

K. Wackerbauer und S. Meyna

Freie und triglycerid-gebundene Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz

I. Einfluss von Sorte, Provenienz und Erntejahr

Die Oxidation von Linolsäure scheint eine der wichtigsten Reaktionsmechanismen zur Bildung von Vorläufern geschmacksaktiver Alterungscarbonyle, wie z. B. dem bekannten (*E*)-2-Nonenal, in Bier zu sein. Aufgrund dessen ist es seit längerem in der brauereiwissenschaftlichen Forschung üblich, die frei vorliegenden Hydroxyfettsäuren in allen möglichen Stadien der Bierherstellung zu messen, um so eventuelle Rückschlüsse auf das Alterungsverhalten des fertigen Produktes ziehen zu können. Mit Hilfe einer neuartigen Analysenmethode gelang es nun erstmals nachzuweisen, dass ein wesentlicher Teil der Hydroxyfettsäuren bereits in Gerste und Malz, und zwar verestert in Form von Triacylglycerolen, vorliegt. Mit Hilfe dieser analytischen Messung sind acht Gruppen von Substanzen oxidierte Linolsäure mittels GC/MS nachweisbar: Zwei Monohydroxyoctadecadiensäuren (HOD), zwei Dihydroxyoctadecensäuren (DHOE) und vier Trihydroxyoctadecensäuren (THOE). Die Untersuchung von über zwanzig kommerziellen Gersten und den daraus hergestellten Malzen zeigte, dass in den meisten Fällen ein Maximum an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren schon in der Gerste zu finden ist. Die durchschnittliche Verteilung der einzelnen Gruppen ergibt sich ferner zu etwa 50% HOD, 30% DHOE und 20% THOE in Gerste und Malz. In Bezug auf die Konzentrationsbereiche der veresterten Hydroxyfettsäuren konnten Werte von 50 ppm bis 110 ppm HOD, 20 ppm bis 90 ppm DHOE und 10 ppm bis 65 ppm THOE in der Trockensubstanz der Brauereirohstoffe gefunden werden. Darüber hinaus wurde ein erheblicher Einfluss der Parameter Sorte, Provenienz und Jahrgang auf die Menge dieser möglichen Alterungsgeschmacksvorläufer gefunden.

BC 11 Gerste

(Deskriptoren: Lipidoxidation, Hydroxyfettsäuren, Gerste, Geschmacksstabilität, Lipoxygenase.

Descriptors: Lipid oxydation, hydroxy fatty acid levels, barley, flavour stability, lipoxygenase).

1 Einleitung

Während der letzten Jahrzehnte wurde eine Reihe von chemischen Reaktionswegen für die Bildung von geschmacksaktiven Aldehyden, wie z. B. des bekannten (*E*)-2-Nonenals, aufgezeigt und eine Vielzahl von möglichen Precursoren dieser Carbonyle wurden genannt. Für viele Autoren spielt dabei die Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit einem (*Z,Z*)-1,4-Pentadiensystem, beispielsweise Linol- und Linolensäuren, durch enzymatische oder autokatalytische, radikalische Reaktionen eine entscheidende Rolle.

Wesentliche Intermediärprodukte einer derartigen Lipidoxidation sind die sog. Hydroxyfettsäuren, welche ihrerseits aus Folgereaktionen von Fettsäurehydroperoxiden (HPOD) hervorgehen. Letztere sind Produkte der enzymatischen Lipoxygenasen-Wir-

kung bzw. der genannten autokatalytischen, radikalischen Peroxidation. Nach *Spiteller et al.* sind die Trihydroxyfettsäuren (THOE) hierbei als das Hauptabbauprodukt der Hydroperoxide anzusehen (1). Im Fall der Brauereirohstoffe Gerste und Malz bildet die Linolsäure das quantitativ bedeutendste Substrat für die genannten Oxidationsreaktionen, weniger die deutlich konzentrationschwächere Linolensäure.

