

L. Chapon und K.F. Kretschmer

# Über die Bedeutung der reduzierenden Kraft bei hellen Bieren

Diese Arbeit ist in drei Teile gegliedert. Der erste Teil stellt die zahlreichen Gründe dar, die zur Erarbeitung von neuen Schnellmethoden für das Studium der reduzierenden Substanzen der Biere geführt haben. Die Einzelheiten der gewählten Arbeitsvorschriften sind ausführlich beschrieben: RK-DPFe<sub>3</sub>, Peroxidase-Bräunung, KOH-Bräunung, DCI-Reduktion. Im zweiten Teil werden die Ergebnisse, die seit ca. 10 Jahren erhalten worden sind, besprochen. Beinahe 2000 Proben von hellen Bieren aller Provenienzen wurden den verschiedensten Versuchen unterworfen. Am Anfang wurden diese auf die Bestimmung der Tannine mit PVP und der reduzierenden Kraft mit dem Eisen III-Dipyridyl-Komplex (RK-DPFe<sub>3</sub>) begrenzt. Sie haben enge Beziehungen zwischen RK, kolloidaler Haltbarkeit und Geschmacksstabilität zum Vorschein gebracht. Die Ergebnisse haben eine allgemeine Gültigkeit. Sie geben zusätzliche Informationen über die Natur und die Rolle der Polyphenole. Der dritte Teil fasst in zahlreichen Tabellen zahlenmäßige Hinweise zusammen, die für die Praxis Interesse haben können. Die Tendenz nach immer größeren Produktionseinheiten mit gesteigerter Glanzfeinheit des Bieres, unter Bevorzugung immer schnellerer Herstellungsvorgänge, hat im Laufe der letzten Jahre den Polyphenolgehalt der Biere verringert, und dadurch die reduzierende Kraft herabgesetzt. Es scheint, dass der wichtige Aspekt der reduzierenden Kraft, die zum größten Teil von den Polyphenolen abhängt, und für die Geschmacksstabilität von großer Bedeutung ist, zu oft außer Acht gelassen wird.

BC 25 Bier

(Deskriptoren: Reduzierende Substanzen, Polyphenole, Tannine, Ferric. Dipyridyl Komplex, Dichlorophenol-Indophenol.

Descriptors: Reducing substances, polyphenols, tannoids, ferric. dipyridyl complex, dichlorophenol-indophenol).

## 1 Die Methoden

### 1.1 Einleitung

Die in den folgenden Seiten dargestellte Arbeit umfasst praktische Schlüsse einer langjährigen gemeinschaftlichen Forschung, die sich zwischen einem geborenen Brauer, dessen berufliche Tätigkeit den mannigfaltigen Facetten des Handwerks gewidmet wurde, und einem Universitäts-Professor, der im Jahre 1950, völlig unerwartet zum Privat-Dozenten der Brauereischule Nancy ernannt wurde, entwickelt hat.

Die leidenschaftliche Tätigkeit des Ersten, als Laborvorstand der Haake Beck Brauerei in Bremen, hat sich im Ruhestand bis zu seinem 95. Geburtstag am 24. Juli 2000 fortgesetzt.

Was den Zweiten betrifft, hat er sich in die Forschung auf diesem Gebiet eingelassen, um sie letztendlich auch in seinem Ruhestand seit 15 Jahren als Hobby weiter zu betreiben. Das ist nicht deshalb geschehen, weil die Bierforschung in Frankreich hoch geachtet wird. 50 Jahre haben nicht genügt, um aus dem Forscher einen bedingungslosen Bierliebhaber zu machen. Das ist ein Paradoxon, dessen Erklärung im Ergänzungscharakter der Sachkenntnisse sowie in der angeborenen Neigung jedes Partners zur Kommunikation in einem Klima von vollem Vertrauen zu

suchen ist. Der Autor des ersten Teils hat bei der Leitung der Brauerei Beck & Co eine Bühne gefunden, um seine Ideen vorzuführen. Dafür möchte er sich bei ihr bedanken. Gewiss benötigt die heutige Forschung auf allen Gebieten riesige Geldmittel und zahlreiche Mitarbeiter. Die modernsten und teuersten analytischen Techniken wurden in der ganzen Brauwelt angewandt, um die Substanzen, die für den Verlust der kolloidalen und geschmacklichen Haltbarkeit verantwortlich sind, zu identifizieren. Die reaktionsfreudigsten Polyphenole sowie die ersten Stufen der Kondensationsprodukte, die mit den empfindlichsten Proteinen die Trübungsbildung hervorrufen, wurden identifiziert. Die analytischen Methoden scheitern aber an der Komplexität von polymerisierten Derivaten, die den größten Anteil der Bierpolyphenole ausmachen.

In Ermangelung von finanziellen Mitteln muss man unbedingt einfache und billige Techniken entwickeln. Kolorimetrische und nephelometrische Methoden sind diesbezüglich, wegen ihrer großen Empfindlichkeit, besonders empfehlenswert. Sie müssen jedoch an spezifische Aspekte der geplanten Forschung angepasst werden, was für die bisher existierenden Geräte nicht der Fall war.

Das Nephelokolorimeter, das wir entwickelt und beschrieben haben (EBC 1967), wurde für alle Versuche benutzt. Diese experimentelle Vorrichtung bietet für die Grundlagenforschung viele Vorteile.

Die Irisblende erlaubt eine ausgedehnte Breite der Lichtintensität mit präziser Einstellung.

Es ist möglich, im normalen Licht des Labors zu arbeiten, ohne einen Deckel auf die Küvetten stellen zu müssen.

Es ist möglich, zu jeder Zeit den Zustand der Flüssigkeit in der Küvette zu kontrollieren, um die richtige Stellung der Einspritznadel zu gewährleisten. Bei manchen Bestimmungen ist dies unentbehrlich.

Die Belichtung des Küvetteninhalts von oben durch eine zusätzliche Lichtquelle hat nur eine kleine Verschiebung des gemessenen

nen Durchlichtes zur Folge. Photoreaktionen haben sich als wichtig erwiesen.

Der thermische Kontakt zwischen Küvette und Wasserbad ist gesichert, so dass die Temperatur in der Küvette ihren Sollwert schnell erreicht.

Bei der Bestimmung des Alkohol-Kälte-Testes gibt solche Ausführung die Sicherheit, dass die Wasserbadtemperatur den Sollwert nicht unterschreiten kann. Die Gefahr unerwünschten Gefrierens ist verringert. Der Gradient der Temperatursenkung in der Küvette ist für alle Versuche gleich.

Es ist möglich, auf derselben Millimeterpapier-Folie das Ergebnis von mehreren Bestimmungen in verschiedenen Farben nebeneinander zu registrieren, um öfter Korrelationen zwischen Bestimmungen mit bloßem Auge zu erkennen.

Der 100%-Durchlässigkeitswert kann je nach Bedarf beliebig eingestellt werden, normalerweise zwischen 240 und 250 mm.

Das Wasserbad neben dem Küvettenhalter dient zum Temperieren der Küvetten, was die Ausgleichszeit überflüssig macht.

Die Spritze muss einen kleinen Durchmesser haben (ca. 6 mm). Ein mit O-Ring versehener Kolben hat sich bewährt.

Das Innere der Spritze sollte am besten mit inertem Fett geschmiert sein, um ein reibungsloses Gleiten des Kolbens zu gewährleisten.

Wird diesen Vorsichtsmaßnahmen Rechnung getragen, dann sind die Ergebnisse hoch reproduzierbar.

### 1.2 Ansatz des Problems

Von Anfang an sind wir ständig bemüht, Schnellmethoden zu entwickeln, die im fertigen Bier ohne Vorbereitung angewandt werden können, um das originale Milieu so wenig als möglich zu ändern. Deshalb haben wir die Bestimmungen der Tannoide mit PVP (1960) und der reduzierenden Kraft mittels des Eisen III-Dipyridyl-Komplexes (1971) auf Grund deren enger Verbindung mit den wichtigsten Qualitätskriterien der Biere ausgewählt. Um den allgemeinen Wert dieser beiden Bestimmungen zu beweisen, haben wir im Laufe der letzten 10-jährigen Periode des vorigen Jahrhunderts ca. 2000 Bierproben untersucht.

Bierflaschen oder Bierdosen verschiedenster Brauereien aus aller Welt wurden von Freunden und Bekannten dem erfahrenen Brauer regelmäßig zugesandt. Davon wurde sofort eine kleine Probeflasche von 20 ml mit Schraubenkork unter geringst möglichem Luftkontakt voll befüllt und zur Analyse weitergesandt.

Die aufs Geratewohl besorgten Bierproben, hauptsächlich vom Pilsener Typus, gewähren eine wertvolle Sortierung. Sie weisen untereinander riesige Zusammensetzungsunterschiede der für die Haltbarkeit wichtigen Bestandteile auf. Solche Unterschiedlichkeit ist nicht verwunderlich, weil Rohstoffe, Brauverfahren, Hopfengabe, Heferasse, Lagerzeit, Stabilisierungsmaßnahmen oder örtliche gesetzliche Verordnungen alle möglichen Kombinationen erlauben. So konnte die allgemeine Gültigkeit der Ergebnisse der angewandten analytischen Schnellmethoden und deren enge Verbindung zur traditionellen Qualität bewiesen werden.

Im Laufe der Jahre konnte bei einigen Brauereien, deren Produktion regelmäßig verfolgt wurde, eine unverkennbare Verschiebung der analytischen Merkmale in Verbindung mit drastischen Änderungen der Herstellungsmethoden festgestellt werden.

Die Tannoide sprechen als Substanzen polyphenolischer Natur auf solche Änderungen am deutlichsten an. Sie sind aber nicht die einzigen Polyphenole, die an der Trübungsbildung während der

Aufbewahrung des fertigen Produkts beteiligt sind. Die Herabsetzung ihrer Konzentration durch Adsorption auf PVPP (auch AT genannt) bei der Bierfiltration führt in allen Fällen zu einer Verbesserung der kolloidalen Haltbarkeit gegenüber dem Nullbier. Es gibt aber viele andere Maßnahmen, um die Konzentration der sog. „unerwünschten“ Substanzen im fertigen Bier herabzusetzen. Sie können in verschiedenen Stadien der Bierherstellung eingesetzt werden. Aus mehreren Gründen, die auf der Basis eines Gleichgewichts zwischen Proteinen (P) und Tanninen (T) bei fortschreitenden Brauverfahren verstanden werden können, beruht die Haltbarkeit des fertigen Bieres nicht ausschließlich auf der Konzentration der Tannoide, was öfter als begründet angenommen wird, aber der Wirklichkeit nicht entspricht. Es gibt Biere, die reich an Tannoiden sind, aber trotzdem eine befriedigende Haltbarkeit aufweisen.

