

G. Basařová, J. Šavel, J. Janoušek und H. Čížková

Veränderungen des Aminosäuregehaltes während der natürlichen Alterung des Bieres

Die Autoren dieses Artikels befassen sich mit der Bestimmung der Komponenten des gealterten Biergeschmacks und mit ihrer Entstehung im Verlauf des technologischen Verfahrens, der Lagerung und mit den Möglichkeiten, ihre Bildung zu vermeiden. In dieser ersten Mitteilung wurden Erkenntnisse über Veränderungen von Aminosäuren und ausgewählten flüchtigen Stoffen bei der Lagerung von Bieren in tschechischen Brauereien angeführt. Diese Erscheinungen sind seit mehreren Jahren verfolgt worden.

BC 2 Malz- und Bierbereitung/ 25 Bier/ 3 Chemisch-technische Brauereibetriebskontrolle/ 36 Bier

(Descriptor: Bieralterung, Aminosäure, Geschmacksstabilität.

Descriptors: aging of beer, aminoacid, flavourstability).

1 Einleitung

Die sensorische Stabilität ist eine wichtige Eigenschaft, durch die der Nutzwert eines Produktes bestimmt wird. Die Alterung von Bier, Getränken und Lebensmitteln wird durch die Veränderungen des Gehaltes an flüchtigen Stoffen und nichtflüchtigen Aldehyden gekennzeichnet. Der wachsende Gehalt an Aldehyden wird allgemein als Indikator der Alterungsstufe von Bieren betrachtet. Vom analytischen Standpunkt aus sind die flüchtigen Aldehyde leichter zu bestimmen und zu isolieren.

Miedaner et al. (1991) haben die Bildung der gewählten flüchtigen Aldehyde im Laufe der natürlichen Alterung der Biere unter verschiedenen Bedingungen studiert und die Abhängigkeit zwischen der Intensität der sensorischen Veränderungen, die für den Alterungsgrad des Produktes typisch sind und dem Gesamtgehalt an Aldehyden gefunden.

Vier maßgebliche Precursor der typischen Produkte der Bieralterung sind ungesättigte Fettsäuren, höhere Alkohole, Isohumulone und Aminosäuren. Die Alterung der Biere können folgende Mechanismen beeinflussen:

- Strecker-Degradation von Aminosäuren;
- Maillardreaktionen;
- Oxidation von höheren Alkoholen;

Aldol-Kondensation und sekundäre Oxidation der entstandenen Produkte;

Oxidation von ungesättigten Fettsäuren und deren Derivaten;

Oxidation von Isohumulonen;

Fotooxidationsreaktionen.

Die letztgenannte Art von Reaktionen wird vor allem im Zusammenhang mit der Entstehung des sog. „Lichtgeschmacks“, der unter der Wirkung der Sonnenstrahlung und unter Teilnahme von Riboflavin entsteht, geltend gemacht. Diese Reaktionen wurden in der Vergangenheit gründlich untersucht (Templar und Arrigan 1995).

Die Oxidation der ungesättigten Fettsäuren wurde bisher als wahrscheinlichster Mechanismus der Entstehung von Fehlgerüchen vorgeschlagen, wenngleich auch andere Mechanismen nicht ausgeschlossen werden. Die Bemühungen, die Entstehungsweise von trans-2-Nonenal als einen typischen Indikator des erwähnten Prozesses zu erklären, werden von gewissen Unklarheiten begleitet (Buck et al. 1997, Collin et al. 1997).

Hashimoto und Eshima (1997) untersuchten die Bildung der flüchtigen Aldehyde im Flaschenbier während der Alterung. Wenn auch verschiedene Vorgänge wie z.B. Streckers Abbau der Aminosäuren, die Oxidation von Isohumulonen und Autooxidation der Fettsäuren an der Alterung des Bieres beteiligt waren, sind die den Geruch und Geschmack des alten Bieres verursachenden Aldehyde vor allem durch Oxidation höherer Alkohole entstanden.

Irwin et al. (1991) bewiesen die Oxidation höherer Alkohole unter Beteiligung von Polyphenolen, die als „Prooxidanten“ wirken und für das Recycling zwischen der oxidierten und reduzierten Form des Metallions notwendig sind.

Diese Autoren haben ebenfalls Mechanismen der Bildung von komplizierteren Aldehyden mittels der Aldol-Kondensation der primär entstehenden Aldehyde beschrieben und aufgezeigt.

Neuerdings wird die Teilnahme von Aminosäuren an oxidativen Veränderungen des Bieres diskutiert. Thum et al. (1995) setzten dem Bier Aminosäuren zu und verfolgten die Veränderungen von Aldehyden während der Bieralterung.

Autoren: Prof. Ing. Gabriela Basařová, DrSc., Ing. Jan Janoušek (Ph.D. Student – 3. Jahrgang), Ing. Hana Čížková, Institut für Gärungschemie und Bioengineering, Universität für Chemie und Technologie, Prag, Technická 5, CZ 166 28 Praha 6 und Doc. Ing. Jan Šavel, CSc., Brauerei Budweiser – Budvar n. p., Karoliny Světlé 4, CZ 370 21 České Budejovice

Den erworbenen Kenntnissen entsprechend, kam der Strecker-Abbau der Aminosäuren erst bei einer höheren Konzentration der Aminosäuren zur Geltung. Vorzugsweise wurden höhere Alkohole oxidiert. Dagegen haben Hill et al. (1998) grundlegende Veränderungen der Glutaminsäure bei der Alterung des Bieres, die als Indikator der Alterung dienen könnten, aufgezeigt.

In der letzten Zeit nehmen die Beweise für die Anwesenheit aktiver Sauerstoffformen (Reaktive Oxygen Spezies – ROS) und ihrer freien Radikale (Oxygen Free Radicals – OFRs) während der Alterung der Biere zu. Bamforth et al. (1993) haben das Vorhandensein von Sauerstoff und dessen Radikale bei der Produktion, Lagerung und Alterung des Bieres diskutiert. Direkte und indirekte Beweise der Anwesenheit von Radikalprozessen wurden erst anhand von Chemilumineszenz und ESR (Elektronenspin Resonanz Spektroskopie) geliefert.