Nach dem erstmaligen Nachweis von Lipoxygenase in Gerste durch *Franke und Frehse* 1953 und der Entdeckung des zweiten Isoenzym LOX 2 durch *Yabuuchi* 1976, sind einige Autoren in Bezug auf die enzymatische Oxidation immer noch der Meinung, dass die hierfür notwendigen Schlüsselkomponenten, die Lipoxygenasen, frei vorliegende, mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit einem (*Z,Z*)-1,4-Pentadiensystem benötigen (2, 3). Dies ist sicherlich für die Mehrheit der bekannten Lipoxygenasen in höheren Pflanzen der Fall, etwa solcher, die aus Erbsen, Sojabohnen, Tomaten oder Kartoffeln stammen. Leider trifft dies aber nicht auf die beiden Lipoxygenasen (LOX 1 und LOX 2) der keimenden Gerste zu, welche nämlich auch die Dioxygenierung von veresteter Linolsäure katalysieren. Dies wurde beispielsweise sehr anschaulich von *Feussner et al.* und *Holtman et al.* 1997 gezeigt (4, 5). Eben wegen dieser Wirkungsweise der beiden Enzyme ist es unzureichend, nur die frei vorliegende Abbauprodukte, wie z. B. Hydroxyfettsäuren in Würze und Bier oder Gerste und Malz zu messen. Eine tiefergehende Betrachtung der Fettsäurezusammensetzung der Gerste, wie z. B. von *Anness* in den achtziger Jahren durchgeführt, zeigt ferner, dass die Hauptklasse der Lipide, mit über 70% Anteil an der Trockenmasse, Triglyceride sind, wohingegen die frei vorliegenden Fettsäuren nur eine vergleichsweise geringe Menge von 4% ausmachen (6). Dies ist

der Grund, warum es gerade wichtig ist, insbesondere die triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren näher zu betrachten.

2 Material und Methoden

Die Menge an freien und triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren wurde in Gerste und Malz bestimmt. Hierfür wurde eine modifizierte, erstmals von *Tressl* und *Garbe* entwickelte Messmethode, verwendet (7).

2.1 Material

Ethylacetat p. a., Diethylether p. a., N,O-bis(trimethylsilyl)-acetamid zur Synthese, 12-Hydroxystearinsäure 99%, Methanol p. a., Phosphorsäure p. a., Na₂SO₄ p. a., NaCl p. a. und KOH in Methanol (40 % w/w) wurden von Merck (Deutschland) bezogen, Pyridin 99% und N-Methyl-N-nitroso-P-toluensulfonamid stammten von Sigma (Deutschland).

2.2 Gaschromatographie / Massenspektrometrie

Die Gaschromatographie wurde an einem HP 5890 Series II Gaschromatographen, ausgestattet mit einer HP 1 (Crosslinked Methyl Silicone Gum) 50 m x 0,2 mm x 0,11 µm Säule, durchgeführt. Die Detektor- und Injektortemperatur betrug dabei 250 °C, bei einem Injektionsvolumen von 1 µl. Das Temperaturprogramm gestaltete sich wie folgt: Anfangstemperatur 80 °C, Endtemperatur 280 °C bei einer Aufheizrate von 4 °C pro Minute. Helium N 50 wurde als Trägergas verwendet. Die Splitting-Rate betrug 1:10. Startzeit war 4.00 min, Endzeit 60.00 min.

Die Massenspektrometrie wurde mit einem HP 5970 Series Mass Selective Detector im TIC-Modus (kleinste Masse 40.00, höchste Masse 500.00) durchgeführt.

2.3 Probenaufarbeitung

20 g Gersten- oder Malzfeinschrot wurden mittels 150 ml entgasstem Ethylacetat, für 30 Minuten, unter Argonatmosphäre extrahiert. 1 ml einer 12-Hydroxystearinsäurelösung (50 mg der Säure in 50 ml Ethylacetat gelöst) dient hierbei als interner Standard. Nach dem Abfiltrieren über einen Papierfilter wurde das Lösungsmittel per Vakuumverdampfung entfernt. Der überbleibende Ex-

trakt wurde sodann in einem Fingerkolben mit 20 ml Methanol und 15 ml einer 40%igen (w/w), methanolischen KOH-Lösung versetzt und unter Argonatmosphäre, bei einer Temperatur von 60 °C, für 25 Minuten verseift. Durch destilliertes Wasser und Phosphorsäure wurde der pH-Wert anschließend in den schwach sauren Bereich verschoben. Es folgte eine dreimalige Extraktion der Lösung mittels jeweils 50 ml Ethylacetat. Um mögliche Reste zu entfernen, wurden die gesammelten organischen Phasen zweimal mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und anschließend mit Natriumsulfat versetzt. Nach anschließender Filtration folgte eine erneute Verdampfung des Lösungsmittels und ein Zurücklösen in 100 ml Diethylether. Mittels der Synthetisierung von Diazomethan erfolgte sodann eine Methylierungsreaktion. Nach mindestens acht Stunden Reaktionszeit konnte die so präparierte Probe erneut von Lösungsmittel befreit werden und durch Zugabe von 100 µl BSTFA und 200 µl Pyridin bei 80 °C, für 60 Minuten silyliert werden. Der so gewonnene Extrakt wurde in einem Volumen von 1 µl in den GC/MS injiziert.

Durch Weglassen des Verseifungsschrittes konnte der Anteil an bereits frei vorliegenden Hydroxyfettsäuren in Gersten und Malz gemessen werden, welcher allerdings im Vergleich vernachlässigbar niedrig ist.

