlauf der LOX-Aktivität beim Maischen dargestellt. Das Einmaischen bei 65 °C dauerte etwa 13 Minuten. Die LOX-Aktivität in der aus CO<sub>2</sub>-begasten Feinschrot hergestellten Maische lag von Anfang an deutlich niedriger als der Vergleich ohne Schrotbegasung, und zwar um fast 25 % bei der ersten Probenahme fünf Minuten nach Beginn des Einmaischens. Die Geschwindigkeit, mit der die LOX-Aktivität während der Maischerast von 65 °C abnahm, war jedoch unabhängig davon, ob das Schrot begast wurde oder nicht. Das belegen die steil abfallenden, parallel zueinander verlaufenden Aktivitätskurven. Und so ist die Zeit bis zur vollständigen Inaktivierung der LOX in der aus CO<sub>2</sub>-begasten Schrot hergestellten Maische auch fast 5 Minuten kürzer als in der Vergleichsmaische.

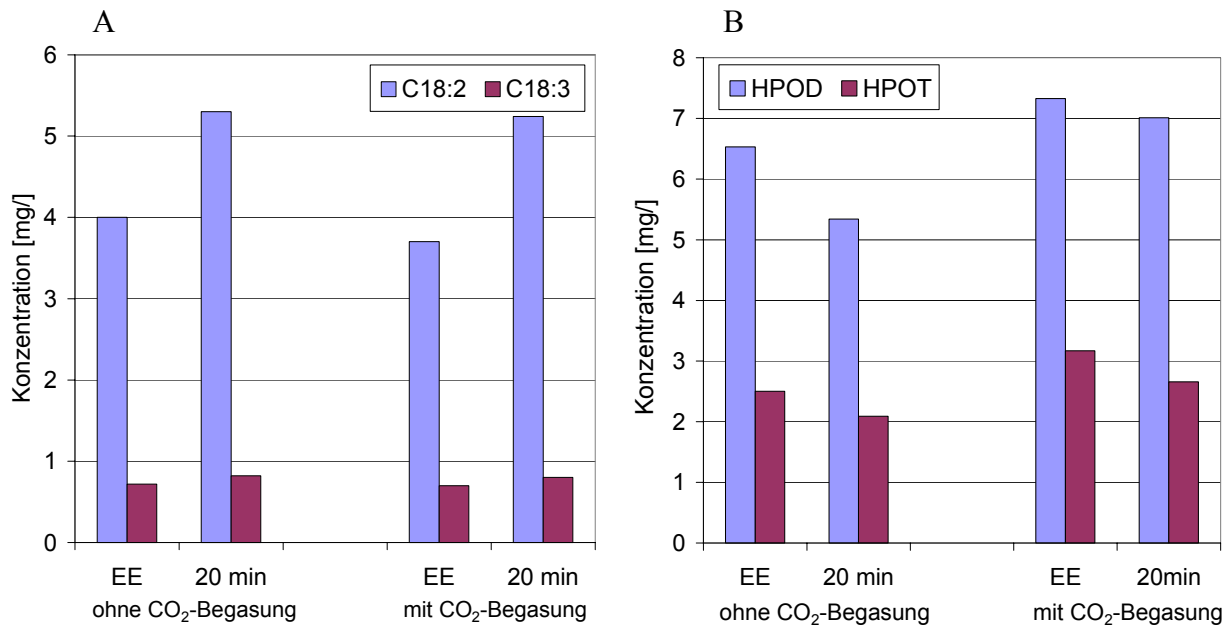


**Abbildung 20: Verlauf der LOX-Aktivität beim Maischen; Mittelwerte (n = 3), (↔) = Dauer des Einmischvorganges**

Die höheren ungesättigten Fettsäuren erfuhren während einer 20-minütigen Rast bei 65 °C nach Einmaischende eine Zunahme. Die Zunahme der Linolsäure fiel dabei stärker aus als die der Linolensäure. Ein Einfluss der Begasung auf den Fettsäuregehalt der Maische konnte nicht festgestellt werden (Abbildung 21 A).

Die Fettsäurehydroperoxiden nahmen im Gegensatz zu den höheren ungesättigten Fettsäuren während der 20-minütigen Rast bei 65 °C mehr oder weniger deutlich ab. Die Maischen, die mit begastem Schrot hergestellt wurden, zeigten dabei überraschenderweise etwas höhere Hydroperoxidgehalte als die Maischen ohne Schrotbegasung (Abbildung 21 B).





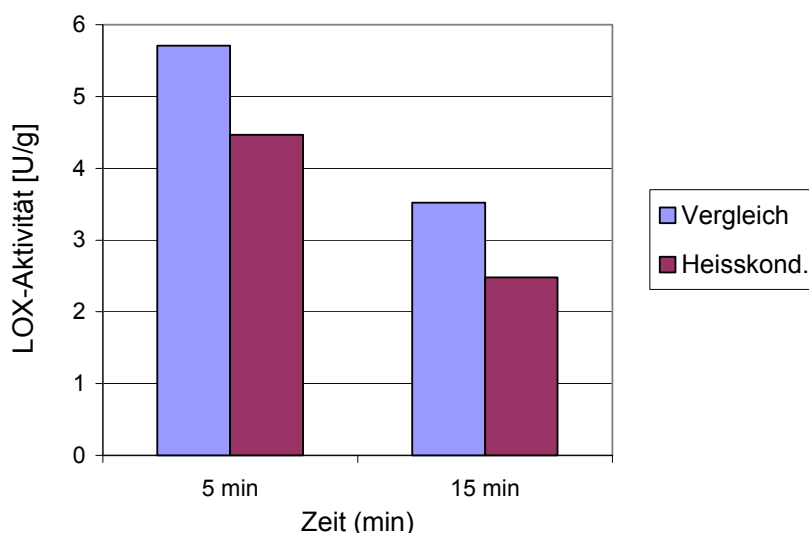
**Abbildung 21: Höhere ungesättigte Fettsäuren und deren Hydroperoxide in Maische: (A) Linolsäure (18:2) und Linolensäure (18:3); (B) Linolsäurehydroperoxide (HPOD) und Linolensäurehydroperoxide (HPOT), EE = Ende Einmischen, 20 min = 20 min nach EE**

#### 4.9.4. Einfluss der Heißkonditionierung von Malz auf die Bierqualität

Die Versuche mit Heißkonditionierung von Malz wurden in einer Brauerei durchgeführt, die über eine Nassschrotmühle mit Weichkonditionierung verfügt (Typ Variomill). Bei einer Gesamtschüttung von 7,7 Tonnen betrug die Dauer des Zerkleinerungs- und Einmischvorgangs durchschnittlich 22 Minuten. Für die Vergleichs-Untersuchungen wurden je sieben Sude mit einer Weichwassertemperatur von 80 °C und sieben Sude konventionell mit einer Weichwassertemperatur von 65 °C eingebraut. Die Temperatur der restlichen Hauptgussmenge wurde so angepasst, dass bei allen 14 Suden nach der Wasserzugabe eine einheitliche Einmischtemperatur von 58 °C erreicht wurde. Die sieben Würzen der Versuchs- und der Vergleichsude wurden in je einem Gärtank mit Erntehefe angestellt und separat bis zum fertigen Bier weitergeführt.

Für die Untersuchung der LOX-Aktivität beim Maischen konnte die erste Probe erst 5 min nach Ende des Einmischens genommen werden, da sich erst der kompakte Maischeteppich auf der Maischeoberfläche auflösen mußte. Innerhalb von 10 Minuten bei 58 °C war fast eine Halbierung der LOX-Aktivität der Maische festzustellen (Abbildung 22). Die LOX-Aktivität der aus den heißkonditionierten Malzen hergestellten Maischen lag von Anfang an niedriger als in den Vergleichsmaischen, und zwar um 22 % nach 5 Minuten und um fast 30 % nach Minuten.

Negative Folgen im Sudprozess aufgrund der geänderten Einmischtechnologie wie ungenügende Jodnormalität der Maische, verlängerte Läuterzeiten, Ausbeuteverluste oder andere Besonderheiten wurden nicht beobachtet.



**Abbildung 22: LOX-Aktivität in Maische nach Weichkonditionierung bei 65 °C bzw. 80 °C (Heißkonditionierung); Mittelwerte (n = 7)**

Die Würzeanalysen zeigten ein relativ einheitliches Bild der Würzezusammensetzung (Tabelle 9). Die gefundenen Differenzen zwischen Versuchs- und Vergleichsud lagen fast alle im Rahmen der Messgenauigkeit. Nur tendenziell konnte ein niedrigerer Anthozyanogehalt und auch ein niedrigerer  $\beta$ -Glucangehalt in den Würzen der Heißkonditionierung festgestellt werden. Auffallend in allen Würzen waren die etwas hohen photometrischen Jodwerte sowie die etwas niedrigen Endvergärungsgrade.

**Tabelle 9: Analysergebnisse der Kühlmittewürzen der Sude mit Weichkonditionierung bei 65 °C bzw. 80 °C (Heißkonditionierung); Mittelwerte (n = 7)**

		Ø Vergleich	Ø Heißkond.
Stammwürze	GG-%	12,4	12,4
pH		5,08	5,04
EVG	%	78,9	78,2
photom. Jodwert	$\Delta E_{578nm}$	0,79	0,76
lösl. N	mg/l	105	109
FAN	mg/l	228	228
Gesamtpolyphenole	mg/l	232	223
Anthozyanogene	mg/l	113	102
Viskosität	mPa*s	1,85	1,85
$\beta$ -Glucan	mg/l	280	241

Die bei den Würzearomastoffen gefundenen Unterschiede können ebenfalls als zu vernachlässigen angesehen werden (Tabellen A-12 und A-13). Etwas erhöht zeigten sich nur die Strecker-Aldehyde und das 2-Furfural in den Würzen aus der Heißkonditionierung. Die Indikatorsubstanzen des Fettabbaus ließen dagegen keine Unterschiede erkennen.

Die filtrierten Biere zeigten in der Bieranalyse, wenn überhaupt, dann nur sehr kleine Unterschiede in der Stammwürze, in der Farbe, im pH-Wert oder im Vergärungsgrad (Tabelle 10). Bei der Untersuchung der Schaumeigenschaften konnte eine nahezu gleiche Schaumhaltbarkeit nach Ross und Clark gemessen werden, während bei der Schaumbestimmung nach NIBEM das Versuchsbier aus heißkonditioniertem Malz etwas besser abschnitt. Die Verkostung der frischen Biere ließ weder bei der gewichteten Verkostungsnote noch in den einzelnen Prüfkriterien einen auffallenden Unterschied erkennen (Tabelle A-14). Bei der Alterungsverkostung nach *Eichhorn* erzielte das Versuchsbier aus heißkonditioniertem Malz bessere Noten als das Vergleichsbier (Tabelle A-15). Ein hierzu durchgeführter Dreieckstest (n = 10) ergab aber keinen statistisch abgesicherten Unterschied. Die Analyseergebnisse der Bieraromastoffe sowie der Alterungskomponenten der frischen und forciert gealterten Biere zeigten ebenfalls nur geringe Unterschiede (Tabellen A-15 und A-17).

**Tabelle 10: Analyseergebnisse der Biere mit Weichkonditionierung des Malzes bei 65 °C bzw. 80 °C**

		Vergleich	Heißkond.
Stammwürze	%	11,7	11,7
Farbe	EBC	9,5	9,4
pH		4,43	4,41
Vergärungsgrad,s	%	78,3	77,6
Differenz EVG-Vs	%	0,6	0,6
Schaum	R&C	115	114
Schaum	NIBEM	276	289
DLG-Verkostung		4,5	4,6
Alterungsverkostung		2,06	1,74

#### 4.9.5. Einfluss der Schrotlagerung auf den Geschmack und die Geschmacksstabilität von Bier

In einer Brauerei, bei der es aufgrund einer produktionstechnischen Störung zu einer überlangen Lagerung des Malzschrotes im Schrotrumpf von etwa zehn Tagen kam, war die seltene Gelegenheit gegeben, den Einfluss der Schrotlagerung auf die Bierqualität zu untersuchen. Das Einbrauen des gelagerten Schrotes sowie des Schrotes des Folgesudes, welches bereits eine Stunde nach der Schrotung eingemaischt werden konnte, erfolgten unter nahezu identischen Bedingungen (je 1,6 t Läuterbottichschrot). Die fertigen Biere wurden auf ihre endogene antioxidative Aktivität, die Bieraromastoffe und die Alterungskomponenten untersucht. Außerdem wurden die frischen und forciert gealterten Biere nach dem Verkostungsschema der DLG sowie nach dem Alterungsverkostungsschema beurteilt.

Die Untersuchungsergebnisse zur Beurteilung des Geschmacks und der Geschmacksstabilität der Biere sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Lag-Time-Werte wiesen keine signifikanten Unterschiede auf. Auch eine Auswertung der Ergebnisse der Bieraromastoffe und der Alterungskomponenten ließ nur geringe Differenzen erkennen. Die sensorischen Untersuchungsergebnisse ließen jedoch deutlichere Unterschiede erkennen. So zeigte das Bier des gelagerten Schrotens einen sehr viel rascheren Qualitätsabfall bei der Alterung als das Bier des frischen Schrotens. Die vollständigen Verkostungsergebnisse sind den Tabellen A-20 und A-21 zu entnehmen.

**Tabelle 11: Zusammengefasste Ergebnisse zur Untersuchung von Geschmack und Geschmacksstabilität des Bieres bei der Schrotlagerung**

		Schrot, 1 h gelagert		Schrot, 240 h gelagert	
		frisch	forciert	frisch	forciert
Lag-Time	min	42	-	36	-
Wärmeindikatoren	µg/l	73	146	85	143
Sauerstoffindikatoren	µg/l	27	39	23	34
Alterungskomponenten	µg/l	133	226	139	209
DLG-Verkostung		4,4	4,1	4,5	3,8
Alterungsverkostung		1,0	1,5	1,0	1,8
Akzeptanz	%	100	80	100	64

#### 4.9.6. Versuche zur Verbesserung der Geschmacksstabilität durch Variation der Einmischtemperatur und pH-Korrektur der Maische

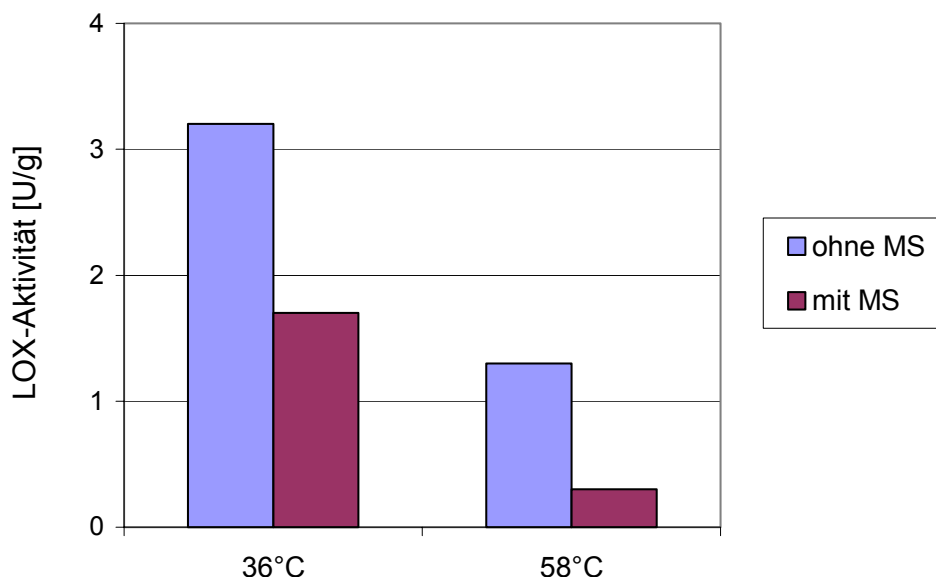
Die Versuche zur pH-Korrektur der Maische und Erhöhung der Einmischtemperatur wurden in einer kleinen mittelständischen Brauerei mit einem Jahresausstoß von 17.000 hl durchgeführt. Aufgrund einer veralteten Anlagentechnik kam es in vielen Prozessstufen der Bierbereitung zu einer starken Sauerstoffaufnahme. Ziel der Untersuchung war eine Verbesserung der Geschmacksstabilität der Hauptsorte Altbier durch eine Anpassung der Maischparameter.

Der Brauprozess gestaltete sich ursprünglich wie folgt: Die Gesamtschüttung von 600 kg Gerstenmalz, bestehend aus 1 % Farbmalz, 7 % Karamelmalz und 92 % Pilsener Malz, wurde mit einer Vierwalzenmühle geschrotet. Das Läuterbottichschrot fiel trocken von oben in die Wasservorlage der Maischbottichpfanne. Gemaischt wurde nach einem Dekoktionsverfahren (Einmischverfahren) mit einer Einmischtemperatur von 36 °C. Das Ziehen der Teilmaische erfolgte zu Beginn der 72 °C-Rast. Zum Abläutern der Würze wurde ein Läuterbottich mit offenem Läutergrant eingesetzt. Das Würzekochen erfolgte atmosphärisch in einer Würzpfanne mit direkter Befehung. Zur Hopfung wurde Naturhopfen eingesetzt (150 mg  $\alpha$ -Säure/l). Der Kochtrub und die Hopfentreber wurden im Läuterbottich abgetrennt. Nach

dem Kühlen auf etwa 18 °C (Plattenwärmetauscher) wurde die Würze belüftet und mit obergäriger Altbierhefe angestellt. Die Gärung im offenen Gärbottich dauerte 2 bis 3 Tage. Das Jungbier wurde mit Restextrakt und unter Zugabe von Buchenholzspänen in einen Lagertank geschlaucht. Nach ausreichend langer Reifungs- und Lagerzeit wurden die Kellerbiere mit einem Tankwagen in eine nahe gelegene Brauerei gebracht, dort filtriert und in Bügelverschlussflaschen abgefüllt.

Bei den Versuchen wurde zum einen die Einmischtemperatur von 36 °C auf 58 °C angehoben, zum anderen wurde der pH-Wert der Maische durch Zugabe von 5 % Sauermais abgesenkt. Außerdem wurde eine Kombination von Maischesäuerung und Anhebung der Einmischtemperatur gewählt.

Die LOX-Aktivität der Maische am Ende des Einmischens ist in Abbildung 23 dargestellt. Durch den Einsatz von Sauermais wurde der pH-Wert der Maische von etwa 5,8 auf 5,4 abgesenkt. Das führte schon einmal zu einer Halbierung der LOX-Aktivität der bei 36 °C eingemischten Maische. Auch die Erhöhung der Einmischtemperatur von 36 °C auf 58 °C war mit einem deutlichen Abfall der LOX-Aktivität verbunden. Aber erst die Kombination aus pH-Absenkung der Maische bei gleichzeitiger Anhebung der Einmischtemperatur führte zu einer fast vollständigen Inaktivierung von LOX zum Zeitpunkt der Probenahme am Ende des Einmischens.



**Abbildung 23: LOX-Aktivität der Maische am Ende des Einmischens; MS = Maischesäuerung**

Die Ergebnisse der Würzeuntersuchungen sind in Tabelle 12 zusammengestellt. Die pH-Absenkung der Maische führte zu einer deutlichen Zunahme des FAN-Gehaltes der Ausschlagwürze. Die Anhebung der Einmischtemperatur von 36 °C auf 58 °C ohne Sauermaiszugabe bewirkte dagegen eine abgeschwächte Freisetzung von FAN. Erst die

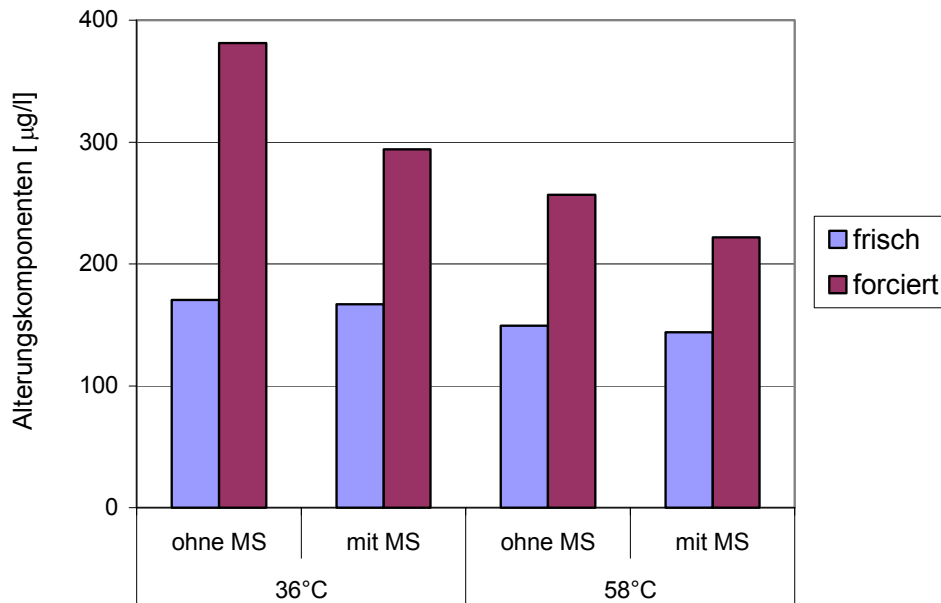
Kombination aus Säuerung und höherer Einmischtemperatur führte zu einem dem Vergleichssud vergleichbaren FAN-Gehalt. Der Anthozyanogengehalt der Ausschlagwürze nahm durch Maischesäuerung und Anhebung der Einmischtemperatur etwas zu. Der niedrigste Polymerisationsindex wurde in der Ausschlagwürze gefunden, die durch Maischesäuerung und Erhöhung der Einmischtemperatur auf 58 °C hergestellt wurde. Der Zinkgehalt nahm durch die Verwendung von Sauermalz deutlich zu.

**Tabelle 12: Zusammensetzung der Ausschlagwürzen der Versuche zur Maischesäuerung und Einmischtemperatur; MS = Maischesäuerung**

		36°C ohne MS	36°C mit MS	58°C ohne MS	58°C mit MS
Extrakt	GG-%	12,3	12,3	12,4	12,3
pH		5,51	5,10	5,48	5,10
FAN	mg/l	216	242	184	202
Gesamtpolyphenole	mg/l	265	261	232	258
Anthozyanogene	mg/l	76	78	68	89
Polymerisationsindex		3,49	3,35	3,41	2,90
Reduktionsvermögen	%	73,5	72,6	76,1	75,8
Zink	mg/l	0,16	0,32	0,19	0,24

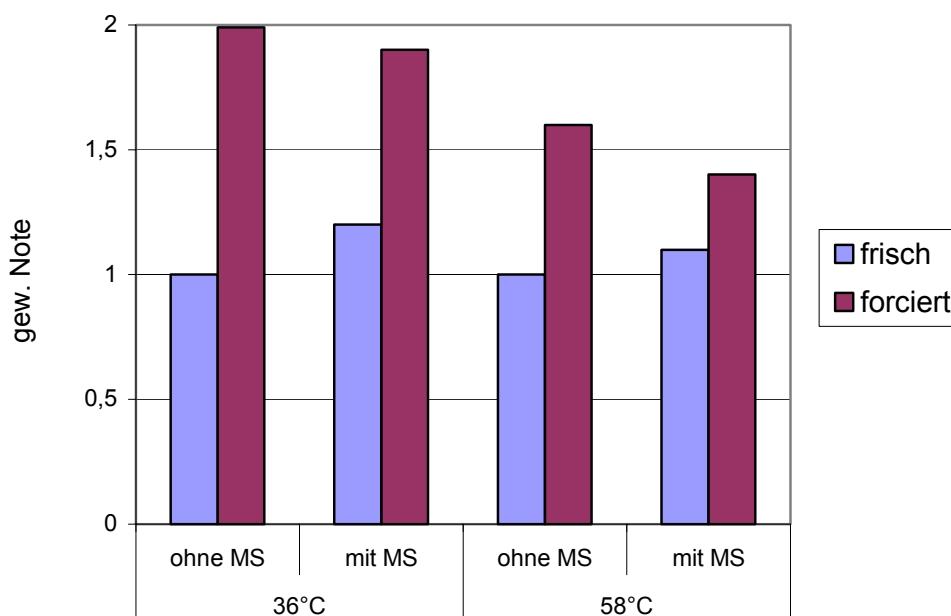
Die Summe der Alterungskomponenten der frischen und forciert gealterten Biere nahm durch die gewählten Versuchsbedingungen deutlich ab (Abbildung 24). Die Anhebung der Einmischtemperatur auf 58 °C ließ bereits in den frischen Biere ein niedrigeres Niveau an Alterungskomponenten erkennen. Die Zunahme der Alterungskomponenten bei der forcierten Alterung des Bieres fiel durch die Verwendung von Sauermalz viel geringer aus. Das Anheben der Einmischtemperatur auf 58 °C führte zu einer noch stärker abgeschwächten Zunahme, insbesondere beim 2-Furfural und beim 2-Phenylethanal (Tabelle A-22). Die Kombination aus Säuerung und höherer Einmischtemperatur brachte den geringsten Anstieg der Alterungskomponenten bei der forcierten Alterung des Bieres.

Das Ergebnis der Bierverskostung nach DLG ließ ebenfalls Vorteile für eine Maischesäuerung und die Anhebung der Einmischtemperatur erkennen. Die beste Bewertung erhielt allerdings das Bier, das mit einer Einmischtemperatur von 58 °C ohne Maischesäuerung eingebraut wurde (Tabelle A-23).



**Abbildung 24: Summe der Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere aus den Versuchen zur Maischesäuerung und Anhebung der Einmischtemperatur**

Das Ergebnis der Alterungsverkostung der Biere nach *Eichhorn* zeigte sowohl beim Bier mit Maischesäuerung als auch beim Versuchsbier mit Anhebung der Einmischtemperatur eine Verbesserung der Geschmacksstabilität (Abbildung 25). Die Vorteile durch die Anhebung der Einmischtemperatur waren deutlicher ausgeprägt als die durch Maischesäuerung. Die beste Geschmacksstabilität zeigte das Bier mit der Kombination aus Erhöhung der Einmischtemperatur und Maischesäuerung.



**Abbildung 25: Gewichtete Noten der Alterungsverkostung nach *Eichhorn* der frischen und forciert gealterten Biere; Versuche zur Maischesäuerung (MS) und Anhebung der Einmischtemperatur (Einzelwerte siehe Tabelle A-24)**

#### 4.10. BRAUVERSUCHE MIT ZUGABE VON LIPOXYGENASE ZUR MAISCHEN

Der Einfluss der LOX-Aktivität auf die Bildung von Würze- und Bieraromastoffen wurde in einem Brauversuch untersucht, bei dem durch Zugabe von Lipoxygenase (TYP 1-B aus Soja, Sigma) die LOX-Aktivität des Malzes annähernd verdreifacht wurde. Das verwendete helle Gerstenmalz besaß eine LOX-Aktivität von 8,6 U/g. Die LOX (103.000 Units) wurde in vorgelöster Form in das vorgeheizte Einmaischwasser (6 Liter) gegeben. Der weitere Brauprozess gestaltete sich wie unter 3.10 beschrieben. Als Maischverfahren wurde das Std-MV mit einer Einmaischtemperatur von 50 °C gewählt. Als Vergleich diente ein gleichbehandelter Sud ohne LOX-Zugabe (Nullsud). Die Brauversuche wurden jeweils doppelt durchgeführt.

