

K. Wackerbauer und S. Meyna

# Freie und triglycerid-gebundene Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz

## II. Die Entwicklung während des Mälzungsprozesses

In einer vorhergehenden Veröffentlichung konnte gezeigt werden, dass ein erheblicher Anteil an Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz verestert als Triglycerid vorliegt. Darüber hinaus konnte in den untersuchten Gerstenproben stets eine höhere Konzentration an diesen triglycerid-gebundenen, oxygenierten Fettsäuren als in dem korrespondierenden Malz gefunden werden. Die Untersuchung von vier verschiedenen Gerstenarten in Bezug auf die Entwicklung der Menge an diesen möglichen Vorläufersubstanzen des Alterungsgeschmackes während des Mälzungsprozesses zeigte eine starke Konzentrationszunahme während des Keimungsprozesses, mit einem Maximum am fünften oder sechsten Keimtag. Eine länger geführte Keimung führte sodann in den meisten Fällen wieder zu einer Abnahme an besagten, veresterten Substanzen. Im Rahmen des Schwelkens kam es zu einer starken Abnahme an allen Klassen von Hydroxyfettsäuren, gefolgt von geringfügigen Zunahmen beim folgenden Abdarren. Der Vergleich dreier verschiedener Abdarrtemperaturen, namentlich niedrige 70 °C, übliche 85 °C und hohe 100 °C lieferte, dass die Menge an THOE bei 85 °C am niedrigsten ist. Die Variation anderer Mälzungsparameter, wie z. B. der Keimzeit und -temperatur oder des Weichgrades führte ebenfalls zu merklichen Änderungen in der Konzentration an den Produkten oxidierter Linolsäure, wobei allerdings nicht generell von einem für alle Gerstensorten einheitlichen Mälzungsverfahren, welches niedrige Mengen an, insbesondere THOE mit sich bringt, ausgegangen werden kann.

BC 11 Gerste

(Deskriptoren: Lipidoxidation, Hydroxyfettsäuren, Geschmacksstabilität, Lipoxygenase, Mälzungsprozess, Abdarrtemperatur)

Descriptors: Lipid oxydation, hydroxy fatty acid levels, flavour stability, lipoxygenase, malting process, kilning temperature).

### 1 Einleitung

Eine Reihe von Autoren beschäftigten sich in der Vergangenheit mit der Messung der Lipoxygenasen-Aktivitäten in keimender Gerste und während des Schwelkens und Abdarens. LOX 1 und LOX 2 gelten dabei als Schlüsselenzyme für die Lipidoxidation, welcher ihrerseits eine wichtige Rolle bei der Bildung von Vorläufersubstanzen der Alterungscarbonyl im späteren Bier zugeschrieben wird (1 – 5). Obwohl hier oftmals unterschiedliche Ergebnisse gefunden wurden, was sicherlich hauptsächlich auf die Verwendung differierender Analysemethoden zurückzuführen ist, beispielsweise bei einem Vergleich der Veröffentlichungen von *Kaukovirta-Norja* et al. und *Schwarz* et al., so ist es doch allgemein anerkannt, dass der Mälzungsprozess an sich einen starken Einfluss auf das spätere Alterungspotential des Malzes und somit auch des Bieres ausübt (3, 5).