2.4 Messbare Hydroxyfettsäuren

Zunächst ist eine Unterscheidung in Mono-, Di- und Trihydroxyfettsäuren anhand der im Molekül vorhandenen Hydroxylgruppen möglich. Die Summe aus 9-Hydroxy-octadeca-10,12-dien-säure (9-HOD) und 13-Hydroxy-octadeca-9,11-dien-säure (13-HOD) erscheint vor dem internem Standard (12-Hydroxystearinsäure) als erster, gemeinsamer Peak im Chromatogramm. Für die Trennung dieser beiden Monohydroxyfettsäuren wäre ein weiterer Aufarbeitungsschritt notwendig: die Hydrierung der Doppelbindung im Molekül.

Im Folgenden können zwei Dihydroxyfettsäuren erfasst werden, namentlich die 9,10-Dihydroxy-12-octadecensäure (9,10-DHOE) und die 12,13-Dihydroxy-9-octadecensäure (12,13-DHOE). Schließlich sind die Konzentrationen von vier verschiedenen Trihydroxyfettsäuren messbar, nämlich der 9,10,11-Trihydroxy-12-octadecensäure (9,10,11-THOE), der 11,12,13-Trihydroxy-9-octadecensäure, der 9,10,13-Trihydroxy-11-octadecensäure

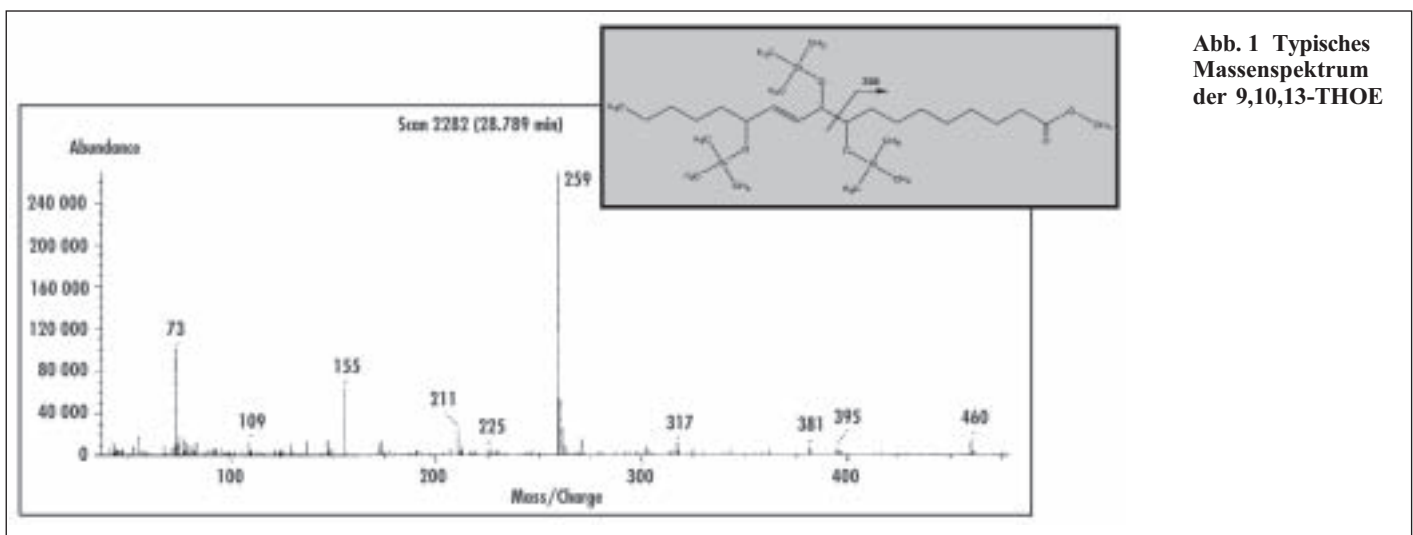
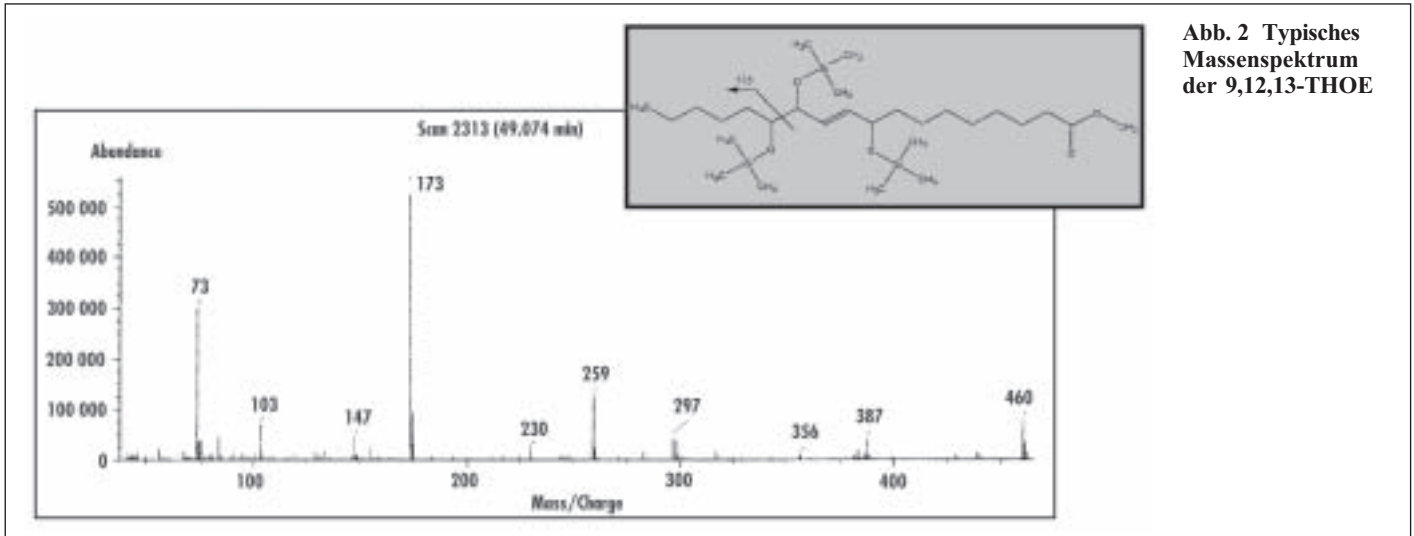