Die Würzearomastoffe der Ausschlagwürzen mit und ohne Zugabe von LOX sind in Tabelle 13 zusammengestellt. Die auffälligsten Zunahmen durch die LOX-Zugabe zeigten Heptanal und Hexanol-1. Hexanal und 2-Pentanon nahmen nur leicht zu, während die Streckeraldehyde ein uneinheitliches Verhalten aufwiesen. So nahmen 2-Phenylethanal und Benzaldehyd durch die LOX-Zugabe leicht zu, die Konzentrationen von Methional, 3- und 2-Methylbutanal dagegen tendenziell ab.

**Tabelle 13: Würzearomastoffe ( $\mu\text{g/l}$ ) der Brauversuche mit und ohne Zugabe von LOX zur Maische (Ausschlagwürze)**

	Nullsud	mit LOX
3-me-Butanal	61	55
2-me-Butanal	27	24
Methional	38	32
2-Phenylethanal	250	268
Benzaldehyd	1,9	2,2
$\Sigma$ Streckeraldehyde	378	381
Pentanal	0,9	0,9
Hexanal	2,6	2,9
Heptanal	1,0	1,9
2-Pentanon	1,0	1,2
tr,2-cis,6-Nonadienal	0,9	1,0
Pentanol-1	3,3	3,6
Hexanol-1	3,1	4,2
Octanol-1	1,4	1,2
1-Octen-3-ol	1,9	1,8
2-Furfural	119	125



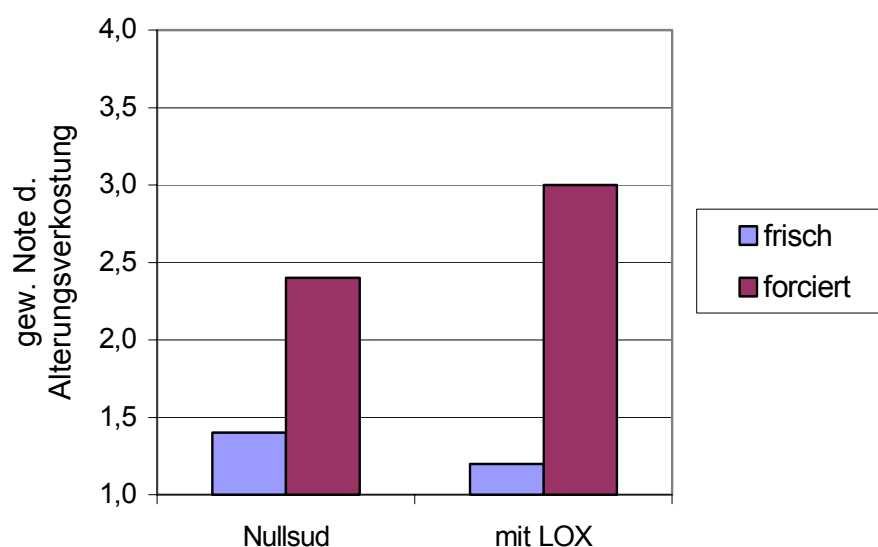
Die LOX-Zugabe beim Maischen ließ bei den Bieraromastoffen eine Zunahme einiger Indikatorsubstanzen des Fettabbaus erkennen. Erhöht gegenüber dem Nullbier zeigten sich insbesondere die Konzentrationen von Hexanol, Heptanol, Octanol, Decanol und 9-Decensäure (Tabelle 14).

**Tabelle 14: Bieraromastoffe der Brauversuche mit und ohne Zugabe von LOX zur Maische**

		Nullbier	LOX-Zugabe
Hexanol-1	µg/l	21,5	24,0
Heptanol-1	µg/l	16,5	24,5
Octanol-1	µg/l	17,0	20,5
Decanol-1	µg/l	8,4	9,9
9-Decensäure	mg/l	0,93	1,40

Bei den Alterungskomponenten der frischen Biere zeigten sich keine besonderen Auffälligkeiten. In den forciert gealterten Proben konnten dagegen leicht erhöhte Werte im Bier mit LOX-Zugabe gefunden werden. Die auffälligste Zunahme zeigte das  $\gamma$ -Nonalacton. Seine Zunahme gegenüber dem gleichbehandelten Nullbier betrug etwa 30 % (Tabelle A-25).

Die Verkostung der frischen Biere nach DLG brachte, wenn überhaupt, nur sehr kleine Unterschiede (Tabelle A-26). Aus den Ergebnissen der Alterungsverkostung nach *Eichhorn* konnte dagegen sehr wohl ein Einfluss der LOX-Zugabe auf die Geschmacksstabilität des Bieres abgeleitet werden (Abbildung 26). Denn bei dem Bier mit LOX-Zugabe war der Qualitätsabfall bei der Alterung deutlich stärker ausgeprägt als im Vergleichsbier, insbesondere beim Geruch und beim Trunk (Tabelle A-27).



**Abbildung 26: Gewichtete Note der Alterungsverkostung der frischen und forciert gealterten Biere mit und ohne Zugabe von LOX beim Maischen (n = 2)**

#### 4.11. MAISCHVERSUCHE MIT STEIGENDEM BLATTKEIMGEHALT IM LABORMAßSTAB

Der Einfluss des Blattkeims auf die Würzezusammensetzung wurde in Labormaischversuchen untersucht, bei denen der Malzschüttung aufgereinigtes, zerkleinertes Blattkeimmaterial (vgl. Abschnitt 3.1) in steigenden Anteilen zugegeben wurde. Die Würzen wurden nach dem Kongressmaisverfahren [214] hergestellt.

In einer ersten Versuchsreihe betrug die Blattkeimzugabe 0 %, 20 %, 40 % und 100 %. In Tabelle 15 sind die Analysenergebnisse der Würzen mit steigendem Blattkeimanteil zusammengestellt. Die Versuche wurden jeweils in Dreifachbestimmung durchgeführt.

**Tabelle 15: Würzeanalyse der Laborwürzen mit steigendem Blattkeimanteil; GM = Gerstenmalz,**

	100 % GM	80 % GM 20 % BK	60 % GM 40 % BK	100 % BK
Extrakt wfr. (%)	80,9	78,9	76,2	66,1
Verzuckerungszeit (min)	10	10-15	15-20	> 60
pH	5,86	5,92	5,99	6,19
Farbe (EBC)	5,0	5,0	5,5	6,5
FAN (mg/100g MTrS)	161	203	235	408
lösl-N (mg/l)	733	1025	1324	2043
Zink (mg/l)	0,19	0,46	0,95	2,20
$\beta$ -Glucan (mg/l)	180	165	119	< 10
Polyphenole (mg/l)	59	44	35	24
Anthozyanogene (mg/l)	28	21	16	5
Tannoide (mg/l)	30	28	14	8

Der wasserfreie Extrakt (bezogen auf die Gesamtschüttung) nahm mit steigendem Blattkeimanteil ab. Die Verzuckerung der Maische wurde durch die Blattkeimdosage merklich verlangsamt, die reine Blattkeimmaische war auch am Ende des Maischprozesses noch nicht jodnormal. Steigende Blattkeimanteile führten zu einem Anstieg des pH-Wertes und der Farbe der Kongresswürze. Am stärksten erhöhten sich der lösliche Stickstoff, der FAN- und der Zinkgehalt der Würzen, dagegen nahmen das hochmolekulare  $\beta$ -Glucan sowie die phenolischen Verbindungen (Gesamtpolyphenole, Anthozyanogene, Tannoide) mit steigendem Blattkeimanteil stetig ab. In der reinen Blattkeimwürze waren diese Substanzen in nur noch sehr geringer Konzentration nachzuweisen.

In einer zweiten Versuchsreihe, bei der die Blattkeimzugabe 5 %, 15 % und 100 % betrug, wurde der Gehalt der Würzen an vergärbaren Zuckern, an langkettigen Fettsäuren und an Aminosäuren untersucht.

Die Summe der vergärbaren Zucker nahm mit steigendem Blattkeimgehalt stetig ab, obwohl einzelne Zucker, wie Saccharose und Fructose, sogar eine Zunahme zeigten (Tabelle 16). Die deutlichsten Abnahmen fanden sich für die Maltose und die Maltotriose, deren Konzentrationen bei höheren Blattkeimanteilen (15 %) stärker abfiel als rechnerisch zu erwarten gewesen wäre. Ähnliches gilt auch für die Saccharose und tendenziell auch für die Fructose und Glucose. Die höheren Blattkeimanteile beeinträchtigen wahrscheinlich die enzymatischen Lösungsvorgänge.

**Tabelle 16: Zuckerzusammensetzung von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimgehalt; Konzentrationsangaben in GG-%; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte =  $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte =  $A * 0,85 + B * 0,15$**

	100 % GM (A)	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % BK (B)
Fructose	1,3	1,5 (1,5)	1,7 [1,8]	4,6
Glucose	6,7	6,7 (6,7)	6,0 [6,5]	5,5
Saccharose	2,4	2,6 (3,2)	3,2 [4,7]	17,5
Maltose	43,9	41,6 (41,9)	33,8 [37,8]	3,4
Maltotriose	13,7	12,0 (13,0)	7,9 [11,6]	0,1
Summe	68,0	64,4 (66,2)	52,6 [62,4]	31,1

Bei den höheren freien Fettsäuren konnte mit steigendem Blattkeimgehalt eine tendenzielle Zunahme des Gesamtfettsäuregehaltes der Würzen festgestellt werden (Tabelle 17). Ausgeprägte Zunahmen ließen sich bei der Myristinsäure sowie bei den ungesättigten Fettsäuren Ölsäure und Linolensäure feststellen. Linolsäure zeigte eine noch leichte Zunahme, während die Konzentration von Stearinsäure nahezu unverändert war. Palmitinsäure ließ dagegen eine Abnahme mit steigendem Blattkeimgehalt erkennen. Die gefundenen Zu- bzw. Abnahmen lagen alle nahe am rechnerischen Soll.

**Tabelle 17: Freie höhere Fettsäuren von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimgehalt; Konzentrationsangaben in mg/l; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte =  $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte =  $A * 0,85 + B * 0,15$**

		100 % GM (A)	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % BK (B)
Myristinsäure	14:0	0,10	0,16 (0,12)	0,16 [0,16]	0,53
Palmitinsäure	16:0	2,95	2,98 (2,92)	2,70 [2,87]	2,44
Stearinsäure	18:0	0,67	0,61 (0,67)	0,73 [0,67]	0,65
Ölsäure	18:1	0,08	0,12 (0,10)	0,13 [0,13]	0,39
Linolsäure	18:2	1,60	1,78 (1,63)	1,69 [1,68]	2,12
Linolensäure	18:3	0,19	0,15 (0,21)	0,24 [0,25]	0,61
Summe		5,59	5,80 (5,65)	5,65 [5,76]	6,74

Der Gesamtgehalt der Aminosäuren in den Würzen nahm erwartungsgemäß mit steigendem Blattkeimanteil zu, da er in der reinen Blattkeimwürze mehr als doppelt so hoch war wie in der reinen Gerstenmalzwürze (Tabelle 18). Werden aber die Konzentrationen jeder einzelnen Aminosäure der Würzen der Malz-Blattkeim-Mischungen mit den aus den Mischungsverhältnissen sich errechnenden Konzentrationen vergleichen, so ergibt sich folgendes Bild:

1. Bei fast allen Aminosäuren liegen die gemessenen Konzentrationen über denen, die sich aus den Mischungsverhältnis Malz- zu Blattkeimanteil in der Schüttung errechnen.
2. Bei einigen Aminosäuren (Glutamin, Tyrosin, Leucin und Lysin) liegen die gemessenen Konzentrationen in den Versuchswürzen höher als in den Würzen aus 100 % GM bzw. 100 % BK.
3. Die beiden Aminosäuren Glutaminsäure und  $\gamma$ -Aminobuttersäure verhalten sich bei niedrigem Blattkeimanteil in der Schüttung ähnlich wie die unter Punkt 1. Erst bei höherem Blattkeimanteil (15 %) unterschreiten sie das rechnerische Soll.
4. Asparagin erreicht schon bei niedrigem Blattkeimanteil in der Schüttung das rechnerische Soll nicht, der Fehlbetrag von etwa 15 % ist weitgehend unabhängig von der Höhe des Blattkeimanteils.
5. Die Summe der Aminosäuren liegt bei der Versuchswürze mit 5 % Blattkeimanteil um etwa 10 % über dem rechnerischen Soll und nur noch um etwas mehr als 3 % bei der Würze mit 15 % Blattkeimanteil in der Schüttung.

Erklärungen für diese unterschiedlichen Phänomene sollen hier, da sie mit dem Thema der vorliegenden Arbeit nichts oder nur am Rande zu tun haben, nicht zur Diskussion gestellt werden.

**Tabelle 18: Aminosäurenkonzentrationen von Laborwürzen mit steigendem Blattkeimanteil; Angaben in mg/l; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime; ( )-Werte =  $A * 0,95 + B * 0,05$ ; [ ]-Werte =  $A * 0,85 + B * 0,15$**

	100 % GM (A)	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % BK (B)
Asparaginsäure	66	81 (69)	79 [75]	128
Glutaminsäure	40	45 (46)	44 [57]	151
Asparagin	199	212 (244)	283 [334]	1102
Serin	52	55 (52)	56 [53]	58
Glutamin	157	169 (155)	190 [150]	112
Glycin	29	32 (30)	33 [32]	46
Histidin	75	93 (78)	94 [84]	134
Threonin	73	90 (77)	87 [84]	149
Alanin	46	44 (44)	52 [41]	11
Arginin	138	192 (151)	170 [178]	407
$\gamma$ -Aminobuttersäure	74	109 (82)	94 [99]	241
Tyrosin	70	74 (69)	82 [67]	49
Valin	76	91 (80)	92 [88]	153
Methionin	33	29 (32)	31 [30]	15
Tryptophan	33	36 (33)	38 [32]	29
Phenylalanin	95	122 (100)	117 [110]	197
Isoleucin	53	60 (54)	63 [55]	63
Leucin	92	94 (91)	105 [89]	71
Lysin	128	152 (128)	141 [128]	130
Summe	1529	1780 (1615)	1851 [1786]	3246

#### 4.12. ERGEBNISSE DER BRAUVERSUCHE IM HALBTECHNISCHEN MAßSTAB MIT STEIGENDEM BLATTKEIMGEHALT

Die Brauversuche im Kleinsudwerk des Lehrstuhls für Technologie der Brauerei I wurden wie in Abschnitt 3.10 beschrieben, mit einer Gesamtschüttung von 1,5 kg durchgeführt. Dabei wurden bis zu 15 % der Schüttung durch aufbereitetes, zerkleinertes Blattkeimmaterial ersetzt. Für die Versuche wurde zunächst ein gewöhnliches, bespelztes Braugerstenmalz ausgewählt. In einer zweiten Versuchsreihe wurde dann auch noch ein Nacktgerstenmalz (*Taiga*) verwendet, dem beim Malzpolieren die Blattkeimanlage nahezu vollständig abgetrennt werden konnte.

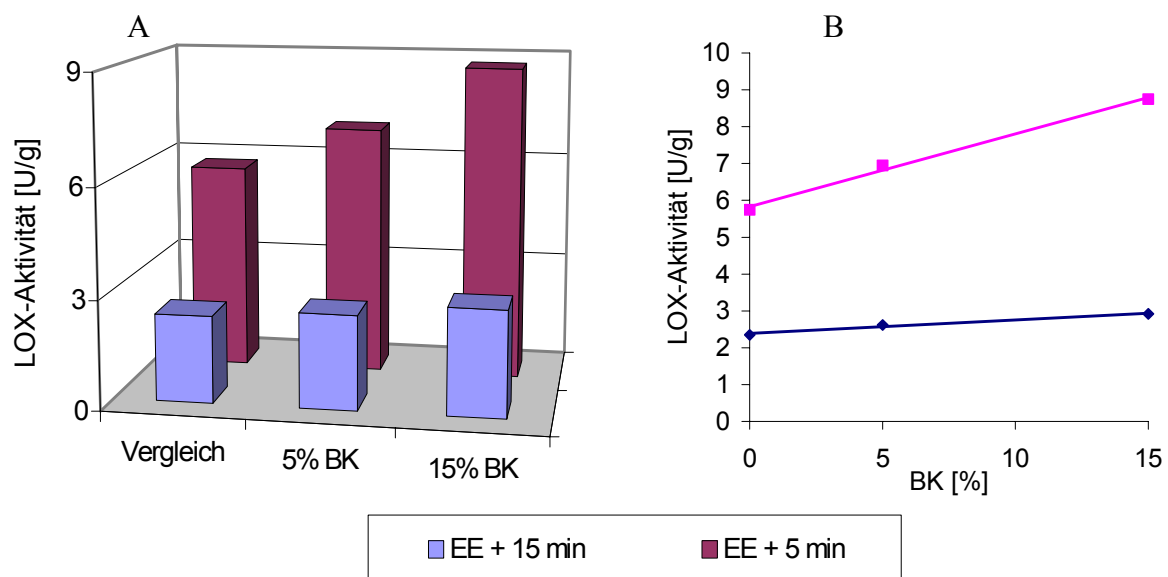
##### 4.12.1. Ergebnisse der Brauversuche mit bespelztem Gerstenmalz

Bei den Brauversuchen mit bespelztem Gerstenmalz wurde das aufgereinigte Blattkeimmaterial eines Steinauslesers (vgl. Abschnitt 3.1) verwendet. Gemaischt wurde nach dem im Abschnitt 3.10.1 beschriebenen Maischverfahren (Std-MV bzw. HK-MV). Darüber hinaus wurde in das Versuchsprogramm der Parameter Maische-pH aufgenommen. Die pH-

Absenkung wurde durch Zugabe von technischer Milchsäure erreicht. Alle Würzen wurden nach einem standardisierten Verfahren zu mittelstark gehopften, hellen Lagerbieren verarbeitet. Die Versuche wurden jeweils dreifach durchgeführt.

#### 4.12.1.1. Ergebnisse der Brauversuche mit dem Standard-Maischverfahren

Die LOX-Aktivität der nach dem Std-MV hergestellten Maischen nahm annähernd linear mit steigendem Blattkeimanteil in der Schüttung zu (Abbildung 27 A und B). Fünf Minuten nach Ende des Einmaischens bei 50 °C war in der Maische mit 5 % Blattkeimzugabe eine um etwa 1,2 U/g oder 21 % höhere LOX-Aktivität als in der Vergleichsmaische festzustellen. In der Maische mit einem Blattkeimanteil von 15 % betrug die Zunahme sogar 3,3 U/g oder 53 %. Nach weiteren zehn Minuten war die LOX-Aktivität der Maischen zwar deutlich reduziert, dennoch wurden in den Maischen mit Blattkeimzugabe immer noch höhere Werte als in der Vergleichsmaische gemessen. Der lineare Anstieg der LOX-Aktivität betrug allerdings nur noch knapp 0,2 U/g pro 5 % Blattkeimanteil in der Schüttung.



**Abbildung 27 A und B: LOX-Aktivität der Maischen der Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt in der Schüttung (Std-MV); EE = Einmaischende, BK = Blattkeime (n = 3)**

Während des Maischprozesses und der Würzengewinnung ließen sich keine besonderen Auffälligkeiten durch die Blattkeimzugabe registriert. Der Kochprozess verlief ebenfalls normal. Nur der höhere Heißtrubanfall in den Ausschlagwürzen der Blattkeimsude ist erwähnenswert.

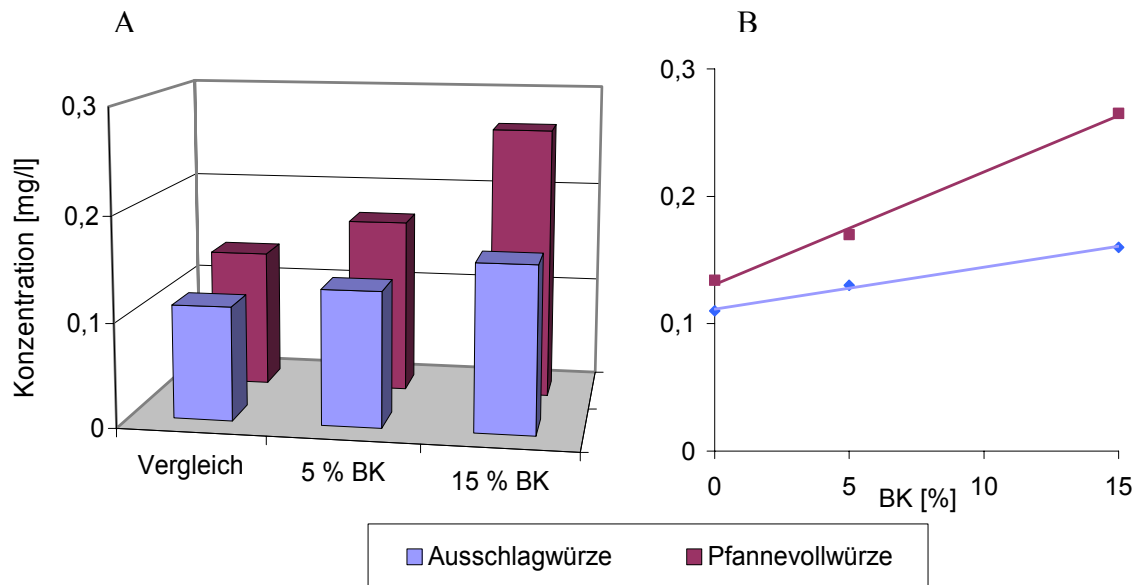
Die Ergebnisse der Pfannevoll- und der Ausschlagwürzeanalysen sind in nachstehender Tabelle 19 aufgeführt. Es überrascht nicht, dass sich die bereits in den Maischversuchen im Labormaßstab aufgezeigten Tendenzen in den Würzen der halbtechnischen Brauversuche wiederfinden, allerdings weniger stark ausgeprägt. So wurde eine leichte Abnahme des

Extraktgehaltes und des Endvergärungsgrades sowie eine leichte Zunahme des pH-Wertes und der Farbe mit steigendem Blattkeimgehalt beobachtet. Beim Würzekochen wurde zudem eine stärkere Farbzunahme gemessen. Auch der FAN-Gehalt und die Gehalte an löslichem und hochmolekularem Stickstoff ( $\text{MgSO}_4\text{-N}$ , koag. N) nahmen deutlich zu. Dagegen waren bei der TBZ als auch beim Gehalt an phenolischen Substanzen (Polyphenole und Anthozyanogene) keine Veränderungen durch die Blattkeimzugabe zur Schüttung zu beobachten.

**Tabelle 19: Pfannevoll- und Ausschlagwürzen der Brauversuche mit steigendem Blattkeimanteil im**

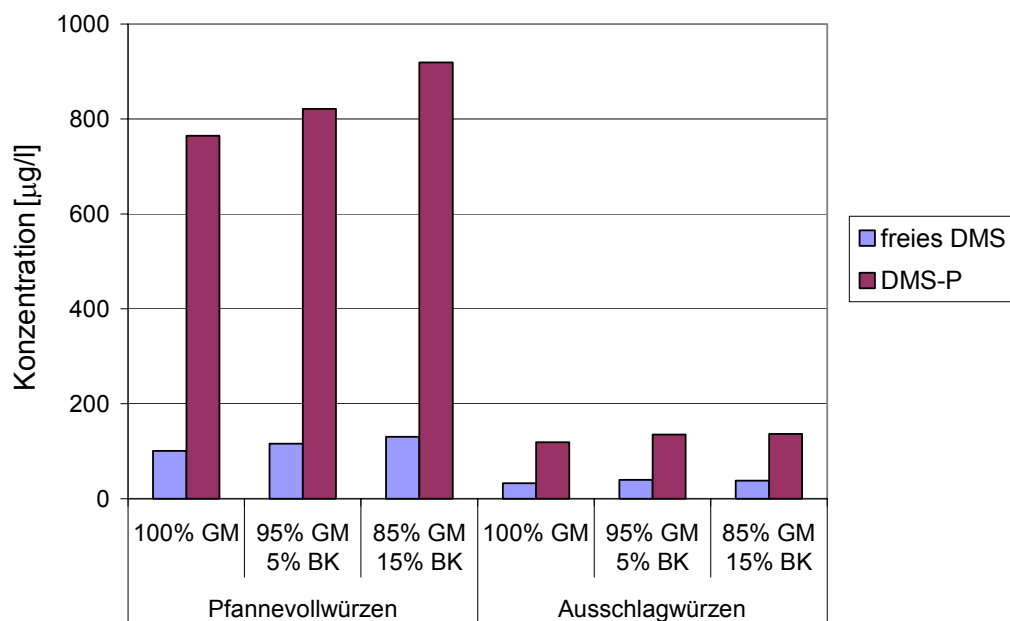
		Pfannevollwürzen			Ausschlagwürzen		
		100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK
Extraktgehalt	GG-%	10,25	10,13	10,06	11,48	11,31	11,35
EVG	%	n.b.	n.b.	n.b.	83,1	82,8	82,0
pH		5,79	5,83	5,87	5,69	5,72	5,76
Farbe (photom.)	EBC	6,6	6,8	6,9	9,1	9,5	10,2
FAN	mg/l	183	194	221	207	216	238
Gesamt-N	mg/l	1689	1760	1920	1141	1228	1345
$\text{MgSO}_4\text{-N}$	mg/l	n.b.	n.b.	n.b.	227	236	258
koag. N	mg/l	n.b.	n.b.	n.b.	17,2	19,8	21,0
TBZ		n.b.	n.b.	n.b.	34	34	33
$\beta$ -Glucan	mg/l	175	165	167	n.b.	n.b.	n.b.
Polyphenole	mg/l	122	120	116	n.b.	n.b.	n.b.
Anthozyanogene	mg/l	67	71	58	n.b.	n.b.	n.b.

Der Zinkgehalt der Pfannevollwürzen nahm annähernd linear mit steigendem Blattkeimanteil in der Schüttung zu, und zwar um 0,04 mg/l bei einem Blattkeimanteil von etwa 5 % bzw. um etwa 0,13 mg/l bei einem Blattkeimanteil von 15 % (Abbildung 28 A und B). Durch das Kochen der Würze kam es zwar zu einer verstärkten Ausscheidung des eingetragenen Zinks. Dennoch stieg der Zinkgehalt in der Ausschlagwürze annähernd linear mit Erhöhung des Blattkeimanteils in der Schüttung an, allerdings auf einem deutlich niedrigeren Niveau und mit einer Steigung der Geraden von nur noch 0,015 mg/l pro 5 % Blattkeimanteil in der Schüttung.