Sauerstoffaufnahme, Bildung von Antioxidantien, wie z. B. des Schwefeldioxids während der Gärung, und Parameter der Bierlagerung, beispielsweise Licht-, Temperatur- und Bewegungseinflüsse, sind klassische Aspekte der Geschmacksstabilität in der Brauerei. Aber in Bezug auf die durch Lipoxygenasen katalysierte Oxidation von Linolsäure ist dort wenig, wenn nicht sogar gar keine, Beeinflussung möglich, denn der „LOX-Pathway“ ist wesentlicher Bestandteil der Gerste auf dem landwirtschaftlichen Feld bzw. des Mälzungsprozesses, weniger des Brauprozesses, insbesondere dann, wenn – wie heutzutage üblich – bei Temperaturen um die 60 °C, bei gut gelösten Malzen, eingemaischt wird. Die Inaktivierung von LOX 1 erfolgt bereits nach ca. 5 min bei 55 °C, die von LOX 2 nach etwa 5 min bei 65 °C, wie *Yang* et al. zeigten (2). Ferner hat LOX 1 bei einem üblichen Maische-pH-Wert von ca. 5,2 nur noch knapp unter 50% der Maximalaktivität und LOX 2 nur noch etwa um die 40% (2).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass ein wesentlicher Anteil an Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz verestert in Form von Triglyceriden vorliegt. Außerdem konnten in den meisten Fällen höhere Konzentrationen an triglycerid-gebundenen Produkten der Linolsäureoxidation in der Gerste als in dem korrespondierenden Malz gemessen werden. Um hier einen tiefergehenden Einblick in die Entwicklung dieser möglichen Vorläufersubstanzen des späteren Alterungsgeschmackes zu gewinnen, wurden vier verschiedene Gerstenarten in einer Versuchsanlage vermälzt und die Konzentrationen der Hydroxyfettsäuren in jedem Prozessschritt bestimmt. Bei den Gerstenarten handelt es sich um zwei Chargen der Sommergerste „Barke“, jeweils der Ernte 1999 und 2000, sowie ein Muster der Sorte „Alexis“ der Ernte 1999 und eine Probe von „Scarlett“ der Ernte 2000.

**2 Standard-Mälzungsverfahren**

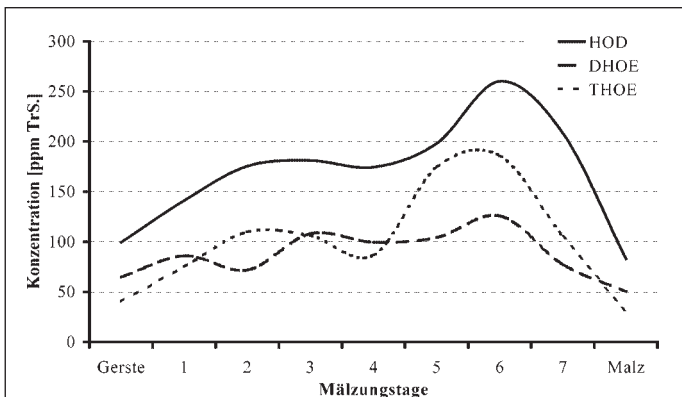
Das zur Anwendung kommende Standard-Mälzungsverfahren ist charakterisiert durch eine Lufttemperatur von 14 °C während des Weichens und Keimens, bei einer relativen Feuchte von 90%. Am ersten Mälzungstag wird der Wassergehalt durch eine 3,5 h bis 5 h dauernde Weiche auf 38% eingestellt. Diese 38% Weichgrad werden dann den gesamten nächsten Tag gehalten, um am dritten Tag auf 45% erhöht zu werden. Dieser Wassergehalt von 45% wird bis zum siebten Keimtag beibehalten. Anschließend erfolgt die Beladung der Darre und ein 11 h dauerndes Schwelkprogramm, bis eine Temperatur von 55 °C über der Horde erreicht ist. Innerhalb von 30 min wird schließlich die Darrtemperatur auf 85 °C erhöht und für weitere vier Stunden gehalten.

