

## Einfluss von Textur und molekularer Zusammensetzung des Schaumes auf die Aromastofffreisetzung aus Bier

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Freising Prof. Dr. Thomas Becker/Dr. Martina Gastl
<b>Forschungsstelle II:</b>	Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA), Freising Prof. Dr. Dr. Peter Schieberle/Leb.chem. Stephanie Frank
<b>Forschungsstelle III:</b>	Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW, Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik, Freising Prof. Dr. Thomas Hofmann/Leb.chem. Andreas Dunkel
<b>Industriegruppen:</b>	Deutscher Hopfenwirtschaftsverband e.V. (DHWV), Pfaffenhofen Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin e. V. (VLB), Berlin
	Projektkoordinator: Walter Bauer, Brauerei C. & A. Veltins GmbH, Meschede
<b>Laufzeit:</b>	2012 – 2015
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 545.900,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Struktur und Stabilität des Schaumes bestimmen neben weiteren Merkmalen die Qualität des Bieres, wobei im Gegensatz zu anderen CO<sub>2</sub>-haltigen Getränken (z. B. Schaumwein, Brausen) vom Verbraucher ein möglichst feinporiger und stabiler Schaum erwartet wird. Allerdings ist nicht nur die sichtbare Textur und die Stabilität des Schaumes (Schaumhaltbarkeit) qualitätsbestimmend, denn dieser erfüllt zugleich weitere Funktionen: Biere mit instabilen Schäumen zeigen häufig zeitgleich eine relativ schnelle Abnahme des frischen Aromaeindrucks (Schalwerden). Als Möglichkeit für diese Abnahme der positiven sensorischen Wahrnehmung kommen im Wesentlichen zwei Ursachen in Betracht: Während des Einschenkens (und danach) extrahiert das im Bier vorliegende Koh-

lendioxid Aromastoffe aus der wässrig/ethanolischen Phase unter gleichzeitigem Aufbau des Schaumes. Je nach Dichte und Zusammensetzung des Schaumes werden die aus der Flüssigphase kontinuierlich extrahierten Aromastoffe entweder im Schaum festgehalten oder beim Platzen der Schaumblasen impulsartig an die Umgebungsluft abgegeben. Dieser dynamische Prozess hängt wesentlich von der physiko-chemischen Beschaffenheit des Schaumes ab.

Als zweite Ursache für ein schales Aroma sind retronasale Vorgänge beim Verzehr anzunehmen, die ebenfalls von der Fähigkeit des Bieres zur Schaumbildung (Aufschäumen) abhängen. Sobald Bier in den Mund aufgenommen wird, kommt es zunächst zum Aufschäumen und, u. a. aufgrund der Temperaturdifferenz, zu einer spontanen Entbindung

des Kohlendioxids und damit der in den Schaumblasen vorliegenden Aromastoffe. Da aber das Velum (weicher Gaumen) beim Verzehr von Flüssigkeiten immer geschlossen ist, werden die Aromastoffe nur während des sogenannten „swallow breath“ zur *Regio olfactoria* transportiert und dort geruchlich wahrgenommen. So zeigte die Arbeitsgruppe BUETTNER et al., dass der Transport der wichtigen Aromastoffe, z. B. von Saft oder Wein, zum Geruchsepithel erst direkt nach dem Schlucken erfolgt. Es kann daher angenommen werden, dass beim Ausbleiben der Schaumbildung im Mund (schales Bier oder Bier mit schwachem Schaum) die Aromawahrnehmung ähnlich der flüssigen Phase ist, bei der die o. g. schlagartige Aromastofffreisetzung fehlt.