Abb. 1 Typisches Massenspektrum der 9,10,13-THOE



(9,10,13-THOE) und der 9,12,13-Trihydroxy-10-octadecensäure (9,12,13-THOE). Eine Unterscheidung zwischen R- und S-Isomeren und/oder erythro- und threo-Isomeren ist mit dieser Analytik nicht möglich.

Betrachtet man die jeweiligen Massenspektren der genannten methylierten und silylierten Hydroxyfettsäuren, so ergeben sich beispielsweise im Falle der 9,12,13-THOE charakteristische Fragmente bei m/e 460, 387, 259, 230, 173, 103 und 73, wohingegen z. B. die 9,10,13-THOE typische Ionen bei m/e 460, 317, 259, 211, 173, 155, 109 und 73 hinterlässt. Diese Resultate stehen in Übereinkunft mit den von Hamberg gefundenen Spektren (8, 9). In zuerst genanntem Beispiel ist das Hauptfragment bei m/e 173 zu finden, was aus der Spaltung der labilen Bindung zwischen den beiden vicinalen, derivatisierten, ehemaligen Hydroxylgruppen resultiert. Das Gleiche gilt auch für das zweite Beispiel: Hier findet sich das Hauptfragment bei m/e 259 aus gleichem Grund. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen exemplarisch die beiden erwähnten Massenspektren.

3 Ergebnisse

Eine genaue Untersuchung der triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren in verschiedenen Sommergersten der Ernte 1999 und den daraus hergestellten Malzen zeigt zunächst, dass ein Maximum an allen Klassen oxygenierter Fettsäuren in den Gersten zu finden ist und nicht in den korrespondierenden Malzen, wie Tabelle 1 zeigt. Dieses Resultat ist unerwartet, denn ging doch die bisherige Theorie von einer starken Aktivierung der Lipoxygenasen, insbesondere der LOX 2, während des Mälzungsprozesses aus, wodurch eine starke Zunahme an Hydroxyfettsäuren zu erwarten gewesen wäre. Natürlich bedeutet dieses Ergebnis nicht, dass die gesamte Theorie zu verwerfen ist, zeigt aber, wie tiefgreifend die Veränderung der Menge an triglycerid-gebundenen, oxygenierten Fettsäuren während des Mälzungsprozesses sein muss. Darüber hinaus unterstreicht dieses Resultat die Tatsache, dass die Lipidoxidation *nicht* erst mit dem Mälzungsprozess beginnt. Eine Reihe von enzymatischen und autokatalytischen Prozessen findet bereits in der Gerste statt, lange vor dem eigentlichen Mälzungsprozess.