**3 Ergebnisse**

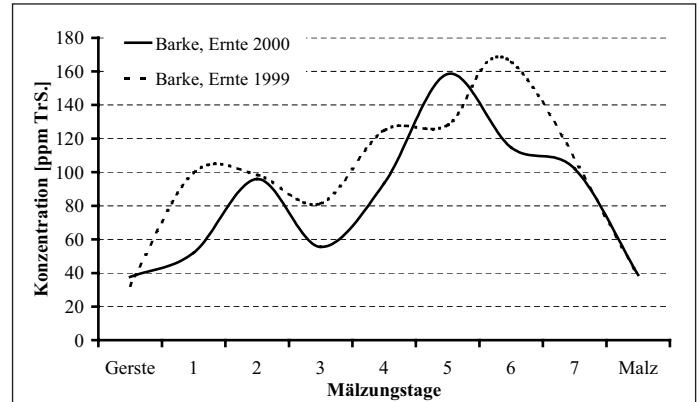
Zunächst ist ein deutlicher Anstieg aller drei Klassen von triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren während des Weichens und Keimens gegeben. Ein Maximalwert wird dabei am fünften oder sechsten Mälzungstag erreicht, also überraschenderweise nicht am letzten Tag. Der Verlauf der Konzentration am Beispiel der Sorte „Alexis“ in Abbildung 1 zeigt diese deutliche Abnahme vom sechsten zum siebten Keimtag. Die höchste Konzentration an HOD mit über 250 ppm TrS. wird am sechsten Keimtag erzielt. Die DHOE besitzen hier etwa eine Menge von 125 ppm TrS., wohingegen die THOE sogar einen Wert von etwa 200 ppm TrS. erzielen. Einen Tag später fallen alle Konzentrationen um mehr als 50 ppm ab, im Falle der THOE sogar um 100 ppm, wie aus Abbildung 1 ersichtlich.

Weiterhin auffällig ist die Tatsache, dass die Menge an Trihydroxyfettsäuren diejenige an Dihydroxyfettsäuren, insbesondere am fünften und sechsten Keimtag, übersteigt, obwohl in der Gerste und dem fertigen Malz stetes deutlich höhere Anteile an DHOE gegenüber THOE gefunden werden können. Diese starke Entwicklung der THOE kann auch für die anderen drei untersuchten Gerstenarten gefunden werden: Es ergibt sich stets ein Maximum am fünften oder sechsten Keimtag, wie Abbildung 2 am Beispiel der Sorte „Barke“ aus zwei verschiedenen Jahrgängen zeigt.

Interessant ist der Umstand, dass nach dem Weichen und der Erhöhung des Weichgrades auf 38 %, also zwischen dem zweiten und dritten Keimtag, wieder eine kleine Verminderung der Menge an THOE eintritt, welche aber gefolgt wird von einer erneut starken Zunahme mit der Erhöhung des Wassergehaltes auf 45%.



**Abb. 1** Verlauf der Hydroxyfettsäuren während des Mälzens am Beispiel von „Alexis“

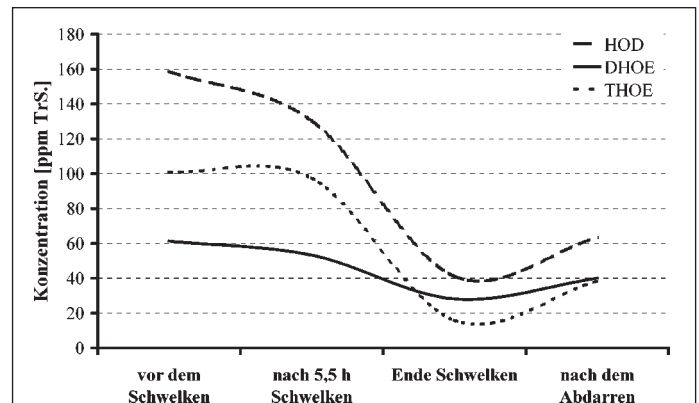


**Abb. 2** Entwicklung der THOE während des Mälzungsprozesses

Ferner ist erkennbar, dass der Schwelk- und Darrprozess einen entscheidenden Einfluss haben muss, denn während dieser Verfahrensschritte ist eine starke Abnahme der triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren zu verzeichnen.

Aufgrund dessen wurden während der Schwelkens und Darrens erneut Proben genommen, um den Verlauf der Konzentrationen an Substanzen oxidierte Linolsäure detaillierter zu verfolgen. Während der ersten Hälfte des Schwelkens ändert sich deren Konzentration nur geringfügig, insbesondere in Bezug auf DHOE und THOE, wohingegen die Menge an HOD im Falle von beispielsweise „Barke“ um etwa 20 ppm abnimmt. Nach 11 Stunden Schwelkdauer, also vor dem Abdarrbeginn, ist demgegenüber eine erhebliche Verminderung der Menge an allen oxygenierten Fettsäuren festzustellen. Zusätzlich sinkt nun der Level der THOE, welcher zuvor über dem der DHOE lag, unter die Konzentration der Dihydroxyfettsäuren ab. Im Verlauf des Abdarrs schließlich kommt es zu einer erneuten leichten Erhöhung der triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren, wie Abbildung 3 darstellt.