Substanzen polyphenolischer Natur sind die wichtigste Gruppe, die den Bieren eine reduzierende Kraft gegenüber dem Luftsauerstoff verleiht. Nicht alle Polyphenole weisen im gleichen Grad diese Eigenschaft auf. Es gibt noch andere Polyphenole, nicht Tannoide, denen eine reduzierende Kraft gegenüber Dichlorophenol-Indophenol (DCI) oder dem Eisen III-Dipyridyl-Komplex (DPFe<sub>3</sub>) zukommt. Wir dürfen nicht vergessen, dass zwischen 1950 und 1970 die Herstellung von Bieren mit niedrigen ITT-Werten – also mit verhältnismäßig starken DCI-reduzierenden Kräften – erstrebt wurde. Als dann bewiesen wurde, dass die sog. Anthocyanogene an der frühzeitigen Bildung der Kältetrübung Anteil hatten, wurde weltweit blindlings Jagd auf die Polyphenole gemacht, mit dem Ergebnis einer Verarmung der Biere an reduzierenden Substanzen.

Beide Anschauungen tragen einen Teil Wahrheit. Eine gewisse reduzierende Kraft ist für die Geschmacksstabilität unentbehrlich. Drastische Stabilisierungsmaßnahmen führen zur Herstellung fahler charakterloser Biere.

### 1.3 Wahl der Methoden

Um über die Natur der reduzierenden Substanzen bessere Klarheit zu gewinnen, haben wir verschiedene kolorimetrische Schnellmethoden entwickelt, die sich mit der Zeit immer wieder als allgemein gültig erwiesen haben.

Die meisten verwickelten Reaktionen zwischen reduzierenden Bierkomponenten und Reagenzien aller Art verlaufen nur träge, weil es sich um komplizierte Gemische von organischen Substanzen in schwachen Konzentrationen handelt. Die Überwachung des Reaktionsablaufs spielt eine schwerwiegende Rolle bei der Auswertung der Ergebnisse. Jede Oxidationsreaktion setzt sich stundenlang fort. Für praktische Zwecke muss aber eine kurze Reaktionszeit willkürlich gewählt werden. Ein einziger Wert gilt nur als Indiz für reduzierende Kraft. Er genügt aber nicht, um die Charakteristiken der Reaktion kennen zu lernen. Daher muss der Verlauf der Reaktion sorgfältig untersucht werden. Das setzt eine strikte Kontrolle der Reaktionsparameter, vor allem der Temperatur, und die richtige Wahl der Konzentrationen voraus.

Die beteiligten Reaktionen umfassen die Messung von:

- der Abnahme der Oxidankonzentration (z.B. rotes DCI → □ farbloses DCIH<sub>2</sub>);
- der Zunahme der Konzentration eines gefärbten reduzierten Produktes (z.B. farbloses DPFe<sub>3</sub> → rotes DPFe<sub>2</sub>);
- der Erscheinung farbiger Oxidationsprodukte oxidierbarer Bierkomponenten, z.B. der Bräunung von Substanzen polyphenolischer Natur;
- der Entfärbung spezifisch brauner Biersubstanzen, z.B. Fenton'sche Reaktion.

Das Verhältnis der Konzentration der oxidierten Form des Reagens zu der Konzentration der reduzierenden Substanzen (Ox/Red) spielt eine Hauptrolle bei der Kinetik der Redox Reaktionen. Nur wenn (Ox) groß genug ist, um als konstant während der Reaktion betrachtet zu werden, kann man Reaktionen erster Ordnung erwarten. Es sind die einzigen, die einfach zu identifizieren sind. Das ist der Fall bei der  $DPFe_3$ -Bestimmung (Ox/Red ca. 15 für  $RK = 1 \text{ meq/l}$ ) und bei der peroxidasischen Bräunung (Ox/Red > 20). Das ist in beiden Fällen experimentell leicht möglich, weil die Oxidanzien farblos sind. Das ist aber nicht mehr der Fall mit DCI bei der üblichen ITT-Bestimmung. Die DCI-Lösungen beim Bier-pH sind intensiv rot. Es ist trotzdem möglich, mit einer speziellen Infusionsvorrichtung die DCI-Konzentration bei einem beliebigen Wert konstant zu halten. Die unter diesen Bedingungen entfärbte DCI-Menge wird in Abhängigkeit von der Zeit registriert.

Die Verwendung von Oxidanzienkonzentrationen, die für eine annehmbare Bräunungsgeschwindigkeit der polyphenolischen Bierkomponenten notwendig sind, führt manchmal zu Oxidationsstörungen, deren Erscheinung die Bräunungsmessung verfälscht (Peroxidatische Oxidationsstörung – EBC 1961). Der Umfang der Bräunung ist groß genug, um eine Verdünnung der Biere mit Wasser (1 + 3) zu erlauben, was in den meisten Fällen jede Trübungsbildung während der Bestimmungszeit (< 10 min) ausschließt.

Unter den zahlreichen untersuchten Methoden wird die peroxidatische Oxidation beschrieben, deren Spezifität nicht auf polyphenolische Komponenten begrenzt ist. Unter den oxidierbaren Bierkomponenten sind die Polyphenole aber die einzigen, die zu einer Bräunung führen.

Die hoch signifikante Korrelation zwischen  $RK-DPFe_3$  und Peroxidase-Bräunung unterstreicht den Wert der  $DPFe_3$ -Methode für die allgemeine Bieranalytik: Einfachheit, Schnelligkeit, Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit. Sie benötigt nur 50  $\mu\text{l}$  Bier, und führt nach 3 Minuten zum Ergebnis. Alle diese Vorteile sollen betont werden. Dazu kommt, dass die Lösungen der angewandten Reagenzien (2,2'-Dipyridyl und Ammonium-Eisen III-Sulfat) separat außerordentlich stabil sind.

#### 1.4 $RK-DPFe_3$ -Bestimmung

Diese Methode wurde 1971 vorgeschlagen und ist seitdem kaum verändert.

##### Apparatur

- Photometer mit Interferenz-Filter 510 nm
- Papiervorschub 12 mm/min
- Irisblende – Temperatur: 25 °C
- Küvette 20x10x40 mm, mit Magnetrührer
- Schreiberausschlag 250 mm.

##### Reagenzien

Der Komplex Eisen III-Dipyridyl wird kurz vor der Bestimmung durch Mischen von zwei Lösungen A und B in der Küvette aufbereitet.

Lösung A	2,2'-Dipyridyl (DP)	1000 mg
	Schwefelsäure 0,1 N	40 ml
	dest. Wasser qsp.	1000 ml

DP in eine Schale einwiegen, in einen 1000 ml Kolben mit Wasser quantitativ überführen, die Schale mit dest. Wasser spülen, 40 ml  $H_2SO_4$  0,1 N zugeben,

mit magnetischem Stäbchen (frei von haftenden Eisenspuren) bis zur vollkommenen Auflösung rühren, Rührstäbchen mit einem Magneten von außen abnehmen, mit dest. Wasser auffüllen.

Lösung B	Ammonium-Eisen III-Sulfat	300 mg
	$H_2SO_4$ konz.	0,4 ml
	dest. Wasser qsp.	100 ml

##### Küvetten

Sie müssen absolut sauber sein. Um die Arbeitszeit zu verkürzen, ist es zu empfehlen, zwei Küvetten, die nur für diese Bestimmung gebraucht werden, zu benutzen. Während der ersten Bestimmung wird die zweite Küvette mit Reagenzien beschickt und temperiert. Wenn aber eine Küvette zur Tannoidbestimmung schon gebraucht wurde, muss sie von dem anhaftenden PVP/T-Schleier mit Chrom-Schwefelsäure befreit werden, sonst nimmt die Durchlässigkeit des  $DPFe_3$ -Reagens langsam ab.

##### Arbeitsvorschrift

- 3,9 ml Lösung A, dann
- 0,1 ml Lösung B einpipettieren,
- Küvette ins Wasserbad bei 25 °C stellen.

Die Durchlässigkeit fällt normalerweise um einige Procente gleich nach dem Mischen und erreicht einen konstanten Wert nach ca. 2 Minuten.

Das Reagens muss mindestens 3 min. und kann dann aber bis zu 30 min. im temperierten Bad ohne Nachteil verbleiben.

- Äußere Flächen mit faserfreiem Papier abwischen,
- Küvette ins Kolorimeter tun,
- Schreiber auf 240 – 250 mm einstellen (T = 100%),
- Papiervorschub einschalten, 12 mm/ min,
- Stabilität kontrollieren (ca. 30 sek),
- 50  $\mu\text{l}$  Bier zugeben,
- Durchlässigkeit nach 3 min. ablesen,
- O.D. berechnen, das Ergebnis als O.D.  $\times 10^3$  und als meq/l angeben.

##### Eichung – Eisen II-Lösung 1 meq/l.

In einen 100 ml Kolben

- ca. 20 ml dest. Wasser,
- 0,4 ml konz.  $H_2SO_4$  geben,
- 39,2 mg Mohr'sches Salz in einer Schale einwiegen, mit dest. Wasser qsp. 100 ml quantitativ überführen.

Die Lösung muss kurz nach der Aufbereitung benutzt werden. Sie oxidiert sonst ziemlich schnell an der Luft. 10, 20, 50, 100  $\mu\text{l}$  werden in das Reagens gegeben. Die rote Zufärbung des Fe II-Dipyridyl-Komplexes erscheint augenblicklich. Die Durchlässigkeit stabilisiert sich sofort nach jeder Zugabe.

- O.D. für jedes Plateau berechnen,
- entsprechende Punkte auf einem Diagramm ( $y = \text{O.D.}$ ,  $x = \text{meq/l}$ ) eintragen.

Das Ergebnis ist eine Gerade. Den Koeffizient errechnen. Er hängt vom Interferenzfilter und von der Länge der Küvette (normalerweise 20 mm) ab.

##### Beispiel

Bier 50  $\mu\text{l}$  T = 62% O.D. =  $\log 100/62 = 0,207$   
Koeff. (für unser Gerät und 50  $\mu\text{l}$  Bier) = 6,7

$RK = 0,207 \times 6,7 = 1,39 \text{ meq/l}$

Übliche Werte für helle Biere:

0,60 – 1,40; für dunkle Biere: 1,2 – 2,0 meq/l.