Kaneda et al. (1993) beschrieben die Verwendung der Chemilumineszenz-Analyse beim Studium der Bieralterung. Das Bier wies eine natürliche Chemilumineszenz auf, die den im Bier verlaufenden Radikalreaktionen zugeschrieben wird. Die Intensität der Chemilumineszenz erhöhte sich ebenfalls durch den Zusatz der die Bieralterung beschleunigenden Stoffe.

Indem sie Bier dem Luftsauerstoff aussetzten, wiesen Ochida und Ono (1996) mittels ESR die Bildung des Hydroxyl-Radikals nach. Natürliche Antioxidantien des Bieres dämpften dabei die Bildung der Radikale.

Aufgrund der sog. Oxidation-Destruktionsanalyse ODA bewiesen Šavel und Zdvihalová (1998) die Möglichkeit der Umwandlung der im Bier vorhandenen Aminosäuren zu flüchtigen Aldehyden.

Neuerdings stellt sich die Forschung wieder auf die Verwandlung der Aminosäuren im Verlauf der Maillardreaktion ein. Die Bildung der „substituierten Pyrazin-Radikale“ und eine ausgeprägte Abnahme des gelösten Sauerstoffes in der Anfangsphase der Maillardreaktion ist von Zeise et al. (1991) nachgewiesen worden. Huyghes-Despointes und Yalayan (1996) haben verschiedene Wirkungsmechanismen von einfachen Dicarbonylverbindungen bei der Amadori-Umlagerung der Maillardreaktion, unter Entstehung von freien Radikalen und Chemilumineszenz, diskutiert.

Außer der Erläuterung des Vorganges der Bieralterung sind auch technologische Grundsätze für eine wenigstens teilweise verzögerte Bieralterung sowie einfache und billige Methoden zur Bestimmung der Anzeichen der Bieralterung für die Brauindustrie erforderlich. Back et al. (1997) faßten die wichtigsten technologischen Grundsätze für die Produktion des Bieres mit einer höheren sensorischen Stabilität zusammen. Die sensorische Stabilität des Bieres wird nicht nur durch die Qualität der verwendeten Rohstoffe beeinflusst, sie hängt ebenso von den technologischen Verfahren der Bier- und Malzproduktion ab. Der Ablauf dieser Verfahren muß dabei immer überwacht werden.

Der MEBAK-Analytik zufolge, ist als einfacher Indikator der Bieralterung die Reaktion mit Thiobarbitursäure einzusetzen.

Als Indikator der Wärmeschädigung des Biers wurde von Thalacker et al. (1998) als einfache Methode die sog. Anilinzahl-Bestimmung beschrieben, die der für die Furfural-Bestimmung benutzten Methode ähnelt.

Klein et al. (1997) schildern eine einfache Bestimmung des Gehaltes an flüchtigen Stoffen im Bier, die ein Absorptionsvermögen im Wellenbereich von 240 – 310 nm aufweisen. Der sog. Absorptionsintegral stimmte mit den sensorischen Veränderungen, die die Bieralterung begleiten, gut überein.

Laut Šavel und Zdvihalová (1998) kann „das Absorptionsintegral“ nicht nur die Furfuralabsorptionszone umfassen, sondern auch die Zone des Benzaldehyds, das zugleich mit Phenylacetaldehyd durch Oxidationsveränderungen des Phenylalanins entstehen kann. Die Absorptionsbande der aromatischen und heterozyklischen Aminosäuren wurde in die flüchtigen Produkte, die durch die Umwandlungen der Aminosäuren entstehen, übertragen.

Die Autoren dieses Artikels befassen sich mit der Bestimmung der Komponenten des gealterten Biergeschmacks und mit ihrer Entstehung im Verlauf des technologischen Verfahrens, der Lagerung und mit den Möglichkeiten, ihre Bildung zu vermeiden. In dieser ersten Mitteilung wurden Erkenntnisse über Veränderungen von Aminosäuren und ausgewählten flüchtigen Stoffen bei der Lagerung von Bieren in tschechischen Brauereien angeführt. Diese Erscheinungen sind seit mehreren Jahren verfolgt worden.

2 Analytische Methoden

2.1 Bestimmung der Aminosäuren mittels der Ionex-Chromatographie

Nach der Entfernung der Proteine aus den analysierten Proben der Biere wurden die Aminosäuren mittels eines automatischen Analysators festgestellt. Die Aminosäuren werden zuerst an der Ionenaustauscher-Säule, bei einem pH Gradienten von 2,95 – 9,5 durch Elution der Na-Puffer getrennt und nachfolgend durch eine Reaktion mit dem Ninhydrinreagens identifiziert.

Geräte und Einrichtungen

Analysator T 339 (Mikrotechna Praha) mit einem programmierbaren Betrieb, einem Kapillarreaktor einer Aufzeichnungsanlage und mit einer Auswertungsstation (CSW Data Apex).

Automatisches Dosiergerät: Kapillare 0,3 mm, Zahl der automatisch dosierten Proben 36

Programm:	25 Funktionen
Pumpen:	Durchfluß 10 – 150 ml/h
Glaskolonnen:	Vorkolonne 90 x 80 mm – Abfüllung OSTION LG KS 0804 (Spolchemie), Korngröße 40 µm
	Kolonne 3,7 x 450 mm – Abfüllung OSTION LG NB (Spolchemie)
Photometer:	einspurig, Küvette 8 µl, Absorption bei 520 nm

Bestimmungsbedingungen

Einspritz-Volumen:	100 µl
Temperaturgradient :	48 – 64 °C
Elutionspuffer :	Natriumcitrat
	1. pH 2,95 (Cys-Gly und Ala) bis pH 3,5 (Cys-Pro)
	2. pH 4,25 (Val-Leu)
	3. pH 7,9-9,5 (Tyr-Phe)
Pufferfluß :	15 ml/h
Ninhydrinreagensfluß:	15 ml/h
Waschlösung:	NaOH = 0,2 mol/l

Detektionsreagens: 2% Ninhydrinreagens in 2-Methylethanol und Natriumacetatpuffer mit SnCl_2 3. pH 7,9-9,5 (Tyr-Phe)