Die getroffenen Aussagen gelten ebenso für die drei anderen Varietäten, welche am Beispiel der THOE in Abbildung 4 dargestellt sind: Erneut ist nur eine geringe Änderung während der ersten Hälfte des Schwelkens zu beobachten, gefolgt von einem beträchtlichen Absinken im zweiten Teil des Prozesses. Und wieder gibt es einen leichten Anstieg der THOE beim Abdarren.



**Abb. 3** Konzentration der Hydroxyfettsäuren beim Darren am Beispiel von „Barke“, Ernte 2000

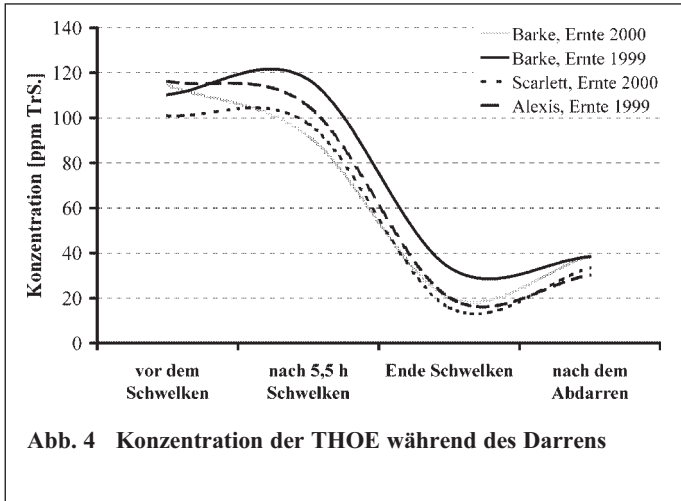


Abb. 4 Konzentration der THOE während des Darrens

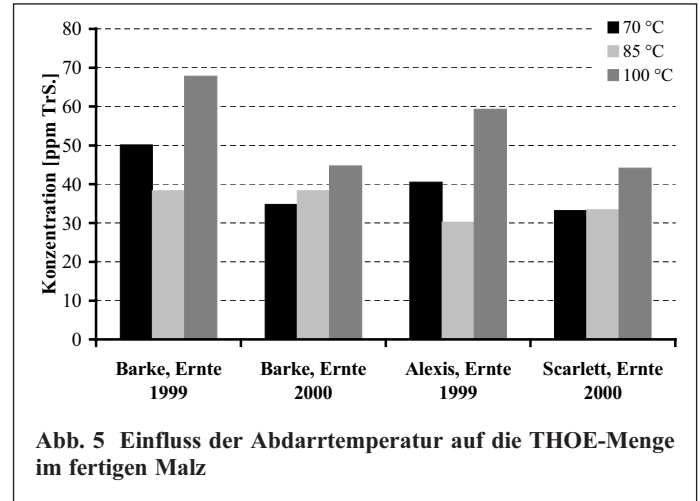


Abb. 5 Einfluss der Abdarrtemperatur auf die THOE-Menge im fertigen Malz

Das unerwartete Ergebnis eines Anstiegs der Konzentration an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren mit dem Abdarren führt zu einer genaueren Betrachtung des Einflusses der Abdarrtemperatur. Eine Untersuchung der Wirkung von drei verschiedenen Abdarrgraden, nämlich geringe 70 °C, üblich 85 °C und hohe 100 °C, auf alle vier Gerstenarten, zeigt ein uneinheitliches Bild im Hinblick auf die HOD und DHOE. Die Wirkung auf die Trihydroxyfettsäuren ist allerdings uniform, denn in allen vier Fällen zeigt das bei 100 °C abgedarrte Malz den höchsten Gehalt an THOE. Die Minima liegen demgegenüber in zwei Fällen bei 85 °C, wohingegen sich für die anderen beiden Proben gleich niedrige Werte für 70 °C und 85 °C ergeben. Eine Abdarrtemperatur von 85 °C scheint somit am günstigsten für einen niedrigen THOE-Gehalt im Malz zu sein, wie Abbildung 5 noch einmal graphisch darstellt.