Für dunkle Biere ist eine Farbekorrektur unentbehrlich.

*Korrektur*

- 4 ml Wasser in die Küvette geben,
- 100% einstellen,
- 50 µl Bier zugeben,
- T% ablesen,
- O.D. (Farbe) berechnen,

Ergebnis: {O.D. – O.D.(Farbe)} x Koeff. = ..... meq/l.

*Nach dem Versuch*

- Küvette unter leicht fließendem Wasser sorgfältig spülen,
- Achtung, das Stäbchen nicht verlieren (in die linke Hand fallen lassen),
- Küvette vom haftenden Wasser durch kräftiges Schütteln befreien,
- das Innere nicht abtrocknen,
- Stäbchen in die Küvette tun.

**1.5 Peroxidase Bräunung**

Die Zugabe von kleinen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Mengen ins Bier löst keine sichtbare Reaktion aus. Das Vorhandensein von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kann mehrere Stunden lang nachgewiesen werden. In Anwesenheit von Peroxidase dagegen entwickelt sich eine rasche Bräunung, die kurz darauf von einer mehr oder weniger starken Trübungsbildung begleitet wird.

Die Bildung von sog. „peroxidatischen Trübungen“ wurde eingehend studiert (EBC 1961). Das Bräunungsphänomen wurde damals nicht beachtet.

Schon bei den ersten Orientierungsversuchen mit verschiedenen Bieren hat sich zwischen Form und Umfang der Bräunungskurven (bei 430 nm) und der roten Zufärbung des DPFe<sub>3</sub>-Reagens (bei 510 nm) eine mit bloßem Auge sichtbare hohe Korrelation herausgestellt. Die Versuchsbedingungen der Peroxidase-Zufärbung wurden so gewählt, dass die Ergebnisse in den gleichen Durchlässigkeitsbereich wie DPFe<sub>3</sub> fielen.

*Apparatur*

- Photometer mit Interferenzfilter 430 nm,
- Papiervorschub 6 mm/min.,
- andere Merkmale wie bei 1.4.

*Reagenzien*

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 Vol %,
- Peroxidase (HRP) (Horse radish Peroxidase Sigma-Type I) 4 mg / 2,5 ml,
- dest. Wasser + Merseptyl 50 µl einer 1% Lösung.
- Die Stabilität dieses Reagens während eines Monats ist durchaus befriedigend.

*Arbeitsvorschrift*

- Küvette mit 3 ml Wasser beschicken,
- Schreiber zwischen 240 und 250 mm einstellen, (Durchlässigkeit T = 100 %),
- 1 ml Bier zugeben,
- Farbe messen, als Optische Dichte x 10<sup>3</sup> ausdrücken,
- Schreiber auf 240 – 250 mm einstellen (neue T = 100% für bessere Empfindlichkeit),
- 20 µl Peroxidase (HRP), dann

- 1 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zugeben,
- Durchlässigkeit T nach 6 min. ablesen,
- Δ O.D. berechnen, das Ergebnis als O.D. x 10<sup>3</sup> angeben.

**1.6 Prinzip der KOH-Bräunungs-Bestimmung**

Die Alkalisierung des Bieres hat eine sofortige Bräunung zur Folge. Das so behandelte Bier wird mit der Zeit langsam dunkler, während eine Trübung sich allmählich entwickelt.

Die Ansäuerung bewirkt eine sofortige Aufhellung, die praktisch reversibel ist, wenn sie innerhalb 30 – 60 sek. erfolgt, die aber um so irreversibler wird, wenn die Dauer des Aufenthaltes im basischen Milieu zunimmt.

Um die Bräunung in annehmbaren Durchlässigkeitsgrenzen zu halten, ist es notwendig, das Bier 1/4 zu verdünnen, was übrigens die Trübungsbildung wenigstens für kurze Versuche vermeidet und einen direkten Vergleich mit der Peroxidase-Bräunung erlaubt.

Die reversible Bräunung kann mit der Farbänderung eines pH-Indikators verglichen werden. Die im basischen Milieu dunklere Form ist wahrscheinlich der Bildung von chinonähnlichen Strukturen zu vergleichen. Die irreversible Bräunung ist der langsameren Bildung von oxidierten Strukturen, die sich allmählich kondensieren, gefolgt, die dann mit den Proteinen zu Trübungen führen.

*Apparatur*

- Photometer mit Interferenzfilter 430 nm.

*Reagenzien*

- KOH 2N,
- Essigsäure.

*Arbeitsvorschrift*

- Küvette mit 3 ml Wasser beschicken,
- 1 ml Bier zugeben und ins Photometer stellen,
- Schreiber auf 240 – 250 mm einstellen (Durchlässigkeit 100%),
- Temperaturnausgleich erwarten,
- 50 µl KOH 2N zugeben.

Die Durchlässigkeit sinkt erst sehr schnell, dann immer langsamer.

Nach ca. einer Minute 20 µl Essigsäure zugeben.

Die Durchlässigkeit kommt sofort an die 95% des Eingangswertes zurück, und stabilisiert sich rasch etwas höher.

Die 45°-Tangente an die Kurve zeichnen,

Der so definierte Punkt gilt als Wert der reversiblen Bräunung.

Das Ergebnis als O.D. x 10<sup>3</sup> angeben.

Alle Ergebnisse dieser Arbeit wurden mit der beschriebenen Methode erhalten.

**1.7 Prinzip der DCI- Einspritzmethode**

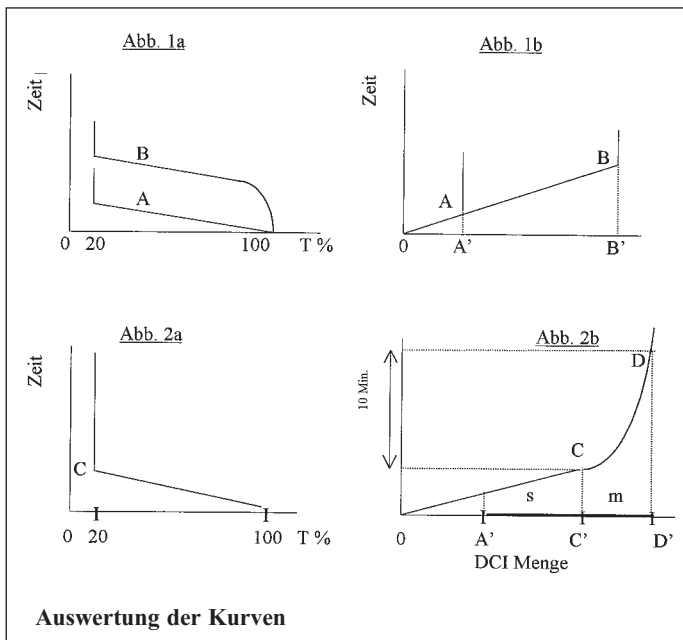
Die DCI-Lösung wird in das Bier mit konstanter Geschwindigkeit eingespritzt. Ein Kolorimeter misst die Abnahme der Durchlässigkeit bei 510 nm, in Abhängigkeit von der Zeit, bis zu einem willkürlich gewählten Wert, der in diesem Fall auf 20% festgelegt wurde. Dann wird die DCI-Lösung nur über Impulse, die vom Kolorimeter gesteuert werden, zugegeben, um die Durchlässigkeit konstant zu halten.

Der zweite Schreiber misst die verbrauchte DCI-Menge während weiterer 10 min nach dem Erreichen von  $T = 20\%$ . Die beiden Kurven liefern brauchbare Auskünfte über den Oxidationsverlauf, der charakteristisch für das untersuchte Bier ist.

Zwei bis vier Etappen können somit unterschieden und quantitativ ausgedrückt werden, obwohl jede Etappe aus den folgenden Gründen nicht anders als arbiträr sein kann:

- ❑ Der Durchlässigkeitswert, der die konstante DCI-Konzentration bestimmt, wurde willkürlich gewählt.
- ❑ Alle Biere enthalten ein komplexes Gemisch von reduzierenden Substanzen in veränderlichen Konzentrationen, deren Eigenschaften sich zum Teil überlappen.
- ❑ Die Reaktionsgeschwindigkeit hängt von der Menge und der Natur der beteiligten Substanzen ab.

Trotz dieser Einschränkungen tragen die erhaltenen Ergebnisse zu einem besseren Verständnis des Mechanismus der Oxidationsreaktionen bei.



Die erste Etappe entspricht der Zeitspanne, die vom Anfang der DCI-Zugabe ( $T = 100\%$ ) bis zum Erreichen der Durchlässigkeit  $T = 20\%$  reicht.

Enthält die Küvette keine oxidierbaren Substanzen, z.B. 4 ml Wasser + 5 µl Essigsäure, also im Wertbereich des Bier-pH, bei dem der Farbstoff rot ist, nimmt die Durchlässigkeit schnell ab, bis der Wert 20% erreicht wird. Dann wird kein DCI mehr zugegeben. (Abb 1a, Kurve A) (Kolorimeter). Auf dem zweiten Schreiber wird eine Gerade gezeichnet, die der Menge  $OA'$  entspricht (Abb. 1b, Kurve A).

Wird jetzt in die Küvette eine bekannte Ascorbinsäure-Menge gegeben (z.B. 100 µl einer 0,01N  $AH_2$  Lösung in 4 ml Wasser + 5 µl Essigsäure) erhält man die Kurve B (Abb. 1a).  $AH_2$  wird bei den kleinsten DCI-Konzentrationen oxidiert (zwischen 100% und 80% Durchlässigkeit). Auf dem zweiten Schreiber wird die Gerade  $OB$  gezeichnet (Abb 1b, Kurve B). Diese beiden Bestimmungen sind für die Eichung des Gerätes notwendig. Die für die Oxidation von  $AH_2$  gebrauchte DCI-Menge ist  $OB' - OA' = A'B'$ .

Sie entspricht einer Konzentration der Flüssigkeit in der Küvette von  $0,01/40 = 0,25$  meq/l.

Bei den meisten Handelsbieren sehen die Kurven wie C auf der Abbildung 2a aus. Die erste Etappe der Oxidation dauert an, so lange die Durchlässigkeit nicht 20% erreicht hat. Die oxidierten Substanzen entsprechen:  $OC' - OA' = A'C' = „s“$  (Abb 2b). „s“ gilt als „schnell“ reduzierende Substanzen.