Kalibrierung: Aminosäurestandards-Lösung (Lachema Brno)

2.2 Bestimmung der flüchtigen Stoffe mittels Gaschromatographie

Vorbereitung der Probe

Das abgemessene Volumen des gekühlten Bieres wird in einen Destillationskolben mit 1 ml des Innenstandard (n-Hexanol in 96%igen Ethanol, $c=12,0 \text{ mg l}^{-1}$) überführt und durch Wasserdampf in drei Vorlagen hineindestilliert. In der ersten Vorlage wird die Wasserphase aufgefangen, in den zwei weiteren, die auf die Temperaturen 0 °C und -70 °C vorgekühlt und mit einer Mischung von Pentan und Dichlormethan im Verhältnis 2 : 1 abgefüllt sind, wird die Gasphase aufgefangen. Das Destillat aus der ersten Vorlage wird in einem kontinuierlichen Extraktor mit 70 ml einer Extraktionsmischung (von Pentan und Dichlormethan 2 : 1) bei einer Temperatur von 46 °C während einer Dauer von 24 h extrahiert. Das gewonnene Extrakt wird zuerst 24 Stunden bei einer Temperatur von 4 °C durch das wasserfreie Na_2SO_4 getrocknet und mit den, auf die gleiche Weise getrockneten Anteilen aus der zweiten und dritten Vorlage zusammengemischt. Das gebrauchte Na_2SO_4 wird durch Dekantierung entfernt und der Überschuß an Lösungsmittel im Wasserbad bei 36 °C verdampft.

Geräte und Einrichtungen

Chromatograph: Hewlett Packard 5890/II

Kolonne: HP-5 (Länge 30m, Innen durchmesser 0,32 mm)

Filmdicke der stationären Phase: 0,25 µm

Stationäre Phase: 5% Diphenyl und 95% Dimethylpolysilikon

Fluoreszenz -Detektion (FID)

Chromatographische Bedingungen

Einspritzvolumen der Probe: 0,5 µl

Einspritztemperatur: 220 °C

Detektortemperatur: 225 °C

Temperaturbedingungen der Kolonne: Ausgangstemperatur 30 °C (Verweilzeit 5 min.)

Gradient: 4 °C/min bis 70 °C , 7 °C/min bis 160 °C, 15 °C/min bis 220 °C (Verweilzeit 5 min.).

Trärgas : Stickstoff, Durchfluß 3,9 ml/min.

Hilfsgase: Wasserstoff, Durchfluß 38,3 ml/min. Luft, Durchfluß 768,2 ml/min

2.3 Isolation und Bestimmung der Aldehyde durch Gaschromatographie

Vorbereitung der Probe

100 ml des gekühlten Bieres (die Flasche wird unmittelbar vor der Bestimmung geöffnet) werden im Trennkolben 3 Minuten mit einer Mischung von 50 ml CH_2Cl_2 und 2 ml Innenstandard (96,64 µg n-Hexanol in 2 ml 96%iger Ethanol) geschüttelt. Nach der Separation der organischen Phase (Dauer 10 min – 3000 Drehungen/min) werden 50 ml CH_2Cl_2 zugegeben und der Vorgang wiederholt. Die getrennte organische Phase wird durch das wasserfreie Na_2SO_4 getrocknet (24 h bei einer Temperatur von 4 °C), nachfolgend filtriert und das Lösungsmittel (CH_2Cl_2) im Vakuumverdampfer bei 36 °C verdampft. Das gewonnene Konzentrat wird chromatographisch analysiert.

Geräte und Einrichtungen

gleich wie bei der Methode 2.2

Bestimmungsbedingungen

Einspritz-Volumen : 10 µl

Einspritztemperatur: 240 °C

Temperaturbedingungen der Kolonne: Ausgangstemperatur 50 °C (Verweilzeit 10 min.)

Gradient: 4 °C/min bis 80 °C 7 °C/min bis 160 °C 15 °C/min bis 280 °C (Verweilzeit 3 min.)

Detektortemperatur: 280 °C

Trärgas: Stickstoff, Durchfluß 1 ml/min.

Hilfsgase: Wasserstoff, Durchfluß 38,3 ml/min, Luft, Durchfluß 768,2 ml/min.

3 Ergebnisse und Diskussion

Sowohl die Zusammensetzung der Rohstoffe als auch technologische Bedingungen können die Menge der Aminosäuren und flüchtigen Stoffe im fertigen Produkt bedeutend beeinflussen. Tabelle 1 zeigt die Gehalte der untersuchten Stoffgruppen in vier 12%igen tschechischen Bieren, die sich in der Zusammensetzung der Rohstoffe sowie in den technologischen Verfahren unterscheiden. Vertreten sind sowohl Vollmalz- als auch surrogierte Biere, die in geöffneten Gefäßen als auch in ZKT vergoren wurden. Unterschiede erweisen sich in den Gesamtgehalten der angeführten Stoffe, doch bleibt die Menge der Aminosäuren und höheren Alkohole im Verhältnis gleich.

Laut den in Tabelle 1 angegebenen Werten hat der Gesamtgehalt an Aminosäuren, höheren Alkoholen und Fettsäuren in den ersten sechs Monaten der Lagerung abgenommen, während sich der Gehalt an Estern nur wenig veränderte. Trans-2-Nonenal, 3-Methylbutanal und 2-Furfural stiegen dagegen an. Eine relativ niedrige Abnahme des Gesamtgehaltes an Aminosäuren und höheren Alkoholen wurde bei allen Biersorten festgestellt und betrug bei den Aminosäuren bis zu 6%, bei den höheren Alkoholen bis zu 3%. Die Veränderungen des Gehaltes der Fettsäuren

Tabelle 1 Gehalt und relative Veränderungen ausgewählter Stoffe von verschiedenen im Jahre 1998 bei einer Temperatur von 9 °C gelagerten Flaschenbieren