Tabelle 1 Hydroxyfettsäuren in Sommergersten und den korrespondierenden Malzen (ppm TrS.)						
Sorte	Gerste			Malz nach 7 Keimtagen		
	HOD	DHOE	THOE	HOD	DHOE	THOE
Alexis	99.3	64.7	40.5	60.2	30.4	24.4
Scarlett A	92.7	56.2	36.0	66.7	40.1	32.7
Scarlett B	101.5	70.7	43.4	65.2	34.2	18.8
Scarlett C	104.8	78.3	49.1	61.9	36.2	18.4
Scarlett D	70.6	58.8	39.6	65.1	43.2	29.9
Barke	81.1	57.9	32.5	66.0	37.3	27.3
Krona	90.6	65.0	38.0	78.5	42.3	35.2
Cork	89.5	67.9	36.3	80.6	40.5	26.6
Optic A	87.1	63.1	63.3	74.3	25.5	29.0
Optic B	68.2	44.9	37.2	77.1	35.7	27.0
Prisma	97.7	64.5	35.5	74.9	20.5	15.6
Nevada	92.9	55.9	27.5	67.8	45.2	28.4

Tabelle 2 Hydroxyfettsäuren in Wintergersten und den korrespondierenden Malzen (ppm TrS.)

Sorte	Gerste			Malz nach 7 Keimtagen		
	HOD	DHOE	THOE	HOD	DHOE	THOE
Tiffany	75.4	52.6	23.2	71.2	38.7	21.3
Angora	80.0	27.3	12.5	72.4	50.6	24.7
Clarine A	89.9	86.2	47.5	69.4	43.6	14.3
Clarine B	77.6	56.0	31.4	69.6	27.6	35.3
Platine	93.2	50.3	30.7	83.5	49.0	28.5
Plaisant A	90.9	56.1	30.9	74.3	32.8	22.8
Plaisant B	88.2	64.0	44.1	69.8	46.4	27.0
Esterel A	88.2	58.3	31.6	59.9	38.8	24.2
Esterel B	83.9	60.7	34.8	56.5	32.9	30.8
Esterel C	104.1	74.7	41.9	88.0	57.7	32.0

Eine Betrachtung der Wintergersten der Ernte 1999 und den daraus erstellten Malzen liefert das gleiche Resultat: In der Gerste werden in der Regel höhere Konzentrationen an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren gemessen als in den entsprechenden Malzen, wie Tabelle 2 darstellt. Auch hier gilt also, dass Lipidoxidation kein Problem des Mälzungsprozesses an sich ist, sondern schon lange vorher in der Gerste selbst stattfindet.

Vergleicht man die durchschnittliche Verteilung der einzelnen Klassen an Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz, so fällt auf, dass diese in etwa immer gleich ist, nämlich 50% HOD, 30% DHOE und 20% THOE bei einem Probenvolumen von mehr als 20 verschiedenen Mustern, mit einer Standardabweichung kleiner 5%, wie Tabelle 3 zeigt.

Tabelle 3 Verteilung der Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz

Art	Hydroxyfettsäuren	Gerste (% TrS.)	Malz (% TrS.)
Sommergerste	HOD	46.8	53.3
	DHOE	32.5	27.1
	THOE	20.8	19.6
Wintergerste	HOD	49.7	51.3
	DHOE	32.3	29.8
	THOE	18.0	18.8

Die Provenienz übt des Weiteren einen erheblichen Einfluss auf die Menge an Hydroxyfettsäuren aus. Betrachtet man beispielsweise die Konzentrationen an oxygenierten Fettsäuren in der Gerstensorte „Scarlett“ aus vier verschiedenen Provenienzen, so ergeben sich jeweils völlig andere Mengen: Die Konzentration von HOD im Muster der Provenienz D liegt etwa zwischen 60 ppm und 70 ppm TrS., wohingegen die Probe der Provenienz C einen Wert von über 100 ppm TrS. an HOD besitzt. In Bezug auf die DHOE ergibt sich ein ähnliches Bild: Die Probe aus Provenienz A erreicht einen Wert von ca. 60 ppm in der Trockensubstanz, demgegenüber hat das Muster aus der Provenienz C aber eine Konzentration von etwa 80 ppm TrS. Schließlich gilt diese Feststellung auch für die THOE: Die Probe der Provenienz A hat eine

Menge von etwa 30 ppm TrS., diejenige der Provenienz C aber mehr als 50 ppm TrS., wie Abbildung 3 zeigt.

Es wurde schon bemerkt, dass die Sorte ebenfalls einen Einfluss auf die Menge an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz ausübt. Es können hier Werte zwischen 68 ppm und 105 ppm TrS. für die HOD, 27 ppm bis 86 ppm TrS. für die DHOE und 13 ppm bis 63 ppm TrS. für die THOE in Gerste gemessen werden (22 Proben). Die resultierenden 22 Malze geben Konzentrationsbereiche von 57 ppm bis 88 ppm TrS. HOD, 21 ppm bis 58 ppm TrS. DHOE und schließlich 14 ppm bis 36 ppm TrS. THOE, wie die Tabellen 4 und 5 zeigen.