*Zweite Etappe*

Die Oxidation geht langsam weiter: DCI wird durch Impulse zugegeben. Das Photometer, das die Spritze steuert, registriert nur eine Gerade bei 20% (Abb 2a). Der zweite Schreiber gibt eine Kurve, die der zweiten Etappe entspricht (Abb 2b). Die in 10 min. oxidierten Substanzen entsprechen  $C'D' = „m“$ .

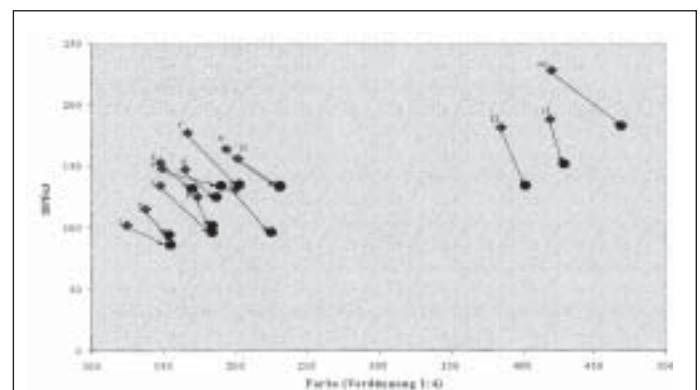
„m“ gilt als „mäßig“ reduzierende Substanzen. Nach 10 min. wird der DCI-Verbrauch immer langsamer. Die „langsam“ reduzierenden Substanzen sind nicht von Interesse.

**2 Die Ergebnisse**

Die folgenden Tabellen und Diagramme veranschaulichen die wichtigsten Ergebnisse.

**2.1 Zusammenhang zwischen natürlicher Bräunung und Farbe**

Nr	Nullbier vor AT		Nach AT	
	DPFe <sub>3</sub>	Farbe	DPFe <sub>3</sub>	Farbe
1	102	125	86	155
2	115	138	94	154
3	134	148	96	184
4	153	148	132	170
5	148	149	134	190
6	147	165	125	187
7	177	167	135	203
8	125	174	102	184
9	164	194	133	231
10	131	200	96	225
11	156	202	134	231
12	181	385	134	402
13	188	419	152	429
14	228	420	183	469



**Abb. 3** Durch Oxidation an der Luft erfahren alle Bierproben eine sehr langsame aber regelmäßige Farbezunahme, die mit einer verhältnismäßig kleinen Abnahme der RK-DPFe<sub>3</sub> gekoppelt ist. Um deutliche Ergebnisse zu haben, muss der Luftkontakt 10 – 15 Tage andauern. Das Bier (10 ml in halb vollen Fläschchen) wird mit Merseptyl als Antiseptik behandelt (ein Tropfen einer 1 mg/ml Lösung) und im Dunklen bei Raumtemperatur aufbewahrt. Infolgedessen ist die Studie der Wirkung aller Oxidanzien, die eine Bräunung hervorrufen, berechtigt.

2.2 Aktuelle Analysendaten einer Braustättengruppe 1997

Nr	Gruppe	Tanninoide	DPFe <sub>3</sub>
1	Radeberg	10	0,88
2	Jever	16	0,90
3	Lübz	0	0,72
4	Warsteiner	14	0,84
5	Haake-Beck	27	1,05
6	Bitburger	34	1,11
7	Krombacher	30	1,15
8	Freiberger	0	0,66
9	Hasseröder	12	0,94
10	Königsbacher	17	0,87
11	Oettinger	27	1,04
12	Veltins	40	1,21
13	König	21	1,02
14	Reichel	0	0,69

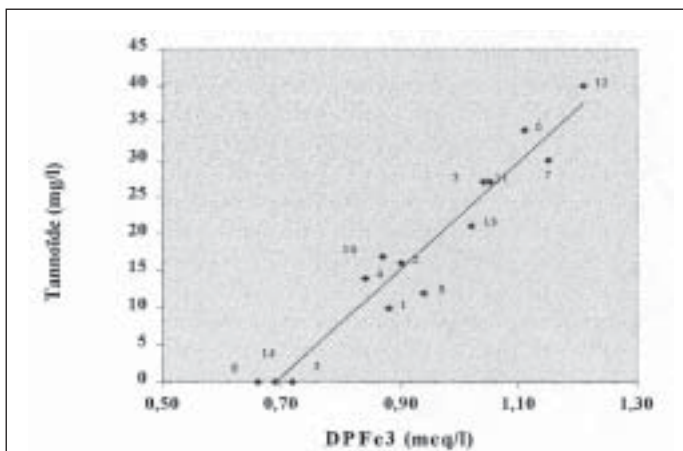


Abb. 4 Das Diagramm aus Daten von 1997 veranschaulicht eine bemerkenswerte Korrelation zwischen Tanninoide- und RK-DPFe<sub>3</sub>-Werten für Biere des Pilsener Typus der größten deutschen Brauereien, mit insgesamt 67,3 Mio hl. Ausstoß.

2.3 Zusammenhang zwischen Tannoiden, DPFe<sub>3</sub>, Peroxidase-Bräunung und reversibler KOH-Bräunung

Die Tabellen 1 und 2 enthalten die Ergebnisse von Bestimmungen von Farbe, RK-DPFe<sub>3</sub>, Peroxidase- und KOH-Bräunung (reversibel durch schnelle Ansäuerung) von einer Serie heller Biere aller Provenienzen des Jahres 1994.

Die entsprechenden Diagramme der Abbildung 5 illustrieren die bemerkenswerten Korrelationen zwischen den 4 Wertereihen. Sie wurden zum ersten Mal anlässlich eines Bremer brautechnologischen Colloquiums vorgeführt. Das war der Anlass für eine langjährige Studie, deren praktische Schlüsse das Thema dieser Mitteilung sind.

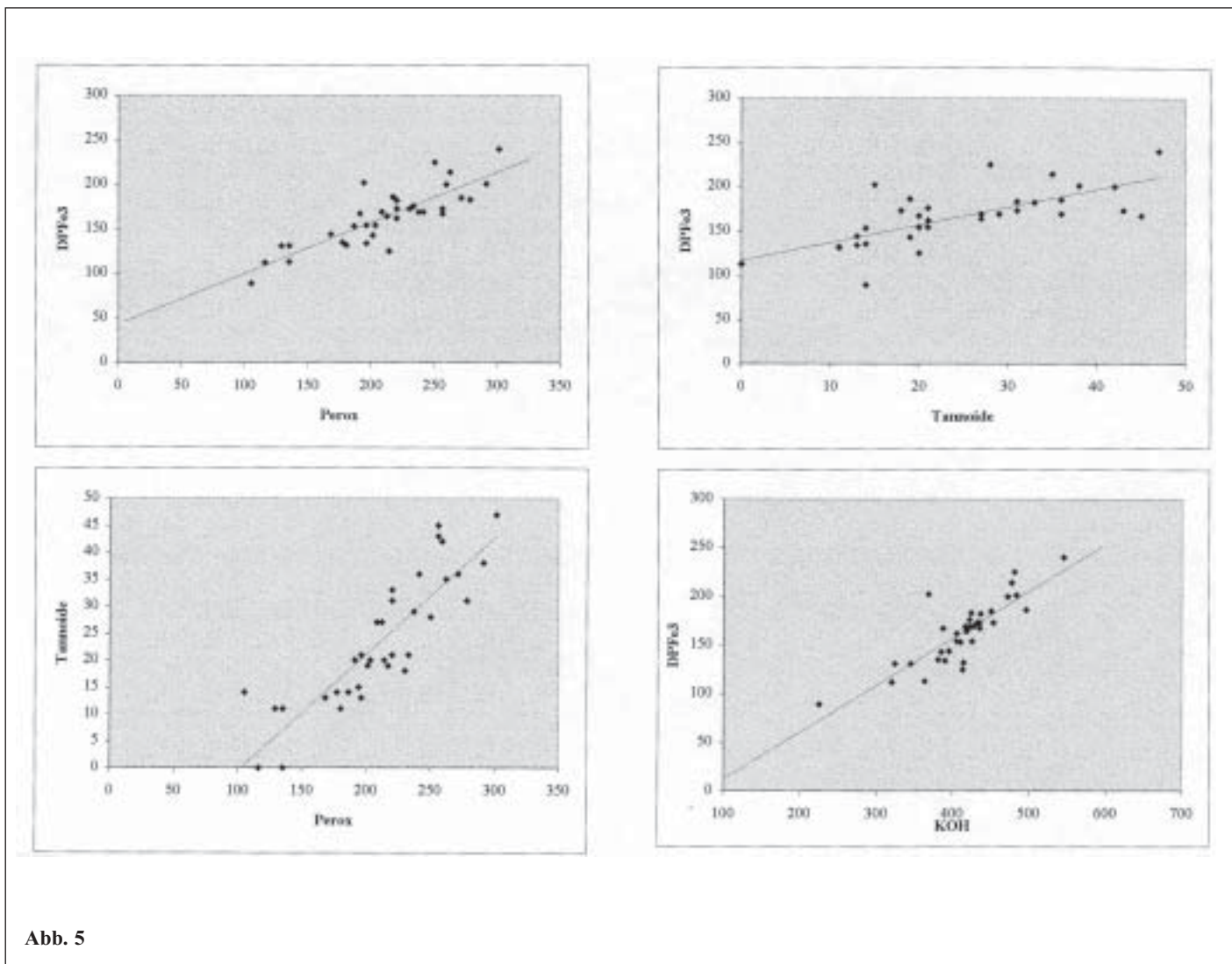
Korrelationen aus Tabelle 2

<b>n = 35</b>	<b>r Werte</b>
DPFe <sub>3</sub> / Perox.	0,842
DPFe <sub>3</sub> / KOH	0,840
DPFe <sub>3</sub> / Tanninoide	0,733
Perox. / KOH	0,872
KOH / Tanninoide	0,707
Perox. / Tanninoide	0,872

In den Tabellen 1 und 2 sind die Biere nach steigenden RK-Werten eingeordnet

	A	B	C
	OD 510 RkDPFe <sub>3</sub>	OD 430 Ox. Perox.	PVP. mg/l Tanninoide
a	95	120	12
b	96	134	0
c	115	151	0
d	131	159	21
e	131	166	0
f	132	192	35
g	134	190	22
h	136	170	19
i	136	173	20
j	136	180	13
k	137	160	0
l	145	172	12
m	154	154	15
n	154	163	28
o	160	186	14
p	160	208	21
q	170	180	0
r	170	210	31
s	171	194	26
t	171	243	34
u	198	326	45
v	213	271	17
w	222	276	49
x	232	321	47