**Abbildung 28 A und B: Zinkgehalt der Pfannevoll- und Ausschlagwürzen der Brauversuche mit steigendem Blattkeimanteil im Kleinsudmaßstab (Std-MV); BK = Blattkeime (n = 3)**

Ein ähnliches Verhalten zeigte sich auch beim Gehalt der Würzen an freiem DMS und an DMS-P (Abbildung 29). Bei einer Zugabe von 5 % Blattkeimen zur Maische wurde ein um etwa 15 % höherer Gehalt an freiem DMS und ein um etwa 7 % höherer Gehalt an DMS-P in der Pfannevollwürze gefunden. Während des Würzekochens kam es zu einer weitgehenden thermischen Spaltung der Vorstufen und einer ausreichenden Ausdampfung des gebildeten freien DMS. In den Ausschlagwürzen wurde ein nahezu ausgeglichenes Niveau an DMS und DMS-P erreicht (Zahlenwerte siehe Tabelle A-31).

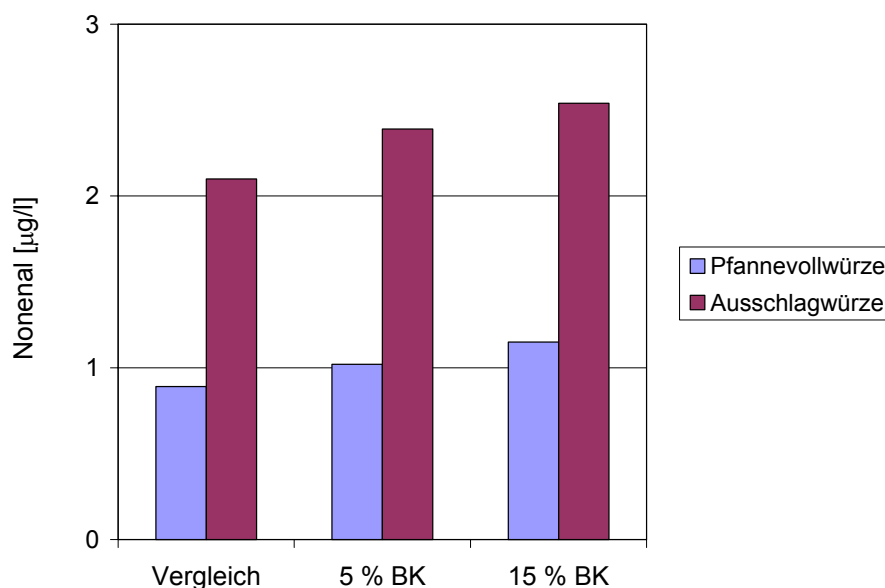


**Abbildung 29: Freies DMS und DMS-P in der Pfannevoll- und der Ausschlagwürze der Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimanteil (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeim (n = 3)**



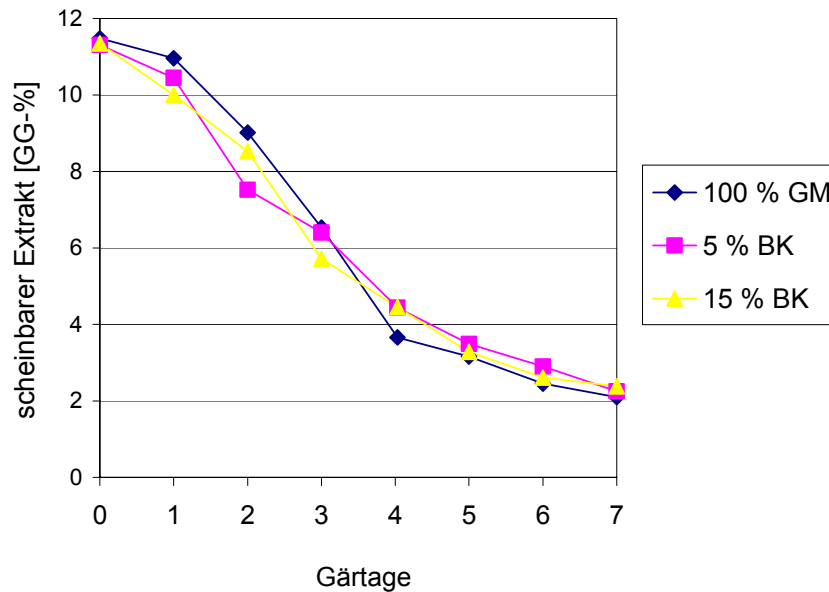
Die wichtigsten Aromastoffe der Ausschlagwürzen, die als Indikatoren für die thermische Belastung bei der Würzebereitung oder auch für die Effektivität der Ausdampfung beim Würzekochen sowie als Vorläufer alterungsrelevanter Aromastoffe des Bieres bedeutungsvoll sind, finden sich in Tabelle A-28. Durch die Blattkeimzugabe zeigten einige der Streckeraldehyde, insbesondere 2-Phenylethanal, und die Indikatoren des Fettabbaus wie Hexanal, Heptanal und Pentanol eine Zunahme. Auch die Konzentrationen an 2-Phenylethanol und an  $\gamma$ -Nonalacton nahmen durch die Blattkeimzugabe beträchtlich zu.

Das Nonenal-Potenzial der Pfannevoll- und der Ausschlagwürzen zeigte eine deutliche Zunahme mit steigendem Blattkeimgehalt, veranschaulicht in Abbildung 30. In der Pfannevollwürze mit 5 % Blattkeimzugabe beim Maischen wurde ein um etwa 14 % höheres Nonenal-Potenzial gegenüber der Pfannevollwürze des Vergleichssudes gemessen; die Erhöhung des Blattkeimanteils auf 15 % zur Schüttung führte sogar zu einer Zunahme um fast 30 %. Beim Würzekochen erfuhr das Nonenal-Potenzial dann nochmals eine deutliche Steigerung. Die Zunahmen von Pfannevoll- bis Ausschlagwürze betragen relativ einheitlich zwischen 220 und 237 %. Das Nonenal-Potenzial der Ausschlagwürzen wird also im Wesentlichen durch das Nonenal-Potenzial der Pfannevollwürzen vorbestimmt (Zahlenwerte siehe Tabelle A-31).



**Abbildung 30: Nonenal-Potenzial ( $\mu\text{g/l}$ ) der Pfannevoll- und der Ausschlagwürzen aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimgehalt; BK = Blattkeim ( $n = 2$ )**

Trotz des verbesserten Zink- und Aminosäurenangebotes der Hefe verlief die Gärung der Würzen mit dem 5 und dem 15 %-igen Blattkeimanteil in der Schüttung nicht schneller als die der Vergleichswürze (Abbildung 31). Tendenziell war zwar eine beschleunigte Angärung der Blattkeimwürzen festzustellen, im weiteren Verlauf der Hauptgärung war die Extraktabnahme aber beim Vergleichssud etwas schneller.



**Abbildung 31: Gärverlauf der Brauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt im Kleinsudmaßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2)**

Der Diacetylgehalt am Ende der Hauptgärung war in den Jungbieren mit Blattkeimzugabe gegenüber dem Nullversuch nur leicht erhöht (Tabelle 20, Auszug aus Tabelle A-31). Am Ende der Reifungsphase bei 16 °C über 72 Stunden sowie in den filtrierten, abgefüllten Bieren lagen die Diacetylwerte jedoch alle sehr dicht beieinander und deutlich unterhalb des sensorischen Schwellenwertes von 0,1 mg/l.

**Tabelle 20: Diacetylgehalt (mg/l) der Jungbiere am Ende der Hauptgärung (HG) und Reifung; Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2)**

	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK
Ende HG	0,17	0,24	0,22
Ende Reifung	0,06	0,08	0,07
abgef. Bier	0,06	0,07	0,06

Aus den Analysenwerten der aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil hergestellten Biere (Tabelle 21) lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen: Je höher der Blattkeimanteil in der Malzschüttung ist,

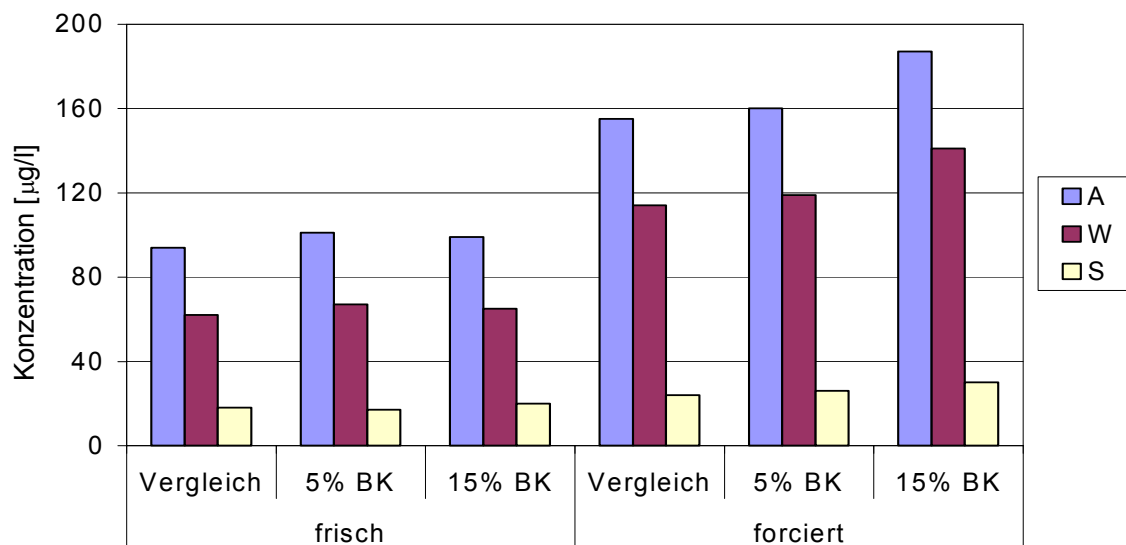
- um so niedriger der Vergärungsgrad,
- um so größer die Differenz zwischen Ausstoß- und Endvergärungsgrad,
- um so höher der pH-Wert,
- um so dunkler die Bierfarbe,

- um so höher der Gehalt an den Eiweißfraktionen Gesamt-N, FAN, koag. N und  $\text{MgSO}_4$ -fällbarem Stickstoff,
- um so niedriger die Warmtage nach dem Forciertest  $0^\circ/40^\circ/0^\circ$  und damit um so schlechter die kolloidale Stabilität,
- um so höher die Konzentrationen an höheren Alkoholen und mittelkettigen Fettsäuren (Tabelle A-29), auffälligste Zunahmen dabei beim 2-Phenylethanol, beim Heptanol und bei der 9-Decensäure,
- um so höher die Konzentration der Essigsäureester und Ethylester, ausgenommen Decensäure-Ethylester (Tabelle A-29).

**Tabelle 21: Analysenergebnisse der Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem**

		100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK
Stammwürze	GG-%	11,29	11,10	11,18
Vergärungsgrad,s	%	82,3	81,8	80,8
Differenz EVG-Vs	%	0,8	1,0	1,2
pH		4,52	4,56	4,63
Farbe (photom.)	EBC	6,7	6,9	7,2
FAN	mg/l	131	134	146
Gesamt N	mg/l	986	1020	1066
koag. N	mg/l	17,2	19,8	21,0
$\text{MgSO}_4$ -N	mg/l	133	142	159
Bittere	EBC	25	25	24
Schaum	R&C	123	128	127
Schaum	Nibem	278	287	291
Forciertest	WT	4,4	4,1	3,3

Die Alterungskomponenten der frischen und forciert gealterten Biere sind in Abbildung 32 dargestellt. Bei den frischen Bieren gab es noch keine auffälligen Unterschiede in den einzelnen als auch in der Summe der Alterungskomponenten. Erst bei den forciert gealterten Bieren traten deutliche Zunahmen beim 2-Phenylethanal, aber insbesondere bei den Wärmeindikatoren 2-Furfural und  $\gamma$ -Nonalacton mit steigendem Blattkeim auf (Tabelle A-30).



**Abbildung 32: Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil (Std-MV); BK = Blattkeime, A = Alterungskomponenten, W = Wärmeindikatoren, S = Sauerstoffindikatoren ( $n = 2$ )**

Die Verkostungsergebnisse der frischen und forciert gealterten Biere nach DLG sind in Tabelle 22 zusammengestellt. Danach nimmt die sensorische Qualität sowohl bei den frischen als auch bei den forciert gealterten Bieren mit steigendem Blattkeimanteil erkennbar ab. Bei den Prüfmerkmalen Geruch, Geschmack und Bittere wird diese Abnahme besonders deutlich. Die Unterschiede zum Vergleichsbier wurden von den Verkostern als „kernig“, „krautig“ und „bitter“ beschrieben. In zusätzlichen Dreiecksverkostungen der frisch abgefüllten Proben ließ sich jedoch nur zwischen dem Vergleichsbier und dem Bier mit 15 % Blattkeimzugabe ein signifikanter Unterschied ( $\alpha = 0,05$ ,  $n = 11$  geschulte Verkoster) herausarbeiten.

**Tabelle 22: DLG-Verkostung der frischen und forciert gealterten Biere aus den**

	frisch			forciert		
	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK
Geruch	4,6	4,4	3,7	4,1	4,0	3,2
Geschmack	4,4	4,2	3,9	4,0	4,0	3,5
Vollmundigkeit	4,5	4,4	3,8	4,2	4,2	3,8
Rezenz	4,4	4,4	4,0	4,2	4,3	4,0
Bittere	4,6	4,4	3,4	3,8	3,9	3,4
gewichtete Note n. DLG	4,51	4,34	3,73	4,03	4,04	3,50

Die Ergebnisse der ebenfalls durchgeführten Alterungsverkostung nach *Eichhorn* sind in Tabelle 23 zusammengefasst. Bereits bei den frischen Bieren haben die Prüfer einen leichten Alterungsgeschmack bei dem Bier mit einem Blattkeimanteil von 15 % herausgefunden. Ein deutlich stärkerer negativer Einfluss auf den Alterungsgeschmack wurde jedoch erst bei den Bieren aus den Brauversuchen mit Blattkeimzugaben nach einer forcierten Alterung wahrgenommen. Dabei lagen die auffälligsten Unterschiede bei der Wahrnehmung des Alterungsgeschmacks eindeutig im Geruch der Biere. Die schlechtere Geschmacksstabilität der Blattkeimbieren wird aber auch durch die stärkere Abnahme der Akzeptanz zwischen frischer und forciert gealterter Probe dokumentiert.

**Tabelle 23: Alterungsverkostung der frischen und forciert gealterten Biere aus den Kleinbrauversuchen mit steigendem Blattkeimanteil; GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime,**

	frisch			forciert		
	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK	100 % GM	95 % GM 5 % BK	85 % GM 15 % BK
Geruch	1,1	1,1	1,3	1,8	2,0	2,6
Trunk	1,1	1,1	1,2	1,9	2,0	2,4
Bittere	1,0	1,1	1,1	1,9	1,9	2,4
Akzeptanz (%)	92	90	86	76	72	54
gewichtete Note	1,08	1,10	1,22	1,86	1,98	2,48
$\Delta$ Akzeptanz (%)				16	18	32

#### 4.12.2. Ergebnisse der Brauversuche mit dem Hochkurz-Maischverfahren

Die folgende Versuchsreihe verfolgte das ehrgeizige Ziel, den negativen Einfluss des Blattkeims auf die Bierqualität durch technologische Maßnahmen auszugleichen oder zumindest deutlich einzuschränken. Da alle enzymatischen Prozesse, also auch die von LOX gesteuerten, stark temperaturabhängig sind, war es naheliegend, die Schädigung der LOX-Aktivität so früh wie möglich, in den folgenden Kleinbrauversuchen durch eine deutliche Anhebung der Einmischtemperatur gegenüber den 50 °C beim STD-MV, zu erreichen. Das für die Versuchsreihe gewählte Hochkurzmaischverfahren (HK-MV) mit seiner Einmischtemperatur von 62 °C ist in Abschnitt 3.10.1 genauer beschrieben.

In Tabelle 24 sind die Ergebnisse dieser Kleinbrauversuche, wieder mit steigenden Blattkeimanteilen in der Malzschüttung als Doppelversuche durchgeführt, zusammengefasst. Das HK-MV führte schon innerhalb der ersten 15 Minuten zu einer raschen und nahezu vollständigen Inaktivierung von LOX.

Werden die Ergebnisse der Brauversuche mit dem HK-MV in Tabelle 24 und die mit dem Sdt-MV in Tabelle A-31 einander gegenübergestellt, so wird die Annahme bestätigt, dass

durch die höhere Einmaischtemperatur beim HK-MV die negativen Auswirkungen von Blattkeimen in der Maische auf die Zusammensetzung der Würze und des Bieres zwar nicht beseitigt, aber doch deutlich reduziert werden können. Außerdem zeigten die mit Blattkeimzugaben nach dem HK-MV hergestellten, frisch abgefüllten Biere eine höhere sensorische Qualität als die Biere des Std-MV, erreichten aber nicht ganz das Niveau des Vergleichsbiers. Auch der negative Einfluss des Blattkeims auf die Geschmacksstabilität war bei den nach HK-MV hergestellten Bieren weniger stark ausgeprägt als bei den vergleichbaren Bieren des Std-MV. Im Übrigen gilt, dass bei nahezu allen Analysenmerkmalen in Würze und Bier, in denen sich durch die Blattkeimzugabe zur Maische bei den Brauversuchen nach Std-MV Veränderungen zum positiven oder zum negativen ergeben haben, auch gleichgerichtete Veränderungen, meist in abgeschwächter Form, bei den Brauversuchen nach HK-MV, etwa beim DMS/DMS-P und dem pH-Wert in der Pfannevollwürze, dem EVG, dem Nonenal-Potenzial oder dem Zinkgehalt in der Ausschlagwürze, der Schaumhaltbarkeit, dem pH-Wert, der Farbe oder den Stickstofffraktionen FAN, MgSO<sub>4</sub>-N und Gesamt-N im Bier, gezeigt haben.

**Tabelle 24: Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (HK-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2)**

			100 % GM	5 % BK 95 % GM	15 % BK 85 % GM
Maische	pH (Abmaischen)		5,74	5,73	5,77
	LOX-Aktivität (5 min)	U/g	2,6	2,5	3,5
	LOX-Aktivität (15 min)	U/g	0,1	0,1	0,1
Pfannevollwürze	Extrakt	GG-%	9,99	9,97	9,89
	pH		5,76	5,75	5,79
	Farbe (photom.)	EBC	6,2	6,1	6,0
Ausschlagwürze	Extrakt	GG-%	11,28	11,33	11,25
	DMS/DMS-P	µg/l	38 / 125	40 / 120	42 / 133
	pH		5,64	5,65	5,67
	Farbe (photom.)	EBC	8,8	8,9	9,4
	FAN	mg/l	177	183	182
	koag. N	mg/l	16,2	15,4	18,4
	TBZ		31	32	32
	EVG	%	82,9	82,7	82,5
	Nonenal-Potenzial	µg/l	1,42	1,54	1,68
Zink	mg/l	0,11	0,12	0,15	
Gärung	Diacetyl (Ende HG)	mg/l	0,18	0,18	0,22
	Diacetyl (Ende Reifung)	mg/l	0,10	0,09	0,11
Bier	Schaum n. R&C		130	132	133
	Vergärungsgrad, s	%	82,1	81,9	81,6
	pH		4,56	4,57	4,60
	Farbe (photom.)	EBC	6,4	6,3	6,5
	Diacetyl	mg/l	0,06	0,07	0,09
	FAN	mg/l	117	116	125
	MgSO <sub>4</sub> -N	mg/l	143	146	155
	Gesamt N	mg/l	1012	1035	1062
	Verkostung n. DLG		4,6	4,6	4,3
Alterungsverkostung		1,6	1,9	2,0	

#### 4.12.3. Ergebnisse der Brauversuche mit Maischesäuerung

Der zweite Parameter, der die Aktivität der Enzyme hemmen oder auch verstärken kann, ist der pH-Wert des Substrats. In der folgenden Versuchsreihe wurde deshalb versucht, den Einfluss des Blattkeims, insbesondere aber den negativen Einfluss der durch die Blattkeime in die Maische eingetragenen LOX, auf die Bierqualität durch Absenkung des pH-Wertes der Maische abzuschwächen. Durch Zugabe einer 2 %-igen Milchsäure wurde die Maische zu Beginn des STD-MV auf einen pH-Wert von etwa 5,3 eingestellt (n = 2).

Mit steigendem Blattkeimgehalt nahm die LOX-Aktivität in der Maische zwar ähnlich wie auch in den vorangegangenen Versuchsreihen, siehe Tabelle 24, zu. Die Steigerungen waren aber weniger deutlich als in der ungesäuerten Maische des Std-MV (vgl. Tabelle A-31). Der Einfluss des Blattkeims auf die Würzequalität war bezüglich Extraktgehalt, Farbe, pH-Wert, TBZ und EVG vernachlässigbar klein. FAN- und Zinkgehalt stiegen in den Ausschlagwürzen linear mit steigendem Blattkeimgehalt in der Maische an. Aber auch bei den Analysenkriterien koagulierbarer Stickstoff und Nonenal-Potenzial in der Ausschlagwürze, Diacetyl im Jungbier und im abgefüllten Bier sowie FAN, MgSO<sub>4</sub>-N und Gesamt-N im abgefüllten Bier waren mitunter kräftige Konzentrationszunahmen mit steigendem Blattkeimgehalt zu verzeichnen. Das Nonenal-Potenzial und der Zink-Gehalt lagen in den Ausschlagwürzen durch die Blattkeimzugabe zur Maische sogar höher als in der Versuchsreihe mit dem HK-MV. Die Schaumhaltbarkeit der Biere konnte durch Maischesäuerung bei gleichzeitiger Blattkeimzugabe nicht verbessert werden. Bei den Verkostungen der Biere wurde zwar eine Qualitätsverbesserung durch die Maischesäuerung herausgearbeitet, die Zugabe von Blattkeimen zum Einmaischen war aber auch hier wie bei den vorangegangenen Sudreihen nachteilig für den Geschmack und die Geschmacksstabilität des Bieres.

**Tabelle 25: Kleinbrauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV mit Maischesäuerung); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2)**

			100 % GM	5 % BK 95 % GM	15 % BK 85 % GM
Maische	pH (Abmaischen)		5,36	5,38	5,40
	LOX-Aktivität (5 min)	U/g	3,9	4,3	6,2
	LOX-Aktivität (15 min)	U/g	2,2	2,2	3,6
Pfannevollwürze	Extrakt	GG-%	10,02	9,90	9,92
	pH		5,54	5,52	5,56
	Farbe (photom.)	EBC	5,9	6,0	6,0
Ausschlagwürze	Extrakt	GG-%	11,49	11,57	11,37
	DMS/DMS-P	µg/l	33 / 148	41 / 139	39 / 161
	pH		5,37	5,35	5,42
	Farbe (photom.)	EBC	9,0	8,9	9,2
	FAN	mg/l	213	229	258
	koag. N	mg/l	14,8	15,6	16,9
	TBZ		40	40	42
	EVG	%	83,9	83,8	83,6
	Nonenal-Potenzial	µg/l	1,69	1,85	1,94
	Zink	mg/l	0,14	0,16	0,20
Gärung	Diacetyl (Ende HG)	mg/l	0,22	0,20	0,19
	Diacetyl (Ende Reifung)	mg/l	0,10	0,13	0,16
Bier	Schaum n. R&C		122	126	120
	Vergärungsgrad,s	%	83,5	83,2	82,5
	pH		4,53	4,52	4,61
	Farbe (photom.)	EBC	7,1	7,1	7,2
	Diacetyl	mg/l	0,09	0,10	0,12
	FAN	mg/l	137	139	154
	MgSO <sub>4</sub> -N	mg/l	117	129	125
	Gesamt N	mg/l	1187	1241	1346
	Verkostung n. DLG		4,5	4,4	4,1
	Alterungsverkostung		1,8	1,9	2,3

#### 4.13. EINFLUSS VON NACKTGERSTENMALZ MIT STEIGENDEM BLATTKEIMGEGHALT AUF DIE WÜRZE- UND BIERQUALITÄT

Bei den Brauversuchen mit vermälzter Nacktgerste (*Taiga*) war es möglich, mit einem nahezu blattkeimfreien Malz zu arbeiten. Die in steigenden Anteilen der Maische zugegebenen Blattkeime wurden nach dem in Abschnitt 3.1 beschriebenen Malzkeim-Aufbereitungsverfahren gewonnen. Das für die Versuche gewählte Std-MV und die weiteren Verfahrensschritte zur Herstellung der Biere sind im Detail im Abschnitt 3.10 beschrieben.

Für die Maischen, Würzen und Biere konnten die bereits gefundenen Tendenzen, wie z.B. Zunahmen von LOX-Aktivität, pH-Wert, Farbe, Zinkgehalt und löslichem Stickstoff durch Blattkeimzugabe, bestätigt werden (Tabelle 26). Die Verwendung von Nacktgerstenmalz war mit einer schlechteren Schaumhaltbarkeit der Biere verbunden, die sich auch durch hohe



Blattkeimgaben nur wenig verbessern ließ. Zudem wurde die sensorische Qualität der Biere schlechter bewertet als bei den Versuchen mit dem Braugerstenmalz. Dennoch wurde das Bier mit 5 %-iger Blattkeimzugabe bei der Verkostung nach DLG etwas besser bewertet als das Bier, das aus blattkeimfreier Nacktgerste hergestellt wurde. Die Alterungsverkostung ließ auch hier einen Qualitätsabfall mit steigendem Blattkeimanteil erkennen.

**Tabelle 26: Kleinbrauversuche mit Nacktgerstenmalz und steigendem Blattkeimgehalt (Std-MV); NGM = Nacktgerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2)**

			100 % NGM	5 % BK 95 % NGM	15 % BK 85 % NGM
Maische	pH (Abmaischen)		5,82	5,83	5,86
	LOX-Aktivität (5 min)	U/g	4,9	5,6	7,0
	LOX-Aktivität (15 min)	U/g	3,5	3,6	4,7
Pfannevollwürze	Extrakt	GG-%	10,46	10,34	10,35
	pH		5,89	5,87	5,91
	Farbe (photom.)	EBC	5,8	5,9	5,8
Ausschlagwürze	Extrakt	GG-%	11,52	11,40	11,29
	DMS/DMS-P	µg/l	41 / 143	37 / 152	55 / 172
	pH		5,77	5,80	5,79
	Farbe (photom.)	EBC	7,9	8,1	8,4
	FAN	mg/l	231	242	258
	koag. N	mg/l	17,4	17,2	18,9
	TBZ		28	26	27
	EVG	%	83,9	84,0	83,5
	Zink	mg/l	0,11	0,11	0,14
Gärung	Diacetyl (Ende HG)	mg/l	0,31	0,25	0,28
	Diacetyl (Ende Reifung)	mg/l	0,16	0,18	0,20
Bier	Schaum n. R&C		112	116	113
	Vergärungsgrad,s	%	83,1	83,0	82,4
	pH		4,64	4,68	4,73
	Farbe (photom.)	EBC	6,2	6,2	6,4
	Diacetyl	mg/l	0,12	0,15	0,16
	FAN	mg/l	148	146	159
	MgSO <sub>4</sub> -N	mg/l	125	122	142
	Gesamt N	mg/l	1216	1201	1293
	Verkostung n. DLG		3,9	4,0	3,5
	Alterungsverkostung		2,1	2,3	3,0

## 5 Diskussion der Ergebnisse

### 5.1. DER BLATTKEIM VON GERSTENMALZ IM MÄLZUNGS- UND BRAUPROZESS

Das Wachstum der Keimlingsanlagen während des Keimens der Gerste steht in einem engen Zusammenhang mit der Entstehung von Enzymen und den Auflösungsvorgängen im Korn. Während die eiweißreichen, bitteren und zufärbend wirkenden Wurzelkeime problemlos nach dem Darren entfernt werden können, ist eine Abtrennung des Blattkeims, der bei normalen Auflösungsvorgängen vollständig von der Rückenspelze umhüllt wird, nur mit großem verfahrenstechnischem Aufwand und beträchtlichen Extraktverlusten möglich [9].