Verbindung (mg. l ⁻¹)	Bier 1		Bier 2		Bier 3		Bier 4	
	0	6	0	6	0	6	0	6
Alter (Monate)								
Freie Aminosäure	561	533,2 (-4,96%)	994	933,8 (-6,09%)	963	904,7 (-6,04%)	767	734,7 (-4,17%)
Flüchtige Stoffe	122	107,3 (-11,76%)	138	129,3 (-6,30%)	138	134,4 (-2,61%)	163	160,6 (-1,47%)
Höhere Alkohole	76,8	74,8 (-2,60%)	84,3	82,3 (-2,37%)	87,8	85,5 (-2,61%)	106	105,3 (-0,47%)
Ester	17,9	17,2 (-3,91%)	16,9	16,2 (-4,14%)	16,2	16,3 (0,62%)	19,3	19,1 (-1,04%)
Verhältnis A/E	4,30	4,4 (2,33%)	5,00	5,1 (2,00%)	5,40	5,2 (-3,70%)	5,50	5,5 (0,00%)
Fettsäure	26,9	15,3 (-43,12%)	36,8	30,8 (-16,30%)	34	32,6 (-4,12%)	37,9	36,2 (-4,49%)
Verbindung (µg.l ⁻¹)								
trans-2-Nonenal	0,2	0,7 (250,00%)	0,05	0,48 (860,00%)	0,03	0,82 (2633,33%)	0,29	0,65 (124,14%)
3-Methylbutanal	1,78	16,44 (823,60%)	1,32	16,18 (1125,80%)	4,87	10,54 (116,43%)	4,93	15,82 (220,89%)
2-Furfural	9,8	90,22 (820,61%)	16,3	66,29 (305,94%)	29,4	94,75 (222,38%)	41,5	65,79 (58,45%)

Tabelle 1b Veränderungen des Gehaltes an einzelnen Aminosäuren in verschiedenen bei 9 °C auf die Dauer von 6 Monaten gelagerten Flaschenbieren

Aminosäure (mg. l ⁻¹)	Bier 1		Bier 2		Bier 3		Bier 4	
	0	6	0	6	0	6	0	6
Alter (Monate)								
Asparaginsäure	10,9	10,6 (-2,75%)	28,4	27,6 (-2,82%)	26,1	26,2 (0,38%)	26,7	26,7 (0,00%)
Threonin	1,6	1,6 (0,00%)	2,5	2,5 (0,00%)	2,9	2,9 (0,00%)	5,4	2,6 (-51,85%)
Serin	4,4	4,2 (-4,55%)	9,5	9,7 (2,11%)	11,2	10,3 (-8,04%)	14,4	10,8 (-25,00%)
Glutaminsäure	12,2	12,6 (3,28%)	38,4	39 (1,56%)	35,6	36,6 (2,81%)	27,7	27,3 (-1,44%)
Prolin	250,7	241,7 (-3,59%)	276,7	252 (-8,93%)	285,9	275,9 (-3,50%)	258,2	250,5 (-2,98%)
Glycin	13	13,1 (0,77%)	66,3	66,6 (0,45%)	38	35,8 (-5,79%)	28,9	28,7 (-0,69%)
Alanin	40,2	36,9 (-8,21%)	63,3	54,2 (-14,38%)	62,6	59,3 (-5,27%)	77,5	74,7 (-3,61%)
Valin	26,6	26,1 (-1,88%)	73,5	76,5 (4,08%)	69,4	65,7 (-5,33%)	52,7	53 (0,57%)
Methionin	3,9	4 (2,56%)	9,7	9 (-7,22%)	7,6	7,1 (-6,58%)	9	9 (0,00%)
Isoleucin	14,6	14,2 (-2,74%)	35,3	35,9 (1,70%)	32,4	27,4 (-15,43%)	23,4	23,1 (-1,28%)
Leucin	17,8	18 (1,12%)	49	42,8 (-12,65%)	40,6	39,7 (-2,22%)	34,4	33,4 (-2,91%)
Tyrosin	31,5	31,3 (-0,63%)	60,7	59,5 (-1,98%)	54	47,4 (-12,22%)	56,4	50,6 (-10,28%)
Phenylalanin	77,1	64 (-16,99%)	150,8	130,5 (-13,46%)	173,8	149,7 (-13,87%)	72,6	68 (-6,34%)
Histidin	16	14 (-12,50%)	34,1	33,8 (-0,88%)	29,2	28,5 (-2,40%)	22,7	21,7 (-4,41%)
Lysin	8	8,2 (2,50%)	18,9	18 (-4,76%)	23,1	22,2 (-3,90%)	21,5	19,5 (-9,30%)
Arginin	32,5	32,7 (0,62%)	77,3	76,2 (-1,42%)	70,5	70 (-0,71%)	35,2	35,1 (-0,28%)
Freie Aminosäure	561	533,2 (-4,96%)	994,4	933,8 (-6,09%)	962,9	904,7 (-6,04%)	766,7	734,7 (-4,17%)

erfolgten in einem breiten Umfang von 4 bis 40% und waren von der Sorte des Bieres abhängig. Die Zunahme von 2-Furfural wird als Indikator der Wärmeschädigung des Bieres angesehen. Die analysierten Biere weisen gegenwärtig eine Menge von gelöstem Sauerstoff unter der Grenze 0,1 bis 0,2 mg/l auf. Wurde bei einigen Aminosäuren eine Erhöhung der Konzentration ermittelt, so handelte es sich um analytische Unterschiede mit einer Grenze von 3% des erlaubten Wertes (Tab. 1b).

Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit älteren Daten (Tab. 2 und 3) zeigte deutliche Veränderungen des Gehaltes an Aminosäuren im vorigen Jahrzehnt, was offensichtlich durch einen erhöhten Sauerstoffeintrag in die Biere verursacht wurde. Damals waren ältere Abfüllanlagen noch nicht mit Vorevakuierung und CO₂-Schutzvorrichtung ausgerüstet. Bei einer höheren Lagertemperatur nahm der Gehalt an Aminosäuren im Bier ab.