	A	B	C	D	E
	OD 510 RkDPFe <sub>3</sub>	OD 430 Ox.Perox.	PVP.mg/l Tanninoide	OD 430 KOH	OD 430 Farbe
a	89	105	14	225	91
b	112	116	0	320	191
c	113	135	0	363	118
d	125	214	20	413	125
e	131	135	11	324	148
f	131	129	11	345	209
g	132	180	11	414	204
h	134	196	13	390	197
i	135	177	14	381	127
j	143	201	19	385	155
k	144	168	13	395	116
l	153	186	14	410	185
m	154	196	21	405	135
n	154	203	20	425	125
o	162	220	21	405	125
p	164	212	27	418	153
q	167	191	20	387	156
r	167	256	45	435	178
s	169	208	27	427	147
t	169	237	29	416	143
u	169	241	36	422	137
v	173	220	31	435	129
w	173	230	18	432	122
x	173	256	43	453	137
y	176	233	21	422	127
z	182	220	33	436	165
α	183	278	31	424	200
β	185	271	36	450	217
χ	186	217	19	496	190
δ	200	259	42	472	166
ε	201	291	38	483	217
φ	202	194	15	368	198
γ	214	262	35	477	274
η	225	250	28	481	306
ι	240	301	47	545	216



2.4 Wirkung der AT-Adsorption bei den verschiedenen Bestimmungen

2.4.1. Peroxidase-Bräunung

Nr	Nullbier		auf AT adsorbiert		AT-behandelt	
	Perox	DPFe <sub>3</sub>	Perox	DPFe <sub>3</sub>	Perox	DPFe <sub>3</sub>
1	189	243	172	124	71	65
2	179	195	130	104	65	75
3	174	210	157	97	53	77
4	173	206	142	96	64	67
5	184	223	157	110	66	74
6	210	221	148	111	73	99
7	161	170	102	83	68	78
8	168	198	129	97	69	71
9	216	245	176	124	69	92
10	196	205	139	100	66	96
11	227	227	173	121	54	106

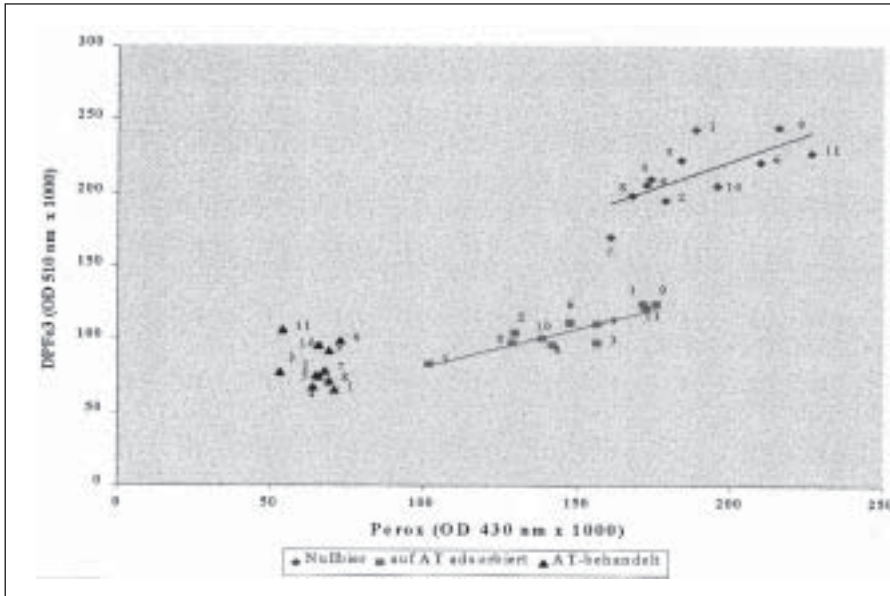


Abb. 6 Die Adsorption auf gereinigtem AT – 1%, Kontaktzeit: 15 min unter regelmäßigem Schütteln, gefolgt von Papierfiltration – ruft eine Abnahme der beiden analytischen Werte hervor. Die Adsorption der Polyphenole ist bei weitem nicht vollständig. Überraschend ist die Tatsache, dass die Werte der AT-behandelten Biere sehr nahe beieinander liegen, obwohl die adsorbierbaren Polyphenole untereinander große Unterschiede aufweisen.

2.4.2 RK-DPFe<sub>3</sub> – KOH-Bräunung

Nr	Nullbier vor AT		
	DPFe <sub>3</sub>	Perox	KOH
1	180	206	367
2	165	198	387
3	163	143	426
4	87	110	302
5	175	157	414

Nach AT		
DPFe <sub>3</sub>	Perox	KOH
82	73	265
84	72	274
104	72	309
52	66	236
98	64	302

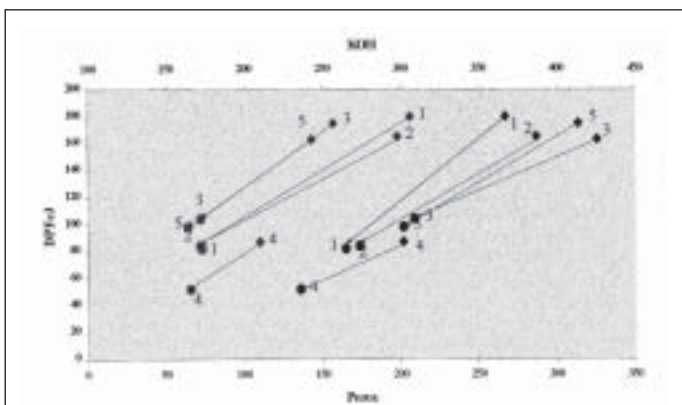


Abb. 7 Sie ergänzt die Schlüsse der Abbildung 6. Sie bezieht sich auf ein Beispiel von Bierproben derselben Versuchsreihe mit verschiedenen analytischen Merkmalen. Übersichtlichkeit halber wurde das Diagramm auf 5 Biere begrenzt, und der Ursprung der Abszissen der KOH-Bräunungswerte um 0,1 O.D. nach links verschoben.

gilt. Man kann daraus ableiten, dass die polyphenolischen Komponenten aller hellen Biere, seien sie auf AT adsorbierbar oder nicht, abgesehen von ihren Provenienzen die gleiche spezifische RK-DPFe<sub>3</sub> haben. Die Einheitlichkeit der Zusammensetzung aller hellen Biere muss ausdrücklich betont werden. Die peroxidase Bräunung bezieht sich ausschließlich auf Polyphenole.

Die DPFe<sub>3</sub>-Werte entsprechen gleichzeitig den polyphenolischen und nicht polyphenolischen Komponenten. Ein kleiner Anteil der letzteren wird durch AT zurückgehalten. Die meisten verbleiben aber in Lösung.

Eine bemerkenswerte Verhaltensähnlichkeit erscheint auf den ersten Blick zwischen Peroxidase-Bräunung = oxidativer Vorgang und reversibler KOH-Bräunung = nicht oxidativer Vorgang. Die Vektoren, die die Wirkung der AT-Behandlung veranschaulichen, haben bei den beiden Versuchsreihen ungefähr den gleichen Umfang und auch dieselbe Steigung. Das ist ein unbestreitbarer Beweis dafür, dass auf AT adsorbierbare Polyphenole für zwei Reaktionen, deren Prinzip völlig unterschiedlich ist, verantwortlich sind.

Für die gleiche Verdünnung (1/4) ist der Umfang der nicht oxidativen reversiblen alkalischen Bräunung, um ca. 0,2 O.D. größer, als die der oxidativen Perox-Bräunung. Für die 35 Biere der Tabelle 2 beträgt die Verschiebung im Durchschnitt 0,203 O.D. Diese Verschiebung kommt Substanzen nicht polyphenolischer Natur zu.

Betrachten wir zuerst die Wirkung der AT-Adsorption auf die Peroxidase-Bräunung. Bemerkenswert ist die Parallelität der Vektoren, die den Effekt der Adsorption veranschaulichen. Man kann annehmen, dass eine Parallele zu diesen Vektoren, die durch den Nullpunkt der Perox-Skala gezogen wird, für alle Polyphenole

2.4.3. Farbe

Nr	Farbe Nullbier	Farbe nach AT
1	135	101
2	180	138
3	174	135
4	130	100
5	134	96
6	341	299
7	136	106
8	163	121
9	195	148
10	215	157
11	364	290

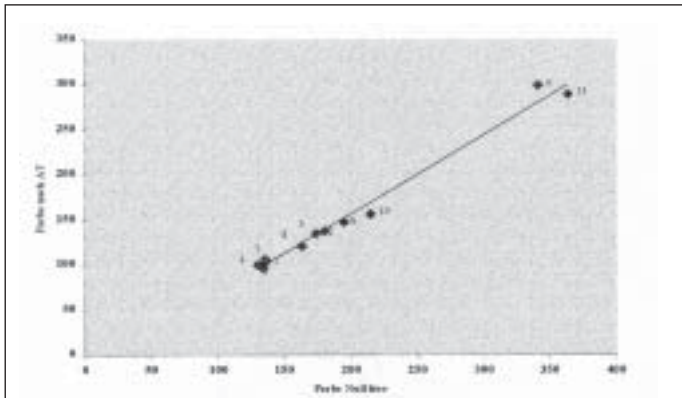


Abb. 8 Dieses Diagramm zeigt, dass der Prozentsatz der auf AT adsorbierten braunen Stoffe der Farbe des Nullbieres proportional ist. Zu braunen Substanzen, denen das Bier seine Farbe verdankt, gehören zwei Kategorien von Komponenten: Melanoidine und Caramelle auf der einen, oxidierte Derivate von bestimmten Polyphenolen auf der anderen Seite. Modellexperimente zeigen, dass die Farbe der Komponenten der ersten Kategorie praktisch unverändert die Aufbewahrung übersteht, während die Farbe der Polyphenole durch Oxidation zunimmt. Man hätte erwartet, dass das Verhältnis der beiden Kategorien mit dem Oxidationszustand der Biere variieren würde, aber die Unterschiede bleiben gering. Ein kleiner Anteil der Caramell- und Melanoidinlösungen wird durch AT-Behandlung zurückgehalten. Die Entfärbung durch AT-Behandlung hängt von zwei verschiedenen Phänomenen ab: 1) der mechanischen Reduktion der größeren dunklen kolloidalen Partikel und 2) der strukturabhängigen Adsorption einiger brauner Derivate. Die Adsorption betrifft hauptsächlich einen Anteil der braunen kondensierten Polyphenole.