Der Blattkeim von Gerstenmalz ist reich an Lipiden und lipidabbauenden Enzymen [68,74,86,88]. Dem Lipidabbau kommt im Brauprozess eine große Bedeutung zu, da entstehende Folgeprodukte den Geschmack, die Geschmacksstabilität und die Schaumhaltbarkeit von Bier negativ beeinflussen [4,77,91,93]. Maßgeblich beteiligt am enzymatischen Lipidabbau sind die Lipoxygenasen (LOX). Die physiologische Bedeutung von LOX wird mit der Biosynthese von Stresshormonen und der Wundheilung von Pflanzen in Zusammenhang gebracht. Die Synthese von LOX und der enzymatische Lipidabbau können durch die Keimungsbedingungen nur in engen Grenzen beeinflusst werden. Das Abdarren des Malzes führt zu einer teilweisen bis vollständigen Inaktivierung von LOX. Bei der Herstellung von hellem Gerstenmalz ist jedoch eine vollständige Inaktivierung der LOX-Aktivität bei den heutigen enzymstarken Sorten nicht zu erreichen [61,81,86,89,106].

Für den Brauprozess wurde mehrfach berichtet, dass Maßnahmen, die zu einer Minimierung des oxidativen Lipidabbaus führen, mit Vorteilen für die Bierqualität verbunden sind. Entscheidend für die Menge an Abbauprodukten im fertigen Bier sind die Lösungs- und Abbauvorgänge beim Maischen sowie die Ausscheidungsvorgänge in den nachgeschalteten Prozessstufen. Eine wirksame Abschwächung des oxidativen Lipidabbaus kann bekanntlich durch eine Erhöhung der Einmischtemperatur, das Absenken des pH-Wertes beim Maischen, eine sauerstoffarme Arbeitsweise im Sudhaus sowie durch Rohstoffe mit einem hohen Gehalt an Antioxidantien erreicht werden [11,192]. Weiterhin wird das In-Lösung gehen von LOX und von Lipidabbauprodukten durch die Schrotfeinheit beeinflusst. Ein gröberes Schrot sowie eine Schonung des Blattkeims bei der Schrotung sollen nach *Lustig et al.* [10] sowie nach *Yasui et al.* [188] die Geschmacksstabilität von Bier verbessern.

In allen bisher publizierten Arbeiten wird immer nur die Vermutung geäußert, dass der Blattkeim von Gerstenmalz einen negativen Einfluss auf die Bierqualität hat. Die durchgeführten Untersuchungen haben daher die Aufgabe gehabt, diesen vermuteten Einfluss zu klären, zu beweisen und Möglichkeiten aufzuzeigen, die durch die Blattkeime des Malzes verursachten Qualitätsbeeinträchtigungen durch technologische Maßnahmen zu kompensieren.

## 5.2. ZUSAMMENSETZUNG DES BLATTKEIMS

Die Untersuchungen wurden mit Blattkeimen vorgenommen, die nach dem in Abschnitt 3.1 beschriebenen Verfahren aus dem Siebdurchgang eines Steinauslesers gewonnen wurden. Lediglich bei den Versuchen mit Nacktgerstenmalz wurde auf die malzeigene Blattkeimfraktion zurückgegriffen, die beim Malzpolieren abgetrennt und durch mehrere Siebpassagen aufgereinigt wurde. Die nahezu reinen Blattkeime wurden zum einen separat untersucht, zum anderen in einer Reihe von Brauversuchen in steigenden Anteilen zur Malzschüttung sowohl im Labor- als auch im Pilotmaßstab.

Der Blattkeimanteil des untersuchten, durchschnittlich gelösten Gerstenmalzes betrug etwa 5 %. Sein Extraktgehalt lag bei etwa 68 % und damit nur wenig höher als der Extraktgehalt einer gut ausgemahlten Spelzenfraktion. Der Eiweißgehalt des Blattkeims variierte zwischen 26 und 29 % und lag damit gegenüber dem Ausgangsmalz mehr als doppelt so hoch. Bei nur etwas geringerer Kolbachzahl gegenüber dem Ausgangsmalz müssten etwa 11 % des löslichen Stickstoffs einer Gerstenmalzwürze aus dem Blattkeim stammen. Außerdem besaß die Blattkeimfraktion einen erhöhten Gehalt an Lipiden und lipidabbauenden Enzymen. In einem frisch abgedarrten Nacktgerstenmalz, und nur bei einem solchen ist eine exakte Auftrennung in Blattkeimfraktion und Restkorn möglich, war etwa ein Drittel der gesamten LOX-Aktivität des Malzes im Blattkeim zu finden. Beim Zink- und beim DMS-P-Gehalt des Blattkeims lagen die Werte für die Blattkeimfraktion um den Faktor 3-4 höher als für das Ausgangsmalz. Im Kaltwasserauszug der Blattkeimfraktion war die Summe an oxidationsfähigen ungesättigten Fettsäuren um fast 70 % höher als im Kaltwasserauszug des Ausgangsmalzes (7,34 gegenüber 4,40 mg/l (Abbildung 2)). Die Summe der vergärbaren Zucker war in der Blattkeimwürze deutlich niedriger als in der Malzwürze. Fructose und Saccharose zeigten dagegen eine Zunahme mit steigendem Blattkeimgehalt (Tabelle 16). Der Gehalt an phenolischen Substanzen (Gesamtpolyphenole, Anthozyanogene, Tannoiide) und an  $\beta$ -Glucan war dagegen deutlich niedriger als im Ausgangsmalz (Tabelle 15).

## 5.3. OXIDATIVER LIPIDABBAU IM BRAUPROZESS

### 5.3.1. Bestimmungsmethoden zur Beurteilung des oxidativen Lipidabbaus

Eine qualitative und quantitative Aussage über den oxidativen Lipidabbau im Brauprozess war erst durch die im Rahmen dieser Untersuchung eingeführten Methode zur Bestimmung der LOX-Aktivität, ergänzt um die bereits existierenden Methoden zur Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide, der höheren Fettsäuren und des Nonenal-Potenzials, möglich. Zusätzlich wurden auch die Indikatorsubstanzen des Fettabbaus, wie das Pentanal, das Hexanal und das  $\gamma$ -Nonalacton, in den verschiedenen Würzen und Bieren ins Untersuchungsprogramm aufgenommen.

Für die Bestimmung der LOX-Aktivität wurde die bereits 1964 publizierte Methode von *Surrey* [212] modifiziert. Um eine gute Linearität der LOX-Aktivität zur gemessenen Extinktion bei der photometrischen Aktivitätsmessung zu erhalten, mussten die Rohextrakte zunächst gelchromatographisch aufgereinigt werden (vgl. Abschnitt 3.2.1). Durch diese gelchromatographische Auftrennung in Fraktionen unterschiedlicher Molekülgröße wurde es auch möglich, neben der LOX-Fraktion, die etwa 90 % der LOX-Aktivität (LOX 1 und LOX 2) enthielt, weitere Fraktionen mit lipidabbauenden Eigenschaften aufzuspüren. Gefunden wurde auch eine Fraktion mit HPOD-abbauender Aktivität, die im gelchromatographischen Lauf vor LOX eluiert wurde, und daher ein höheres Molekulargewicht als LOX (90 kDa [87]) besitzt. Da eine Hitzebehandlung dieser aus dem Malz isolierten Fraktion (2 Minuten bei 100 °C) zu einer nahezu vollständigen Inaktivierung führte, war die Bestätigung für das vermutete Vorhandensein eines HPOD-abbauenden Enzymsystems in Malz gefunden. In mehreren Fraktionen, die nach LOX eluiert wurden (< 90 kDa), konnten Substanzen nachgewiesen werden, die bei Zugabe in einem LOX-Ansatz zu einer deutlichen Abschwächung der LOX-Reaktion führten. Die Enzymhemmung durch diese Inhibitoren war auch dann noch gegeben, wenn sie vor der Zugabe hitzebehandelt wurden.

Das LOX-Potenzial, definiert als Quotient aus LOX-Aktivität der aufgereinigten Gelfraktion und LOX-Aktivität des Rohextraktes (vgl. Abschnitt 3.2.1.3), gibt das Verhältnis an, um den die HPOD-Bildung im Malzextrakt durch das Vorhandensein von Inhibitoren und den gleichzeitigen Abbau von HPOD abgeschwächt wird. Es sind eine Reihe von Inhibitoren für LOX bekannt, die auch im Malz vorkommen [7,215]. Einige der LOX-Inhibitoren wie Ubichinone [104] und Saccharose sind bevorzugt im Keimling lokalisiert, was auf die komplexe Steuerung der LOX im Stoffwechsel des Gerstensamens hindeutet.

Für die Bestimmung der Fettsäurehydroperoxide wurde die von *Kobayashi* [116] entwickelte HPLC-Methode in der Weise modifiziert, dass die sehr aufwändige Probenaufarbeitung durch eine Festphasenextraktion vereinfacht wurde. Die simultane Messung der Extinktionen bei zwei Wellenlängen erlaubte eine zusätzliche Auswertung der höheren ungesättigten Fettsäuren. Eine Auftrennung der Fettsäurehydroperoxid-Enantiomeren (Regio- und Stereoisomere) war jedoch nicht möglich.

Das Nonenal-Potenzial in der Würze wird des Öfteren zur Vorhersage der zu erwartenden geschmacklichen Stabilität des Bieres herangezogen. Da es noch keine standardisierte Methode zur Bestimmung des Nonenal-Potenzials in Würze gibt, wird ein direkter Vergleich der Zahlen aus der Literatur mit den eigenen ermittelten Werten als schwierig angesehen [115]. Für die hier vorliegenden, eigenen Untersuchungen wurde die Bestimmung entsprechend einer modifizierten Methode von *Drost et al.* [4] durchgeführt. Aufgrund der aufwändigen Probenaufarbeitung und einer relativ schlechten Reproduzierbarkeit wurde die Methode nur vereinzelt eingesetzt.

Die Bestimmung der freien höheren Fettsäuren erfolgte nach einer Festphasenextraktion der filtrierten Maische- bzw. Würzeprouben. Die Bedingungen der gaschromatographischen Auftrennung der Fettsäuren 14:0 bis 18:3 wurden so gewählt, dass keine vorherige Derivatisierung notwendig wurde. Allerdings ist diese Methode für Bier nur bedingt geeignet, da die Reproduzierbarkeit relativ schlecht ist.

### 5.3.2. Lipidabbau im Malz und Schrot

Mit den oben beschriebenen Bestimmungsmethoden wurde der oxidative Lipidabbau bei der Malzlagerung, der Malzkonditionierung, der Schrotung und beim Maischen durchgeführt. So führte eine Malzeinlagerung ins Silo ohne vorherige Abkühlung nach dem Darren (80 °C über 5 Stunden) erwartungsgemäß zu einer deutlichen Abnahme der LOX-Aktivität im Malz, während die höheren ungesättigten Fettsäuren und die Fettsäurehydroperoxide in den Maischen aus diesen Malzen eine Zunahme erfuhren (vgl. Abschnitt 4.3). Durch die der Hitzebehandlung nachgeschalteten Warmphase (14 Stunden bei 50 °C) kam es zu keiner weiteren LOX-Abnahme im Malz, dafür aber zu einer Abnahme an ungesättigten höheren Fettsäuren und Fettsäurehydroperoxiden in den aus diesen Malzen hergestellten Maischen, was auf einen sekundären Abbau der Lipide hindeutet.

Bei der Entstehung und dem Abbau von Fettsäurehydroperoxiden kann von einem dynamischen Gleichgewicht ausgegangen werden, welches durch physikalische, chemische und enzymatische Umsetzungen beeinflusst wird. Die Fettsäurehydroperoxide (Primärprodukte) entstehen aus der LOX-Reaktion und der Autoxidation ungesättigter Fettsäuren [176]. Unspezifische Reaktionen, an denen Schwermetalle, Häm(in)verbindungen sowie Enzyme beteiligt sind, überführen die Fettsäurehydroperoxide in Oxo-, Epoxy-, Mono-, Di- und Trihydroxysäuren. Im Gegensatz zu den Primärprodukten der Lipidoxidation sind einige der Folgeprodukte als Bitterstoffe und Vorstufen alterungsrelevanter Aromastoffe erkannt worden. Es empfiehlt sich also, das Malz nach Beendigung des Abdarrens so rasch wie möglich herunterzukühlen, um die ersten Schritte der Lipidoxidation bereits zu einem frühen Zeitpunkt zu vermeiden.

Bei einer Untersuchung von sechs verschiedenen Gerstensorten aus sieben unterschiedlichen Anbaugebieten, die unter standardisierten Mälzungsbedingungen zu hellem Gerstenmalz verarbeitet wurden, streuten die gefundenen Werte für die LOX-Aktivität in einem Bereich von 0,88 bis 10,6 U/g in der aufgereinigten LOX-Fraktion und von 0 bis 1,5 U/g im Rohextrakt. Für die Gerstensorte konnte ein hochsignifikanter Einfluss ( $\alpha = 0,01$ ) auf die LOX-Aktivität des Rohextraktes und für das Anbaugebiet ein signifikanter Einfluss ( $\alpha = 0,05$ ) auf die LOX-Aktivität des Rohextraktes gefunden werden. Malze mit einer niedrigen LOX-Aktivität des Rohextraktes bzw. einem hohen LOX-Potenzial erscheinen geeignet, die enzymatische Lipidoxidation im Brauprozess zu minimieren (vgl. Abschnitt 4.2).

Für die Lagerung von Malz konnte eine temperatur- und zeitabhängige Abnahme der LOX-Aktivität festgestellt werden. Frisch abgedarrtes Malz büßte innerhalb einer zweimonatigen Lagerung bei Raumtemperatur fast 30 % seiner Aktivität ein im Gegensatz zu dem bei - 18 °C eingelagerten, gleichen Malz. Dass sich die Malzlagerung aufgrund der Aktivitätsabnahme von LOX vorteilhaft auf die Geschmacksstabilität des Bieres auswirken sollte, ist jedoch anzuzweifeln. Vielmehr ist davon auszugehen, dass auch die Malzlipide einem Abbau unterliegen, der zur Entstehung von Oxidationsprodukten mit Aromarelevanz führt. *Wackerbauer* et al. [186] zeigten hierzu kürzlich, dass bei der Malzlagerung die Menge an freien und triglyceridgebundenen Hydroxyfettsäuren, insbesondere an Trihydroxyfettsäuren, zunimmt. Einen Einfluss der Malzlagerung auf die Geschmacksstabilität des Bieres konnte von den Autoren aber nicht gefunden werden.

Im Rahmen von Untersuchungen zum Thema Malzschrotung wurde der Einfluss der Schrotfeinheit, der Schrotungstemperatur und der Dauer der Schrotlagerung auf den oxidativen Lipidabbau herausgearbeitet (siehe Abschnitt 4.5). So wurde bei der Schrotlagerung bei Raumtemperatur bereits nach sechs Stunden ein erhöhter Gehalt an Fettsäurehydroperoxiden in den daraus hergestellten Maischen gemessen. Bei einer Lagerdauer über 60 bzw. 240 Stunden nahmen die Konzentrationen der Primärprodukte des oxidativen Lipidabbaus jedoch wieder ab. Auch die Temperatur des Schrotes bei der Zerkleinerung spielt eine wichtige Rolle bei der Autoxidation der ungesättigten Fettsäuren. So fanden sich für ein Schrot, welches bei Temperaturen von über 50 °C zerkleinert wurde, nach dem Einmaischen deutlich höhere Hydroperoxidkonzentrationen als für das Schrot aus einer wassergekühlten Analysenmühle. Die Anfälligkeit des Schrotes gegenüber einer Autoxidation der ungesättigten Fettsäuren nahm mit zunehmender Lagerdauer auch noch zu.

Dass die Lagerung des Schrotes einen Einfluss der auf die Geschmacksstabilität des Bieres nimmt, wurde in einer großtechnischen Versuchsreihe bestätigt gefunden. Die Alterungsverkostung des Bieres, welches aus einem wegen einer technischen Panne über 240 Stunden gelagerten Schrotes hergestellt wurde, ließ einen deutlich stärkeren Qualitätsabfall gegenüber dem Vergleichsbier, bei dem das Schrot unmittelbar nach der Zerkleinerung eingemaischt wurde, erkennen. Anhand der gaschromatographischen Untersuchung konnten allerdings keine auffälligen Unterschiede der Biere festgestellt werden. Aufgrund der sehr hohen Anfälligkeit des Schrotes gegenüber oxidativen Lipidabbauvorgängen (große Oberfläche und ausreichende O<sub>2</sub>-Atmosphäre um die Schrotpartikeln herum) sollte auf ein Vorschroten des Malzes verzichtet werden. In vielen kleinen und mittelständischen Brauereien ist es immer noch gängige Praxis, dass zwischen dem Schroten und dem Einmaischen noch mehrere Stunden, an Wochenenden sogar Tage, liegen. Der Prozessablauf sollte grundsätzlich so gestaltet sein, dass dem Schroten unmittelbar das Einmaischen folgen muss.

### 5.3.3. Lipidabbau beim Maischen

Aus der allgemeinen Theorie über die Stoffübertragungsvorgänge von löslichen Verbindungen aus unlöslichen Partikeln ist unmittelbar abzuleiten, dass die Geschwindigkeit des In-Lösung Gehens von LOX beim Maischen u.a. von der Feinheit des Schrotes abhängig ist. Besonders anschaulich wird dies beim Vergleich der LOX-Aktivität in Maischen mit Läuterbottichschrot, Maischefilterschrot und Pulverschrot 15 Minuten nach dem Einmaischen. In der Maische des feineren Maischefilterschrotes lag die LOX-Aktivität nämlich um etwa 30 % und bei der Pulverschrotmaische sogar um mehr als 50 % über der der Läuterbottichmaische (siehe Abschnitt 4.5.3.1). Die LOX-Aktivität der Maische wird zu einem großen Teil von der Feinheit des Blattkeims bestimmt. In Maischversuchen, bei denen der Blattkeimgehalt der „Malzschüttung“ durch Zugabe von 5 % Blattkeimen in etwa verdoppelt wurde, nahm die LOX-Aktivität bei unzerkleinerten Blattkeimen nur geringfügig gegenüber der Vergleichsmaische (ohne Blattkeimzugabe) zu. Dagegen führte die Zugabe von fein zerkleinerten Blattkeimen zu einer sehr deutlichen Zunahme der LOX-Aktivität, und das bereits unmittelbar nach dem Einmaischen. Eine Schonung des Blattkeims bei der Malzzerkleinerung ist deshalb dort dringend angeraten, wo eine hohe Geschmacksstabilität des Bieres gefordert wird.

Mit höherer Schrotfeinheit war auch eine leichte Zunahme im Gehalt an Fettsäurehydroperoxiden in der Maische verbunden. Da die höhere Konzentration der HPOD bereits zu Beginn des Maischens gemessen wurde, ist nicht geklärt, ob die Zunahme auf die beschleunigten Lösungsvorgänge beim Maischen oder auf die stärkere Autoxidation der Fettsäuren schon bei der Schrotung bzw. Schrotlagerung zurückzuführen ist. Für Malzschrot kann angenommen werden, dass die Feinfraktion aufgrund ihrer größten spezifischen Oberfläche und dem höchsten Anteil an ungesättigten Fettsäuren [74] am empfindlichsten auf Sauerstoff aus der Luft reagiert. Die stärkere Autoxidation der ungesättigten Fettsäuren des Feinschrotes könnte erklären, warum die Konzentration der wichtigsten Fettsäure Linolsäure in der Feinschrotmaische nicht in gleicher Weise zunahm wie die HPOD-Konzentration im Vergleich zu der Maische mit Grobschrot (vgl. Abschnitt 4.5.3.2).

Die Hitzestabilität von LOX wurde in isotherm geführten Maischen untersucht. Bereits bei 45 °C, also noch unterhalb des Temperaturoptimums von LOX (47 °C nach *Lulai* und *Baker* [88]), war ein Aktivitätsabfall in Maische festzustellen, der in nur 30 Minuten zu einer Halbierung der Ausgangsaktivität führte. Bei einer Maischtemperatur von 55 °C war eine Halbierung schon nach knapp 15 Minuten, bei 60 °C sogar schon nach 5 Minuten erreicht und eine vollständige Inaktivierung der LOX-Aktivität in 30 Minuten (siehe Abbildung 12 unter Abschnitt 4.6). Hohe Einmaischttemperaturen bieten also eine gute Möglichkeit, die enzymatische Bildung von Fettsäurehydroperoxiden zu minimieren.

Dass eine Erhöhung der LOX-Aktivität zur Verschlechterung der Geschmacksstabilität führt wurde durch folgende Versuchseinstellung belegt: Durch Zugabe eines kommerziellen LOX-Präparates in die Maische wurde die LOX-Aktivität des auch im Vergleichsud eingesetzten Malzes nahezu verdreifacht (siehe 4.10). Sowohl in der behandelten Würze als auch in dem daraus hergestellten Bier wurde eine Zunahme an wasserdampfvlüchtigen Aromastoffen aus dem oxidativen Lipidabbau gemessen, insbesondere an Heptanal, 9-Decensäure und  $\gamma$ -Nonalacton. Einher ging eine deutliche Verschlechterung der Geschmacksstabilität des behandelten Bieres (Zugabe von LOX in Maische) im Vergleich zum Nullversuch.

Der Einfluss der LOX-Aktivität auf die Entstehung von Fettsäurehydroperoxiden in Maische erwies sich dagegen als gering (siehe Abschnitt 4.8.1). Eine Verdoppelung der LOX-Aktivität führte nur zu einer geringen Zunahme der HPOD-Konzentration in der Maische. Auch eine kombinierte Zugabe von LOX und Linolsäure, mit der ein Substratmangel ausgeschlossen werden sollte, zeigte nur eine leichte HPOD-Zunahme gegenüber der Vergleichsmaische.

Um zu klären, ob die geringe HPOD-Zunahme auf eine Inhibierung der LOX-Reaktion oder auf einen raschen Abbau der gebildeten HPOD zurückzuführen ist, wurden Maischversuche unter Zugabe enzymatisch gebildeter HPOD durchgeführt (siehe Abschnitt 4.8.2). Die zum Einmischwasser zugegebenen HPOD ließen unmittelbar nach dem Einmischen einen sehr raschen Abbau von HPOD erkennen. Ohne Malzschrotzugabe war ein deutlich langsamerer Abbau von HPOD zu beobachten. In einer weiteren Versuchsreihe wurden die enzymatisch gebildeten HPOD einer teilweise inaktivierten Maische zugegeben. Hier konnte ein deutlich höherer Anteil der zugegebenen HPOD in der Maische wiedergefunden werden.

Es darf also davon ausgegangen werden, dass in Maische ein hitzeinstabiles Enzymsystem vorkommt, das den Abbau der von LOX gebildeten Fettsäurehydroperoxide (9-HPOD und 13-HPOD) katalysiert. Da Fettsäurehydroperoxid-abbauende Enzyme erst in keimender Gerste, jedoch noch nicht in Malz bzw. Maische nachgewiesen worden sind [68], wäre eine Klärung der Enzymcharakteristik, und damit die Kenntnis der Abbauprodukte, von großer technologischer Bedeutung. Erste Hinweise sind kürzlich von *Kuroda et al.* [93] gegeben worden, die eine Beteiligung von Peroxidasen (POD) am Abbau der Fettsäurehydroperoxide in Maische vermuten. Der Nachweis für das Vorhandensein einer Peroxidasen-Aktivität im Malz wurde durch Inkubationsversuche mit chromatographisch aufgereinigten Malzextrakten und Linolsäurezugabe geführt, bei denen die Bildung von Trihydroxyfettsäuren untersucht wurde. Die stärkste Bildung von Trihydroxyfettsäuren konnte dabei in einem Ansatz beobachtet werden, dem neben der LOX 1-Fraktion auch eine POD-Fraktion, so von den Autoren bezeichnet, zugegeben wurde. Die Bedeutung der Hydroperoxid-abbauenden Aktivität ist im Zusammenhang mit den schaumverschlechternden Eigenschaften der Trihydroxyfettsäuren zu sehen und zu bewerten.



#### 5.3.4. Blanchieren von Malz

Da sich der Blattkeim und die restliche Keimlingsanlage als Hauptsitz der LOX direkt unter der Rückenspelze des Korns befinden, wurde nach technischen Möglichkeiten gesucht, die LOX durch gezielte Hitzebehandlung der Malzkornoberflächen bereits vor dem Brauprozess zu inaktivieren. Die Konditionierung von Malz mittels Sattedampf wäre eine der Möglichkeiten gewesen, eine messbare Reduktion der LOX-Aktivität im Malz konnte aber erst ab einer Wassergehaltszunahme von über 3 % durch die Dampfkonditionierung erreicht werden. Da jedoch für eine deutliche Absenkung der LOX-Aktivität eine weitaus höhere Dampfbeaufschlagung und damit Wasserzunahme erforderlich ist, die eine Trockenschrotung praktisch unmöglich macht, musste nach anderen Möglichkeiten gesucht werden, eine Hitzeinaktivierung von LOX zu erreichen.

Es wurden deshalb in Anbetracht der bereits weltweit eingesetzten Nassschrotmühlen Heißwasserweichversuche mit verschiedenen Weichwassertemperaturen und -zeiten im Labormaßstab durchgeführt. Eine effektive Inaktivierung von LOX wurde erst bei einer Wassertemperatur von 80 °C erreicht. Dabei konnte in weniger als 30 Sekunden eine Halbierung der Ausgangsaktivität gemessen werden; eine Minute bei dieser Temperatur war mit einer Inaktivierungsrate von etwa 70 % verbunden (siehe Abbildung 14 in Abschnitt 4.7.2). Die rasche Inaktivierung von LOX wird damit erklärt, dass die äußere LOX-reiche Randzone des Korns durch die Heißwasserweiche am stärksten betroffen ist, und dass die beiden wichtigsten Voraussetzungen für eine rasche Enzyminaktivierung dort am optimalsten gegeben sind:

1. Schnelle Wasseraufnahme über die Kornbasis und die Spelze in die Randzonen des Korns. Nur in der in Wasser gelösten Form können die Enzyme durch Hitze in kürzester Zeit inaktiviert werden,
2. Schneller Wärmetransport zu den in den Randzonen in wässriger Form vorliegenden Enzymen, wieder über die Spelze und die Kornbasis.