Die Abbildungen 1 und 2 stellen die Abnahme der Aminosäuren bei zwei weiteren Biersorten in einem Zeitraum von einem bis zu acht Monaten dar. Aus dem Verlauf der Kurven der Aminosäurenabnahme ist die Anfangsverzögerung (Lag Phase) und deren Abbau ersichtlich. Ähnliche Neigungen zur Abnahme der Aminosäuren während der zweimonatigen Lagerung bei einer Temperatur von 9 °C wurden auch beim Faßbier ermittelt (Tab. 4.)

Bei allen analytisch kontrollierten Bieren wurde mit der wachsenden Lagerdauer eine allmähliche Senkung des Gesamtgehaltes an Aminosäuren festgestellt. Alle beobachteten Biere verzeichneten eindeutig eine Abnahme von Phenylalanin, Histidin und Tyrosin. Die meisten Proben wiesen ebenfalls einen ausgeprägten Rückgang von Isoleucin, Leucin, Histidin und Lysin auf. Im Gegensatz dazu wurden die kleinsten Veränderungen während der Lagerung beim Glycin ermittelt.

Tabelle 2 Die Veränderung des Gehaltes an einzelnen Aminosäuren in Flaschenbier A, das bei Temperaturen von 9 °C und 20 °C im Jahre 1990 gelagert wurde

Lagertemperatur (°C)	9		20	
Alter (Monate)	0	6	6	6
Aminosäure (mg.l ⁻¹)				
Asparaginsäure	48,4	37,4 (-22,73%)	36,4 (-24,79%)	
Threonin	9,2	8 (-13,04%)	7,7 (-16,30%)	
Serin	13,8	12 (-13,04%)	11,1 (-19,57%)	
Glutaminsäure	42,4	34,9 (-17,69%)	30,5 (-28,07%)	
Prolin	320,4	283 (-11,67%)	275,7 (-13,95%)	
Glycin	24,4	24,4 (0,00%)	24,4 (0,00%)	
Alanin	91,2	72,1 (-20,94%)	71,1 (-22,04%)	
Valin	74,6	50,6 (-32,17%)	48,3 (-35,25%)	
Methionin	8,4	4,8 (-42,86%)	4,8 (-42,86%)	
Isoleucin	32,8	21,5 (-34,45%)	20,9 (-36,28%)	
Leucin	52,4	34,4 (-34,35%)	32,1 (-38,74%)	
Tyrosin	42,8	19,5 (-54,44%)	10,6 (-75,23%)	
Phenylalanin	65,0	37,7 (-42,00%)	23,6 (-63,69%)	
Histidin	59,6	42,8 (-28,19%)	40,2 (-32,55%)	
Lysin	15,6	7,6 (-51,28%)	6,6 (-57,69%)	
Arginin	40,8	39,9 (-2,21%)	35,1 (-13,97%)	
Freie Aminosäure	941,8	730,6 (-22,43%)	679 (-27,90%)	

Tabelle 3 Die Veränderung des Gehaltes an einzelnen Aminosäuren in Flaschenbier B, das bei Temperaturen von 9 °C und 20 °C im Jahre 1990 gelagert wurde

Temperatur der Lagerung (°C)	9		20	
Alter (Monate)	0	6	6	6
Aminosäure (mg.l ⁻¹)				
Asparaginsäure	19,9	18,3 (-8,04%)	18,1 (-9,05%)	
Threonin	5,0	0 (-100,00%)	0 (-100,00%)	
Serin	8,2	6,8 (-17,07%)	6,5 (-20,73%)	
Glutaminsäure	17,7	17,7 (0,00%)	17,2 (-2,82%)	
Prolin	224,9	199,1 (-11,47%)	190,1 (-15,47%)	
Glycin	19,5	17,5 (-10,26%)	17 (-12,82%)	
Alanin	54,9	47,2 (-14,03%)	43,5 (-20,77%)	
Valin	40,3	32,6 (-19,11%)	31,1 (-22,83%)	
Methionin	3,8	0 (-100,00%)	0 (-100,00%)	
Isoleucin	16,1	11,3 (-29,81%)	11,2 (-30,43%)	
Leucin	28,5	19,3 (-32,28%)	18 (-36,84%)	
Tyrosin	34,1	28,9 (-15,25%)	28 (-17,89%)	
Phenylalanin	49,4	32,4 (-34,41%)	31,2 (-36,84%)	
Histidin	47,4	39,2 (-17,30%)	38 (-19,83%)	
Lysin	7,9	6,2 (-21,52%)	5 (-36,71%)	
Arginin	35,7	27,6 (-22,69%)	26,9 (-24,65%)	
Freie Aminosäure	613,3	504,1 (-17,81%)	481,8 (-21,44%)	

Die angegebenen Ergebnisse zeigen, daß nicht nur die Aminosäuren, sondern auch höhere Alkohole, Fettsäure und Ester während der Bieralterung abgebaut werden können, wobei der Gehalt an Aldehyden gleichzeitig anwächst. Dies könnte die Oxidation der Radikale beweisen.

Diese Arbeit befaßte sich mit den Aminosäuren, deren Gehalt im Bier von den Autoren langfristig verfolgt wird. Bei den beobach-

teten Aminosäuren fand jedoch die in der letzten Zeit in der Fachliteratur so oft diskutierte Glutaminsäure keine Berücksichtigung.

In gleicher Weise deutet die Gegenüberstellung der Ergebnisse der Aminosäurebestimmungen einzelner Jahre darauf hin, daß wahrscheinlich der gelöste Sauerstoff am Abbau der Aminosäuren beteiligt ist.