Sommergersten- und Wintergerstenvarietäten separat betrachtet zeigen keine eindeutige Zuordnung, d. h. dass Wintergersten nicht generell mehr oder weniger triglycerid-gebundene Hydroxyfettsäuren enthalten als Sommergersten. Die Messbereiche aller drei Klassen an Hydroxyfettsäuren überlappen sich gegenseitig für beide Gerstenarten. So variiert die Menge an HOD z. B. für die Wintergersten allein gesehen zwischen 75 ppm und 104 ppm TrS., was sich mit dem Wertebereich für die Sommergersten von 68 ppm bis 105 ppm TrS. deckt. Die Tabellen 6 und 7 geben diesen Aspekt wieder.

Auch die Unterscheidung von zwei- und sechszeiligen Wintergerstensorten lässt keine eindeutige Zuordnung zu: Zweizeilige

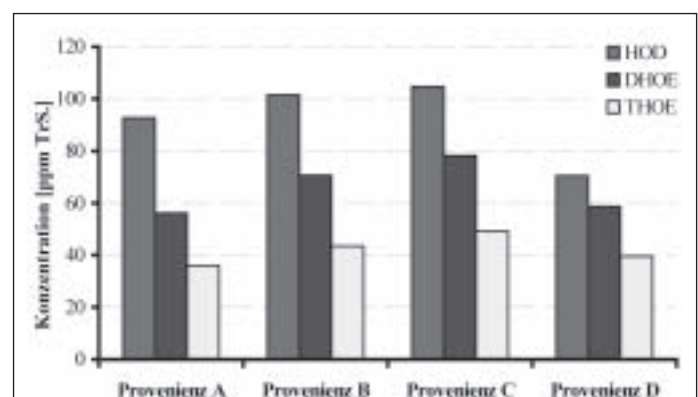
**Abb. 3 Einfluss der Provenienz auf die Hydroxyfettsäuren in der Gerste „Scarlett“**

Tabelle 4 Einfluss der Sorte auf die Hydroxyfettsäuren in Gerste

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	68.2	104.8
DHOE	27.3	86.2
THOE	12.5	63.3

Tabelle 5 Einfluss der Sorte auf die Hydroxyfettsäuren in Malz

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	56.6	88.0
DHOE	20.5	57.7
THOE	14.3	35.3

Tabelle 6 Wertebereich der Hydroxyfettsäuren in Sommergerste

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	68.2	104.8
DHOE	44.9	78.3
THOE	27.5	63.3

Tabelle 7 Wertebereich der Hydroxyfettsäuren in Wintergerste

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	75.4	104.1
DHOE	27.3	86.2
THOE	12.5	47.5

Tabelle 8 Wertebereich der Hydroxyfettsäuren in zweizeiligen Wintergersten

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	75.4	93.2
DHOE	27.3	86.2
THOE	12.5	47.5

Tabelle 9 Wertebereich der Hydroxyfettsäuren in sechszeiligen Wintergersten

Hydroxyfettsäuren	Gemessenes Minimum (ppm TrS.)	Gemessenes Maximum (ppm TrS.)
HOD	88.2	104.1
DHOE	56.1	74.7
THOE	30.9	44.1

Sorten haben nicht generell höhere oder niedrigere Konzentrationen an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren als sechszeilige Varietäten. Erneut können überlappende Wertebereiche gefunden werden, wie die Tabellen 8 und 9 wiedergeben.

Weiterhin beeinflussend wirkt das Erntejahr. Vergleicht man die selbe Gerstensorte aus der selben Provenienz, aber aus verschiedenen Erntejahrgängen, so ergeben sich erneut Differenzen. Hierzu zwei Beispiele: Einerseits seien die beiden Gerstensorten „Barke“ und „Scarlett“ der Ernte 1999 gegeben, andererseits die selben Varietäten aus der selben Provenienz der Ernte 2000. Die Menge an triglycerid-gebundenen Hydroxyfettsäuren ist deutlich unterschiedlich, wie Abbildung 4 darstellt: Die THOE der Sorte „Barke“ sind etwas höher für das Muster der Ernte 2000, die Konzentrationen der anderen Klassen an oxygenierten Fettsäuren sind in

etwa vergleichbar. Demgegenüber hat aber „Scarlett“ in allen Klassen von oxidiert Linolsäure höhere Werte für die Probe der Ernte 2000 als für die der Ernte 1999. Es treten Unterschiede von 5 ppm TrS. bis zu 20 ppm TrS. auf.

4 Diskussion

Es konnte gezeigt werden, dass ein erheblicher Anteil an Hydroxyfettsäuren in Gerste und Malz verestert, in Form von Triglyceriden vorliegt und darüber hinaus die Konzentration dieser möglichen Vorläufersubstanz von Alterungscarbonylen in den meisten Fällen höher in der Gerste als in dem korrespondierenden Malz ist. Dieses Ergebnis indiziert die Tatsache, dass schon auf dem Feld eine intensive Aktivierung von Lipoxygenase und somit eine erhebliche Lipidoxidation in der Gerstenpflanze vorherrschen muss.