Aufgrund dieser in vitro (Bierglas) und in vivo (Mundraum) ablaufenden physiko-chemischen Vorgänge beim Transport der Aromastoffe kommt der Schaumstruktur und der Schaumzusammensetzung eine große Bedeutung für das Aroma von Bier zu. Während aber bei anderen Lebensmitteln bereits grundlegende Kenntnisse über den chemischen Aufbau, die Struktur und die Funktion von Schäumen (z. B. Espresso-Crema, Milchschaum, Eischnee) erarbeitet wurden, ist bis heute nahezu völlig unklar, wie sich die Struktur und die molekulare Zusammensetzung des Bierschaumes auf die Funktion als Aromastoffbarriere bzw. auf die Funktion beim Verzehr auswirken.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, den Einfluss der Zusammensetzung und der damit verbundenen physiko-chemischen Eigenschaften des Bierschaumes auf die dynamische Freisetzung von Aromastoffen aus Bier einerseits beim Stehenlassen im Glas sowie andererseits bei der retronasalen Wahrnehmung zu erarbeiten. Mittels aktivitätsorientierter Fraktionierung sollen schaumstabilisierende sowie schauminhibierende Bierinhaltsstoffe identifiziert werden. Spiking-Experimente in Biermatrix sollen anschließend das additive, synergistische bzw. inhibitorische Zusammenspiel dieser Inhaltsstoffe entschlüsseln und deren Einfluss auf die Schaumrheologie sowie die Aromastofffreisetzung im Bier offenlegen. Darauf basierend sollen der Brauwirtschaft neue Einflussmöglichkeiten zur gezielten technologischen Beeinflussung der Schaumstruktur und -stabilität an die Hand gegeben werden, wobei durch die gezielte Modifikation der Schaum-

zusammensetzung insbesondere die Abnahme des Frischeeindrucks, d. h. das Schalwerden von Bier, minimiert werden kann.

#### Forschungsergebnis:

An der Forschungsstelle (FS) 1 wurden Biere mit unterschiedlicher Schaumstruktur und der Schaumzusammensetzung hergestellt und analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass der Rohproteingehalt (als alleiniges Merkmal) einen geringen Einfluss auf den Bierschaum und seine Stabilität hat. So wurde das schaumstabilste Bier aus einem Malz mit sehr niedrigen Rohproteingehalten gebraut. Mittels Kapillarelektrophorese wurden Proteinprofile der Biere erstellt. Es zeigte sich, dass der Großteil der Proteine in zwei Molekülgrößenbereichen liegt. Diese waren im Bereich von 5-13 kDa und zwischen 40-54 kDa. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Hopfenprodukte (CO<sub>2</sub>-Extrakt, Iso-Extrakt (IAA), Tetrahydro-Extrakt (THA)) einen Einfluss auf die Schaumstabilität und die Anhaftung haben. So wurde der stabilste Bierschaum bei den THA-Bieren gemessen, vor den IAA-Bieren und den mit CO<sub>2</sub>-Extrakt hergestellten Bieren. Auch bei der Schaumanhaftung konnte die gleiche Rangfolge beobachtet werden.

Die Untersuchungen verdeutlichten zudem, dass insbesondere die Modifikation des verwendeten Malzes einen deutlichen Einfluss auf die Schaumstabilität hat. Der Einfluss auf die Schaumanhaftung war jedoch geringer. So wirkte sich eine proteolytische Überlösung (bemessen am Merkmal löslichen Stickstoffs) deutlich negativ aus. In einem weiteren Ansatz wurden die Versuchsbiere mit unterschiedlichen Gasen (Stickstoff und Kohlendioxid) beaufschlagt. Die Ergebnisse zeigten, dass v. a. Stickstoff einen positiven Effekt für die Schaumhaltbarkeit besitzt, sich dabei aber die Schaumaktivität des Bieres verringerte. Ebenso wurde im Rahmen des Projektes ein spezielles Schaumverkostungsschema zur Beurteilung der Schaumstruktur und Schaumstabilität entwickelt. Die Ergebnisse des Verkostungsschemas zeigten, dass v. a. die Aufschäummethode/Messmethode (im Rahmen der analytischen Schaumbewertung) einen Einfluss auf die Bewertung des Schaumes (Schaumtextur und Aussehen) hat. Auch die Wahrnehmung der Bittere ist abhängig von der genutzten Aufschäummethode. Des Weiteren zeigte die Auswertung deutliche

olfaktorische und gustatorische Unterschiede zwischen den Bieren.

Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen Schaumstabilität und Blasengrößen verdeutlichten, dass auch die Blasengrößenverteilung Schaumstabilität beeinflusst. Je mehr kleinere Blasen existieren, umso stabiler ist der Bierschaum.