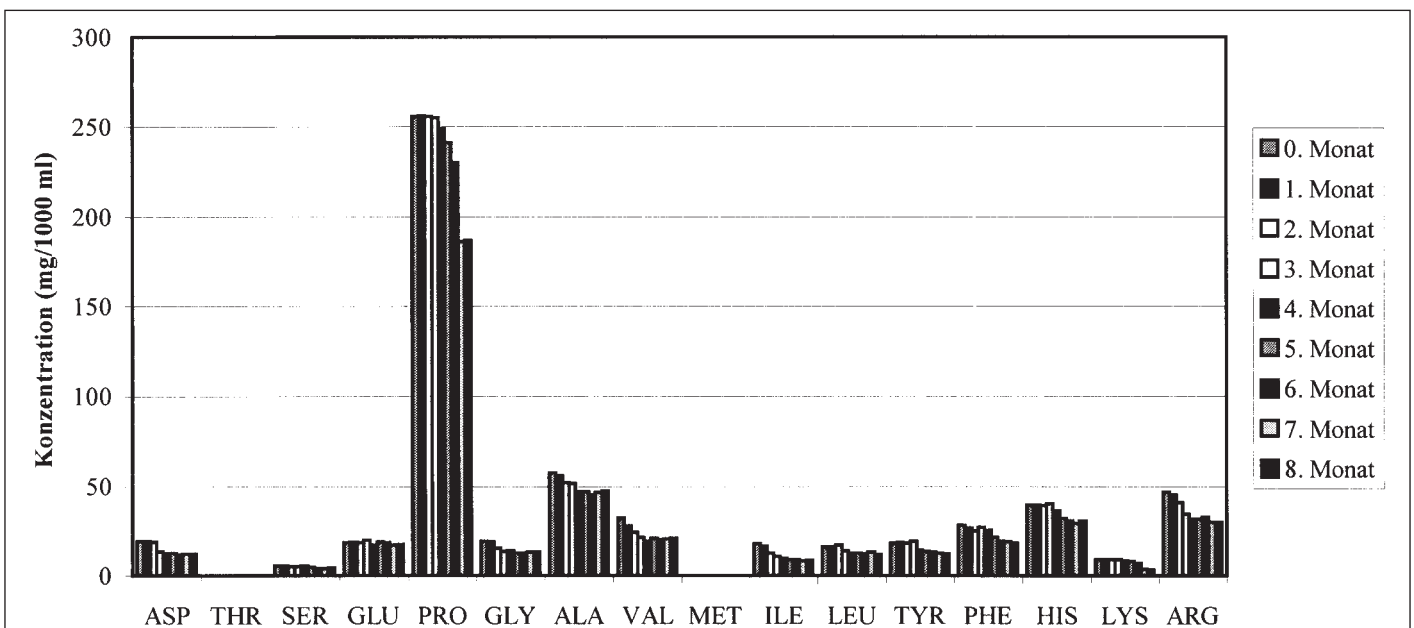


Abb. 1 Veränderungen des Gehaltes einzelner Aminosäuren in Flaschenbier C, während einer Lagerdauer von 8 Monaten bei 9 °C

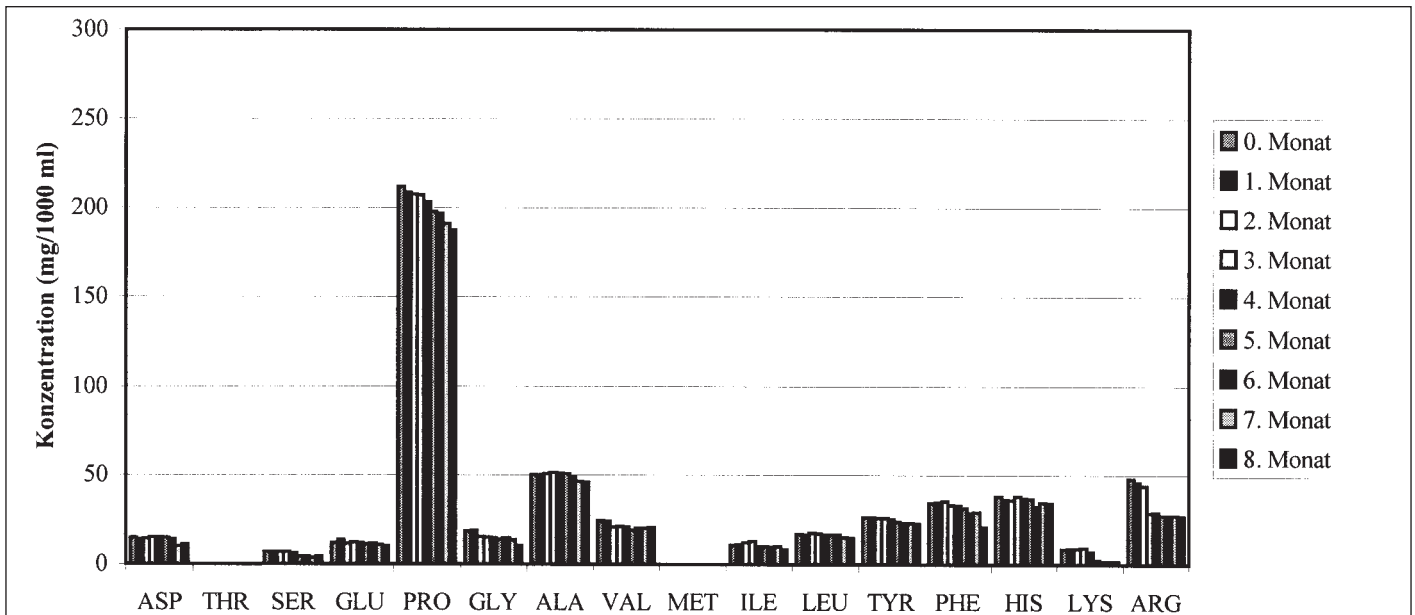


Abb. 2 Veränderungen des Gehaltes einzelner Aminosäuren in Flaschenbier D, während einer Lagerdauer von 8 Monaten bei 9 °C

Die Unterschiede in der Abbaustufe einzelner Aminosäuren stellen das wichtigste Ergebnis dieser Arbeit dar. Auf diese Weise könnte auch das unterschiedliche Vorkommen von Aldehyden erklärt werden.

Die Bildung der Aldehyde ist durch die einfache Strecker Degradation der Aminosäuren nicht zu erläutern, denn erst während der Oxidation der Radikale können Produkte der Spaltung der Radikale entstehen, die weiter rekombiniert werden können. Auf diese Weise ist die gleichzeitige Bildung von Phenylacetaldehyd und

Benzaldehyd aus Phenylalanin zu erklären (Savel, Zdvihalová 1998).