Der befürchtete negative Einfluss der „Heißkonditionierung“ auf die wichtigsten Qualitätskriterien von Malz stellte sich als sehr gering heraus. Lediglich der  $\beta$ -Glucangehalt der Kongresswürze war etwas erhöht, was auf eine teilweise Inaktivierung der Endo- $\beta$ -Glucanasen bei der Heißkonditionierung zurückgeführt werden kann. Der  $\beta$ -Glucangehalt der VZ 65-Würzen, der die zytolytischen Lösungs- und Abbauvorgänge der Praxis besser wiedergibt, zeigte sich dagegen wenig verändert. Da die weiteren brautechnologisch relevanten Malzkriterien nahezu unverändert blieben, war davon auszugehen, dass die Heißkonditionierung in Brauereien dort eingesetzt werden kann, wo das Einmaischen ohnehin bei Temperaturen von über 60 °C erfolgt, denn bei diesen Temperaturen findet ein enzymatischer Abbau von hochmolekularem  $\beta$ -Glucan sowieso kaum noch statt.

### 5.3.5. Praxisuntersuchungen

Die „Heißkonditionierung“ von Malz ließ sich problemlos im Weichkonditionierschacht eines modernen Nasszerkleinerungssystems in die Praxis umsetzen. Die kontinuierliche Weiche ermöglichte eine definierte Kontaktzeit des Malzes (rd. 1 Minute) mit einer etwa 80 °C heißen Teilmenge des Hauptgusses, die nahezu unvermischt der heißen Brauwasserreserve entnommen werden konnte. Die Temperatur der restlichen Hauptgussmenge wurde soweit abgesenkt, dass die Einmischtemperatur auf der bisherigen Höhe gehalten werden konnte (siehe Abschnitt 4.9.4). Die Heißkonditionierung bei 80 °C führte im Vergleich zu einer Weichkonditionierung von üblicherweise 65 °C zu einer um etwa 30 % niedrigeren LOX-Aktivität der Maische. Die schwächere Inaktivierungsrate im Vergleich zu den Laborversuchen muss wohl auf das höhere Malz-Wasser-Verhältnis und die damit verbundene stärkere Abkühlung des Weichwassers im Praxisversuch zurückgeführt werden. Weder im weiteren Prozessablauf noch bei der Würze- oder Bierqualität konnten auffällige Unterschiede festgestellt werden. Bei einer Untersuchung der Geschmacksstabilität zeigte das Bier aus der Heißkonditionierung gegenüber dem Bier aus der Weichkonditionierung bei 65 °C einen messbaren Vorteil. Ein Dreieckstest mit zehn Prüfern konnte aber keine Signifikanz des Ergebnisses belegen.

In einer Reihe weiterer Praxisversuche wurden folgende Aspekte der Schrotungs- und Einmischtechnologie untersucht:

1. Vergleich einer speziellen Technik der Nassschrotung (Dispergierer) mit der Trockenschrotung;
2. Vergleich des Einsatzes einer Hammermühle mit einer Kombination aus Sechswalzenmühlen und Hammermühle (Blattkeimschonung);
3. CO<sub>2</sub>-Begasung des Grießkastens und der Anteigschnecke (mit Blattkeimschonung);
4. Einmischtemperaturanhebung und Maischesäuerung.

Anhand der analytischen Kriterien und der sensorischen Beurteilung der Biere ließen sich Unterschiede erkennen, die Rückschlüsse auf die zum Einsatz kommende Anlagentechnik und Technologie erlauben. Die wichtigsten Erkenntnisse zum enzymatischen und autoxidativen Lipidabbau sowie zur Bierqualität sind nachstehend kurz zusammengefasst:

- Die Nassschrotung im Dispergierer führte gegenüber der Trockenschrotung zu einer deutlich niedrigeren LOX-Aktivität der Maische. Der höhere LOX-Anteil in den Grießen sowie die schlechteren amylolytischen Kennzahlen, Treberextrakte und Bitterstoffausbeuten ließen auf eine weniger weitgehende Zerkleinerung in der Dispergiermühle schließen (vgl. Abschnitt 4.9.1).

- Eine Schonung des Blattkeims bei der Schrotung in dem kombinierten System Walzenmühle und Hammermühle ausschließlich für die Spelzenfraktion war mit einer niedrigeren LOX-Aktivität der Maische verbunden (vgl. Abschnitt 4.9.2).
- Die CO<sub>2</sub>-Begasung des Grießkastens und der Anteigschnecke führte zu einer reduzierten LOX-Aktivität, aber auch zu einer höheren Hydroperoxidkonzentration in der Maische. Letztere könnte auf eine Inhibition der Hydroperoxid-abbauenden Enzyme durch CO<sub>2</sub> oder auf einen langsameren autokatalytischen Abbau der Hydroperoxide in den sauerstoffärmeren Maischen der Begasungsversuche zurückgeführt werden (vgl. Abschnitt 4.9.3).
- Hohe Einmaischtemperaturen führten zu einer raschen Inaktivierung von LOX in Maische und waren mit einer Verbesserung der sensorischen und analytischen Eigenschaften des Bieres verbunden, insbesondere mit einer messbaren Verbesserung der Geschmacksstabilität (vgl. Abschnitt 4.9.6).
- Durch Verwendung von Sauermais konnte die LOX-Aktivität in der Maische abgeschwächt werden. Nicht nur bei hohen, sondern auch bei niedrigen Einmaischtemperaturen war durch die pH-Absenkung der Maische eine Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres festzustellen (vgl. Abschnitt 4.9.6).
- Eine Verkürzung der Einmaischdauer resultierte in einer insgesamt niedrigeren LOX-Aktivität beim Maischen.
- Zwischen der LOX-Aktivität und der Fettsäurehydroperoxidkonzentration in der Maische konnte kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

Die untersuchten Schrotungs- und Einmaischsysteme ließen trotz ihrer zum Teil deutlich unterschiedlichen Schrotfeinheit, Einmaischzeit, thermischen Belastung und Sauerstoffaufnahme nur einen kleinen Einfluss auf die Verarbeitbarkeit im Produktionsprozess erkennen. Ein eindeutiger Einfluss des Schrotungssystems auf die Bierqualität konnte nicht festgestellt werden.

#### **5.4. BRAUVERSUCHE MIT ZUGABE VON BLATTKEIMEN**

Aus den Untersuchungsergebnissen von Würzen, hergestellt aus Malzschrot mit steigendem Blattkeimgehalt, ergaben sich folgende Tendenzen: Mit steigendem Blattkeimgehalt nahmen der Extraktgehalt und der EVG der Würzen ab, der pH-Wert, die Farbe und die Saccharosekonzentration dagegen zu. Auffällige Konzentrationserhöhungen zeigten sich auch beim Zink, beim Gesamtstickstoff, beim FAN sowie bei einzelnen Aminosäuren (z.B. Asparagin, Phenylalanin). Die phenolischen Verbindungen (Gesamtpolyphenole, Anthozyanogene, Tannine) nahmen mit steigendem Blattkeimanteil stetig ab. In der reinen Blattkeimwürze waren sie in nur noch sehr geringer Konzentration nachzuweisen.

Die Brauversuche im halbtechnischen Maßstab wurden mit Blattkeimzugaben von bis zu 15 % durchgeführt. Dabei konnten die bei den Versuchen im Labormaßstab gefundenen Tendenzen, jedoch etwas weniger ausgeprägt, bestätigt werden. Mit steigendem Blattkeimanteil wurde aber auch eine Zunahme des Nonenal-Potenzials in der Pfannevoll- und in der Ausschlagwürze gemessen. Trotz des höheren Zinkgehaltes der Ausschlagwürze war kein rascherer Gär- oder Reifungsverlauf der Blattkeimsude zu beobachten. Der Vergärungsgrad der Blattkeimbiere lag sogar unter dem des Vergleichsbieres. Deutliche Zunahmen zeigten sich auch bei den Stickstofffraktionen. Der höhere Gehalt an hochmolekularem Stickstoff und eventuell auch der höhere Zinkgehalt der Würzen müssen wohl als wahrscheinlichste Ursache für die bessere Schaumhaltbarkeit der Blattkeimbiere angenommen werden. Leichte Zunahmen durch die Blattkeimzugabe zeigten sich beim pH-Wert und der Farbe des Bieres. Auffälligste Zunahmen bei den Bieraromastoffen zeigten das 2-Phenylethanol, das Heptanol-1 und die 9-Decensäure mit steigendem Blattkeimanteil. Die sensorische Qualität der Biere fiel deutlich gegenüber dem Vergleichsbier mit zunehmenden Blattkeimanteil in der Schüttung ab. Auch bei der Alterungsverkostung schnitten die Blattkeimbiere deutlich schlechter ab als das Nullbier, was sich auch analytisch in einer stärkeren Zunahme einiger Alterungsindikatoren (z.B.  $\gamma$ -Nonalacton, Phenylethanal) bemerkbar machte.

Neben dem Standardmaisverfahren wurden andere Maisverfahren untersucht, mit denen eine Minimierung des enzymatischen Lipidabbaus durch LOX erreicht werden sollte. Sowohl die Anhebung der Einmaischtemperatur auf 62 °C als auch eine Maischesäuerung auf einen pH-Wert von 5,2 waren mit einer Abschwächung der LOX-Aktivität und einem niedrigeren Nonenal-Potenzial der Würzen verbunden. Das untersuchte Hochkurzmaisverfahren konnte den negativen Einfluss des Blattkeims auf die Würze- und Bierzusammensetzung zu einem beachtlichen Teil kompensieren und die Schaumhaltbarkeit sogar auf hohem Niveau noch verbessern. Auch auf die sensorischen Eigenschaften des Bieres wirkte sich die Blattkeimzugabe nur geringfügig verschlechternd aus, ganz im Gegensatz zum Standardmaisverfahren mit einer Einmaischtemperatur von 50 °C.

Auch eine pH-Absenkung der Maische konnte den nachteiligen Einfluss des Blattkeims abschwächen. Allerdings wurden die hochmolekularen Eiweißsubstanzen durch die Maischesäuerung verstärkt abgebaut, was u.a. zu einer schlechteren Schaumhaltbarkeit der Biere führte. Die Geschmacksstabilität der Biere verbesserte sich ebenfalls durch Maischesäuerung bei Zugaben von Blattkeimen, die Verbesserung war aber nicht so groß wie bei den Brauversuchen mit dem Hochkurzmaisverfahren.

Brauversuche mit einem polierten Malz aus Nacktgerste ermöglichten eine nahezu blattkeimfreie Würzeherstellung. Die Zugabe von Blattkeimen zeigte auch hier den erwarteten negativen Einfluss auf die Maische-, Würze- und Bierzusammensetzung, vergleichbar mit den

Brauversuchen mit bespelztem Gerstenmalz. Trotz der unzureichenden Qualität der Nacktgerstenbiere musste aber konstatiert werden, dass der Vergleich mit einer 5 %igen Blattkeimzugabe (natürlichem Blattkeimgehalt) ein tendenziell besseres Bier lieferte. Die Verwendung von Nacktgerstenmalz für Brauzwecke schließt sich nicht nur der qualitativen Nachteile wegen aus, sondern auch wegen der Verarbeitungsprobleme während des Brauprozesses.

## 5.5. SCHLUSSFOLGERUNGEN FÜR DIE PRAXIS

Aufgrund seines hohen Gehaltes an LOX und Lipiden stellt der Blattkeim von Gerstenmalz einen kritischen Kornbestandteil hinsichtlich der Bierqualität dar. Brauversuche mit Blattkeimzugabe konnten die Annahme stützen, dass der Blattkeim einen nachteiligen Einfluss auf den Geschmack und die Geschmacksstabilität des Bieres besitzt. Da alle Bemühungen, eine maschinentechnische Lösung zur Abtrennung des Blattkeims vom Malzkorn zu entwickeln, der ungenügenden Praxistauglichkeit wegen bisher gescheitert sind, wurden technologische Maßnahmen untersucht, mit denen der nachteilige Einfluss des Blattkeims auf die Bierqualität ausgeglichen werden kann. Folgende, in die Praxis umsetzbare Maßnahmen lassen Vorteile für die Bierqualität erwarten:

1. Aufgrund der bekannten Kinetik der Enzymwirkungen in wässrigen Substraten ist die Geschwindigkeit der enzymatischen Lipidoxidation durch LOX unmittelbar nach dem Einmaischen am höchsten [12]. Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll, die Reaktionsbedingungen für LOX bereits beim ersten Kontakt des Schrotes mit Wasser wirksam zu verschlechtern. Neben der pH-Absenkung der Maische durch Sauermais oder biologische Milchsäure und dem Einmaischen bei Temperaturen über 60 °C bieten sich einige interessante Einmaischsysteme an, mit denen ein rasches, klumpenfreies und nahezu sauerstofffreies Einmaischen ohne zusätzliche Pumpe erreicht wird.
2. Über die Schrotfeinheit und insbesondere die Feinheit des Blattkeims kann das In-Lösung Gehen und damit die Wirkung von LOX beim Maischen beschleunigt, aber auch wirkungsvoll verzögert werden. Schrotungssysteme, die eine Schonung des Blattkeims erreichen, führen zu einer unvollständigeren Extraktion der Blattkeiminhaltsstoffe beim Maischen und damit auch zu einer Minimierung des oxidativen Lipidabbaus im Brauprozess. Die Schonung des Blattkeims kann z.B. dadurch erreicht werden, dass sich durch einen gezielten Vorbruch des Korns der Blattkeim von der Spelze beim Ausieben der Spelzenfraktion ablöst und mit den Grießen abgetrennt werden kann. Dass dies möglich ist, liegt darin begründet, dass zwischen der sich während des Mälzens auflösenden Aleuronschicht und der Spelze ein Hohlraum entsteht, in dem sich der Blattkeim relativ frei entwickeln kann. Eine blattkeimschonende Malzzerkleinerung sollte, insbesondere bei der Herstellung von Maischefilterschrot (Feinschrot), unabdingbare Forderung sein.

3. Die Lipide des Malzschrotes neigen unter bestimmten Lagerungsbedingungen (konditioniertes Schrot, sehr fein gemahlener Schrot, hohe Lagerungstemperatur) zu einem sehr raschen autoxidativen Abbau. Die Steuerung der Sudabläufe sollte daher so gestaltet werden, dass die Dauer der Schrotlagerung so kurz wie eben möglich wird. Auch eine CO<sub>2</sub>-Begasung des Schrotes im Grießkasten der Schrotmühle und der Anteigschnecke sollte der niedrigeren LOX-Aktivität beim Maischen wegen dann mit in Betracht gezogen werden, wenn die Forderung nach einer Verbesserung der Geschmacksstabilität erhoben wird.
4. Die Weichkonditionierung von Malz mit heißem Wasser (> 80 °C; „Heißkonditionierung“) stellt eine Prozesstechnologie dar, mit der eine weitgehende Inaktivierung von LOX noch vor dem eigentlichen Brauprozess erreicht werden kann. Da sich die für den Brauprozess relevanten Malzeigenschaften vergleichsweise wenig ändern, kann die „Heißkonditionierung“ insbesondere dort problemlos eingesetzt werden, wo bereits bei Temperaturen über 60 °C eingemaischt wird. Die dabei zu erzielende Minimierung des enzymatischen Lipidabbaus beim Maischen lässt eine Verbesserung der Schaumhaltbarkeit und der Geschmacksstabilität des Bieres erwarten.
5. Die LOX-Aktivität von Malz ist sowohl Sorten- als auch Standort-abhängig und könnte deshalb auch bei der Rohstoffauswahl berücksichtigt werden. Auch das LOX-Potenzial, mit dem die Wirkung von LOX-Inhibitoren und die Aktivität Hydroperoxid-abbauender Enzyme gemessen wird, ist zum Teil sorten- und standortbedingt. Um den Einfluss der LOX-Aktivität eines Malzes auf die Bierqualität zutreffend beurteilen zu können, sind aber weitere Kenntnisse über die Einflussfaktoren der Entstehung und des Abbaus der primären Oxidationsprodukte im Mälzungs- und Brauprozess nötig. Eine Charakterisierung der Hydroperoxid-abbauenden Enzyme des Malzes scheint dabei unabdingbar.

Zu einer wahrnehmbaren Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres können die genannten Maßnahmen aber nur dann beitragen, wenn auch der weitere Produktionsprozess unter konsequenter Beachtung der Einflussfaktoren der Geschmacksstabilität geführt wird. Beispielhaft seien hierzu genannt, die:

1. Minimierung der Vorgänge im Rahmen des enzymatischen und autoxidativen Lipidabbaus,
2. Minimierung der Aufnahme von Sauerstoff beim Maischen und Läutern sowie bei den nachfolgenden Prozessschritten, insbesondere bei der Abfüllung,
3. Gewinnung klarer Würzen bei gleichzeitig geringer Spelzenauslaugung,
4. intensive Ausdampfung unerwünschter Würzearomastoffe,
5. Minimierung der thermischen Belastung der Würze beim Kochen und der Heißwürzebehandlung

## 6 Zusammenfassung

Der Blattkeim ist neben den Wurzelkeimen, Stammanlage und Schildchen ein nicht unbedeutender, für das Wachstum zur Pflanze sogar wesentlicher, Bestandteil des Embryos von keimender Gerste. Die Keimanlagen von Grünmalz sind reich an Lipiden und lipidabbauenden Enzymen. Da Lipide und deren Abbauprodukte einen nachteiligen Einfluss auf die Bierqualität haben, sollten auch technologische Nachteile durch die Malzkeime zu erwarten sein. Während die Wurzelkeime von Darrmalz in Entkeimungsmaschinen problemlos abgetrennt werden können, haben Aufbereitungsverfahren, mit denen eine Abtrennung des Blattkeims erreicht werden könnte, bisher noch keine Praxistauglichkeit erlangt. Eine Abschwächung des Blattkeimwachstums im Mälzungsprozess ist aber nur sehr begrenzt möglich, weil dem wachsenden Embryo eine Schlüsselrolle bei der Regulation der Enzymproduktion und der Lösungsvorgänge zukommt, auf die im Mälzungsprozess nicht verzichtet werden kann.

Die vorliegende Arbeit verfolgte das Ziel, den vermuteten negativen Einfluss des Blattkeims auf die Bierqualität bestätigt zu bekommen und technologische Maßnahmen aufzuzeigen, mit denen sich die Nachteile eines forcierten enzymatischen Lipidabbaus vermeiden lassen. Da aber zur endgültigen Klärung der Frage, ob der Blattkeim die Bierqualität verschlechtert, seine vollständige Entfernung aus dem Malzkorn bzw. dem geschroteten Malz nicht zu realisieren war und auch ein poliertes Nacktgerstenmalz der mangelhaften Bierqualität wegen nicht als Beweis herangezogen werden konnte, musste der umgekehrte Weg gegangen werden, also den Blattkeimanteil der Malzschüttung schrittweise durch Zugabe von isoliertem Blattkeimmaterial zu erhöhen. Dazu wurde ein Aufbereitungsverfahren entwickelt, mit dem reine Gerstenmalzblattkeime aus dem Siebdurchgang eines Steinauslesers gewonnen werden konnten. Eine Analyse der Zusammensetzung der so gewonnenen Blattkeimfraktion zeigte neben den technologisch nachteilig hohen Gehalten an Eiweiß, DMS-P, Rohfett und Lipoxygenasen (LOX) auch vorteilhaft höhere Werte für FAN und Zink. Etwa ein Drittel der LOX-Aktivität von Malz konnte im Blattkeim nachgewiesen werden. Auf die Bedeutung von LOX an der Entstehung von Fettsäurehydroperoxiden, die als Vorläufer alterungsrelevanter Aromastoffe angesehen werden, wurde bereits mehrfach hingewiesen. Eine abschließende Klärung des enzymatischen Lipidabbaus wird jedoch dadurch erschwert, dass einige wichtige Abbauprodukte, wie z.B. das (*E*)-2-Nonenal, in so geringen Konzentrationen im Bier vorkommen, dass sie noch innerhalb der Fehlergrenze der Fettsäuren(hydroperoxyd)analyse liegen.

Die Untersuchungen zum enzymatischen Lipidabbau beschäftigten sich mit der Rohstoffauswahl, der Malzbehandlung, der Schrotung und dem (Ein-)Maischen. Für die LOX-Aktivität und das LOX-Potenzial von Malz konnte ein statistisch abgesicherter, signifikanter Sorten- und Standorteinfluss erkannt werden. Die Abkühlgeschwindigkeit im

Darrmalz hat ebenfalls Einfluss auf die LOX-Aktivität im Malz und den Fettsäurehydroperoxidgehalt der Maische. Auch während der Lagerung von Malz im Silo ist eine Abnahme der LOX-Aktivität festzustellen, z.B. innerhalb von zwei Monaten fast 30 %. Während der Schrotlagerung findet, und zwar bereits nach wenigen Stunden, eine verstärkte Peroxidation der ungesättigten Fettsäuren mit deutlicher Abhängigkeit der Schrotungstemperatur statt.

Um zunächst einmal den Einfluss von LOX auf die Bierqualität festzustellen, wurden Brauversuche mit Zugabe eines käuflichen LOX-Präparates zum Einmaischwasser durchgeführt. Dies führte, wie zu erwarten war, zu einer deutlichen Zunahme an bestimmten Würze- und Bieraromastoffen aus dem Lipidabbau, und auch die Alterungsindikatoren nahmen bei der Bieralterung vergleichbar zu.

Um das weitere Schicksal der durch LOX aus den ungesättigten Fettsäuren gebildeten Hydroperoxide zu erforschen, wurden Brauversuche unter Zugabe von Linolsäurehydroperoxiden zur Maische durchgeführt. Der dabei gemessene, sehr schnelle Abbau der zugegebenen Linolsäurehydroperoxide konnte nur durch eine Inaktivierung der Maischeenzyme vor der Zugabe des Hydroperoxidpräparates verhindert werden. Dieses überraschende Ergebnis deutet auf das Vorhandensein eines Enzymsystems in Malz hin, das den Abbau der Linolsäurehydroperoxide katalysiert.

Die eigentliche Frage aber, ob sich der Blattkeim wie vermutet negativ auf die Bierqualität und im speziellen auf die Geschmacksstabilität auswirkt, wurde in Labor- und halbertechnischen Brauversuchen durch steigende Blattkeimzugaben in die Maische aufgeklärt. Dabei wurden folgende Zusammenhänge in Abhängigkeit von der Blattkeimzugabe gefunden:

Mit steigendem Blattkeimanteil in der Malzschüttung

- nahmen Extraktgehalt (Extraktausbeute) und EVG der Würzen ab,
- nahmen Verzuckerungszeit, pH-Wert, Farbe und die Saccharosekonzentration zu,
- erhöhten sich die Werte für Zink, FAN, Gesamtstickstoff sowie einzelner Aminosäuren,
- nahmen die phenolischen Verbindungen stetig ab und waren in der reinen Blattkeimwürze in nur sehr geringer Konzentration vorhanden,
- blieb die Geschwindigkeit der Gärung und Reifung trotz des höheren Zink- und FAN-Gehaltes in der Ausschlagwürze unverändert,
- stieg der FAN-, Gesamtstickstoff- und  $\text{MgSO}_4$ -N-Gehalt, der pH-Wert, die Farbe und die Schaumhaltbarkeit der Biere mit steigender Blattkeimzugabe mäßig bis deutlich an,
- nahmen Bieraromastoffe wie 2-Phenylethanol, Heptanol-1 und 9-Decensäure zu,
- fiel die sensorische Qualität der Biere zunehmend ab und auch bei der Alterungsverkostung war eine Verschlechterung der Geschmacksstabilität der Blattkeimbieren zu konstatieren, analytisch in einer stärkeren Zunahme einiger Alterungsindikatoren ( $\gamma$ -Nonalacton, Phenylethanal) dokumentiert.



Die Ergebnisse der Brauversuche konnten eindrucksvoll belegen, dass sich der Blattkeim von Gerstenmalz nachteilig auf die Qualität und insbesondere die Geschmacksstabilität des Bieres auswirkt. In einer Reihe von Brauversuchen im halbtechnischen und im Praxismaßstab wurden daher technologische Maßnahmen erprobt, mit denen der nachteilige Einfluss des Blattkeims auf den oxidativen Lipidabbau im Brauprozess und die Geschmacksstabilität des Bieres kompensiert oder zumindest abgeschwächt werden kann. Eindeutige diesbezügliche Vorteile ließen die nachstehend aufgeführten Maßnahmen erkennen:

- Erhöhung der Einmaischtemperatur (Hochkurzmaischverfahren),
- pH-Absenkung der Maische,
- Schonung des Blattkeims bei der Malzschrotung,
- „Heisskonditionierung“ von Malz,
- CO<sub>2</sub>-Begasung des Schrotens,
- niedrige Schrotungstemperaturen sowie eine
- Vermeidung der Schrotlagerung.

Zu einer wahrnehmbaren Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres können die genannten Maßnahmen verständlicherweise aber nur dann beitragen, wenn auch der weitere Produktionsprozess unter konsequenter Beachtung der Einflussfaktoren der Geschmacksstabilität geführt wird.