2.5 Erste Ergebnisse der DCI-Einspritzmethode

Die Tabelle 3 enthält einige Werte von verschiedenen Bestimmungen, die zur gleichen Zeit auf einer Reihe von 12 Bierproben der selben Sendung erhalten worden sind.

Die Ergebnisse der DCI-Einspritzmethode sind noch als provisorisch zu betrachten, weil sie von den Arbeitsbedingungen stark abhängig sind. Die Methode ist zu jung, um völlig ausgewertet zu werden.

Diese Werte veranschaulichen jedoch wichtige Korrelationen zwischen den neuen DCI-„m“-Zahlen und den alten bewährten RK-DPFe<sub>3</sub>. Die „m“-Werte erfassen im Durchschnitt nur 7,3% der RK-DPFe<sub>3</sub>-Werte. Die Regressionsgerade „m“/RK-DPFe<sub>3</sub> geht nicht durch den Nullpunkt (Abb. 9a), weil die RK-DPFe<sub>3</sub>-Werte gleichzeitig polyphenolischen und nicht-polyphenolischen Substanzen entsprechen. Die Korrelation „m“/RK-DPFe<sub>3</sub> beträgt r = 0,654.

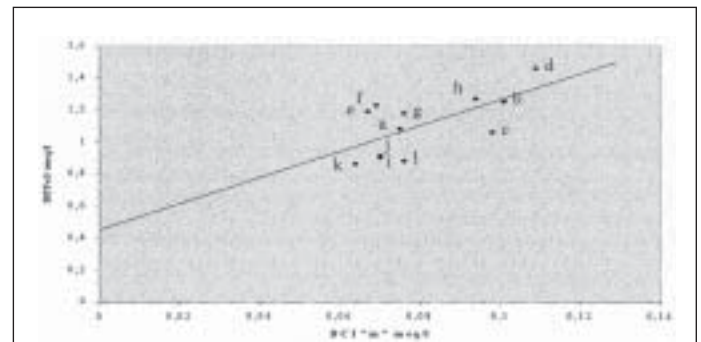


Abb. 9a

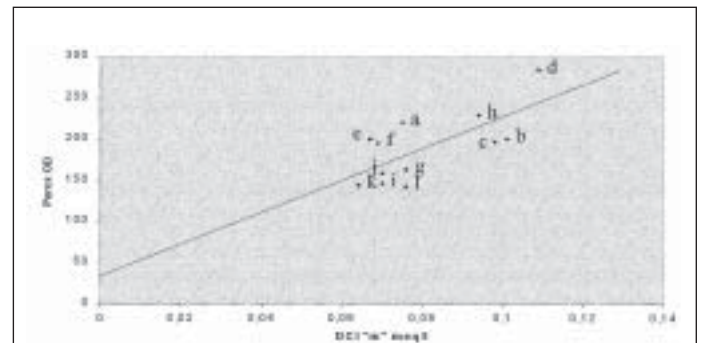
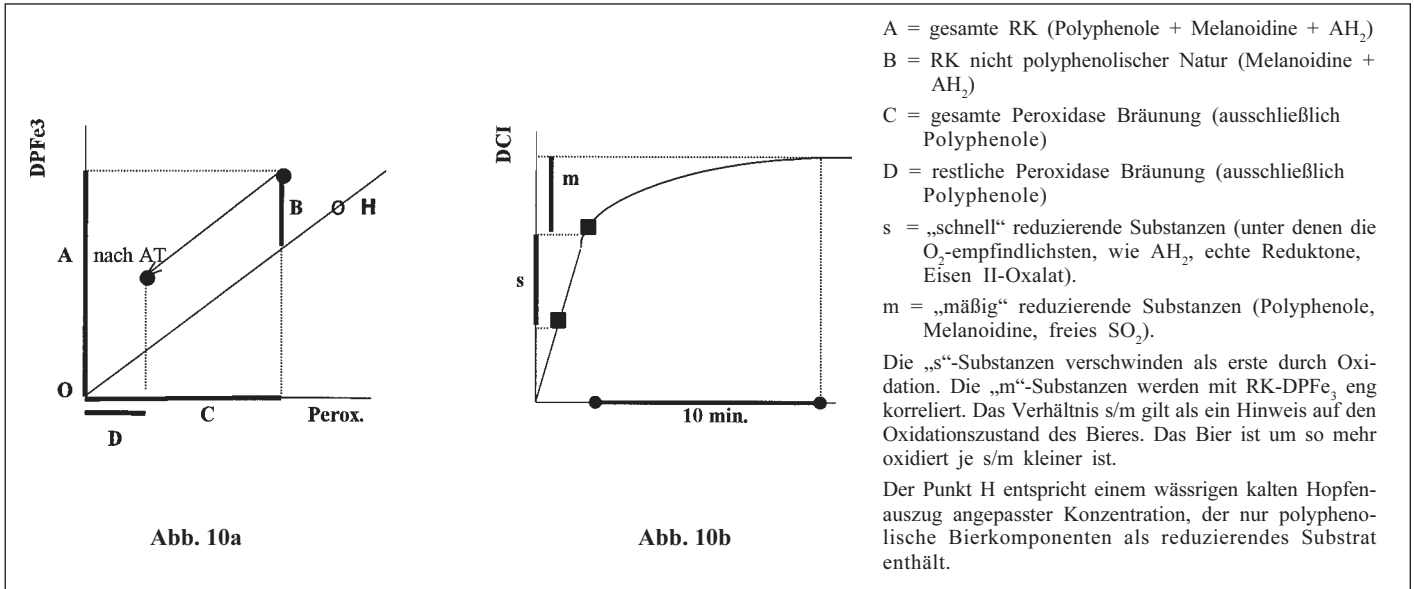


Abb. 9b

Tabelle 3

	DPFe <sub>3</sub>		DCI „m“	Perox.	KOH	Farbe	Tannoide mg/l	
	O.D.	meq/l					O.D.	Am <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
a	161	1,08	0,075	220	357	206	45	
b	187	1,25	0,101	200	441	270	26	
c	158	1,06	0,098	196	373	184	27	
d	219	1,46	0,109	283	480	234	58	
e	178	1,19	0,067	200	406	260	0	31
f	184	1,23	0,069	195	410	262	0	30
g	176	1,18	0,076	163	402	510	23	
h	190	1,27	0,094	228	381	333	31	
i	134	0,90	0,07	159	370	158	22	
j	136	0,91	0,07	146	379	164	<10	24
k	128	0,86	0,064	144	375	170	< 10	17
l	131	0,88	0,076	142	345	137	< 10	17



Die seit 1994 studierte, aber nicht veröffentlichte Peroxidase-Bräunungs-Bestimmung hat sich als sehr zuverlässig erwiesen.

Die Korrelation „m“/ Perox-Bräunung beträgt 0,706.

Die Regressionsgerade geht praktisch durch den Nullpunkt (Abb. 9b).

Dieses Ergebnis bestätigt, dass die mäßig reduzierenden Substanzen „m“ hauptsächlich polyphenolischer Natur sind. Die DCI-„s“-Werte haben ihre Bedeutung nur bei Bieren, die keinen Luftkontakt gehabt haben. Das ist natürlich nicht der Fall bei unseren kleinen Bierproben. Deshalb wurden keine „s“-Werte in die Tabelle eingetragen.

Die Korrelation Perox/KOH-Bräunung beträgt auch zufällig wie „m“/DPFe<sub>3</sub>, r = 0,654. Dieser Wert bestätigt sogar für eine kleine Sortierung die allgemeine Beobachtung der Tabellen 1 und 2 und der Abbildung 7.

Die Tannoidbestimmung in Anwesenheit von Ammoniumsulfat (0,3 ml einer gesättigten Am<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung zu 4 ml Bier), die sich nur bei Bieren, die kaum Tannoide enthalten (sehr flache Kurven unter 10 mg/l), lohnt, gibt einen Hinweis auf die Intensität der Stabilisierungs-Behandlung. Sie sind „Resttannoide“ genannt worden (1993).

**2.6 Beitrag unserer Schnellmethoden zur Analyse der reduzierenden Kraft der Biere**

Schnelle, zuverlässige und billige Analysenmethoden geben einen eingehenden Hinblick auf die Zusammensetzung der reduzierenden Kraft (RK) sowie eine Idee auf den Werdegang der Biere. Alle photometrischen Messungen werden mit einem Schreiber verfolgt. Die Temperatur muss konstant gehalten und der Küvetteninhalt sehr wirksam homogenisiert werden.

Reagens	Probevolumen	Versuchsdauer	Methode	λ nm
DPFe <sub>3</sub>	50 µl	3 min	Kolorimetrie	510
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> – HRP	1 ml	6 min	Kolorimetrie	430
DCI	4 ml	12 min	Einspritzung	510
KOH	1 ml	1 min	Kolorimetrie	430

Die typischen Kurven der Abbildungen 10a und 10b fassen die erhaltenen Ergebnisse zusammen.

Dank ihrer Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit erlaubt die neue dynamische DCI-Einspritzmethode eine feine Analyse der ersten Stufen der Bieroxidation durch Luft, was das Endziel dieser Art Forschung ist. Da es sich um geringe Mengen von O<sub>2</sub>-sehr empfindlichen Komponenten handelt, haben die Analysen der DCI-schnell-reduzierenden Substanzen „s“ nur einen Sinn, wenn das Bier vor dem Versuch keinen Kontakt mit Luft gehabt hat. Das ist bei unseren kleinen Bierproben nicht der Fall. Daher wurden keine „s“-Werte gegeben.

Die Abbildung 11 ist ein Beispiel der verschiedenen Bestimmungen, die nacheinander auf demselben Blatt für Bierproben derselben Sendung durchgeführt werden können. Bei allen Versuchen sind die Feinheit und Regelmäßigkeit aller Kurven bemerkenswert. Die Empfindlichkeit der DCI-Einspritzmethode liegt darin, dass jede Treppenstufe in der Etappe „m“ einem Impuls von nur ca. 4 µl der 0,01 N DCI-Lösung entspricht, und die Impulse folgen einem dem anderen sehr regelmäßig.

Die Biere (4 helle, aber auch ein dunkles (F) und ein schwarzes (E)) veranschaulichen typische Fälle. Die Tannoidwerte gehen von 0 auf 64. Die zwei Biere, die keine Tannoide enthalten (B und E), geben mit PVP in Anwesenheit von Am<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> flache aber deutliche Fällungskurven. Sie enthalten einen kleinen Gehalt an „Resttannoiden“ (15 mg/l für B und 12 für E). Ein kleiner Tannoidgehalt ist bei traditionellen dunklen Bieren die Regel (Bier F). Bei hellen Bieren deutet er auf drastische Stabilisierungsmaßnahmen (B).