Es wurde bereits gezeigt, dass neben dem Schwelken und Abdarren auch die Keimzeit ein entscheidender Faktor bezüglich der Menge an oxigenierten Fettsäuren in Malz ist. Eine Untersuchung von zwölf verschiedenen Sommergersten und zehn verschiedenen Wintergersten der Ernte 1999, welche jeweils sechs und

sieben Tage vermälzt wurden, zeigt, dass – unabhängig von Sorte und Provenienz – in den meisten Fällen höhere Mengen an oxidierten Linolsäure in den Malzen nach sechs Keimtagen gegenüber denen nach sieben Keimtagen gefunden werden können, wie Tabelle 1 darstellt.

Ein ähnliches Ergebnis liefert die Betrachtung der Wintergersten. Auch hier zeigen die Proben nach sechs Keimtagen in der Regel höherer Werte an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren als nach sieben Keimtagen, wie Tabelle 2 wiedergibt.

Diese Resultate stehen im Einklang mit den zu Beginn getroffenen Verläufen an Hydroxyfettsäuren während des Mälzungsprozesses. Dort wurde gezeigt, dass vom sechsten zum siebten Keimtag ein starker Abfall der Konzentration an allen Klassen von oxigenierten Fettsäuren vonstatten geht.

Eine Betrachtung weiterer Mälzungsparameter, d. h. Weichgrad, Keimtemperatur und Keimzeit in sieben verschiedenen Kombinationen, am Beispiel der Sorte „Alexis“, zeigt ferner, dass eine höhere Keimtemperatur von 18 °C, bei sonst gleichen Bedingungen, zu niedrigeren Gehalten an THOE im Vergleich zur Stan-

Sorte	Malz nach sechs Keimtagen			Malz nach sieben Keimtagen		
	HOD	DHOE	THOE	HOD	DHOE	THOE
Alexis	70.7	60.7	35.5	60.2	30.4	24.4
Scarlett A	72.6	45.6	38.4	66.7	40.1	32.7
Scarlett B	73.4	45.3	35.1	65.2	34.2	18.8
Scarlett C	78.7	50.3	36.8	61.9	36.2	18.4
Scarlett D	76.9	45.4	34.2	65.1	43.2	29.9
Barke	76.7	37.9	30.3	66.0	37.3	27.3
Krona	77.5	35.1	19.4	78.5	42.3	35.2
Cork	86.7	37.4	30.2	80.6	40.5	26.6
Optic A	78.0	39.6	28.6	74.3	25.5	29.0
Optic B	89.1	55.5	40.4	77.1	35.7	27.0
Prisma	75.5	42.5	34.2	74.9	20.5	15.6
Nevada	80.2	40.7	31.7	67.8	45.2	28.4

Sorte	Malz nach sechs Keimtagen			Malz nach sieben Keimtagen		
	HOD	DHOE	THOE	HOD	DHOE	THOE
Tiffany	89.5	52.9	39.1	71.2	38.7	21.3
Angora	76.7	34.7	22.6	72.4	50.6	24.7
Clarine A	69.4	45.9	43.8	69.4	43.6	24.3
Clarine B	74.4	51.0	44.8	69.6	27.6	35.3
Platine	82.0	42.9	45.9	83.5	49.0	28.5
Plaisant A	77.9	47.5	32.6	74.3	32.8	22.8
Plaisant B	77.9	45.3	27.2	69.8	46.4	27.0
Esterel A	65.1	43.0	32.7	59.9	38.8	24.2
Esterel B	59.9	38.8	26.0	56.5	32.9	30.8
Esterel C	80.1	47.1	35.8	88.0	57.7	32.0

darmälzung führt, wie Abbildung 6 zeigt. Aber auch andere Kombinationen führen zu niedrigeren Mengen an THOE, wie z. B. eine höherer Weichgrad von 50%, kombiniert mit einer Keimtemperatur von 18 °C und einer längeren Keimzeit. Ein Anstieg der Trihydroxyfettsäuren im Vergleich zur Standardmälzung ergibt sich demgegenüber beispielsweise bei einem Schema mit von 18 °C fallender Keimtemperatur und einer siebentägigen Keimzeit.