## 7 Anhang

Tabelle A-1: LOX-Aktivität der aufgereinigten Gelfraktion. Einzel- und Mittelwerte von sechs

aufgereinigte LOX-Fraktion	Gießen	Döggingen	Nossen	Wörrstadt	Dachwig	Hartenhof	Rethmar	MW Sorte
Barke	5,52	3,28	5,52	3,56	1,64	0,88	5,40	<b>3,69</b>
Annabell	4,56	2,80	5,00	3,64	0,96	1,12	3,52	<b>3,09</b>
Alexis	6,68	8,80	10,3	6,00	1,32	2,24	7,16	<b>6,07</b>
Extrakt	4,92	10,6	9,80	5,12	1,28	1,36	5,12	<b>5,46</b>
Neruda	3,72	8,96	4,84	5,80	1,08	1,20	4,08	<b>4,24</b>
Danuta	3,12	4,92	5,32	3,64	1,12	1,00	3,80	<b>3,27</b>
<b>MW Anbauort</b>	<b>4,75</b>	<b>6,56</b>	<b>6,80</b>	<b>4,63</b>	<b>1,23</b>	<b>1,30</b>	<b>4,85</b>	<b>4,30</b>
			<b>Sorte</b>	<b>Standort</b>	Sorte:			
Streuung innerhalb der Gruppen			<b>242,8</b>	<b>112,2</b>	F <sub>ber.</sub> < F <sub>0,05; 6, 35</sub>			
Streuung zwischen den Gruppen			<b>51,8</b>	<b>182,4</b>	kein signifikanter Unterschied			
Gesamtstreuung			<b>294,6</b>		-----			
Varianzaufklärung (%)			<b>62,0</b>	<b>17,6</b>	Standort:			
F-Wert (berechnet, F <sub>ber.</sub> )			<b>1,07</b>	<b>9,49</b>	F <sub>ber.</sub> > F <sub>0,05, 5, 35</sub>			
F-Wert (Tabelle, F <sub>krit.</sub> ) F <sub>0,05;m,n</sub> / F <sub>0,01;m,n</sub>			<b>2,29/3,22</b>	<b>2,38/3,39</b>	signifikanter Unterschied			

Tabelle A-2: LOX-Aktivität im Rohextrakt. Einzel- und Mittelwerte von sechs Sorten aus sieben

Rohextrakt	Gießen	Döggingen	Nossen	Wörrstadt	Dachwig	Hartenhof	Rethmar	MW Sorte
Barke	1,32	0,44	0,56	0,12	0,30	0,12	0,52	<b>0,48</b>
Annabell	0,40	0,08	0	0	0,04	0,08	0,04	<b>0,09</b>
Alexis	1,32	2,28	1,60	1,20	0,64	0,52	0,76	<b>1,19</b>
Extrakt	1,08	1,52	1,44	0,36	0,48	0,32	0,20	<b>0,77</b>
Neruda	0,80	1,56	0,88	0,48	0,56	0,28	0,28	<b>0,69</b>
Danuta	0,36	0,16	0,12	0,08	0,04	0,08	0,08	<b>0,13</b>
<b>MW Anbauort</b>	<b>0,88</b>	<b>1,01</b>	<b>0,77</b>	<b>0,38</b>	<b>0,34</b>	<b>0,23</b>	<b>0,31</b>	<b>0,56</b>
			<b>Sorte</b>	<b>Standort</b>	Sorte:			
Streuung innerhalb der Gruppen			<b>6,6</b>	<b>9,0</b>	F <sub>ber.</sub> > F <sub>0,01; 6, 35</sub>			
Streuung zwischen den Gruppen			<b>6,1</b>	<b>3,6</b>	hochsignifikanter Unterschied			
Gesamtstreuung			<b>12,6</b>		-----			
Varianzaufklärung (%)			<b>48,1</b>	<b>28,5</b>	Standort:			
F-Wert (berechnet, F <sub>ber.</sub> )			<b>4,63</b>	<b>2,32</b>	F <sub>ber.</sub> < F <sub>0,05, 5, 35</sub>			
F-Wert (Tabelle, F <sub>krit.</sub> ) F <sub>0,05;m,n</sub> / F <sub>0,01;m,n</sub>			<b>2,29/3,22</b>	<b>2,38/3,39</b>	kein signifikanter Unterschied			

**Tabelle A-3: Konzentrationen (mg/l) der höheren ungesättigten Fettsäuren und deren Hydroperoxide in Maische (Probenahme: Ende der 72 °C Rast); Sorten: S = *Scarlett*, P = *Pasadena*; 1, 2, 3: siehe Tabelle 4**

	S 1	S 2	S 3	P 1	P 2	P 3
HPOT	2,6	2,9	2,8	3,1	3,6	2,5
HPOD	12,6	12,8	12,4	17,9	19,2	16,8
18:3	0,7	1,1	1,0	0,8	1,1	1,1
18:2	4,9	6,2	5,6	5,2	6,6	6,3

**Tabelle A-4: Ergebnisse der Schrotsortierung der Versuchschrote**

	Siebsatz DIN 4188	Pulver- schrot	Maischefilter- schrot	Läuterbottich- schrot
Fraktion	mm	%	%	%
Spelzen	1250	0,8	0,3	35,6
Grobgrieß	1000	0,3	0,4	13,1
Feingrieß 1	500	2,6	20,2	15,9
Feingrieß 2	250	10,1	31,4	12,5
Grießmehl	125	22,2	14,9	9,9
Pudermehl	Boden	64,0	32,8	12,9

**Tabelle A-5: Extraktgehalt der Treber; Angaben in % bez. auf Trockentreber; HM = Hammermühle, DP = Dispergierer; Mittelwerte (n = 2)**

	HM			DP			Ø HM	Ø DP
	Sud 1	Sud 2	Sud 3	Sud 4	Sud 5	Sud 6		
aufschl. Extrakt	3,1	2,0	2,6	4,1	4,5	4,9	2,6	4,5
ausw. Extrakt	9,6	4,9	4,5	10,1	12,9	7,4	6,3	10,1
Gesamt-Extrakt	12,7	6,8	7,1	14,3	17,4	12,3	8,9	14,6

**Tabelle A-6: Zuckerzusammensetzung der Kühlmittewürzen; Konzentrationsangaben in GG- %; HM = Hammermühle, DP = Dispergierer**

	HM			DP			Ø HM	Ø DP
	Sud 1	Sud 2	Sud 3	Sud 4	Sud 5	Sud 6		
Fructose	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Glucose	0,9	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0
Saccharose	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3
Maltose	9,3	9,4	9,4	9,1	9,3	9,2	9,4	9,3
Maltotriose	1,9	2,1	1,9	2,0	2,3	2,0	2,0	2,0
Gesamt-Zucker	12,6	13,0	12,8	12,5	13,1	12,7	12,8	12,8

**Tabelle A-7: Verkostung nach DLG: HM = Hammermühlensud, DP = Dispergiersud; Mittelwerte (n = 2)**

	HM		DP	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	4,3	4,0	4,3	3,8
Geschmack	4,3	3,7	4,2	3,8
Vollmundigkeit	4,3	4,0	4,2	4,0
Rezenz	4,6	4,5	4,3	4,4
Bittere	4,1	3,9	4,1	4,0
Gewichtete Note	4,3	4,0	4,2	4,0

**Tabelle A-8: Aromastoffe ( $\mu\text{g/l}$ ) der Kühlmittewürzen; HM = Hammermühle, DP = Dispergierer, A = Ausdampfindicator, W = Indikator für therm. Belastung im Whirlpool, T = Indikator für therm. Belastung beim Würzekochen + Whirlpool**

		HM			DP			Ø HM	Ø DP
		Sud 1	Sud 2	Sud 6	Sud 3	Sud 4	Sud 5		
3-me-Butanal	A,W	25	26	29	23	-	23	27	23
2-me-Butanal	A,W	7,9	8,6	10	7,6	-	8,1	8,8	7,9
Methional	A	47	44	45	39	-	36	45	38
2-Phenylethanal	A	200	192	209	190	-	181	200	186
Benzaldehyd	A,W	2,2	1,8	1,8	1,7	-	1,2	1,9	1,5
$\Sigma$ Streckeraldehyde		282	272	295	261	-	249	283	255
Pentanal	A	2,2	1,7	2,1	1,9	-	1,8	2,0	1,9
Hexanal	A	2,3	2,5	2,2	3,3	-	2,8	2,3	3,1
Heptanal	A	1,4	1,2	1,1	1,2	-	1,1	1,2	1,2
2-Pentanon	A	0,8	0,5	1,0	0,5	-	0,6	0,8	0,6
tr,2-cis,6-Nonadienal	A	n.n.	0,4	n.n.	n.n.	-	n.n.	0,4	0,4
3-me-Butanol	A	9,0	7,0	9,0	7,7	-	8,0	8,3	7,9
2-me-Butanol	A	9,1	7,8	10	8,5	-	8,5	9,0	8,5
2 ac-Furan	T	4,0	3,5	3,9	4,2	-	4,6	3,8	4,4
$\gamma$ -Nonalacton	A,W	10	7,5	8,0	8,8	-	9,0	8,5	8,9
2-Furfural	T	247	236	241	239	-	180	241	210

**Tabelle A-9: Alterungsverkostung der Biere nach Eichhorn: HM = Hammermühlensud, DP = Dispergiersud; Mittelwerte (n = 2)**

	HM		DP	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	1,1	1,6	1,1	1,6
Trunk	1,1	1,7	1,1	1,6
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,3
Gewichtete Note	1,1	1,6	1,1	1,5
Akzeptanz (%)	98	75	98	83

**Tabelle A-10: Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere; HM = Hammermühlensud, DP = Dispergiersud; Mittelwerte ( $n = 2$ )**

		HM		DP	
		frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3-Methyl-Butanal	(S,A)	6,6	8,4	5,4	7,1
2-Furfural	(W,A)	37	71	35	70
5-Methyl-Furfural	(A)	5,6	5,7	4,3	4,7
Benzaldehyd	(S,A)	0,4	0,6	n.n.	0,6
2-Phenyl-Ethanal	(S,A)	5,0	8,5	4,3	7,8
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	(A)	0,7	1,6	n.n.	0,8
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		6,3	11	3,8	6,6
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester	(A)	0,5	0,6	0,4	0,5
2-Acetyl-Furan	(A)	7,9	9,4	6,2	9,4
2-Propionyl-Furan	(A)	3,0	3,3	3,2	3,3
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		31	45	n.n.	19
$\gamma$ -Nonalacton	(W,A)	16	21	15	20
Summe der Wärmeindikatoren		54	92	50	91
Summe der Sauerstoffindikatoren		12	17	10	15
Summe der Alterungskomponenten		84	130	74	125

**Tabelle A-11: Ergebnisse der Schrotsortierung; HM = Hammermühle, 6-WM =**

	Siebsatz DIN 4188	HM	6-WM + HM
Fraktion	$\mu\text{m}$	%	%
Spelzen	1250	0,7	1,2
Grobgrieß	1000	1,5	2,6
Feingrieß I	500	15,3	31,8
Feingrieß II	250	28,5	22,8
Grießmehl	125	16,8	12,0
Pudermehl	Boden	37,2	29,6

**Tabelle A-12: Aromastoffe ( $\mu\text{g/l}$ ) der Kühlmittewürzen der Sude mit Weichkonditionierung bei 65 °C (Vergleich); A = Ausdampfindikator, W = Indikator für therm. Belastung im Whirlpool, T = Indikator für therm. Belastung beim Würzekochen + Whirlpool**

		Vergleich							
		Sud 1	Sud 2	Sud 3	Sud 4	Sud 5	Sud 6	Sud 7	Ø Vgl.
3-me-Butanal	A,W	39	38	39	40	41	42	40	40
2-me-Butanal	A,W	12	11	12	12	13	13	12	12
Methional	A	127	114	147	115	126	128	124	126
Benzaldehyd	A,W	1,7	1,7	1,9	1,3	2,0	1,9	1,4	1,7
2-Phenylethanal	A	122	146	154	144	158	150	152	147
$\Sigma$ Streckeraldehyde		302	311	354	313	340	336	329	326
Pentanal	A	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,3	0,4	0,4
Hexanal	A	1,4	1,7	1,8	1,5	1,6	1,5	1,4	1,6
Heptanal	A	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,9
2-Pentanon	A	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
tr,2-cis,6-Nonadienal	A	0,7	0,9	0,9	0,7	0,8	0,6	0,9	0,8
3-me-Butanol	A	5,8	4,5	5,0	4,7	4,5	4,9	4,8	4,9
2-me-Butanol	A	2,1	1,6	1,9	1,7	1,5	1,7	1,8	1,8
1-Pentanol	A	2,8	2,1	2,3	2,1	2,3	2,7	2,7	2,4
1-Hexanol	A	1,9	1,6	1,8	1,6	1,7	1,9	2,0	1,8
1-Octanol	A	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
1-Octen-3-ol	A	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1
2-Phenylethanol	A	77	75	87	79	78	76	83	79
2 ac-Furan	T	6,8	5,2	6,1	5,4	5,8	5,8	5,7	5,8
$\gamma$ -Nonalacton	A,W	3,5	3,7	4,3	4,2	3,9	3,8	4,0	3,9
2-Furfural	T	466	430	441	419	440	447	492	448

**Tabelle A-13: Aromastoffe ( $\mu\text{g/l}$ ) der Kühlmittewürzen der Sude mit Weichkonditionierung bei 80 °C (Heißkonditionierung); A = Ausdampfindikator, W = Indikator für therm. Belastung im Whirlpool, T = Indikator für thermische Belastung beim Würzekochen + Whirlpool**

		Heißkonditionierung							Ø HK
		Sud 1	Sud 2	Sud 3	Sud 4	Sud 5	Sud 6	Sud 7	
3-me-Butanal	A,W	40	43	47	42	43	41	-	43
2-me-Butanal	A,W	12	13	15	12	14	12	-	13
Methional	A	135	147	139	145	135	138	-	140
Benzaldehyd	A	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,0	-	2,0
2-Phenylethanal	A,W	160	165	164	162	154	165	-	162
$\Sigma$ Streckeraldehyde		348	370	367	363	348	358	-	359
Pentanal	A	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Hexanal	A	1,6	1,6	1,6	1,5	1,6	1,6	-	1,6
Heptanal	A	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	-	0,9
2-Pentanon	A	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	-	0,3
tr,2-cis,6-Nonadienal	A	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8	1,0	-	0,9
3-me-Butanol	A	4,7	5,0	5,3	5,4	5,3	5,3	-	5,2
2-me-Butanol	A	1,7	1,7	1,9	1,8	1,9	1,7	-	1,8
1-Pentanol	A	2,4	2,5	2,7	2,7	2,8	2,9	-	2,7
1-Hexanol	A	1,9	2,0	2,0	2,1	1,9	2,3	-	2,0
1-Octanol	A	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	-	0,3
1-Octen-3-ol	A	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	-	0,2
2-Phenylethanol	A	84	90	86	84	80	89	-	86
2 ac-Furan	T	5,9	5,9	6,7	6,7	5,3	6,0	-	6,1
$\gamma$ -Nonalacton	A,W	4,1	4,4	4,3	4,0	3,5	4,3	-	4,1
2-Furfural	T	438	498	514	497	449	481	-	480

**Tabelle A-14: Verkostung der Biere nach DLG: Biere aus Weichkonditionierung bei 65 °C (Vergleich) bzw. 80 °C (Heißkonditionierung)**

	Vergleich		Heißkond.	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	4,6	3,3	4,7	3,7
Geschmack	4,5	3,3	4,7	3,5
Vollmundigkeit	4,4	4,1	4,6	4,4
Rezenz	4,8	4,6	4,7	4,6
Bittere	4,3	3,9	4,4	4,0
Gewichtete Note	4,5	3,7	4,6	3,9

**Tabelle A-15: Alterungsverkostung nach *Eichhorn*: Biere aus Weichkonditionierung bei 65 °C (Vergleich) bzw. 80 °C (Heißkonditionierung)**

	Vergleich		Heißkond.	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	1,0	2,2	1,0	1,7
Trunk	1,1	2,2	1,0	2,0
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,5
Gewichtete Note	1,0	2,1	1,0	1,8
Akzeptanz (%)	100	58	100	72

**Tabelle A-16: Alterungsindikatoren ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere aus Weichkonditionierung bei 65 °C (Vergleich) bzw. 80 °C (Heißkonditionierung); S = Sauerstoffindikator, A = Alterungsindikator, W = Wärmeindikator**

		Vergleich		Heißkond.	
		frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		7,1	7,5	6,0	7,7
3-Methyl-Butanal	S,A	6,6	8,9	3,6	5,8
2-Furfural	W,A	7,4	60	5,5	62
5-Methyl-Furfural	A	4,7	5,6	5,0	5,6
Benzaldehyd	S,A	Sp.	0,7	0,4	0,5
2-Phenyl-Ethanal	S,A	4,1	7,0	3,9	6,1
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	A	2,1	2,2	2,3	2,3
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		5,9	11	5,7	11
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester	A	0,5	0,6	0,6	0,8
2-Acetyl-Furan	A	5,8	5,9	5,8	6,7
2-Propionyl-Furan	A	2,5	2,6	n.a.	2,9
$\gamma$ -Nonalacton	W,A	33	42	33	41
Summe der Wärmeindikatoren		40	102	38	105
Summe der Sauerstoffindikatoren		11	17	7,9	12
Summe der Alterungskomponenten		66	136	60	134



**Tabelle A-17: Bieraromastoffe der Brauversuche mit Weichkonditionierung bei 65 °C (Vergleich) bzw. bei 80 °C (Heißkonditionierung)**

		Vergleich	Heißkond.
Hexanol-1	µg/l	19	19
Heptanol-1	µg/l	4,8	4,7
Octanol-1	µg/l	15	14
Decanol-1	µg/l	5,7	5,5
2-Phenylethanol	mg/l	25,0	19,5
Furfurylalkohol	mg/l	1,1	1,1
Essigsäure-Isobutylester	µg/l	58	45
Essigsäure-Hexylester	µg/l	4,6	4,1
Essigsäure-Heptylester	µg/l	2,2	2,1
Essigsäure-Octylester	µg/l	5,2	5,5
Essigsäure-Furfurylester	µg/l	8,7	9
Essigsäure-2-Phenylethylester	mg/l	0,53	0,39
Buttersäure-Ethylester	mg/l	0,09	0,09
Hexansäure-Ethylester	mg/l	0,14	0,18
Octansäure-Ethylester	mg/l	0,17	0,16
Decansäure-Ethylester	mg/l	0,02	0,02
Isovaleriansäure	mg/l	0,4	0,7
Hexansäure	mg/l	1,5	1,5
Octansäure	mg/l	3,8	3,7
Nonansäure	µg/l	11	13
Decansäure	µg/l	270	371
Dodecansäure	µg/l	20	44
α-Terpineol	µg/l	3,4	5,7
Linalool	µg/l	5	5,7
Nerol	µg/l	4	4,5
γ-Nonalacton	µg/l	28	29

**Tabelle A-18: Bieraromastoffe der Schrotlagerversuche**

		Schrot, 1 h gelagert	Schrot, 240 h gelagert
Hexanol-1	µg/l	42	40
Heptanol-1	µg/l	5,7	6,9
Octanol-1	µg/l	23	25
Decanol-1	µg/l	14	14
2-Phenylethanol	mg/l	23	23
Furfurylalkohol	mg/l	2,4	3,2
Essigsäure-Isobutylester	mg/l	0,05	0,04
Essigsäure-Hexylester	µg/l	7,9	8,0
Essigsäure-Heptylester	µg/l	3,3	3,9
Essigsäure-Octylester	µg/l	3,2	2,8
Essigsäure-Furfurylester	µg/l	12	13
Essigsäure-2-Phenylethylester	mg/l	0,66	0,61
Buttersäure-Ethylester	mg/l	0,17	0,16
Hexansäure-Ethylester	mg/l	0,17	0,16
Octansäure-Ethylester	mg/l	0,31	0,31
Decansäure-Ethylester	mg/l	0,07	0,10
Isovaleriansäure	mg/l	0,20	0,25
Hexansäure	mg/l	3,0	3,6
Octansäure	mg/l	7,5	7,5
Nonansäure	mg/l	0,03	0,03
Decansäure	mg/l	0,79	0,73
9-Decensäure	mg/l	0,05	0,05
Dodecansäure	mg/l	0,02	0,02
α-Terpineol	µg/l	6,0	6,4
Linalool	µg/l	12	12
Nerol	µg/l	3	n.n.
γ-Nonalacton	µg/l	53	51

**Tabelle A-19: Alterungskomponenten (µg/l) der frischen und forciert gealterten Biere der Schrotlagerversuche; S = Sauerstoffindikator, A = Alterungsindikator, W = Wärmeindikator**

		Schrot, 1 h gelagert		Schrot, 240 h gelagert	
		frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		9,9	13	n.a.	n.a.
3-Methyl-Butanal	S,A	10	15	8,9	12
2-Furfural	W,A	39	106	47	102
5-Methyl-Furfural	A	7,3	8,0	7,3	7,5
Benzaldehyd	S,A	2,0	2,1	2,2	2,2
2-Phenyl-Ethanal	S,A	15	22	11	20
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	A	0,4	0,8	0,5	0,9
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		6,2	10	8,5	10
Phenylessigsäure-Ethyl-Ester	A	1,0	1,0	0,9	1,0
2-Acetyl-Furan	A	5,0	11	3,7	4,7
2-Propionyl-Furan	A	20	20	19	19
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		10	12	11	10
γ-Nonalacton	W,A	34	40	37	40
Summe der Wärmeindikatoren		73	146	85	143
Summe der Sauerstoffindikatoren		27	39	23	34
Summe der Alterungskomponenten		133	226	139	209

**Tabelle A-20: Verkostung der Biere nach DLG: Biere der Schrotlagerversuche**

	Schrot, 1 h gelagert		Schrot, 240 h gelagert	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	4,4	4,1	4,4	3,7
Geschmack	4,6	4,0	4,5	3,6
Vollmundigkeit	4,8	4,5	4,8	4,2
Rezenz	4,3	4,2	4,4	4,1
Bittere	4,2	4,0	4,3	3,8
Gewichtete Note	4,4	4,1	4,5	3,8

**Tabelle A-21: Alterungsverkostung nach Eichhorn: Biere der Schrotlagerversuche**

	Schrot, 1h gelagert		Schrot, 240 h gelagert	
	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	1,0	1,5	1,0	1,7
Trunk	1,0	1,6	1,0	2,0
Bittere	1,0	1,5	1,0	1,8
Gewichtete Note	1,0	1,5	1,0	1,8
Akzeptanz (%)	100	80	100	64

**Tabelle A-22: Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der frischen und forciert gealterten Biere aus den Versuchen zur Maischesäuerung und Einmaischtemperaturerhöhung; S = Sauerstoffindikator, A = Alterungsindikator, W = Wärmeindikator**

		36°C				58°C			
		ohne MS		mit MS		ohne MS		mit MS	
		frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3-Methyl-Butanal	S,A	8,8	14	11	13	10	13	7,6	13
2-Furfural	W,A	40	199	38	128	36	112	35	81
5-Methyl-Furfural	A	19	22	17	17	13	15	16	17
Benzaldehyd	S,A	2,6	4,4	3,3	2,8	1,8	2,9	1,8	2,8
2-Phenyl-Ethanal	S,A	11	24	11	25	10	21	6,8	14
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	A	3,8	6,0	3,1	4,2	3,1	3,4	3,2	3,3
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		3,1	13	n.a.	6,1	5,5	7,3	5,0	6,9
Phenyllessigsäure-Ethyl-Ester	A	1,2	1,6	1,1	1,3	1,1	1,2	0,8	0,9
2-Acetyl-Furan	A	9,5	13	13	13	13	16	8,8	10
2-Propionyl-Furan	A	38	37	7,5	8,2	5,4	5,9	7,1	7,6
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		32	39	21	20	13	14	14	14
$\gamma$ -Nonalacton	W,A	36	60	62	83	56	66	57	72
Summe der Wärmeindikatoren		76	259	100	211	92	178	92	153
Summe der Sauerstoffindikatoren		23	43	25	40	22	37	16	30
Summe der Alterungskomponenten		170	381	167	294	149	257	144	222

**Tabelle A-23: Verkostung der Biere nach DLG: Versuchsbiere mit Maischesäuerung und**

	36°C				58°C			
	ohne MS		mit MS		ohne MS		mit MS	
	frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	4,5	3,7	4,6	3,9	4,7	4,2	4,6	4,5
Geschmack	4,2	3,6	4,6	4,0	4,8	4,2	4,6	4,4
Vollmundigkeit	4,5	4,2	4,5	4,1	4,8	4,4	4,6	4,5
Rezenz	4,4	4,3	4,7	4,6	4,9	4,6	4,7	4,7
Bittere	4,2	4,0	4,3	4,3	4,5	4,4	4,5	4,4
Gewichtete Note	4,3	3,9	4,5	4,1	4,7	4,3	4,6	4,5

**Tabelle A-24: Alterungsverkostung nach *Eichhorn*: Versuchsbiere mit Maischesäuerung und Einmaischtemperaturerhöhung**

	36°C				58°C			
	ohne MS		mit MS		ohne MS		mit MS	
	frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert
Geruch	1,1	2,1	1,2	2,1	1,0	1,7	1,1	1,4
Trunk	1,0	2,0	1,2	1,8	1,0	1,6	1,1	1,3
Bittere	1,0	1,9	1,2	1,7	1,0	1,5	1,1	1,4
Gewichtete Note	1,0	2,0	1,2	1,9	1,0	1,6	1,1	1,4
Akzeptanz (%)	98	65	94	66	100	80	100	88

**Tabelle A-25: Alterungskomponenten ( $\mu\text{g/l}$ ) der Biere mit und ohne Zugabe von LOX zur**

		Nullsud		LOX-Zugabe	
		frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		12	14	13	14
3-Methyl-Butanal	S,A	10	13	11	14
2-Furfural	W,A	56	144	50	139
5-Methyl-Furfural	A	6,4	7,0	5,4	7,6
Benzaldehyd	S,A	1,1	1,3	1,0	1,3
2-Phenyl-Ethanal	S,A	13	18	14	20
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	A	1,4	1,9	1,2	1,7
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		5,4	9,3	5,1	8,7
Phenylelessigsäure-Ethyl-Ester	A	0,7	0,8	n.a.	0,9
2-Acetyl-Furan	A	5,1	7,0	4,6	7,2
2-Propionyl-Furan	A	4,3	4,7	3,7	4,2
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		32	40	38	43
$\gamma$ -Nonalacton	W,A	24	32	26	42
Summe der Wärmeindikatoren		80	176	75	181
Summe der Sauerstoffindikatoren		25	32	26	35
Summe der Alterungskomponenten		123	229	117	237

Tabelle A-26: Verkostung nach DLG: Biere mit und ohne Zugabe von LOX beim Maischen

	Nullbier				LOX-Zugabe			
	frisch		forciert		frisch		forciert	
	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2
Geruch	3,6	2,8	3,0	2,9	3,4	3,5	2,8	2,6
Geschmack	3,8	3,5	3,1	2,9	3,5	3,6	2,7	2,5
Vollmundigkeit	4,3	4,2	4,0	4,1	4,0	4,3	3,7	3,4
Rezenz	4,0	4,1	4,0	4,0	4,2	4,1	4,1	3,7
Bittere	3,6	3,9	3,2	3,4	3,7	3,9	3,5	3,1
Gewichtete Note	3,8	3,6	3,3	3,3	3,7	3,8	3,2	2,9
Ø Gew. Note	3,7		3,3		3,7		3,1	

Tabelle A-27: Alterungsverkostung nach *Eichhorn*: Biere mit und ohne Zugabe von LOX beim Maischen

	Nullbier				LOX-Zugabe			
	frisch		forciert		frisch		forciert	
	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2	Sud 1	Sud 2
Geruch	1,3	1,7	2,5	2,6	1,4	1,1	2,9	3,3
Trunk	1,2	1,4	2,6	2,3	1,4	1,1	2,9	3,4
Bittere	1,2	1,3	2,1	1,9	1,2	1,0	2,4	2,6
Gewichtete Note	1,2	1,5	2,5	2,3	1,4	1,1	2,8	3,2
Akzeptanz [%]	90	84	44	42	80	94	24	8
Ø Gew. Note	1,4		2,4		1,2		3,0	
Ø Akzeptanz [%]	87		43		87		16	

**Tabelle A-28: Aromastoffe ( $\mu\text{g/l}$ ) der Ausschlagwürzen der Brauersuche mit steigendem Blattkeimgehalt im halbtechnischen Maßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime, A = Ausdampfindikator, W = Indikator für therm. Belastung im Whirlpool, T = Indikator für thermische Belastung beim Würzekochen + Whirlpool (n = 3)**