Die angegebenen Farbwerte geben einen Hinweis auf den Gehalt an Melanoidinen. Das Schwarzbier E, viel dunkler als das dunkle Bier (F), ist verhältnismäßig ärmer an RK, weil ein stark geröstetes Malz echte lösliche Melanoidine zugunsten von schwarzen schwer löslichen Komponenten verliert.

**2.7 Schlusswort**

Wir wollen hier zum Schluss die Einheitlichkeit des Verhaltens heller Biere nochmals ausdrücklich betonen. Das ist die wichtigste Folgerung der hoch signifikanten Korrelationen zwischen Polyphenolen und reduzierender Kraft, wie aus den Tabellen 1 und 2 hervorgeht.

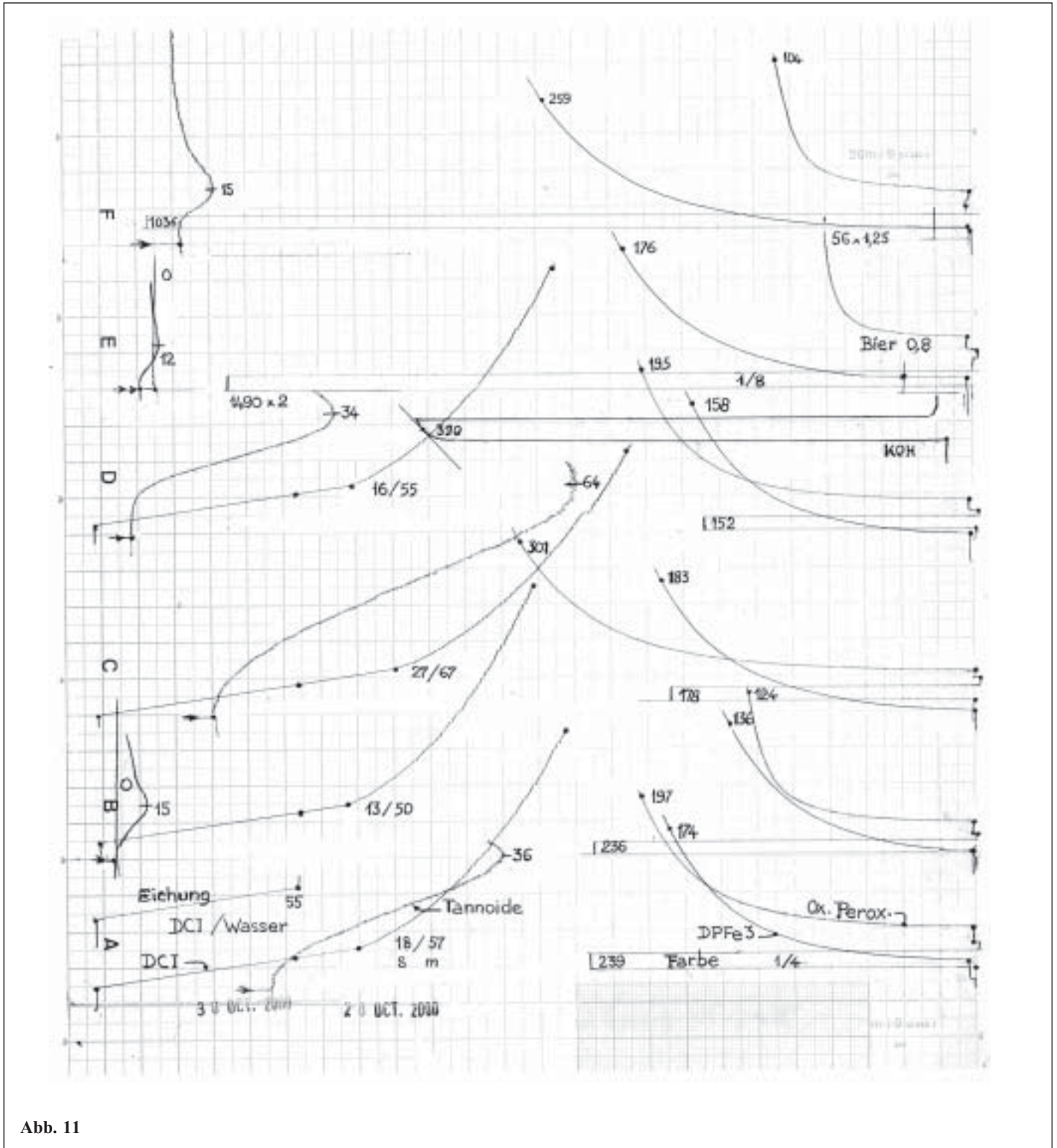


Abb. 11

Alle vorgeschlagenen neuen Methoden, deren Prinzipien außerordentlich verschieden sind, bestätigen das Resultat, das mittels der schnellen und einfachen RK-DPFe<sub>3</sub>-Bestimmung erhalten werden kann. Sie geben uns die Möglichkeit, die Analyse der zugrundeliegenden Phänomene zu verfeinern.

Weitere eingehendere Forschungsergebnisse sollen demnächst den folgenden Themen gewidmet werden:

- DCI-Einspritzverfahren,
- Kinetik der Bieroxidation,

- Peroxidase-Bräunung,
- Alkalische Bräunung,
- Oxidative Bräunung mit verschiedenen Oxidationsmitteln,
- Photochemische Aspekte der Bieroxidation,
- Eisenkomplexe des Bieres und Redoxzustand,
- Fenton'sche Reaktion.

Jede Methode gibt einen tiefgreifenden Einblick in die Natur der beteiligten Oxidationen.

**3 Die heutigen Produktionstendenzen und deren Konsequenzen**

Viele Maßnahmen wurden getroffen, um die Rohstoff-, Energie-, und Arbeitskosten zu vermindern. Fast alle sind von einer Erniedrigung der Bier-RK begleitet. Gleichzeitig sind die Kosten der Stabilisierungsvorgänge gestiegen.

Die Regelmäßigkeit der Bierproduktion das ganze Jahr hindurch ist mit der Qualität der Rohstoffe eng verbunden. Um dieses Ziel zu erreichen, wird das Malz aus verschiedenen Quellen verschnitten. Es ist selbstverständlich schwerer für Großbrauereien als für die kleinen, homogene Malzpartien zu besorgen. Das hat eine Herabsetzung der durchschnittlichen Qualität zur Folge.

Mit der Verbesserung der Malzqualität wird die Auflösung der Polyphenole während der Würzegewinnung begünstigt. Wir haben gezeigt (ASBC 1968), dass dieser Vorgang mit einem besseren Abbau der ungelösten Eiweißstoffe des Gerstenkorns verbunden ist. Später (EBC 1967) in einer gemeinschaftlichen Arbeit haben wir bewiesen, dass löslicher Stickstoff gleichzeitig besser abgebaut ist, so dass eine größere Konzentration von Hopfentannoiden im fertigen Bier verbleibt. Es wird häufig die Meinung vertreten, der Hopfen übe keinen Einfluss auf den Gesamtstickstoff aus. Die übliche Stickstoffbestimmung ist keine gute Methode, um zu einem signifikanten Ergebnis zu gelangen. Die Bestimmung der empfindlichen Proteine bringt dagegen den unbestreitbaren Beweis dafür, dass für die Haltbarkeit gefährliche Proteine eine sehr deutliche Abnahme erfahren. Knapp gelöste Malze sowie zu viel Ausbleiber haben mindere Ausbeuten, länge-

re Sudzeiten, erhöhten Energiebedarf und Arbeitskosten zur Folge. Außerdem beeinträchtigen sie die Qualität der löslichen Proteine.

Die Verwendung von Rohfrucht vermindert zwar die Konzentration an löslichem Stickstoff, bringt aber keine Verbesserung der Qualität der empfindlichen Proteine. Die Begrenzung der Darrzeit verringert die Bildung von Melanoidinen und aromatischen Stoffen. Der Beitrag des Hopfens für die Konzentration der Würze an Polyphenolen kann mit verschiedenen Methoden beeinflusst werden: Bitterhopfen sind ärmer an Polyphenolen als Aromahopfen. Niedrige Hopfengaben, an Bitterstoffen angereicherte Hopfenpräparate (Pellets) und polyphenolfreie Extrakte tragen zur Herabsetzung der Biertanninoide bei. Der Drang nach helleren Bierfarben, abgesehen von der angewandten Methode, führt zwangsläufig zu einer Minderung der RK.

Der Einsatz von anthocyanogenfreien Gersten, die durch Genmanipulation erhalten worden sind, hat bis jetzt keinen großen Anklang gefunden.

**3.1 Praktische analytische Werte**

Die Tabellen 4 – 7 geben der Praxis positive und negative Beispiele sowie Hinweise auf die Qualität von Rohstoffen, Gleichmäßigkeit oder Ungleichmäßigkeiten im Produktionsbereich, Energieeinsparungen und Kontrollnotwendigkeiten. Auffällig sind sehr gute RK-Werte einiger Biere, insbesondere von naturgeklärten Bieren.