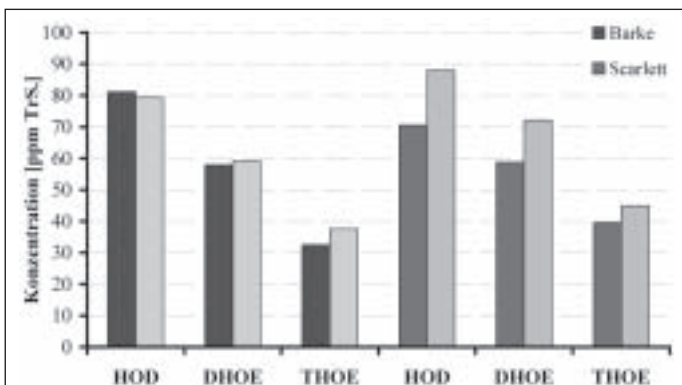


Abb. 4 Einfluss des Erntejahres auf die Menge an Hydroxyfettsäuren in der Gerste (helle Farbe: Ernte 2000, dunkle Farbe: Ernte: 1999)

Betrachtet man den biologischen Sinn des „LOX-Pathways“ und der Fettoxidation, so erscheinen die gefundenen Ergebnisse nicht verwunderlich. Noordermeer et al. verweisen auf die Abwehrfunktion des „LOX-Pathways“ für höhere Pflanzen, bei dem kurzkettige Aldehyde gebildet werden (10). Die Fettoxidation spielt somit eine wichtige Rolle im Wundheilungsprozess und im Resistenzverhalten gegenüber äußeren Schädlingen der Pflanze: „The most important signal pathway induced by wounding is probably the octadecanoid or lipoxygenase pathway“ (10). Zwischenprodukte dieser Abbaureaktionen sind sogenannte Oxylipine, welche antifungizide Aktivitäten aufweisen, wie z. B. Epoxy- und Hydroxyfettsäuren, oder die besagte Wundheilung aktivieren und antimikrobiell wirken, wie beispielsweise die flüchtigen Aldehyde. Des Weiteren wird dieser LOX-Pathway nicht nur durch Verletzungen der Pflanze ausgelöst, sondern auch durch Keimungsprozesse und im Rahmen der Alterung.

Es ergibt sich somit einerseits als Konsequenz für den Gerstenanbauenden Landwirt, den Mälzer und Brauer eine notwendige Akzeptanz der Lipidoxidation als pflanzeninhärenter Mechanismus. Andererseits birgt dies aber auch eine erforderliche Ergänzung der bisherigen brauwissenschaftlichen Betrachtung der Geschmacksstabilität des Bieres, auf Grundlage der Fettoxidation, zu Gunsten einer Untersuchung der Lipoxygenasen-Reaktionen der Gerste, schon auf dem Feld, in sich. Bemühungen, eine gentechnisch modifizierte Gerstenpflanze, ohne Lipoxygenasen-Isoenzyme herzustellen, sind fraglich, da ein Wachstum derartiger veränderter Pflanzen in der freien Natur, mit all ihren auch negativen Einflüssen, schwierig, wenn nicht sogar unmöglich sein dürfte, da eine selbständige Verteidigung dieser Pflanzen gegen diverse Schädlinge nicht mehr gegeben wäre.

5 Summary

Wackerbauer, K., and Meyna, S.: Free and triglyceride-bonded hydroxy fatty acids in barley and malt. I. Influence of variety, provenience and harvest year — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 55, No 3/4, 52 – 57, 2002

BC 11 Barley

The oxidation of linolic acid appears to be one of the most significant reaction mechanisms for the development of first forerunner taste active aging carbonyl such as, for example, the known (*E*)-2-nonenal, in beer. As a result of this it has been usual practice for some time now in scientific brewery research to measure the free given hydroxy fatty acids in all possible stages when producing beer to be able in this way to come to possible conclusions as to the aging behaviour of the finished product. With the help of a unique method of analysis it has now been possible to evidence for the first time that a considerable proportion of hydroxy fatty acids are already in barley and malt and namely esterified in the form of triacylglycerole. By means of this analytical measurement it is possible to evidence eight groups of substances in oxidised linolic acid through the GC/MS: two monohydroxyoctadecadecane acids (HOD), two dihydroxyoctadecane acids (DHOE) and four trihydroxyoctadecane acids (THOE). The study of over twenty commercial barleys and the malt made from these revealed that in the majority of cases a maximum of triglyceride-bonded hydroxy fatty acids are already to be found in the barley. Moreover the average distribution of the different groups reveals approx. 50% HOD, 30% DHOE and 20% THOE in barley and malt. As far as the concentration ranges of the esterified hydroxy fatty acids to be found in the dry substance of the brewery raw materials are concerned these were values from 50 ppm to 110 ppm HOD, 20 ppm to 90 ppm DHOE and 10 ppm to 65 ppm THOE. Over and above this it was found that the variety, provenience and year parameters have a considerable influence on the quantity of this possible aging taste forerunner.