An FS 2 wurden detaillierte Untersuchungen zum Verhalten von Aromastoffen bei der Schäumung und beim Verzehr von Bier durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass vor allem organische Säuren (Octan- oder Decansäure) im Schaum dreier verschiedener Versuchsbiere an- oder abgereichert wurden. Eine höhere bzw. niedrigere Schaumstabilität hatte dabei durchaus einen Einfluss auf diese An- oder Abreicherung. Da dieses Verhalten auch in vier kommerziellen Bierproben beobachtet wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die organischen Säuren womöglich sogar einen konzentrationsabhängigen Einfluss auf die Schaumstabilität von Bieren haben können. Dabei erwiesen sich jeweils zu hohe oder zu niedrige Gehalte dieser Analyten als schaumnegative Faktoren.

Des Weiteren wurde im Rahmen von Exhaled-Odor-Measurement (EXOM-)Versuchen ermittelt, dass ein Zusammenhang von Flüchtigkeit eines Aromastoffes und Freisetzung beim Verzehr aus Bier und Schaum besteht und dass die Freisetzung aus Schaum bei Verzehr deutlich höher war im Vergleich zu Bier („Aromaboost“-Effekt). Die Schaumstabilität spielte dabei keine Rolle.

Zusätzlich wurden noch Schlüsselaromastoffe in einem Bier mit vergleichsweise stabilem Schaum (irisches Stout) identifiziert und quantifiziert, um in weiteren Versuchen die Barrierefunktion des Schaumes sowie die zeitliche Freisetzung für diese Aromastoffe untersuchen zu können.

An FS 3 wurde das Phänomen „Bierschaum“ auf molekularer Ebene untersucht. Dazu wurde einerseits eine aktivitätsorientierte Fraktionierung von hellem Lagerbier durchgeführt. Zur Auftrennung und Eingrenzung schaumaktiver Komponenten kamen Ultrafiltrations-, Festphasenextraktions-, Größenausschlusschromatographie- (SEC-UV) und Flüssigchromatographie (HPLC-DAD/ELSD)-Methoden zum Einsatz. Die Identifikation und Strukturklärung der isolierten Verbindungen erfolgte mittels massenspektrometrischer und ein-

und zweidimensionaler NMR-Techniken. Mit Hilfe dieser Vorgehensweise konnte die Gruppe der iso- $\alpha$ -Säuren als Schaumverstärker und Ethanol und Trihydroxyfettsäuren als schaumdegenerierende Agentien als maßgebliche niedermolekulare Schaummodulatoren herausgearbeitet werden. Freie Fettsäuren zeigten ebenfalls schaumschwächende Wirkung, allerdings konnte aufgezeigt werden, dass diese Analyten in Bierschaum nicht in freier Form wirken können. Die identifizierten niedermolekularen Schaummodulatoren wurden mittels qNMR (Ethanol), LC ECHO-MS/MS (iso- $\alpha$ -Säuren, Trihydroxyfettsäuren) und SIVA-LC-MS/MS (freie Fettsäuren) quantifiziert und in ihrer nativen Konzentration rekombiniert. Dadurch konnte das modulierende Potential der niedermolekularen Fraktion von Bier vollständig abgebildet werden. Das intrinsische Schäumungspotential der hochmolekularen Fraktion konnte auf eine Proteinfraction um 10 kDa zurückgeführt werden. Die Charakterisierung erfolgte mittels Gelelektrophorese- und Größenausschlusschromatographie-Methoden.

Andererseits wurde ein holistischer Ansatz gewählt, um Schaummarker zu entschlüsseln. Die Untersuchung des Metaboloms von Bierproben und Schaumfraktionen mittels UPLC-TOF-MS führte wiederum durch statistische Auswertungen zur Identifikation der Trihydroxyfettsäuren und iso- $\alpha$ -Säuren als Schäumungsmarker. Die Analyse des Proteoms derselben Proben mittels nano-LC-ESI-Orbitrap-MS stellte vor allem eine Reihe von Serpinen, zu denen beispielsweise Protein Z4 und Z7 gehören, als wichtige Verbindungen heraus. Außerdem zeigte sich, dass im Gegensatz zum Metabolom im Proteom keine verzögerte Anreicherung einzelner Komponenten im Schaum stattfindet.