**3.2 Großbrauereien – Deutschland**

Nord-West n = 13 RK			Nord-West n = 14 RK			Nord n = 13 RK		
1991	1,00	+	1991	1,27	++	1991	1,30	++
	1,05	+		1,17	+		0,92	+
	1,13	+		1,19	+		1,28	++
	1,34	++		1,28	++		1,12	+
	0,72	-		1,22	++		1,15	+
	1,04	+		1,23	++		1,08	+
	0,79	-		1,17	+		1,13	+
	1,02	+		1,11	+		1,28	++
	1,12	+		0,80	-		1,29	++
	0,68	-		1,05	+		1,02	+
	0,86	-		1,03	+		0,89	-
	0,82	-		0,98	+		1,22	++
1998	0,84	-		0,85	+		1,19	+
			1998	1,02	+			
Φ	0,96	+	Φ	1,10	+	Φ	1,14	+
max.	1,34	++	max.	1,28	++	max.	1,30	++
min.	0,68	-	min.	0,80	-	min.	0,89	-
Mängel im Rohstoffbereich Zunehmende Energieeinsparung			Zunächst Qualitätsrohstoffe und gute Verarbeitung, aber dann Abwärtstrend			Ungleichmäßigkeiten im Rohstoffbereich und in der Arbeitsweise		

Sachsen-Anhalt n = 15 RK			Nord-West n = 15 RK			Baden-Württemberg n = 10 RK		
1995	1,20	+	1991	1,26	++	1994	1,36	++
	1,10	+		1,27	++		1,37	++
	1,26	++		1,40	+++		1,39	++
	1,16	+		1,36	++		1,32	++
	1,08	+		0,93	+		1,16	+
	1,24	++		1,48	+++		1,14	+
	0,94	+		1,52	+++		1,15	+
	0,98	+		1,43	+++		1,08	+
	0,87	-		1,57	+++		1,18	+
	0,89	-		1,32	++	1998	0,72	-
	0,87	-		1,32	++			
	0,98	+		0,95	+			
	0,94	+		1,07	+			
	0,98	+		1,13	+			
1997	0,89	-	1997	1,05	+			
Φ	1,03	+	Φ	1,27	+	Φ	1,18	+
max.	1,26	++	max.	1,57	++	max.	1,39	++
min.	0,87	-	min.	0,93	-	min.	0,72	-
Rohstoffgüte und Arbeitsweise unzulänglich			Rohstoffgüte und Arbeitsweise optimal			Qualitätsabstieg		

## 3.3 Mittelständische Brauereien – Deutschland

Tabelle 6														
Bayern n = 14			Nordwest n = 14			Sachsen n = 8			Baden-Württemberg n = 8			Baden-Württemberg Naturtrüb n = 8		
RK			RK			RK			RK			RK		
1991	1,48	+++	1992	1,22	++	1992	1,42	+++	1993	1,56	+++	1991	1,40	+++
	1,80	+++		1,18	+		1,50	+++		1,48	+++		1,36	++
	1,10	+		1,08	+		1,40	+++		1,40	+++		1,30	++
	1,47	+++		1,14	+		1,08	+		1,36	++		1,45	+++
	1,52	+++		1,16	+		1,08	+		1,47	+++		1,47	+++
	1,57	+++		1,10	+		1,15	+		1,46	+++		1,46	+++
	1,65	+++		1,04	+		1,08	+		1,32	++		1,32	++
	1,44	+++		0,97	+	1999	1,10	+	1998	1,43	+++	1998	1,41	+++
	1,46	+++		1,17	+									
	1,17	+		0,98	+									
	1,50	+++		1,00	+									
	1,62	+++		0,95	+									
	1,45	+++		0,84	-									
1998	1,50	+++	1998	1,00	+									
Φ	1,48	+++	Φ	1,06	+	Φ	1,23	++	Φ	1,44	+++	Φ	1,40	+++
max.	1,80	+++	max.	1,22	++	max.	1,50	+++	max.	1,56	+++	max.	1,47	+++
min.	1,10	+	min.	0,84	-	min.	1,08	+	min.	1,32	++	min.	1,30	++
Optimaler Rohstoffeinsatz- fast gleichmäßige Arbeitsweise			Erst gleichmäßige Arbeitsweise, dann Güteminderung im Rohstoffbereich und Energieeinsparung			Abrupte Güteminderung im Rohstoffbereich und Energieeinsparung			Rohstoffgüte und Arbeitsweise optimal			Rohstoffgüte und Arbeitsweise optimal		

## 3.4 Ausländische mittelständische Brauereien

Tabelle 7									
Österreich n = 6 RK			Niederlande Natur n = 6 RK			Großbrauereien Polen n = 9 RK			
1991	1,40	+++	1991	1,34	++	a	1991	1,10	+
	1,08	+		1,71	+++			0,96	+
	1,18	+		1,50	+++			0,81	+
	1,28	++		1,68	+++	1996	0,81	+	
	1,15	+		1,39	++	b			
1996	1,28	++	1996	1,45	+++	1993	1,30	++	
							1,33	++	
							1,15	+	
							1,15	+	
						1996	0,90	+	
Φ	1,23	++	Φ	1,51	+++	Φ	1,06	+	
max.	1,40	+++	max.	1,71	+++	max.	1,33	++	
min.	1,08	+	min.	1,39	++	min.	0,81	-	
Zu wenig Werte, um mehr als die allgemeine Tendenz zu bemerken									

## Danksagung

Die Autoren sind all denen zu Dank verpflichtet, die zu dieser Arbeit beigetragen haben, z.B. durch Probesendungen (Verwandte und Freunde: u.a. Dr. H. L. Erber und W. Kretschmann, Dinkelacker-Braumeister H. Kretschmer, Schnaitl), durch Reagenzien und kleine Apparatur (Brauerei Beck & Co, Abt. Qualitätswesen, Fa. Pfeuffer, Apparatebau). Für die wertvolle Unterstützung ihrer langjähriger Arbeiten möchten sich die Autoren bei den Herren Dr. H. G. Bellmer, Dr. J. Gromus und Dr. H. Lustig im Hause der Brauerei Beck & Co

besonders bedanken. L. Chapon möchte nicht versäumen, ein dankbares Gedenken auszudrücken an Jean Deflandre, den ehemaligen Vorsitzenden der Brasserie du Pélican in Lille und posthum an Philippe Kreiss, den Gründer der EBC und ehemaligen Vorsitzenden der Brasseries de la Meuse sowie an Jean Moreau, den ehemaligen Vorsitzenden der Brasseries de Saint Nicolas de Port, für das Interesse und die Unterstützung, die sie seiner Forschungstätigkeit an der Universität Nancy stetig erwiesen haben.

#### 4 Summary

**Chapon, L., and Kretschmer, K.F.: Significance of the reducing power in pale beers** — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 54, No. 9/10, 185 – 198, 2001

##### BC 25 Beer

The first part presents the different reasons which led to the development of new rapid methods for the study of the reducing substances of beers. The peculiarities of the retained operating conditions are described in details: RK-DPFe<sub>3</sub>, peroxidase browning, alkaline browning, and DCI-reduction.

The second part is devoted to the discussion of the results obtained over a ten-year period. Nearly 2000 beer samples from the most varied origins underwent very different analyses. Originally they were limited to the determination of tannoids with PVP and of the reducing power with the DPFe<sub>3</sub>-reagent. They showed close relationships between reducing power, colloidal stability, and flavour stability. These quite general results promoted the development of rapid methods aiming to get more information on the nature and function of the reducing components.

The study of peroxidase browning, the DCI-reduction by innovative methods and the reversible browning in alkaline medium confirms the important role played by the phenolic compounds.

The third part summarizes in several tables numerical information about beers from various breweries presented by their respective geographic origin. They may have a practical industrial interest. The increase in the size of the manufacturing units which favours the production of increasingly pale beers during increasingly quicker processes has reduced the polyphenol content in the course of the recent years and accordingly, the reducing power of beer all over the world. It appears that the importance of the reducing power, which chiefly depends on the polyphenolic content and is essential for the flavour stability, has been understated.

**Chapon, L., et Kretschmer, K.F.: Importance du pouvoir réducteur dans les bières blondes** — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 54, No. 9/10, 185 – 198, 2001

##### BC 25 Bière

La première partie expose les nombreuses raisons qui ont conduit au développement de nouvelles méthodes rapides pour l'étude des substances réductrices des bières. Les particularités des conditions opératoires retenues sont décrites en détail: RK-DPFe<sub>3</sub>, brunissement peroxydasique, brunissement alcalin, réduction du DCI.

La deuxième partie est consacrée à la discussion des résultats obtenus depuis une dizaine d'années. Près de 2000 échantillons de bières blondes d'origines les plus diverses ont été soumis à des essais très variés. Au début ils ont été limités à la détermination des tannoides par la PVP et à celle du pouvoir

réducteur par le complexe Dipyrindyle-ferrique (RK-DPFe<sub>3</sub>). Ils ont révélé des relations étroites entre pouvoir réducteur, stabilité colloïdale et stabilité de goût. Ces résultats ont une validité générale. Ils donnent des informations complémentaires sur la nature et le rôle des constituants réducteurs. Ils confirment le rôle essentiel des dérivés polyphénoliques.

La troisième partie rassemble dans de nombreux tableaux les résultats chiffrés relatifs aux bières de diverses brasseries classées selon leur origine géographique. Ils peuvent présenter un intérêt en pratique industrielle.

L'accroissement de la taille des unités de production donnant la préférence à des procédés sans cesse plus rapides, la fabrication de bières toujours plus pâles, ont entraîné, au cours des dernières années, une baisse notable de leur teneur en polyphénols et en conséquence de leur pouvoir réducteur. Il semble que l'importance du pouvoir réducteur, qui dépend principalement de leur teneur en polyphénols et paraît essentiel pour la stabilité de goût, ait été sous-estimée.

#### 6 Literatur

Chapon, L., Urion, E.: L'oxydation des bières, *Proceedings EBC-Congress Nice* 195 – 213, 1953.

Chapon, L., Chollot, B., und Urion, E.: Quelques propriétés des troubles réversibles et irréversibles des bières, *Brasserie Nr 173–174, 42 & 73*, 1961.

Chapon, L., Chollot, B., und Urion, E.: Oxydation peroxydasique des bières I & II, *Proceedings EBC-Congress Vienne* 319 – 333 & 334 – 350, 1961.

Chapon, L., und Chemardin, M.: The Dissolving and Oxidation of Malt Tannoids on Mashing in, *Proceedings ASBC, New York*, 244 – 258, 1964.

Chapon, L., Chapon, S., und Kretschmer, K.: Incidence de quelques caractéristiques des malts sur l'équilibre Protéine/Tanin dans les bières, *Proceedings EBC-Congress Interlaken*, 173 – 192, 1969.

Chapon, L., Louis, C., und Chapon, S.: Estimation du pouvoir réducteur des bières par le complexe Fer/Dipyrindyle, *Proceedings EBC-Congress Estoril*, 301 – 322, 1971.

Chapon, L., Louis, C., Chapon, S., Kretschmer, K., und Moll, M.: Über den Beitrag des Hopfens zum Gleichgewicht zwischen Protein und Tannin im Bier, *Monatsschrift für Brauerei* 30, 541 – 546, 1977.

Chapon, L., und Chapon, S.: Mécanisme d'oxydation des bières. Comportement des substances réductrices, *Proceedings EBC-Congress Berlin*, 341 – 354, 1979.

Chapon, L.: Der Begriff Tannoid – Prinzip der Bestimmung und Auswertung der Ergebnisse, *Monatsschrift für Brauerei* 46, 263 – 279, 1993.

Kretschmer, K.F.: Die Tannometeranalyse heller Biere, *Brauwelt* 140, Nr. 26, 1083 – 1086, 2000.

(Manuskripteingang: 22. 2. 2001)