Wackerbauer, K., et Meyna, S.: Les acides gras hydroxylés libres et liés aux triglycérides dans l'orge et le malt. I. Influence de la variété, de la provenience et de l'année de récolte — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 55, No. 3/4, 52 – 57, 2002

BC 11 Orge

L'oxydation de l'acide linoléique semble être le mécanisme de réaction le plus important pour la formation des précurseurs des carbonylés de

vieillessement actifs sur le plan sensoriel, par exemple le (*E*)-2-nonénal connu dans la bière. Sur cette base, il est usuel dans la recherche brassicole, de doser les acides gras hydroxylés libres à tous les stades de la fabrication de la bière dans le but de pouvoir tirer des conclusions sur le comportement de vieillissement du produit fini. À l'aide d'une nouvelle méthode d'analyse il a été possible, pour la première fois, de démontrer qu'une partie importante des acides gras hydroxylés étaient déjà présents dans l'orge et dans le malt, ceci sous forme de triacylglycérols estérifiés. À l'aide de cette méthode de mesure, huit groupes de substances de l'acide linoléique oxydé ont été identifiés par CPG/SM : deux acides monohydroxyoctadecadiéniques (HOD), deux acides dihydroxyoctadécéniques (DHOE) et quatre acides trihydroxyoctadécéniques (THOE). L'examen de plus de vingt orges commerciales et des malts fabriqués à partir de ces orges a montré que dans la majorité des cas, un maximum d'acides gras hydroxylés liés aux triglycérides étaient déjà présents dans l'orge. La répartition moyenne dans l'orge et le malt des différents groupes est la suivante : 50 % HOD, 30 % DHOE et 20 % THOE. En liaison avec les domaines de concentration des acides gras hydroxylés on a trouvé des valeurs de 50 ppm jusqu'à 110 ppm HOD, 20 ppm jusqu'à 90 ppm DHOE et 10 ppm jusqu'à 65 ppm THOE sur matière sèche dans les matières premières brassicoles. De plus on a trouvé une forte influence des paramètres variété, provenance et année sur la quantité des précurseurs possibles des saveurs de vieillissement.

6 Literatur

1. Spiteller, P., Kern, W., Reiner, J., Spiteller, G.: Aldehydic lipid peroxidation products derived from linoleic acid, *Biochimica et Biophysica Acta* **1531**, 188 – 208, 2001.
2. Franke, W., Frehse, H.: Autoxidation of unsaturated fatty acids, VI. The lipoxidase of cereals, in particular barley, *Z. Phys. Chem.* **295**, 333, 1953.
3. Yabuuchi, S.: Occurrence of a new lipoxygenase in germinating barley embryos, *Agric. Biol. Chem.* **40**, 1987.
4. Feussner, I., Kühn, H., Wasternak, C.: Do specific linoleate 13-lipoxygenases initiate β -oxidation? *FEBS Letters* **406**, 1 – 5, 1997.
5. Holtman, W. L., Vredenburg-Heistek, J. C., Schmitt, N. F., Feussner, I.: Lipoxygenase-2 oxygenates storage lipids in embryos of germinating barley, *Eur. J. Biochem.* **248**, 452 – 458, 1997.
6. Anness, B. J.: Lipids of Barley, Malt and Adjuncts, *J. Inst. Brew.* **90**, 315 – 318, 1984.
7. Tressl, R., Garbe, L. A., *J. Agric. Food Chem.* **2002** (in prep.)
8. Hamberg, M.: Regio- and Stereochemical Analysis of Trihydroxyoctadecenoic Acids Derived from Linoleic Acid 9- and 13-Hydroperoxides, *Lipids* **26**, 6, 407 – 415, 1991.
9. Hamberg, M.: Trihydroxyoctadecenoic Acids in Beer: Qualitative and Quantitative Analysis, *J. Agric. Food Chem.* **39**, 1568 – 1572, 1991.
10. Noordermeer, M. A., Veldink, G. A., Vliegthart, J. F. G.: Fatty Acid Hydroperoxide Lyase: A Plant Cytochrome P450 Enzyme Involved in Wound Healing and Pest Resistance, *ChemBiochem.* **2**, 494 – 504, 2001.