		100 % GM	5 % BK 95 % GM	15 % BK 85 % GM
2-Methyl-Butanal	A,W	24	26	26
3-Methyl-Butanal	A,W	41	39	53
Methional	A	46	44	39
2-Phenylethanal	A	239	251	265
Benzaldehyd	A,W	2,2	2,4	2,8
$\Sigma$ Streckeraldehyde		352	362	386
Pentanal	A	1,5	1,8	1,7
Hexanal	A	2,0	2,1	2,5
Heptanal	A	0,7	1,0	1,1
2-Pentanon	A	0,4	0,4	0,6
tr,2-cis,6-Nonadienal	A	0,5	0,5	0,6
3-Methyl-Butanol	A	9,5	9,2	11
2-Methyl-Butanol	A	6,3	6,2	6,5
Pentanol-1	A	2,2	2,6	3,2
Hexanol-1	A	1,3	1,2	1,6
Octanol-1	A	0,7	1,0	0,8
1-Octen-3-ol	A	1,8	1,8	2,1
Phenylethanol	A	61	77	98
2-Furfural	T	158	170	163
2-ac-Furan	T	14	12	12
$\gamma$ -Nonalacton	A,W	7,2	7,8	9,7

**Tabelle A-29: Bieraromastoffe der Brauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt im**

		100 % GM	5 % BK 95 % GM	15 % BK 85 % GM
Hexanol-1	µg/l	21	20	25
Heptanol-1	µg/l	6,1	8	15,5
Octanol-1	µg/l	18	17	20
Decanol-1	µg/l	5,3	6,1	7,4
2-Phenylethanol	mg/l	20	21	36
Furfurylalkohol	mg/l	1,6	1,2	1,5
Essigsäure-Isobutylester	µg/l	62	62	72
Essigsäure-Hexylester	µg/l	4,2	4,1	4,6
Essigsäure-Heptylester	µg/l	2,9	3,1	2,7
Essigsäure-Octylester	µg/l	2,9	3,3	3,4
Essigsäure-Furfurylester	µg/l	14	15	18
Buttersäure-Ethylester	µg/l	45	45	53
Hexansäure-Ethylester	µg/l	161	175	168
Octansäure-Ethylester	µg/l	264	256	312
Decansäure-Ethylester	µg/l	58	41	43
Isovaleriansäure	mg/l	0,51	0,87	1,04
Hexansäure	mg/l	2,1	1,8	2,0
Octansäure	mg/l	7,2	7,0	8,5
Nonansäure	mg/l	0,01	0,01	0,02
Decansäure	mg/l	1,1	1,1	1,3
9-Decensäure	mg/l	0,24	0,52	0,71
Dodecansäure	mg/l	0,03	0,02	0,03
Linalool	µg/l	Sp.	1,7	n.n
Nerol	µg/l	3,8	2,9	4,8
γ-Nonalacton	µg/l	17	20	23

**Tabelle A-30: Alterungsindikatoren (µg/l) der Biere mit steigendem Blattkeimgehalt im halbertechnischen Maßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime S = Sauerstoffindikator,**

		100 % GM		5 % BK + 95 % GM		15 % BK + 85 % GM	
		frisch	forciert	frisch	forciert	frisch	forciert
2-Methyl-Butanal		7,5	9,2	8,8	12,1	7,7	11,9
3-Methyl-Butanal	S,A	8,9	14,1	7,1	13,5	9,5	15,6
2-Furfural	W,A	41	83	44	86	37	103
5-Methyl-Furfural	A	3,9	5,6	5,9	4,8	4,6	4,9
Benzaldehyd	S,A	1,0	1,2	0,9	1,3	1,1	1,3
2-Phenyl-Ethanal	S,A	7,9	8,3	9,1	10,8	9,3	13,1
Bernsteinsäure-Diethyl-Ester	A	1,5	1,9	1,4	1,8	1,0	1,8
Nicotinsäure-Ethyl-Ester		3,4	6,2	3,6	5,8	4,1	8,9
Phenylessigsäure-Ethyl-Ester	A	0,7	0,9	0,8	0,9	0,8	1,1
2-Acetyl-Furan	A	4,6	4,9	5,0	3,9	3,8	4,5
2-Propionyl-Furan	A	3,8	4,0	4,2	4,4	3,6	3,9
5,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon		27	38	25	36	19	29
γ-Nonalacton	W,A	21	31	23	33	28	38
Summe der Wärmeindikatoren		62	114	67	119	65	141
Summe der Sauerstoffindikatoren		18	24	17	26	20	30
Summe der Alterungskomponenten		94	155	101	160	99	187

**Tabelle A-31: Brauversuche mit steigendem Blattkeimgehalt im halbtechnischen Maßstab (Std-MV); GM = Gerstenmalz, BK = Blattkeime (n = 2 bzw. 3)**

			100 % GM	5 % BK 95 % GM	15 % BK 85 % GM
Maische	pH (Abmaischen)		5,71	5,74	5,82
	LOX-Aktivität (5 min)	U/g	5,7	6,9	8,8
	LOX-Aktivität (15 min)	U/g	2,4	2,6	2,9
Pfannevollwürze	Extrakt	%-GG	10,25	10,13	10,06
	pH		5,79	5,83	5,87
	Farbe (photom.)	EBC	6,6	6,8	6,9
	DMS/DMS-P	µg/l	111 / 765	116 / 821	131 / 919
	Nonenal-Potenzial	µg/l	0,89	1,02	1,15
Ausschlagwürze	Extrakt	%-GG	11,48	11,31	11,35
	DMS/DMS-P	µg/l	33 / 119	40 / 135	38 / 137
	pH		5,69	5,72	5,76
	Farbe (photom.)	EBC	9,1	9,5	10,2
	FAN	mg/l	207	216	238
	koag. N	mg/l	17,2	19,8	21,0
	TBZ		34	34	33
	EVG	%	83,1	82,8	82,0
	Nonenal-Potenzial	µg/l	2,10	2,39	2,54
Gärung	Zink	mg/l	0,11	0,13	0,16
	Diacetyl (Ende HG)	mg/l	0,17	0,24	0,22
	Diacetyl (Ende Reifung)	mg/l	0,06	0,08	0,07
Bier	Schaum n. R&C		123	128	127
	Vergärungsgrad,s	%	82,2	81,8	80,8
	pH		4,52	4,56	4,63
	Farbe (photom.)	EBC	6,7	6,9	7,2
	Diacetyl	mg/l	0,06	0,07	0,06
	FAN	mg/l	131	134	146
	MgSO <sub>4</sub> -N	mg/l	133	142	159
	Gesamt N	mg/l	986	1020	1066
	Verkostung n. DLG		4,5	4,3	3,7
	Alterungsverkostung		1,9	2	2,5



---

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

---

- <sup>1</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Graf, H.: Carbonyle und Alterung des Bieres – Analytik (Teil 1); Monatsschr. f. Brauwiss. 38 (1985) 396-402; Einfluß einiger technologischer Parameter (Teil 2); 38 (1985) 472-477.
- <sup>2</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Eichhorn, P.: Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Teil 1, Monatsschr. f. Brauwiss. 42 (1999) 49-57; Teil 2, 42 (1999) 80-85.
- <sup>3</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Lustig, S.: Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Alterung des Bieres. Monatsschr. f. Brauwiss. 42 (1999) 164-175.
- <sup>4</sup> Drost, B. W.; Van den Berg, R.; Freijee, F. J. M.; Van der Velde, E. G.; Hollemans, M.: Flavor Stability. J. ASBC 48 (1990) 124-131.
- <sup>5</sup> Drost, B. W.; Van Eerde, P.; Hoekstra, S. F.; Strating, J.: Fatty Acids and Staling of Beer. Proc. EBC Cong. 13 (1971) 451-458.
- <sup>6</sup> Tressl, R.; Bahri, D.; Silwar, R.: Bildung von Aldehyden und deren Bedeutung als „Off-Flavor“-Komponenten in Bier. Proc. EBC Congr. 17 (1979) 27-41.
- <sup>7</sup> Baxter, D.: Lipoxidases in Malting and Mashing. J. Inst. Brew. 88 (1982) 390-396.
- <sup>8</sup> Erhardt, R.: Schäl- und Prallversuche an verschiedenen Cerealien und Pseudocerealien mittels eines Labor-Druckluftentspelzers. Diplomarbeit (1997). TU-München, Lehrstuhl für Maschinen und Apparatetechnik, Freising-Weihenstephan.
- <sup>9</sup> Schwill-Miedaner, A.: Ausgewählte Aspekte zur Technologie der Würzebereitung. TU-München, Freising-Weihenstephan, Habilitationsschrift 2002.
- <sup>10</sup> Lustig, S.; Bellmer, H. G.; Eils, H. G.; Gromus, J.: Geschmacksstabilität und Sudhaustechnologie – Praktische Erfahrungen mit einem neuen Anlagekonzept. Proc. EBC Congr. 27 (1999) 583-593.
- <sup>11</sup> Van Waesberghe, J. W. M.: New Milling and Masching-in Systems, Developed to Avoid the Initiation of Lipid Oxidation at the Start of the Lagerbeer Brewing Process. Proc. EBC Congr. 26 (1997) 30-37.
- <sup>12</sup> Biawa, J. P.; Bamforth, C. W.: A Two-Substrate Kinetic Analysis of Lipoxygenase in Malt. J. Cereal Science 35 (2002) 95-98.
- <sup>13</sup> Weinfurter, F.; Wullinger, F.; Piendl, A.: Gerstensorten – Kultivierungsmaßnahmen – Würzezusammensetzung – Gärverlauf. Brauwissenschaft 10 (1966) 390-395.
- <sup>14</sup> Heupke, H.-J.:  $\alpha$ -Amylase-Synthese und -Sekretion in Aleuronzellen der Gerste (*Hordeum vulgare L.*): Univ. Göttingen, Dissertation 1988.
- <sup>15</sup> Heß, D.: Pflanzenphysiologie: Molekulare und biochemische Grundlagen von Stoffwechsel und Entwicklung der Pflanzen. Stuttgart, Ulmer (1999).
- <sup>16</sup> Kreis, S.: Der Einfluss von Polysacchariden und Bakterien auf die Filtrierbarkeit von Würze und Bier. TU-München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 2003.
- <sup>17</sup> Schildbach, R.: 30 Jahre Internationales Braugersten-Seminar. Handbuch des 30. Internationalen Braugersten-Seminars, VLB Berlin, 2001.
- <sup>18</sup> Baumer, M.; Wybraniec, J.: Züchtung bei Braugerste – Garant für den Fortschritt. Hopfen Rundschau International 2001/2002. (2001) 68-79.
- <sup>19</sup> Van Camenhout, L.; Iserentant, D.; Verachtert, H.: Automated Control of Barley Respiration During Germination. Proc. EBC Congr. 27 (1999) 477-484.

- 
- <sup>20</sup> Aastrup, S.; Erdal, K.: Quantitative Determination of Endosperm Modification and its Relationship to the Content of 1,3:1,4- $\beta$ -Glucans During Malting of Barley. *Carlsberg Res. Commun.* Vol. 45 (1980) 369-379.
- <sup>21</sup> Narziß, L.; Schuster, K.; Weinfurter, F.: Die Bierbrauerei – Bd. 1. Technologie der Malzbereitung. 6. Aufl. Stuttgart. Ferdinand-Enke 1976; Bd. 2. Technologie der Würzebereitung. 7. Auflage. Stuttgart. Ferdinand-Enke, 1992.
- <sup>22</sup> MacLeod, A. M., Palmer, G. H.: The Embryo of Barley in Relation to Modification of the Endosperm. *J. Inst. Brew.* 72 (1966), 580-589.
- <sup>23</sup> Palmer, G. H.: A Reassessment of the Pattern of Endosperm Hydrolysis (Modification) in Germinated Barley. *J. Inst. Brew.* 88 (1982) 145-153.
- <sup>24</sup> Chapon, L.: Atmung und Gärung im geweichten Gerstenkorn. Ihr Einfluß auf die Keimung. *Brauwissenschaft* 14 (1961), 457-465.
- <sup>25</sup> Kunze, W.: Technologie der Brauer und Mälzer. VLB Berlin (1994).
- <sup>26</sup> Mayer, A. M.; Shain, Y.: Control of Seed Germination. *Annual Review of Plant Physiology* 25 (1974) 167-193.
- <sup>27</sup> Kindl, H.: Biochemie der Pflanzen. Springer-Verlag. Berlin (1987).
- <sup>28</sup> Parthier, B.: Hormone-Induced Alterations in Plant Gene Expression. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 184 (1989) 289-314.
- <sup>29</sup> Narziß, L.; Back, W.; Sacher, B.; Ketterer, M.; Stich, S.; Brand, O.: Untersuchungen an neuen Braugersten der Ernte 1991. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 46 (1993) 179-185.
- <sup>30</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.: Über den Einfluß von Gerstensorte, Anbauggebiet und Mälzungsverfahren auf einige Gärungsnebenprodukte des Bieres, II.: Der Einfluß von Gerstensorte und Anbauggebiet. *Brauwissenschaft* 23 (1970) 121-133, III.: Der Einfluss von Sorte und Mälzungsverfahren, 23 (1970) 229-234.
- <sup>31</sup> Fuchs, R. A.: Faktoren, die für das ungleichmäßige Wachstum der Gerste in der Keimanlage mitverantwortlich sind. *Brauwelt* 109 (1969) 1925-1928.
- <sup>32</sup> Lotz, M.: Neue Maischefiltrationstechnik für das Verarbeiten von Pulverschrot. TU München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 1997.
- <sup>33</sup> Krottenthaler, M.; Zürcher, A.; Schneider, J.; Weisser, H.; Back, W.: Grist Fractionating and Adjusted Mashing to Improve the Reduction of  $\beta$ -Glucan. *Proc. EBC Congr.* 27 (1999) 603-610.
- <sup>34</sup> Kutschera, U.: Grundpraktikum zur Pflanzenphysiologie. Wiesbaden UTB (1998).
- <sup>35</sup> Dobrzanska, M., Tomaszewski, M.; Grzelczak, Z.; Rejman, E.; Buchowicz, J.: Cascade Activation of Genome Transcription in Wheat. *Nature* 244 (1973) 507-509.
- <sup>36</sup> Mader, F.: Ermittlung geschmacklich relevanter Faktoren zur frühen Bewertung von Braugersten-Neuzüchtungen. TU-München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 1998.
- <sup>37</sup> Sims, R. C.: Germination of Barley: Effects of Varying Water Contents upon the Initiation and Maintenance of Growth. *J. Inst. Brew.* 65 (1959) 46-50.
- <sup>38</sup> Narziß, L.: Moderne Mälzungsmethoden. I. Der Einfluss der Weicharbeit auf Keimung und Malzqualität unter besonderer Berücksichtigung der Weichtemperatur und des Weichgrades. *Brauwissenschaft* 28 (1965) 1506-1515.
- <sup>39</sup> Narziß, L.; Hellich, P.: Mälzungsversuche bei verschiedenen hohen, aber konstanten Keimtemperaturen und unterschiedlichem Feuchtigkeitsniveau, wobei der jeweils maximale Keimgutwassergehalt zu verschiedenen Zeiten hergestellt wird. *Brauwelt* 106 (1966) 801-81.

- 
- <sup>40</sup> Brissart, R.; Bräuninger, S.; Haydon, S.; Morand, R.; Palmer, G. H.; Sauvage, R.; Seward, B.: Malting Technology. EBC Manual of Good Practice. Hans Carl (2000).
- <sup>41</sup> Leberle, H.: Die Technologie der Malzbereitung. Die Bierbrauerei. Bd. 1. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1952) 196.
- <sup>42</sup> Kieninger, H.: Untersuchungen zur Frage der Wärmebildung bei der Keimung von Gerste. Technische Hochschule München, Habilitationsschrift 1966.
- <sup>43</sup> Narziß, L.; Kieninger, H.: Die Weicharbeit im Lichte neuester Erkenntnisse. Brauwissenschaft 20 (1967) 1569-1582.
- <sup>44</sup> Kieninger, H.: Die Entwicklung der pneumatischen Mälzerei von der Sammelbelüftung zur Einzelbelüftung und kombinierter Mehrfachweiche. Der Weihenstephaner 34 (1967) 194-205.
- <sup>45</sup> Narziß, L.; Friedrich, G.: Der Einfluß des Mälzungsverfahrens auf die Steigerung der Enzymaktivität. II.: Keimversuche mit Gersten verschiedenen Weichgrades, Brauwissenschaft 23 (1970) 167-175, III.: Der Einfluss der „pneumatischen Weiche auf die Enzymaktivität, Brauwissenschaft 23 (1970) 229-234, IV: Einfluss der „fallenden Mälzung und des Wiederweichverfahrens auf die Enzymaktivität. Brauwissenschaft 23 (1970) 264-271.
- <sup>46</sup> Piendl, A.: Gärung und Atmung in ihrer technologischen und physiologischen Bedeutung für Gerste, Hefe und Mensch. Brauwissenschaft 21 (1968) 226-240.
- <sup>47</sup> Pollock, J. R. A.: Neue Mälzungsmethoden: Das Verfahren mit wiederholter Weiche. Brauwissenschaft 14 (1961) 816-819.
- <sup>48</sup> Brown, H. T.; Morris, G. H.: Research on the Germination of the *Gramineae*. J. Chem. Soc. 57 (1889) 459-528.
- <sup>49</sup> Haberlandt, G.: Die Kleberschicht des Gras-Endosperm als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 8 (1890) 40-48.
- <sup>50</sup> Briggs, D. E.: Origin and Distribution of  $\alpha$ -Amylase in Malt. J. Inst. Brew. 70 (1964) 14-24.
- <sup>51</sup> Gibbons, G. C.: On the Localization and Transport of  $\alpha$ -Amylase during Germination and early Seedling Growth of *Hordeum vulgare*. Carlsberg Res. Commun. 44 (1979) 353-366.
- <sup>52</sup> Gibbons, G. C.; Nielsen, E. B.: New Analyses in Malting and Brewing, J. Inst. Brew. 89 (1983) 8-14.
- <sup>53</sup> Yomo, H.: Studies on the Amylase Activating Action of Gibberellin. Hakkō Kyōkaishi 18 (1960) 600-602.
- <sup>54</sup> Paleg, L. G.: Physiological Effects of Gibberellic Acid. II. On Starch Hydrolyzing Enzymes of Barley Endosperm. Plant Physiol. 35 (1960) 902-906.
- <sup>55</sup> Cohen, D.; Paleg, L. G.: Physiological Effects of Gibberellic Acids. The Release of Gibberellin-like Substances by Germinating Barley Embryos. Plant Physiol. 42 (1967) 1288-1296.
- <sup>56</sup> Ranki, H.; Sopanen, T.: Secretion of  $\alpha$ -Amylase by the Aleurone Layer and the Scutellum of Germinating Barley Grain. Plant Physiol. 75 (1984) 710-715.
- <sup>57</sup> Mac Gregor, A. W.; Mac Dougall, F. H.; Mayer, C.; Dansant, J.: Changes in Levels of  $\alpha$ -Amylase Components in Barley Tissues during Germination and early Seedling Growth. Plant Physiol. 75 (1984) 203-206.
- <sup>58</sup> Wang, M.; Heimovaara-Dijkstra, S.; Van Duijij, B.: Modulation of Germination of Embryos isolated from Dormant and Nondormant Barley Grains by Manipulation of Endogenous Abscisic Acid. Planta 195 (1995) 586-592.
- <sup>59</sup> Moore, T. C.: Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Springer, New York u.a. (1989).

- 
- <sup>60</sup> Mauchner, H.; Hause, B.; Feussner, I.; Ziegler, J.; Wasternack, C.: Allene Oxide Synthases of Barley (*Hordeum vulgare* cv. *Salome*): Tissue Specific Regulation in Seedling Development. *Plant J.* 21 (2000) 199-213.
- <sup>61</sup> Feussner, I.; Wasternack, C.: The Lipoxygenase Pathway. *Annual Review of Plant Biology.* 53 (2002) 275-297.
- <sup>62</sup> Howe, G. A.; Lee, G. I.; Itoh, A.; Li, L.; DeRocher, A. E.: Cytochrom P450-Dependent Metabolism of Oxylipins in Tomato. Cloning and Expression of Allene Oxide Synthase and Fatty Acid Hydroperoxide Lyase. *Plant Physiol.* 123 (2000) 711-724.
- <sup>63</sup> Palmer, G. H.: Ultrastructure of the Cell Walls of the Transport Pathway for Gibberellic Acid in Barley Aleurone Layer. *J. Inst. Brew.* 104 (1998) 137-142.
- <sup>64</sup> Bruggeman, F. J.; Libbenga, K. L.; Van Duijn, B.: The Diffusive Transport of Gibberellins and Abscisic Acid Through the Aleurone Layer of Germinating Barley Grain: A Mathematical Model. *Planta* 214 (2001) 89-96.
- <sup>65</sup> Gilroy, S.; Jones, J. L.: Perception of Gibberellin and Abscisic Acid at the External Face of the Plasma Membrane of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Aleurone Protoplasts. *Plant Physiol.* 104 (1994) 1185-1192.
- <sup>66</sup> Preuß, T.: Technologische Maßnahmen zur Erzielung malzaromatischer dunkler Biere hoher Geschmacksstabilität nach Charakterisierung der Schlüsselaromastoffe in ausgewählten dunklen Bieren. Freising-Weihenstephan, TU-München, Dissertation 2001.
- <sup>67</sup> Forster, C.: Der Einfluß der Darrtechnologie auf die Malz- und Bierqualität. Freising-Weihenstephan, TU-München, Dissertation 1996.
- <sup>68</sup> Schwarz, P. B.; Pyle, R. E.: Lipoxygenase and Hydroperoxide Isomerase Activity of Malting Barley. *J. ASBC* (1984) 47-53.
- <sup>69</sup> Kaukovirta-Norja, A.; Laakso, S.: The Effect of Kilning on the Capability of Malt to Oxidise Lipids. *J. Inst. Brew.* 104 (1998) 327-332.
- <sup>70</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Koch, M.: Untersuchung über flüchtige Substanzen bei der Malz- und Bierbereitung - unter besonderer Berücksichtigung solcher, die durch thermische Belastung des Produktes entstehen. Teil 1: Analytik, Identifizierung, Geruchseindrücke. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 41 (1988) 344-352. Teil 2: Einfluß der Mälzungs- und Maischparameter. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 41 (1989) 232-242.
- <sup>71</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Schwill, A.; Schmidt, R.: Stickstoff-Heterocyclen im Malz, bei der Würzebereitung und im Bier. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 38 (1985) 128-136.
- <sup>72</sup> Wackerbauer, K.; Hardt, R.; Hendschuch, S.: Lox-Aktivität, Wiederkeimfähigkeit und hydroxylierte Fettsäuren in der Maische. *Brauwelt* 142 (2002) 442-447.
- <sup>73</sup> Van Waesberghe, J. M. W.: Die Keimfähigkeit von geputztem hellem Darmalz. *Brauwelt* 138 (1998) 1689-1691.
- <sup>74</sup> Ketterer, M.: Untersuchungen zum Fettstoffwechsel bei der Keimung und der hieraus resultierenden Metaboliten. Freising-Weihenstephan, TU-München, Dissertation 1994.
- <sup>75</sup> Galliard, T.: Enzymatic Degradation of Cereal Lipids. In: *Lipids Cer. Techn.*; Barnes, P. J. (Hrsg.): Academic Press, London (1983) 111-147.
- <sup>76</sup> Anness, B. J.: Lipids of Barley, Malt and Adjuncts. *J. Inst. Brew.* 90 (1984) 315-318.
- <sup>77</sup> Krauß, G.; Zürcher, C.; Holstein, H.: Die schaumzerstörende Wirkung einiger Malzlipide und ihr Schicksal im Verlauf des Mälzungs- und Brauprozesses. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 25 (1972) 113-123.

- 
- <sup>78</sup> Kaukovirta-Norja, A. R.; Kotiranta, P. K.; Aurola, A.-M.; Reinikainen, P. O.; Olkku, J. E.; Laasko, S. V.: Influence of Water Processing on the Composition, Behavior, and Oxidability of Barley and Malt Lipids. *J. Agric. Food Chem.* 46 (1998) 1556-1562.
- <sup>79</sup> Zürcher, C.: Isolierung einiger Lipide aus dem Malz und ihre quantitative Bestimmung in Würze und Bier. *Monatsschr. f. Brauerei.* 24 (1971) 276-284.
- <sup>80</sup> Gardner, H. W.: Decomposition of Linoleic Acid Hydroperoxides. Enzymic Reactions Compared with Nonenzymic. *J. Agric. Food Chem.* 23 (1975) 129-136.
- <sup>81</sup> Doderer, A.; Kokkelink, I.; Van der Veen, S.; Valk, B. E.; Douma, A. C.: Purification and Characterization of Lipoxygenase from Germinating Barley. *Proc. EBC Congr.* 23 (1991) 109-116.
- <sup>82</sup> Kaukovirta-Norja, A.; Laakso, S.: Lipolytic and Oxidative Changes of Barley Lipids During Malting and Mashing. *J. Inst. Brew.* 99 (1993) 395-403.
- <sup>83</sup> Robinson, D. S.; Zecai, W.; Domoney, C.; Casey, R.: Lipoxygenase and the Quality of Foods. *Food Chemistry* 54 (1995) 33-43.
- <sup>84</sup> Franke, W.; Frehse, H.: Autoxidation of Unsaturated Fatty Acids, VI. The Lipoxydase of Cereals, in Particular Barley. *Z. Phys. Chem.* 295 (1959) 333-338.
- <sup>85</sup> Yabuuchi, S.: Occurrence of a New Lipoxygenase in Germinating Barley Embryos. *Agric. Biol. Chem.* 40 (1987) 224-232.
- <sup>86</sup> Yang, G.; Schwarz, P. B.; Vick, B. A.: Purification and Characterization of Lipoxygenase Isoenzymes in Germinating Barley. *Cereal Chemistry* 70 (1993) 589-595.
- <sup>87</sup> Doderer, A.; Kokkelink, I.; Van der Veen, B.; Valk, B. E.; Schram, A. W.; Douma, A. C.: Purification and Characterization of Two Lipoxygenase Isoenzymes from Germination Barley. *Biochimica et Biophysica Acta* 112 (1992) 97-104.
- <sup>88</sup> Lulai, E. C.; Baker, C. W.: Physiochemical Characterization of Barley Lipoxygenase. *Cereal Chemistry* 53 (1976) 777-786.
- <sup>89</sup> Hugues, M.; Boivin, P.; Gauillard, F.; Nicolas, J.; Thiry, J.-M.; Richard-Forget, F.: Two Lipoxygenase from Germinated Barley – Heat and Kilning Stability. *J. Food Sci.* 59 (1994) 885-889.
- <sup>90</sup> Holtman, W. L. Vredenburg-Heistek, J. C.; Schmitt, N. F.; Feussner, I.: Lipoxygenase-2 Oxygenates Storage Lipids in Embryos of Germinating Barley. *European Journal of Biochemistry.* 248 (1997) 452-458.
- <sup>91</sup> Möller-Hergt, G.; Wackerbauer, K.; Tressl, R.; Garbe, L.-A.; Zufall, C.: Die Hydroxyfettsäuren in Würze und Bier. *Proc. EBC Congr.* 27 (1999) 123-132.
- <sup>92</sup> Hamberg, M.: Trihydroxyoctadecenoic Acids in Beer. Qualitative and Quantitative Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 39 (1991) 1568-1572.
- <sup>93</sup> Kuroda, H.; Kobayashi, N.; Kaneda, H.; Takashio, M.; Shinostuka, K.: Trihydroxyoctadecenoic Acids having Negative Effects on Beer Foam are Produced by Enzymatic Factors Present in Malt. *Proc. EBC Congr.* 28 (2001) 6.
- <sup>94</sup> Clarkson, S. P.; Large, P. J.; Bamforth, C. W.: A Two Substrate Kinetic Study of Peroxidase Cationic Isoenzymes in Barley Malt. *Phytochemistry* 31(1992) 743-749.
- <sup>95</sup> Hildebrand, D. F.; Grayburn, W. S.: *Plant Biochemical Regulators*; Grausman, H. W. (Hrsg.). New York (1989) 69-95.
- <sup>96</sup> Royo, J.; Vancanneyt, G.; Perez, A. G.; Sanz, C.; Störmann, K.: Characterization of Three Potato Lipoxygenases with Distinct Enzymatic Activities and Different Organspecific and Wound-Regulated Expression. *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 21012-21019.