Diese Parameter sind jedoch nicht unabhängig von der Gerstensorte. Vielmehr scheint es so, dass sich verschiedene Kombinationen von Mälzungsparametern unterschiedlich auf differierende Gerstensorten auswirken. Betrachtet man beispielsweise die Sorte „Barke“ im Hinblick auf obige Änderungen der Mälzungsparameter, so ergibt sich eine völlig anderer Auswirkung, d. h. diejenigen Größen, die im Fall von „Alexis“ zu niedrigen Gehalten an z. B. THOE führten, produzieren bei „Barke“ sogar höhere Werte, wenngleich aber auch hier eine höhere Keimtemperatur von 18 °C bei sonstiger Beibehaltung der Standardparameter, zu den niedrigsten Konzentrationen an THOE führt.

#### 4 Diskussion

Es konnte gezeigt werden, dass alle untersuchten Mälzungsparameter einen deutlichen Einfluss auf die Menge an triglyceridgebundenen Hydroxyfettsäuren ausüben. Die beschriebenen Entwicklungen dieser möglichen Vorstufen des Alterungsgeschmacks stehen im Einklang mit den in der Literatur dargestellten Verläufen der Lipoxygenasenaktivität über den Mälzungsprozess, mit Ausnahme der Tatsache des leichten Anstiegs der Hydroxyfettsäuren während des Abdarrrens. Ein möglicher Grund hierfür könnten autoxidative Lipidperoxidationsreaktionen sein, welche sicherlich bei den relativ hohen Abdarrtemperaturen forciert ablaufen. Des Weiteren könnte dies auch den quantitativ stärkeren Anstieg der oxygenierten Fettsäuren bei einer höheren Abdarrtemperatur von 100 °C im Vergleich zu z. B. 85 °C erklären.

Ferner konnte gezeigt werden, dass die Gerstensorte einen erheblichen Einfluss auf die Wirkung bestimmter Änderungen des Mälzungsprozesses ausübt, d. h. die Festlegung eines einheitli-