Die festgestellte Degradationsstufe erreicht zwar nicht die in der Literatur angegebenen Werte der Degradation von Glutamin (Hill et al. 1998), es liegt jedoch auf der Hand, daß einzelne Aminosäuren den Reaktionen der Radikale in verschiedenen Stufen unterliegen können. Bei diesen Reaktionen, die unter Beteiligung von Melanoidinen und Sauerstoff verlaufen, können auch weitere Stoffe wie höhere Alkohole mitwirken, was bereits in älterer Fachliteratur erwähnt wird (Hashimoto-Eshima 1997).

Tabelle 4 Gehalt einzelner Aminosäuren des Faßbieres während einer zweimonatigen Lagerung bei einer Temperatur von 9 °C, in der Zeit von 1995 – 1998

Jahr	1995		1996		1997		1998	
Alter (Monate)	0	2	0	2	0	2	0	2
Aminosäure (mg.l ⁻¹)								
Asparaginsäure	40	39 (-2,5%)	23,9	23,4 (-2,09%)	27,3	27,2 (-0,37%)	30	28,9 (-3,67%)
Threonin	6,8	4,9 (-27,94%)	Spuren	Spuren	6,2	6,1 (-1,61%)	3,6	3 (-16,67%)
Serin	20,7	19,8 (-4,35%)	10,2	9,9 (-2,94%)	15,2	12,2 (-19,74%)	10,4	9,5 (-8,65%)
Glutaminsäure	30,1	29,6 (-1,66%)	35,9	34,4 (-4,18%)	23,9	23,1 (-3,35%)	28,3	27,3 (-3,53%)
Prolin	268	269,3 (0,49%)	303,2	296,8 (-2,11%)	209,5	208,6 (-0,43%)	265,2	252,4 (-4,83%)
Glycin	25	23,5 (-6,00%)	10,7	10,5 (-1,87%)	28,9	27,5 (-4,84%)	28,1	25,8 (-8,19%)
Alanin	94	92,9 (-1,17%)	65,3	64 (-1,99%)	84,1	83,3 (-0,95%)	83,3	82,1 (-1,44%)
Valin	58,2	57,8 (-0,69%)	62,2	60,5 (-2,73%)	52	52 (0,00%)	62,2	61,4 (-1,29%)
Methionin	9,4	9,3 (-1,06%)	8,0	6 (-25,00%)	13,1	12,1 (-7,63%)	10,8	10,4 (-3,70%)
Isoleucin	26	25,6 (-1,54%)	26,2	25 (-4,58%)	21,5	20 (-6,98%)	25	24 (-4,00%)
Leucin	21,7	21,7 (0,00%)	37	36,5 (-1,35%)	25	24,9 (-0,40%)	34,6	34,3 (-0,87%)
Tyrosin	80	79,6 (-0,50%)	53,2	52,3 (-1,69%)	63	61,8 (-1,90%)	44,6	44,5 (-0,22%)
Phenylalanin	118,3	104 (-12,09%)	112,9	96,5 (-14,53%)	129	127,8 (-0,93%)	86,5	80,6 (-6,82%)
Histidin	52,1	51 (-2,11%)	32,2	32,1 (-0,31%)	27,6	27,3 (-1,09%)	35,9	35,5 (-1,11%)
Lysin	20,3	19,6 (-3,45%)	22,0	20,9 (-5,00%)	19,8	19,8 (0,00%)	9,5	9,3 (-2,11%)
Arginin	31,9	31,4 (-1,57%)	90	89,9 (-0,11%)	47,6	47,1 (-1,05%)	45,3	45,1 (-0,44%)
Freie Aminosäure	902,5	879 (-2,60%)	892,9	858,7 (-3,83%)	793,7	780,8 (-1,63%)	803,3	774,1 (-3,64%)

Mittels der Methoden der Chemilumineszenz-Analyse und ODA gelang es, die Mitwirkung von Melanoidinen während der Bieralterung bei den Aminosäuren mit aromatischen oder heterozyklischen Kernen zu beweisen (Šavel, Zdvihalová 1998). Der Verlauf dieser Reaktionen ist durch eine einfache Analyse von Oxidationsprodukten dieser Aminosäuren im UV Bereich zu verfolgen (Šavel, Zdvihalová 1998). Die Verzögerung der Oxidationswirkung durch natürliche Antioxidationsmittel haben auch japanische Autoren mittels der Elektronenspin-Resonanz-Messung bei der Oxidation des Bieres durch Luftsauerstoff verzeichnet (Uchida et al. 1996).

4 Zusammenfassung

Die Ergebnisse der langjährigen Versuche zeigen den Abbau von Aminosäuren und anderen Komponenten während der Aufbewahrung der Biere im Zusammenhang mit deren natürlicher Alterung. Das Ausmaß der Veränderungen ist von den Lagerbedingungen (Temperatur) und der Aufbewahrungszeit abhängig. Der Gehalt an Aminosäuren veränderte sich in unterschiedlichem Umfang, wobei die höchste Abnahme bei Phenylalanin, Histidin und Tyrosin aber auch Leucin, Isoleucin und Lysin zu verzeichnen war. In Bieren mit einer höheren Menge an gelöstem Sauerstoff nahmen die Aminosäuren stärker ab. Die Kinetik der Veränderungen des Aminosäuregehaltes wies eine Anfangsverzögerung des Abbauprozesses auf. Diese Veränderungen werden im Zusammenhang mit den Reaktionen der Radikale unter Teilnahme des Sauerstoffes und der Melanoidine diskutiert.

5 Summary

Basarová, G., Šavel, J., Janoušek, J., and Čížková, H.: Changes in the Content of the Amino-Acids in spite of the Natural Aging of Beer — Monatsschrift für Brauwissenschaft 52, No 7/8, 112 – 118, 1999

BC 2 Malting and brewing/ 25 Beer/ 3 Analysis method/ 36 Beer

Results obtained during several years of experimental work proved the breakdown of a wide scale of amino-acids as well as of other components, in spite of the natural ageing of the beer during its storing. The extent of the changes was dependent on the conditions of storing, mainly on the temperature and the time period. The contents of the particular amino-acids was changing in different ranges, whereby the contents of phenylalanine, histidine and tyrosine were dropping most rapidly, followed by isoleucine, leucine and lysine. The drop in the amino-acids was stronger in beers having higher content of dissolved oxygen. The kinetics of the change of the amino acids' content showed an initial hold-up phase (the lag phase) in the breakdown process. These changes have been discussed in connection with the radical reactions, in which oxygen and melanin-substances participated.