Ergänzend konnte gezeigt werden, dass durch Erhitzung die Schaumstabilität von Bierproben erhöht werden kann. Es wurde gezeigt, dass MAILLARD-Modifikationen dabei allenfalls eine untergeordnete Rolle spielen und dass der Vorgang reversibel abläuft.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Weltweit wird Bier aufgrund seines erfrischenden Geschmacks von Verbrauchern geschätzt. Allein in Deutschland wurden im Jahr 2010 ca. 100 Mio. hl Bier produziert, der Pro-Kopf-Verbrauch lag bei 104 Litern im

Jahr. Derzeit gibt es in Deutschland ca. 1.300 Braustätten mit ca. 35.000 Beschäftigten und einem Bierabsatz von ca. 103 Mio. hl/Jahr (Marktwert: ca. 9 Mrd. €). Die deutsche Brauwirtschaft ist trotz zunehmender Konzentrationsprozesse nach wie vor vorwiegend mittelständisch geprägt; gleiches gilt für die Hopfenwirtschaft.

Der Schaumstruktur und der Schaumzusammensetzung kommt eine große Bedeutung für das Aroma von Bier zu. Bei instabilen Schäumen wird vom Verbraucher der Verlust an „Frische“ sowie ein nach kurzer Zeit auftretendes schales Aroma bemängelt. Eine schlechte Schaumstabilität sowie Schaumhaftung bedeuten für Brauereien erhebliche Imageverluste. Die gezielte Kontrolle der Getränkestabilitäten und eine Sicherstellung hoher Produktqualitäten sind gerade für kleine und mittelständische Unternehmen von großer Bedeutung.

Insbesondere diese sind jedoch in ihrer Laborausstattung limitiert, so dass die sensorische Produktüberwachung und auch die Bewertung der Schaumeigenschaften meist nur empirisch mit erheblichem Zeitaufwand erfolgt. Durch die Aufklärung der Schaumeigenschaften auf die Aromastofffreisetzung kann letztlich die Produktqualität durch die Auswahl geeigneter Rohmaterialien und angepassten technologischen Verfahren konstant gehalten bzw. gesteigert werden.

Erkenntnisse über die Schauminhaltsstoffe und schaumfördernden Komponenten kommen auch anderen Branchen der Lebensmittelindustrie, wie z. B. dem Backgewerbe und der Milchindustrie, zugute. Die Entwicklung einer Bildauswertung zur Darstellung der Schaumstruktur und der Blasenentbindung bietet den Brauereien die Möglichkeit, diese reproduzierbar zu erfassen, wie dies in anderen Lebensmittelbereichen, z. B. bei der Herstellung von Trinkschokolade und Sirup, bereits erfolgreich etabliert ist.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Abschlussbericht 2015.

2. Neugrodda, C., Gastl, M. und Becker, T.: Comparison of foam analysis methods and the impact of beer components on foam stability. J. Am. Soc. Brew. Chem. 73 (2), 170-178 (2015).
3. Langos D. und Schieberle P.: Identifizierung von wertgebenden Aromastoffen in irischem Stout mittels Aromaextraktverdünnungsanalyse. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 48-51 (2015).
4. Langos, D. und Schieberle, P.: Verteilung ausgewählter Aromastoffe zwischen Flüssig- und Schaumphase in Bieren mit unterschiedlichen Schaumstabilitäten. Jahresb. Dt. Forschungsanst. Lebensmittelchem. (DFA), 48-51 (2014).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW  
Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie  
Weihenstephaner Steig 20, 85354 Freising  
Tel: +49 8161 71-3261  
Fax: +49 8161 71-3883  
E-Mail: tbecker@wzw.tum.de

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA)  
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising  
Tel: +49 8161 71-2932  
Fax: +49 8161 71-2970  
E-Mail: peter.schieberle@lrz.tum.de

Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW  
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik  
Lise-Meitner-Str. 34, 85354 Freising  
Tel: +49 8161 71-2901  
Fax: +49 8161 71-2949  
E-Mail: thomas.hofmann@tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via