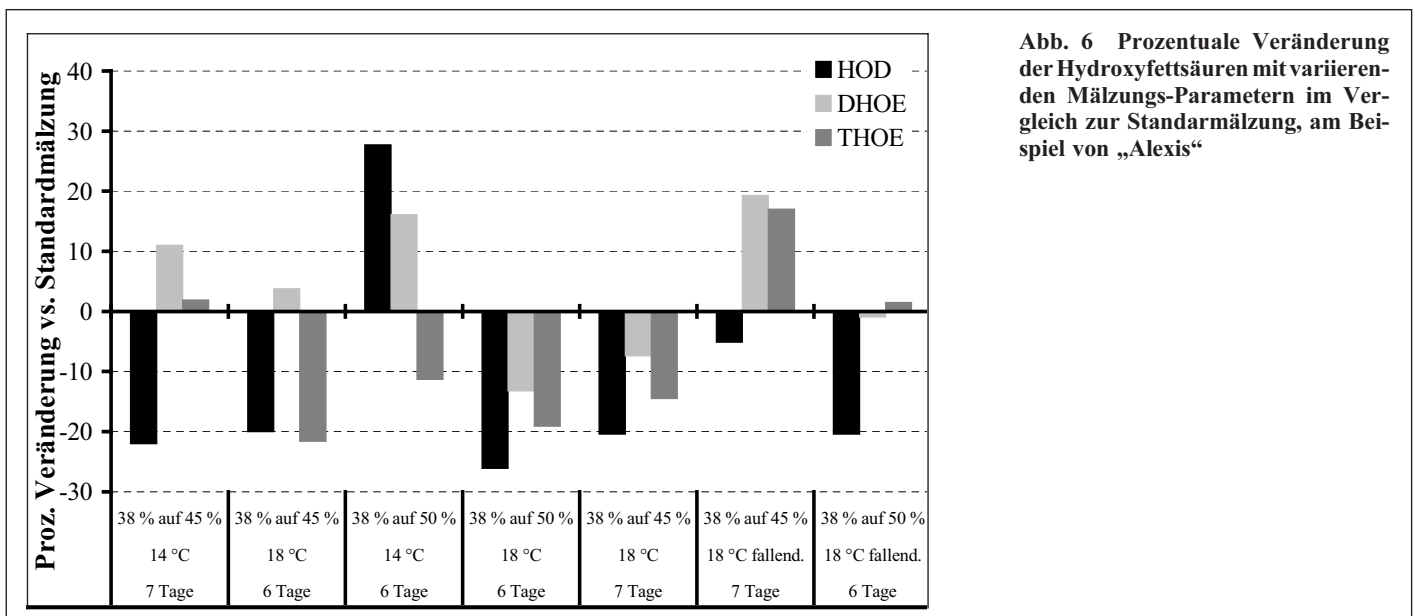


Abb. 6 Prozentuale Veränderung der Hydroxyfettsäuren mit variierenden Mälzungs-Parametern im Vergleich zur Standardmälzung, am Beispiel von „Alexis“

ches Mälzungsverfahren, welches bei allen Gerstensorten zu niedrigen Gehalten an beispielsweise THOE im fertigen Malz führt, ist derzeit nicht möglich.

Zukünftige Untersuchungen sollten vor allem die Kultivierung und Wachstumsbedingungen der Gerste schon auf dem Feld und darüber hinaus auch die Lagerbedingungen und -zeiten derselben in der Mälzerei betrachten, da dies vermutlich stark die Konzentration an oxygenierten Fettsäuren beeinflussen dürfte.

**Danksagung**

**Diese Arbeit sowie Teil I der Reihe, veröffentlicht in Heft 3/4, 2002, ist aus Haushaltsmitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft unter der Projektkennziffer AiF 11890 N durch die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen „Otto von Guericke“ e. V. (AiF) und die Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft unter dem Kennzeichen B 59 gefördert worden.**

**5 Summary**

**Wackerbauer, K., and Meyna, S.: Free and triglyceride-bonded hydroxy fatty acids in barley and malt, II.** The development during the malting process—*Monatsschrift für Brauwissenschaft* 55, No 5/6, 110 – 114, 2002

**BC 11 Barley**

In a previous report from the same authors it was shown that the major part of hydroxy fatty acids is esterified as triacylglycerols in barley and malt. Moreover in most of the analysed samples a maximum of oxidized linoleic acid substances was found in barley and not in the corresponding malt. Examination of four different barley varieties concerning the evolution of mentioned stale flavour precursor during malting indicates a rapid increase of their concentration during germination with a maximum at the fifth or sixth day. A longer germination period leads to a lower content of all esterified hydroxy fatty acids in most cases. During withering a strong decrease of the level of oxygenated fatty acids can be detected, followed by an increase at the kilning process again. Comparison of three different kilning temperatures, in particular 70 °C, 85 °C and 100 °C gives lowest values of THOE at 85 °C. Variation of other malting parameters, e. g. germination time and temperature or steeping degree gives a considerable change in hydroxy fatty acid concentration, but an optimal malting procedure leading to low amounts of especially THOE, for all barley varieties, cannot be given yet.