Basarová, G., Šavel, J., Janoušek, J., et Čížková, H.: Modification de la teneur en acides aminés au cours du vieillissement naturel de la bière — Monatsschrift für Brauwissenschaft 52, No 7/8, 112 – 118, 1999

BC 2 Maltage et Fabrication de la bière/ 25 Bière/ 3 Contrôles physico-chimiques brassicoles/ 36 Bière

Les résultats d'essais effectués pendant des années ont montré la dégradation des acides aminés et autres composants au cours du stockage de la bière en relation avec le vieillissement naturel. L'importance des modifications dépendait des conditions de garde (température) et du temps de stockage. La teneur en acides aminés varie de façon différente, les plus fortes pertes étant enregistrées pour la phénylalanine, l'histidine et la tyrosine, mais également la leucine, l'isoleucine et la lysine. La teneur en acides aminés diminuait le plus dans les bières renfermant une grande quantité d'oxygène dissous. La cinétique des modifications de la

teneur en acides aminés indiquait un ralentissement au départ du processus de dégradation. Ces modifications sont discutées en relation avec les réactions radicalaires avec participation de l'oxygène et des mélanoidines.

6 Literatur

1. Back, W., Forster, C., Krottenthaler, M., Lehmann, J., Sacher, B., und Thum, B.: „Neue Forschungserkenntnisse zur Verbesserung der Geschmacksstabilität“, Brauwelt 137, Nr. 38, 1677 – 1692, 1997.
2. Bamforth, C.W., Muller, R.E., und Walker, M.D.: „Oxygen and oxygen radicals in malting and brewing: A review“, Journal of the American Society of Brewing Chemists 51, Nr. 3, 78 – 79, 1993.
3. Buck, A., De Aerts, G., Bonte, S., Dupire, S., und Van den Eynde, E.: „Relation between lipoxygenase extraction during brewing capacity of the wort and the organoleptical stability of beer“, Proceedings of the 26th Congress EBC Maastricht 1997, 333 – 340, Oxford University Press, Oxford.
4. Collin, S., Noël, S., Bonte, S., Metais, N., Bodart, E., Peladan, F., und Dupire, S.: „Utilisation d'¹⁸O₂ pour évaluer l'impact de phénomène d'oxydation durant le brassage et le stockage de la bière“, Proceedings of the 26th Congress EBC Maastricht 1997, 535 – 554, Oxford University Press, Oxford.
5. Hashimoto, N., und Eshima, T.: „Composition and pathway of formation of stale aldehydes in bottled beer“, Journal of the American Society of Brewing Chemists 35, Nr. 3, 145 – 150, 1977.
6. Hill, P., Lustig, S., und Sawatzki, V.: „Die Aminosäure Glutamin als Parameter zur Bestimmung des Alterungszustandes von Bieren“, Monatsschrift für Brauwissenschaft 51, Nr. 3/4, 36 – 38, 1998.
7. Huyghues-Despointes, A., und Yaylayan, V.A.: „Retro-aldol and redox reactions of Amadori compounds: mechanistic studies with variously labeled D-[¹³C] glucose“, Journal of Agricultural and Food Chemistry 44, Nr. 3, 672 – 681, 1996.
8. Irwin, A.J., Barker, R.L., und Pipasts, P.: „The role of copper, oxygen and polyphenols in beer flavour stability“, Journal of the American Society of Brewing Chemists 49, Nr. 3, 140 – 149, 1991.
9. Kaneda, H., Kano, Y., und Kamimura, M.: „A study of beer staling using chemiluminescence analysis“, Journal of the Institute of Brewing 97, Nr. 2, 105 – 109, 1991.
10. Klein, H., Krammer, R., und Natter, M.: „Schnellbestimmung zur Vorhersage der Geschmacksstabilität von Bier“, Proceedings of the 26th Congress EBC Maastricht 1997, 553 – 560, Oxford University Press, Oxford.
11. Miedaner, H., Narziß, L., und Eichhorn, P.: „Einige Faktoren der Geschmacksstabilität — sensorische und analytische Bewertung“, Proceedings of the 23rd Congress EBC Lisbon 1991, 401 – 408, Oxford University Press, Oxford.
12. Šavel, J., und Zdvihalová, D.: „Jednoduché metody testování antioxidantů, a prooxidantu piva (Simple Methods of Testing of Antioxidants and Prooxidants of Beer)“, Kva sný Průmysl 44, Nr. 6, 171 – 174, 1998.
13. Templar, J., Arrigan, K., und Simpson, W.J.: „Formation, measurement and significance of lightstuck flavour in beer: A review“, Brewers Digest 70, Nr. 5, 18 – 25, 1995.
14. Thalacker, R., Bössendörfer, G., und Birkenstock, B.: „Eine neue Kennzahl in der brautechnischen Analyse – die Anilinzahl (AZ)“, Brauwelt 138, Nr.10/11, 421 – 425, 1998.
15. Thum, B., Miedaner, H., Narziß, L., und Back, W.: „Bildung von „Alterungs-carbonylen“ – mögliche Mechanismen und Bedeutung bei der Bierlagerung“, Proceedings of the 25th Congress EBC Brussels 1995, 491 – 498, Oxford University Press, Oxford.
16. Uchida, M., Soga, S., und Ono, M.: „Improvement for oxidative flavour stability of beer – rapid prediction method for beer flavour stability by electron spin resonance spectroscopy“, Journal of the American Society of Brewing Chemists 54, Nr. 4, 205 – 211, 1996.
17. Zeise, S., Klein, J., Kroh, L., und Stösser, R.: „Radical processes in the Maillard reaction, the formation of autooxidants. In: Strategies for food quality control and analytical methods in Europe“, Proceedings of the 6. European Conference of food chemistry Hamburg 1991, Vol. 1, 280 – 285, Lebensmittelchemische Gesellschaft, Frankfurt a. M., 1991.