- <sup>97</sup> Wilson, R. A.; Gardner, H. W.; Keller, N. P.: Cultivar-Dependent Expression of Maize Lipoxygenase Responsive to Seed Infesting Fungi. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14 (2001) 980-987.
- <sup>98</sup> Blée, E.: Phytooxylipins and Plant Defense Reactions. *Prog. Lipid Res.* 37 (1998) 33-72.
- <sup>99</sup> Rosahl, S.: Lipoxygenase in Plants – Their Role in Development and Stress Response. *Z. Naturforsch. C.* 51 (1996) 123-138.
- <sup>100</sup> Grechkin, A.: Recent Developments in Biochemistry of the Plant Lipoxygenase Pathway. *Prog. Lipid Res.* 37 (1998) 317-352.
- <sup>101</sup> Gardner, H. W.; Dornbos, D. L.; Desjardins, A. E.: Hexanal, *trans*-2-Hexanal, and *trans*-2-Nonenal Inhibit Soybean, *Glycine max*, Seed Germination. *J. Agric. Food Chem.* 38 (1990) 1316-1320.
- <sup>102</sup> Martel, C.; Kohl, S.; Boivin, P.: Lipoxygénase: Origine, Évolution et Consequence dans la Filière Malterie-Brasserie. *Proc. EBC Congr.* 23 (1991) 425-432.
- <sup>103</sup> De Buck, A.; Aerts, G.; Bonte, S.; Dupire, S.; van den Eynde, E.: Relation between Lipoxygenase Extraktion during Brewing, Reducing Capacity of the Wort and the Organoleptical Stability of Beer. *Proc. EBC Congr.* 26 (1997) 333-341.
- <sup>104</sup> Holtman, W. L.; Van Duijn, G.; Sedee, N. J. A.; Douma, A. C.: Differential Expression of Lipoxygenase in Embryos of Germinating Barley. *Plant Physiol.* 111 (1996) 569-576.
- <sup>105</sup> Billaud, C.; Garcia, R.; Boivin, P.; Nicolas, J.: Evolution des Activités Lipoxygénases et Polyphénoloxidasique des Différentes Variétés d'Orge au Cours de Maltage. *Proc. EBC Congr.* 26 (1997) 159-167.
- <sup>106</sup> Van Waesberghe, J. W. M.; Van Waesberghe, W. J. J. M.: The Impact of Lipoxygenase and Microflora Management on Flavour Stability. *EBC Monograph* 23 (1994) 44-61.
- <sup>107</sup> Hämäläinen, J. J.; Kaukovirta-Norja, A.; Reinikainen, P.; Olkku, J.: A Mathematical Model for Lipoxygenase Activity during Kilning of Malt. *Proc. EBC Congr.* 25 (1995) 201-208.
- <sup>108</sup> Kaukovirta-Norja, A.; Reinikainen, P.; Laakso, S.; Olkku, J.: Lipoxygenase Activity during Malting and Storage of Malt. *Proc. EBC Congr.* 25 (1995) 193-200.
- <sup>109</sup> Jamieson, A. M.; Van Gheluwe, J. E. A.: Identification of a Compound Responsible for Cardboard Flavor in Beer. *Proc. ASBC* (1970) 192-197.
- <sup>110</sup> Barker, R. L.; Gracey, D. E. F.; Irwin, A. J.; Pipasts, P.; Leiska, E.: Liberation of Staling Aldehydes During Storage of Beer. *J. Inst. Brew.* 89 (1983) 411-415.
- <sup>111</sup> Wackerbauer, K.; Hardt, R.: Radikalreaktionen und die Geschmacksstabilität des Bieres, *Brauwelt* 136 (1996) 1880-1888.
- <sup>112</sup> Hamberg, M.: Regio- and Stereochemical Analysis of Trihydroxyoctadecenoic Acids Derived from Linoleic Acid 9- and 13-Hydroperoxides. *Lipids* 26 (1991) 407-415.
- <sup>113</sup> Esterbauer, H.; Schauenstein, E.: Isomeric Trihydroxy-Octadecenoic Acids in Beer: Evidence for Their Presence and Quantitative Determination. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 164 (1977) 255-259.
- <sup>114</sup> Möller-Hergt, G.: Die Bedeutung der Hydroxyfettsäuren bei der Bierherstellung, TU Berlin, Dissertation 1999.
- <sup>115</sup> Wackerbauer, K.; Meyna, S.: Freie und Triglycerid-gebundene Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 50 (2002) 52-57.
- <sup>116</sup> Kobayashi, N.; Kaneda, H.; Kuroda, H.; Watari, J.; Kurihara, T.; Shinotsuka, K.: Behaviour of Mono-, Di- and Trihydroxyoctadecanoic Acids during Mashing and Methods of Controlling their Production. *J. Biosc. Bioeng.* 90 (2000) 69-73.

- <sup>117</sup> Garbe, L.-A.: Untersuchungen zum Metabolismus von Mono- und Dihydroxyfettsäuren in Hefen. TU Berlin Dissertation 2002.
- <sup>118</sup> Wackerbauer, K.; Meyna, S.; Pahl, R.: Das Nonenal-Potenzial von Würze und Bier. Brauwelt 142 (2002) 1826-1833.
- <sup>119</sup> Dalglish, C. E.; Flavour Stability. Proc. EBC Congr. 16 (1977) 623-659.
- <sup>120</sup> Menke, K. H.; Huss, W.: Tierernährung und Futtermittelkunde. 3. Aufl., Verlag Eugen Ulmer (1987).
- <sup>121</sup> Lermer, J. C.: Polytechnisches Journal. (1865). 71. Zitiert nach: Thausing, J. E.: Malzbereitung und Bierfabrikation 5. Aufl. Leipzig, J. M. Gebhardts Verlag (1898). 483.
- <sup>122</sup> Baumann, A.: Beiträge zur chemischen Kenntnis der Malzkeime. Zeits. f. d. ges. Brauw. 39 (1916) 363-365.
- <sup>123</sup> Fachverband der Futtermittelindustrie e.V. (Hrsg.): Mischfutter Tabellarium 2000. Selbstverlag (2000).
- <sup>124</sup> Lüers, H.: Die wissenschaftlichen Grundlagen aus Mälzerei und Brauerei. Carl, Nürnberg (1950) 296.
- <sup>125</sup> Jeroch, H.; Flachowsky, G.; Weißbach, F.: Futtermittelkunde. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart (1993).
- <sup>126</sup> Leitgeb, R.: Einsatz von industriellen Nebenprodukten in der Rinderfütterung. Handbuch der 28. Viehwirtschaftliche Fachtagung, (2001) 47-52.
- <sup>127</sup> Windisch, W.: Illustriertes Brauerei Lexikon. Zweiter Teil. Hayduck, F. (Hrsg.). Berlin, Paul Parey (1925) 157.
- <sup>128</sup> Reift, F. J.; Kautzmann, R.; Lüers, H.; Lindemann, M. (Hrsg.). Die Hefen in der Wissenschaft. Bd. 1, Verlag Hans Carl, 1960.
- <sup>129</sup> Methner, F.-J.: Optimierte Hefepropagation mittels kontinuierlicher Belüftung. Proc. EBC Congr. 27 (1999) 637-646.
- <sup>130</sup> Bonnely, S.; Peyreat-Maillard, M. N.; Masy, D.; Loiez, A.; Berset, C.: Production of an Antioxidant Extract from Malt Rootlets. Proc EBC Congr. 27 (1999) 469-477.
- <sup>131</sup> Einsiedler, F.: Experimentelle Untersuchung und Modellierung komplexer biochemischer und technologischer Prozesse am Beispiel des Maischens., Freising-Weihenstephan, TU München, Dissertation 1998
- <sup>132</sup> Bamforth, C. W.; Moore, J.; Proudlove, M. O.; Bartholome, B.; Williamson, G.: The Dissolution of  $\beta$ -Glucan: New Dimensions. Monatsschr. f. Brauwiss. 50 (1997) 90-95.
- <sup>133</sup> Herrmann, H.; Kantelberg, B., Wiesner, R.: Schrotsysteme mit Weichkonditionierung – Verfahrensweise – Neue Erkenntnisse. Brauwelt 137 (1997) 492-503.
- <sup>134</sup> Kieninger, H.: Über die Gewinnung und Zusammensetzung von Würze aus pulverisiertem Malz (Teil 1). Brauwelt 112 (1972), 75, 1535-1539. (Teil 2) Brauwelt 112 (1972) 1793-1798.
- <sup>135</sup> Schöffel, F.: Pulverisieren von Malz. Monatsschr. f. Brauerei 25 (1972), 10, 301-312.
- <sup>136</sup> Schneider, J.: Dynamische Mikrofiltration von Feinstschrotmaischen mit oszillierenden Membranen. TU München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 2001.
- <sup>137</sup> Richter, K.: Kontinuierliche Treberabtrennung aus Maische mit Dekantern unter Verwendung von Pulverschrot, TU München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 1998.
- <sup>138</sup> Wackerbauer, K.; Zufall, C.; Hölscher, K.: Der Einfluss von Hammermühlenschrot auf die Würze- und Bierqualität. Brauwelt 132 (1992) 1366-1374.
- <sup>139</sup> Richter, K.; Sommer, K.: Pulverschrot – Reaktionsgeschwindigkeiten beim Maischen. Monatsschr. f. Brauwiss. 47 (1994) 4-7.
- <sup>140</sup> Narziß, L.: Neue Erkenntnisse über Theorie und Praxis des Maischens. Brauwelt 112 (1972) 1027-1034.

- <sup>141</sup> Belitz, H.-D.; Grosch, W.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag, Berlin u.a. 1992.
- <sup>142</sup> Wagner, D.; Mändl, B.: Zum Einfluß der Maischbedingungen auf die Aminosäurenversorgung der Hefe. Brauwissenschaft 31 (1978) 213-221.
- <sup>143</sup> Enari, T. M.; Mikola, J.: Characterization of the Soluble Proteolytic Enzymes of Green Malt. Proc. EBC Congr. 11(1967) 9-16.
- <sup>144</sup> Barret, J.; Kirshop, B. H.: The Relative Contributions to Wort Nitrogenous Substances Solubilized During Malting and Mashing. J. Inst. Brew. 77 (1971), 39-42.
- <sup>145</sup> Heyse, K.-U. (Hrsg.): Handbuch der Brauerei-Praxis. 3. Aufl., Getränke-Fachverlag Hans Carl, Nürnberg (1994).
- <sup>146</sup> Bamforth, C.: Does Solubilase Exist? Brewers Guardian, 131 (2002) 7, 26-29.
- <sup>147</sup> Greffin, W.; Krauß, G.: Schrotten und Läutern – Arbeiten mit konventioneller Trockenschrotmühle und Läuterbottich. Brauwissenschaft 31 (1978) 192-212.
- <sup>148</sup> Narziß, L.; Miedaner, H.; Eßlinger, M.: The Effect of Free Amino Nitrogen on Fermentation and Beer Flavour. EBC Monograph (1981), 157-165.
- <sup>149</sup> Lustig, S.: Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflußung beim Brauprozeß. TU München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 1994.
- <sup>150</sup> Van Waesberghe, J. W. M.: Practical Investigations on the Possible Impact of Mash Separation Time on Beer Flavor and its Flavor Stability. Influence of the Husk Fraction. MBAA Techn. Quat. 28 (1991) 33-37.
- <sup>151</sup> Zangrando, T.: Klarheit der Läuterbottichwürze und Bierqualität. Brauwelt 116 (1976) 1315-1316.
- <sup>152</sup> Ahveneinen, J.; Vilpola, A.; Mäkinen, V.: Der Einfluß der Läuterarbeit auf Brauprozeß und Brauqualität. Monatsschr. für Brauwiss. 36 (1983) 69-73.
- <sup>153</sup> Narziß, L.; Weigt, K.: Über Trübung und Trübstoffgehalt der Würze beim Abläutern mit verschiedenen Systemen. Brauwelt 120 (1980) 409-416.
- <sup>154</sup> Grill, W.; Püspök, J.: Die freien höheren Fettsäuren bei der Verarbeitung von Rohfrucht. Proc. EBC Congr. 16 (1977) 195-209.
- <sup>155</sup> Bender, G. Freie Fettsäuren und ihre Äthylester im Verlauf des Brauprozesses, insbesondere bei der Gärung. TU Berlin, Dissertation 1983.
- <sup>156</sup> Narziß, L.; Mück, E.: Der Einfluß langkettiger, freier Fettsäuren auf die Geschmackssabilität des Bieres. Monatsschr. f. Brauwiss. 39 (1986) 296-300.
- <sup>157</sup> Manger, H.-J.: Rohstoffzerkleinerung und das Einmaischen unter Beachtung der Oxidation. Brauerei Forum 16 (2001) 79-82.
- <sup>158</sup> Yamaguchi, I.; Ueda, T.; Ujihara, S.; Yamada, M.; Sukushima, S.: A new Mashing-in System that Reduces Oxygen Uptake. Proc. EBC Congr. 26 (1997), 257-266.
- <sup>159</sup> Eichhorn, P.: Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. TU-München, Freising-Weihenstephan. Dissertation 1991.
- <sup>160</sup> Lie, S.; Grindem, T.; Jabobsen, T.: Oxygen Absorption in the Brewhouse, A Quantitative Study. Proc. EBC Congr. 16 (1977) 235-254.
- <sup>161</sup> Zürcher, C; Gruß, R.: Sauerstoffaufnahme beim Maischen und Läutern. Brauwelt 129 (1989) 10-15.
- <sup>162</sup> Künzel, W.: Technologische, qualitative und ökologische Aspekte in der modernen Schrotung. Brauwelt 138 (1998) 407-410.



- <sup>163</sup> Lauer, O.: Zerkleinerung und Windsichtung in der Nahrungsmitteltechnik. ZFL 5 (1983) 415-425; ZFL 6 (1983) 511-515.
- <sup>164</sup> Höffl, K.: Zerkleinerungs- und Klassiermaschinen. Berlin, Schlütersche Verlag-Anst. Hannover 1990.
- <sup>165</sup> Prabhasankar, P.; Rao, P. H.: Effect of Different Milling on Chemical Composition of Whole Wheat Flour. Eur. Food Res. Technol. 213 (2001) 465-469.
- <sup>166</sup> Van Waesberghe, J.; Aerts, G.; De Cooman, L.: Flavour Stability Starts with Malt and Compensations in the Brewhouse for LOX and Aldehydes. EBC Monograph 31 (2002) 6.
- <sup>167</sup> Lustig, S.: Sudhaustechnik auf dem Weg ins neue Jahrtausend. VLB Oktobertagung 2000. Brauerei Forum 15 (2000) 343-344.
- <sup>168</sup> Täuber, J.: ehem. Mitarbeiter der Fa. Künzel, Mainleus. Mündliche Mitteilung vom 19.03.2002
- <sup>169</sup> Ferstl, F.: Ermittlung von Einflussfaktoren auf die Betriebsgrenzen einer Naßschrotmühle Typ Variomill. Diplomarbeit (2001). TU-München, Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I. Freising-Weihenstephan.
- <sup>170</sup> Menger, H. J.; Salzgeber, B.; Pieper, H. J.: Dispergiermaischverfahren: Optimierung des mechanischen Stärkeaufschlusses. Brauwelt 138 (1998) 2146-2151.
- <sup>171</sup> Manger, H.-J.: Geschmacksstabilität und Sensorik: Einflussmöglichkeiten im Sudhaus. Brauerei Forum 15 (2000) 255-258.
- <sup>172</sup> Biche, J.; Harmegnies, F.; Tigel, R.: Mouture sous Eau. Proc. EBC Congr. 27 (1999) 593-602.
- <sup>173</sup> Yang, G.; Schwarz, P. B.: Activity of Lipoxygenase Isoenzymes during Malting and Mashing. J. ASBC 53 (1995) 45-49.
- <sup>174</sup> Kobayashi, N.; Kaneda, H.; Kano, Y.; Koshina, S.: Determination of Fatty Acid Hydroperoxides Produced During the Production of Wort. J. Inst. Brew. (1993) 143-146.
- <sup>175</sup> Anness, B. J.; Reed, R. J. R.: Lipids in the Brewery – A Material Balance. J. Inst. Brew. 91 (1985) 82-87.
- <sup>176</sup> Kobayashi, N.; Kaneda, H.; Kano, Y.; Koshina, S.: The Production of Linoleic and Linolenic Acid Hydroperoxides During Mashing. J. of Fermentation and Bioengineering 5 (1993) 371-375.
- <sup>177</sup> Kobayashi, N.; Kaneda, H.; Kano, Y.; Koshino, S.: Behaviour of Lipid Hydroperoxides During Mashing. J. ASBC (1994) 141-145.
- <sup>178</sup> Bamforth, C. W.; Clarkson, S. P.; Large, P. J.: The Relative Importance of Polyphenol Oxidase, Lipoxygenase and Peroxidases During Wort Production. Proc. EBC Congr. 23 (1991) 617-625.
- <sup>179</sup> Noël, S.; Liégeois, C.; Lermusieau, G.; Bodart, E.; Badot, C.; Collin, S.: Release of Deuterated Nonenal During Beer Aging from Labeled Precursors Synthesized in the Boiling Kettle. J. Agric. Food Chem. 47 (1999) 4323-4326.
- <sup>180</sup> Busto, M. D.; Owuso, A. R. K.; Robinson, D. S.; Wu, Z.; Casey, R.; Hughues, R. K.: Kinetics of Thermal Inactivation of Pea Seed Lipoxygenase and the Effect of Additives on Their Thermostability. Food Chem. 65 (1999) 323-329.
- <sup>181</sup> Walker, M. D.; Hughes, P. S.; Simpson, W. J.: Use of Chemiluminescence-HPLC for Measurement of Positional Isomers of Hydroperoxy Fatty Acids in Malting and the Protein Rest Stage of Mashing. J. Food Sci. Agric. 70 (1996) 341-346.
- <sup>182</sup> Narziß, L.; Sekin, Y.: Über das Verhalten der Lipase während des Mälzungs- und Brauprozesses. Brauwissenschaft 27 (1974) 311-317.
- <sup>183</sup> Tressl, R.: Neue Erkenntnisse über den Lipidstoffwechsel. 86. Brau- und maschinentechnische Arbeitstagung der VLB 8. -11. März 1999, Salzburg, Österreich.

- 
- <sup>184</sup> Drost, B. W.; Duidan, L.; Hoekstra, S. F.; Strating, G. J.: Trihydroxyoctadenoic Acids in Wort and Beer. *MBAA Techn. Quat.* 11 (1974) 127-133.
- <sup>185</sup> Wackerbauer, K.; Meyna, S.: Evolution of Oxygenated Fatty Acids During the Malting Process. *EBC Monograph* 31 (2002) 5.
- <sup>186</sup> Wackerbauer, K.; Meyna, S.; Westphal, M.: Veränderung von Gerste und Malz während der Lagerung und Auswirkungen auf die Geschmacksstabilität der hergestellten Biere *Monatsschr. f. Brauwiss.* 56 (2003) 27-33.
- <sup>187</sup> Möller-Hergt, G.; Roderfeld, H.-J.; Waterkamp, H.-J.: Changes in Hydroxy Fatty Acids and other Ageing Relevant Compounds in Wort and Beer Depending on Storage of Malt and Barley. *EBC Monograph* 31 (2002) 8.
- <sup>188</sup> Yasui, T.; Takeuchi, T.; Kobori, Y.; Matsuura, C.; Ohkochi, M.: Formation of Trans-2-Nonenal During Wort Production. Oral Presentation at World Brewing Congress 2000, Orlando.
- <sup>189</sup> Kaukovirta-Norja, A.; Poyri, S.; Reinikainen, P.; Olkku, J.; Laakso, S.: Lipoxygenase Reactions of Malt and Filterability of Wort. *Proc. 25<sup>th</sup> Conv. Inst. Brew; Asia-Pacific Section* (1998) 196-197.
- <sup>190</sup> Miedaner, H.: Untersuchungen zur Glattwassernutzschwelle beim Abläutern. *Handbuch zum 36. Technologischen Seminar 2003. Freising-Weihenstephan.* 12 (2003) 1-5.
- <sup>191</sup> Yasui, T.; Matsuura, C.; Hori, T.; Ogawa, Y.; Ohkochi, M.: Importance of Raw Materials and the Wort Production Process on Trans-2-Nonenal Formation in Beer. *EBC Monograph* 31 (2002) 8.
- <sup>192</sup> Narziß, L.; Back, W.; Miedaner, H.; Takahashi, Y.: Pilotversuche über den Einfluß verschiedener Maischparameter auf die Eigenschaften der Würze und des Bieres unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 54 (2000) 204-216.
- <sup>193</sup> Dickel, T.; Krottenthaler, M.; Back, W.: Untersuchungen zum Einfluß des Kühltrubeintrages auf die Bierqualität. *Monatsschr. f. Brauwiss.* 53 (2000) 95-100.
- <sup>194</sup> Narziß, L., Back, W.: *Abriß der Bierbrauerei.* 6. Auflage. Enke Verlag Stuttgart (1995)
- <sup>195</sup> Donhauser, S.; Schauburger, W.; Geiger, E.: Verhalten von Zink während der Würzebereitung. *Brauwelt* 123 (1983) 516-522.
- <sup>196</sup> Siebert, K. J.; Troukhanova, N. V.; Lynn, P. Y.: Nature of Polyphenols Protein Interactions. *J. Agric. Food Chem.* 44 (1996) 80-85.
- <sup>197</sup> Bamforth, C. W.: Beer Haze. *J. ASBC* 57 (1999) 81-90.
- <sup>198</sup> Narziß, L.; Reicheneder, E.; Barth, D.: Über den Beitrag von hochmolekularen Proteinfractionen und Glykoproteiden zum Bierschaum, *Monatsschr. f. Brauwiss.* 35 (1982) 213-221.
- <sup>199</sup> Lusk, L. T.; Goldstein, H.; Ryder, D.: Individual Role of Beer Proteins, Melanoidins and Polysaccharides in Foam Formation. *J. ASBC* 53 (1999) 93-103.
- <sup>200</sup> Bamforth, C. W.: Bringing Matters to a Head: The Status of Research on Beer Foam. *EBC Monograph* 27 (1999) 10-23.
- <sup>201</sup> Evans, D. E.; Sheehan, M.: Don't Be Fobbed Off: The Substance of Beer Foam – A Review. *J. ASBC* 56 (2002) 47-57.
- <sup>202</sup> Stamm, M.: Enzymchemische und technologische Untersuchungen über den Einfluss von Hefeenzymen – speziell Hefeproteinase auf den Bierschaum. TU-München, Freising-Weihenstephan, Dissertation 2001.
- <sup>203</sup> Thum, B.: Modellversuche zur Bildung von Carbonylverbindungen bei der Lagerung von Bier. TU München, Freising-Weihenstephan. Dissertation 1997.

- 
- <sup>204</sup> Hashimoto, N.; Kuroiwa, Y.: Proposed Pathways for the Formation of Volatile Aldehyds during Storage of Bottled Beer. J. ASBC 29 (1975) 104-111.
- <sup>205</sup> Drost, B. W.; Duindam, J.; Hoekstra, S. F.; Strating, J.: Role of Individual Compounds in Beer Staling. MBAA Techn. Quat. 11 (1974) 127-134.
- <sup>206</sup> Van den Meersche, J.; Blockmans, C.; Devreux, A.; Masschelein, C. A.: Formation de Trans-2-Nonenal par Photo-Oxidation des Acides Octadecenoiques Hydroxyles. Proc EBC Congr. 19 (1983) 525-531.
- <sup>207</sup> Rangel-Aldao, R.; Bravo, A.; Galindo-Castro, I.; Sanchez, B.; Reverol, L.; Scherer, E.; Madrid, J.; Ramirez J. L.; Herrera, J.; Penttilä, M.; Vehkomäki, M.-L.; Vidgren, V.; Virtanen, A.; Home, S.: Beer Flavor Stabilization through the Control of Maillard Reaction Intermediates. EBC Monograph 31 (2002) 10.
- <sup>208</sup> Collin, S.; Liégeois, C.; Noël, S.; Lermusieau, G.: Libération de Nonéna Deutére par Voie Non Oxidative à Partir de Précurseurs créés en Chaudière d'Ébullition. Proc. EBC Congr. 27 (1999) 113-122.
- <sup>209</sup> Belitz, H.-D.; Grosch, W.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Berlin u.a., Springer (1992).
- <sup>210</sup> Nakamura, T.; Franz, O.; Back, W.: pH-Dependence of Radical Scavenging Activity of Polyphenols, Phenolic Acid and Sulfite. Proc. EBC Congr. 28 (2001) 65.
- <sup>211</sup> Nordlöv, H.; Winell, B.: Beer Flavour Stabilization by Interaction Between Bisulfite and trans-2-Nonenal. Proc. EBC-Congr. (1983) 271-278.
- <sup>212</sup> Surrey, K.: Spectrophotometric Method for Determination of Lipoxidase Activity. Plant. Physiol. 101 (1964) 65-70.
- <sup>213</sup> Kermasha, S.; Metche, M.: Characterization of Seed Lipoxygenase from *Phaseolus vulgaris* cv. *Haricot*. J. Food Sci. 51 (1986) 1224-1227.
- <sup>214</sup> Pfenninger, H. (Hrsg.) Brautechnische Analysenmethoden. Methodensammlung der MEBAK. Band I. 3. Aufl. (1997), Miedaner H. (Hrsg.) Band II. 4. Aufl. (2002), Band III. 2. Aufl. (1996). Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan.
- <sup>215</sup> Sekhar, R. K. C.; Divakar, S.; Appu, A. G.; Karanth, N. G.; Sattur, A. P.: Lipoxygenase Inhibitor from *Lactobacillus casei*. Biotechnology Letters. 24 (2002) 511-513.