**Wackerbauer, K., et Meyna, S.: Les acides gras hydroxylés libres et liés aux triglycérides dans l’orge et le malt, II.** Le développement pendant le procédé de maltage — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 55, No. 5/6, 110 – 114, 2002

**BC 11 Orge**

Dans une précédente publication on a pu montrer qu’une importante partie des acides gras hydroxylés de l’orge et du malt se trouvait sous forme de triglycérides estérifiés. Dans les échantillons d’orge examinés on a en plus trouvé une concentration en acides gras triglycérides oxygénés plus élevée que dans le malt correspondant. L’examen de quatre variétés d’orge différentes présentait une forte augmentation de la concentration en composés des potentiels des précurseurs du goût de vieillissement pendant le procédé de germination avec un maximum au cinquième ou sixième jour de germination. Une germination plus longue conduisait, dans la majorité des cas, à une diminution des substances estérifiées mentionnées. Dans le cadre du fanage on a observé une forte diminution de toutes les classes d’acides gras hydroxylés, suivie d’une

légère augmentation pendant le touraillage. La comparaison de trois températures de touraillage, c’est-à-dire, faible à 70°C, usuelle à 85 °C et élevée à 100 °C conduisait avec 85 °C à la concentration la plus faible pour les THOE (acides trihydroxyoctadécéniques). La variation d’autres paramètres du maltage, par exemple la durée et la température de germination ou le degré de trempage conduisait à d’importantes variations dans la concentration des produits de l’acide linoléique oxydé. Toutefois on ne peut pas adapter pour toutes les variétés d’orge le même diagramme de maltage qui conduit à de faibles quantités de THOE.

**6 Literatur**

1. Yang, G., Schwarz, P. B.: Activity of Lipoxygenase Isoenzymes During Malting and Mashing, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **53**, 2, 45 – 49, 1995.
2. Yang, G., Schwarz, P. B., Vick, B. A.: Purification and Characterization of Lipoxygenase Isoenzymes in Germinating Barley, *Cereal Chem.* **70**, 5, 589 – 595, 1993.
3. Schwarz, P. B., Pyler, R. E.: Lipoxygenase and Hydroperoxide Isomerase Activity of Malting Barley, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **42**, 2, 47 – 53, 1984.
4. Baxter, E. D.: Lipoxidases in Malting and Mashing, *J. Inst. Brew.* **88**, 390 – 396, 1982.
5. Kaukovirta-Norja, A., Reinikainen, P., Laakso, S., Olkku, J.: Lipoxygenase activity during malting and storage of malt, *Proc. EBC Congress, Brussels*, 1995.

(Manuskripteingang: 18. 2. 2002)

**IMPRESSUM**

Monatsschrift für Brauwissenschaft

ISSN 0723-1520

Herausgeber und Verlag:

Fachverlag Hans Carl GmbH, Andernacher Str. 33a, D-90411 Nürnberg, Telefon (09 11) 9 52 85-0, Telefax (09 11) 9 52 85-48, e-mail: brauwissenschaft@hanscarl.com

Internet: <http://www.hanscarl.com>

Redaktion: Dipl.-Ing. Dr. Thomas Bühler (Objektleiter, verantwortl. für redaktionellen Inhalt, 0911 / 9 52 85-37). Wissenschaftliche Beratung: Dr.-Ing. Karl-Ullrich Heyse (09 11) 9 52 85-22.

Geschäftsführung: Michael Schmitt, Wolfgang Illguth.

Erscheinungsweise: 6 x jährlich.

Jahresbezugspreis: Inland EUR 96,- + EUR 9,- Vertriebsgebühr + MwSt. Studentenpreis Inland (halbjährlich) EUR 37,- + EUR 5,- Vertriebsgebühr + MwSt. Ausland: Binnenmarktländer-Empfänger mit Umsatzsteuer-Identifikationsnummer und Drittländer: EUR 104,- + EUR 13,- Vertriebsgebühr. Binnenmarktländer-Empfänger ohne Umsatzsteuer-Identifikationsnummer: EUR 104,- + EUR 13,- Vertriebsgebühr + MwSt. Preis der Einzelnummer EUR 21,- + Porto. Kündigungsfrist: 6 Wochen zum Jahresende.

Druck: Bollmann Druck GmbH, Zirndorf b. Nürnberg.

Die Zeitschrift und alle in ihr enthaltenen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt.