

## **Trübungen und Trübungsidentifizierung im Bier – Ein Überblick**

Elisabeth Steiner

Bier ist ein komplexes Gemisch aus über 450 Bestandteilen [2]. Beinhaltet sind: Proteine, Kohlenhydrate, Polyphenole, Lipide, Nucleinsäuren... Alle diese Bestandteile bewirken verschiedene Reaktionen im Brauprozess und im fertigen Bier. Proteine zum Beispiel sind in der Form von Enzymen involviert, sind verantwortlich für Schaumstabilität und Vollmundigkeit und in Kombination mit Polyphenolen verursachen sie Trübungen und Filtrationsprobleme. In Anbetracht dieser Komplexität ist es nicht verwunderlich, dass die Probleme im Brauprozess so vielfältig sein können, wie die Bestandteile im Bier.

Ein Problem, auf das hier eingegangen wird, ist die Trübungsbildung. Trübungen können nicht nur aufgrund organischer Komponenten (Proteine, Polyphenole, Kohlenhydrate), sondern auch durch anorganische Bestandteile, wie Etikettenreste, Calciumoxalat, etc. entstehen.

In diesem Vortrag wird auf die Entstehung von Trübungen, die Identifizierung von verschiedenen Trübungsarten und auf Probleme, die in der Brauereipraxis durch Trübungen entstehen können eingegangen.

**Technische Universität München**  
**Center of Life and Food Sciences Weihenstephan**  
Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie  
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Thomas Becker



# ***Trübungen und Trübungsidentifizierung im Bier - Ein Überblick***

**Steiner, E.**



Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 1 BGT - Technische Universität München

**Allgemein** **TUM**

- Bestandteilen von Bier
  - Proteine
  - Polyphenole
  - Kohlenhydrate
  - Nucleinsäuren
  - Fette
  
- Diese können Makromoleküle bilden, aus denen Trübungen entstehen können

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 2 BGT - Technische Universität München

## Trübungsbestandteile



- **Organische Bestandteile**
  - Proteine (40 – 75 % der Trübung)
    - Vor allem aus Gerstenmalz
  - Kohlenhydrate (2 – 15 % der Trübung)
    - $\alpha$ -Glucane und  $\beta$ -Glucane
  - Polyphenole (in Verbindung mit Proteinen)
    - aus Gerste und Hopfen
- **Anorganische Bestandteile**
  - Schmutzreste
  - Staubpartikel
  - Etikettenreste

## Trübungsursachen



- **Proteine**
  - Mangelnde Klärung während der Lagerung
- **$\alpha$ -Glucane**
  - Malzqualität, Verzuckerungsrast, Läuterarbeit
- **$\beta$ -Glucane, Pentosan**
  - schlechte Zellwandlösung, Gelbildung
- **Hopfen/Gerbstoffe**
  - in Form von Eiweißgerbstoffverbindungen
- **Organische Säuren**
  - Kalziumoxalatausfällung
- **Hefe**
  - Glycogen
  - Zellwandstoffe
  - Proteine

## Proteinische Trübungen



- ~500 mg/L proteinisches Material im Bier (<5 bis >100 kDa)
- Für Trübungsbildung reichen 2 mg/L
- Reich an Prolin und Glutaminsäure
- Schaum- und trübungsaktiv
- Hochmolekulare Fraktionen: > 40 kDa
  - Protein Z (43 kDa)
- Mittelmolekulare Fraktionen: 15-40 kDa
  - Prolin- und Glutaminsäurereiche Hordeine
- Niedermolekulare Fraktionen < 15 kDa
  - LTP1 (10 kDa)

## Proteinische Trübungen



### Verursacht durch:

- Hefe (schlechte Klärung)
- Hitze → z.B.: KZE, Pasteurisation (Zerstörung der Proteinstruktur)
- Kälte (zerstörte Proteine werden wieder geordnet → Kältetrübung)
- Sauerstoff (Oxidation von SH-Gruppen → Bildung von Brücken)

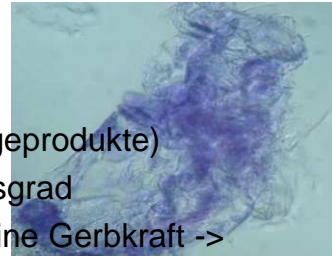


## Polyphenole



### Verursacht durch:

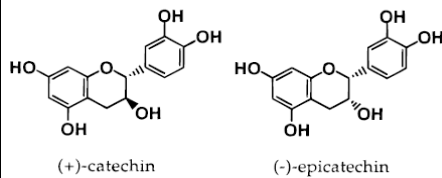
- Sauerstoff (eiweißfällende Folgeprodukte)
- Abhängig von ihrem Oxidationsgrad
- Einfache Moleküle besitzen keine Gerbkraft -> positive Wirkung durch ihr Reduktionsvermögen
- Polyphenole aus Hopfen sind trübungsaktiver, als jene aus Gerste
- Trübungsaktive Polyphenole: Proanthocyanidine -> Monomere, Dimere, Trimere aus Catechin, Epicatechin und Gallocatechin



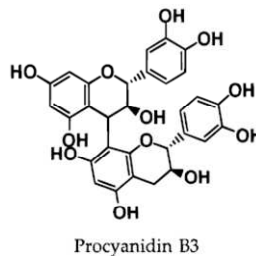
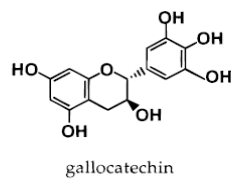
Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 7

BGT - Technische Universität München

## Proanthocyanidin-Monomere



- **Hohe Konzentrationen von Procyanidin (Catechin-Catechin) und Prodelphinidin (Gallocatechin-Catechin) tragen zur Trübungsbildung bei**



Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 8

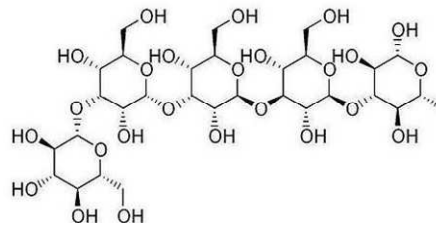
BGT - Technische Universität München

[3]

## Kohlenhydrate



- Kleiner Anteil an Trübungen
- Fünffach- und Sechsfachzucker,  $\beta$ -Glucane und Stärkereste.
- LEIPER (2003) schreibt, dass die in den Trübungspartikel enthaltenen Kohlenhydrate Glycoproteine sind, die aus Proteinen (mit hohem Prolin- und Glutaminsäureanteilen) und Hexose bestehen.
- $\alpha$ -Glucane



Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 9

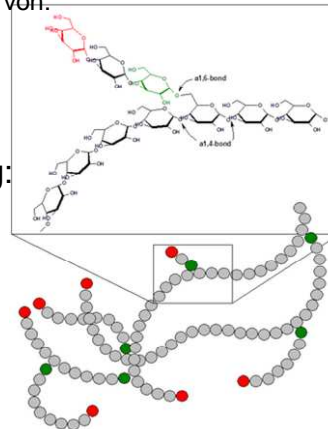
BGT - Technische Universität München

## Ursprung der hochmolekularen $\alpha$ -Glucane



- Glycogen: Energiespeicherstoff der Hefe
  - Ähnlich aufgebaut wie Amylopektin und dadurch analytisch schwer erfassbar
  - Wird von der Hefe ausgeschieden im Fall von:
    - *High Gravity Brewing*
    - *Hohen Gärtemperaturen*
    - *Hefestamm*

Einzig mögliche Problembehebung:  
Hefe nur einmal führen  
→ Filtrationsprobleme



Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 10

BGT - Technische Universität München

## Ursprung der hochmolekularen $\alpha$ -Glucane



- Amylose und Amylopektin: aus dem (ungenügenden) Stärkeabbau
- Malz: unterlöste und ganzglasige Körner erschweren den Enzymangriff an die Stärkemoleküle
- Schrot: schlecht eingestellte Nassschrotmühlen
- Maischverfahren: nicht angepasst an die Malzqualität
- Abmisch- bzw. Läutertemperatur  $> 78\text{ °C}$ : Inaktivierung der  $\alpha$ -Amylase, Herauslösen hochmolekularer Stärkemoleküle
- Trübes Abläutern: unverkleisterte Stärkekörner werden beim Kochen gelöst
- Heißtrubgabe zum Anschwänzen: ausgefällte Stärkepartikeln werden im Läuterbottich ausgewaschen

## Trübungsformen



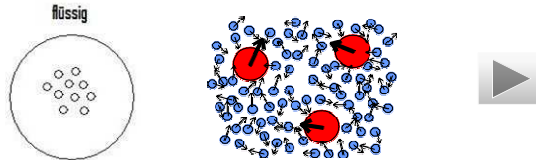
- Allgemein
  - Flocken: dünne, film-ähnliche Partikel mit einer unregelmäßigen Form
  - Bänder -> entstehen aus Flocken
  - Körner
- Kälte trübung
  - Reversible Trübung
- Dauertrübung
  - Nicht reversible Trübung



## Trübungsbildung - Mechanismus

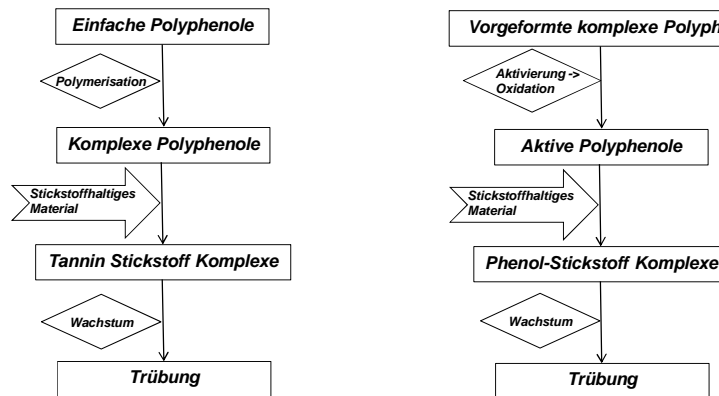


- Moleküle bewegen sich (Brown'sche Molekularbewegung = Wärmebewegung von Teilchen in Flüssigkeiten bezeichnet)
  - durch hohe Lagertemperaturen und durch Bewegung gefördert



- Je größer das Molekulargewicht der proteinartigen Fraktion, desto leichter kann diese durch Polyphenole gefällt werden

## Entstehung von Trübungen nach Gardner (1977)



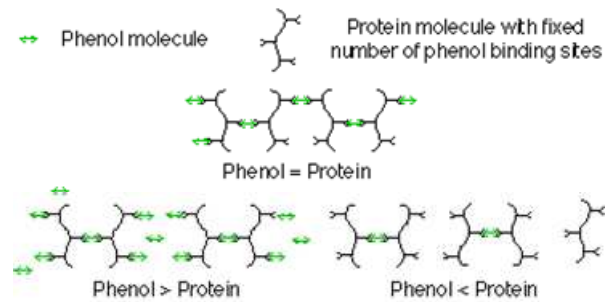
**Trübungen entstehen mit der Zeit durch Polymerisation**

**Polyphenole müssen zuerst aktiviert werden, bevor sie mit Proteinen Trübungen bilden**

## Entstehung von Trübungen



### Concept of Protein-Polyphenol Interactions



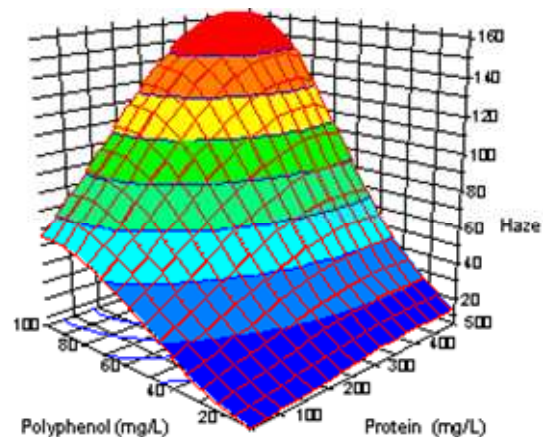
**Trübungsaktive Proteine besitzen Bindungsstellen, an die Polyphenole binden -> Netzwerke werden gebildet -> höchste Trübungsbildung, wenn gleich viele Bindungsstellen vorhanden sind**

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 15

BGT - Technische Universität München

[5]

## Einfluss von trübungsaktiven Substanzen



**Verhältnis von Proteinen zu Polyphenolen hat einen großen Einfluss auf die Trübungsbildung. Wenn nahezu gleich viele Bindungsstellen von beiden vorhanden sind, dann resultiert ein Netzwerk → Trübung**

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 16

BGT - Technische Universität München

[4]

## Untersuchungsmethoden



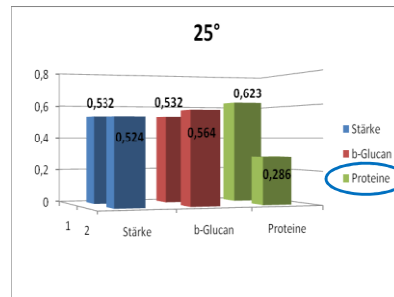
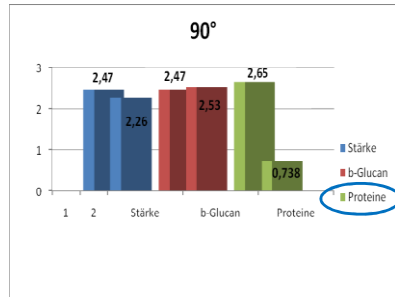
- Trübungsmessung - Zweiwinkel-Streulichtmessgerät
  - 90°-Messung für Partikeln  $< 1\mu\text{m}$  ( $< 1$  EBC)
  - 25°-Messung für Partikeln  $> 1\mu\text{m}$  ( $< 0,5$  EBC)
- Enzymatische Trübungsidentifizierung
- Gelpermeationschromatographie (GPC)
  - Modifizierter photometrischer Jodwert
- Mikroskopische Untersuchung
  - Membranfiltration
  - Färbemethode
    - Jod (Stärke)
    - Eosin Yellow (Proteine)
    - Methylenblau (Polyphenole)

## Enzymatische Trübungsuntersuchung



- Trübungsmessung
- Enzymzugabe
  - Pepsin (Abbau von proteinischen Substanzen)
  - Amyloglucosidase (Abbau von Stärke)
  - Ultraflo Max (Abbau von  $\beta$ -Glucan)
- Messung des Trübungsabbaus

## Enzymatische Trübungsidentifizierung



### Abbau der Trübung durch Pepsin -> Proteinische Trübung

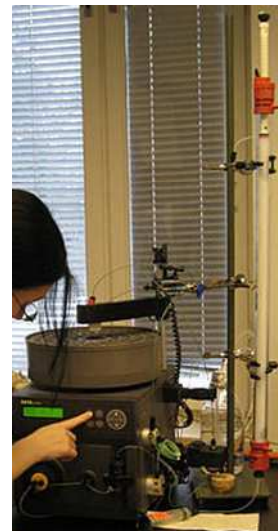
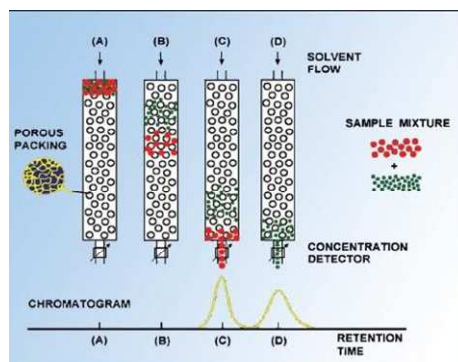
Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 19

BGT - Technische Universität München

## GPC - Gelpermeationschromatographie

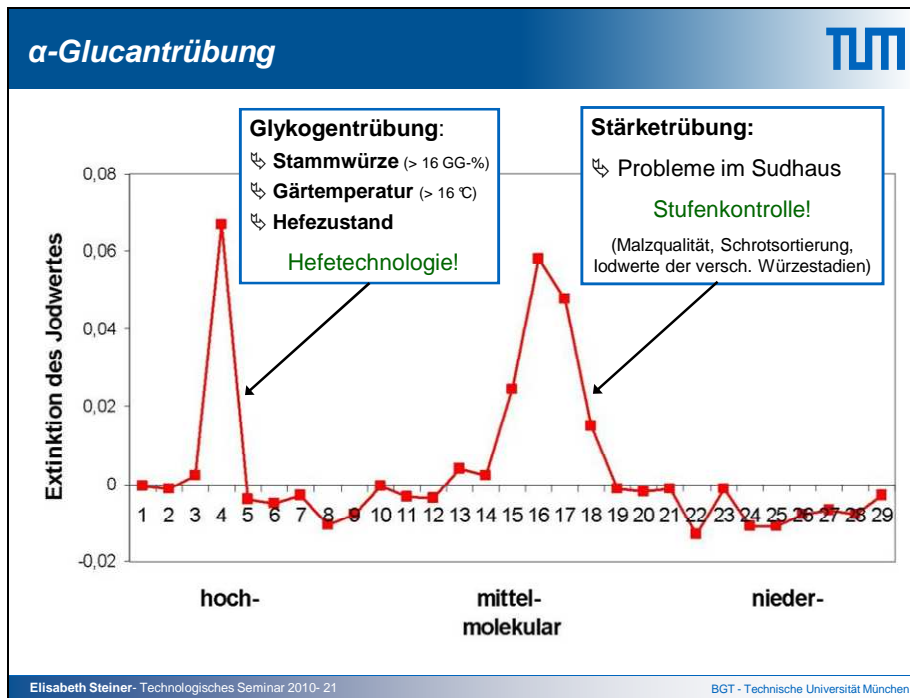


- Größenausschlusschromatographie
  - Partikel werden nach ihrer Größe aufgetrennt
  - Untersuchung mit modifiziertem photometrischen Jodwert ->  $\alpha$ -Glucane

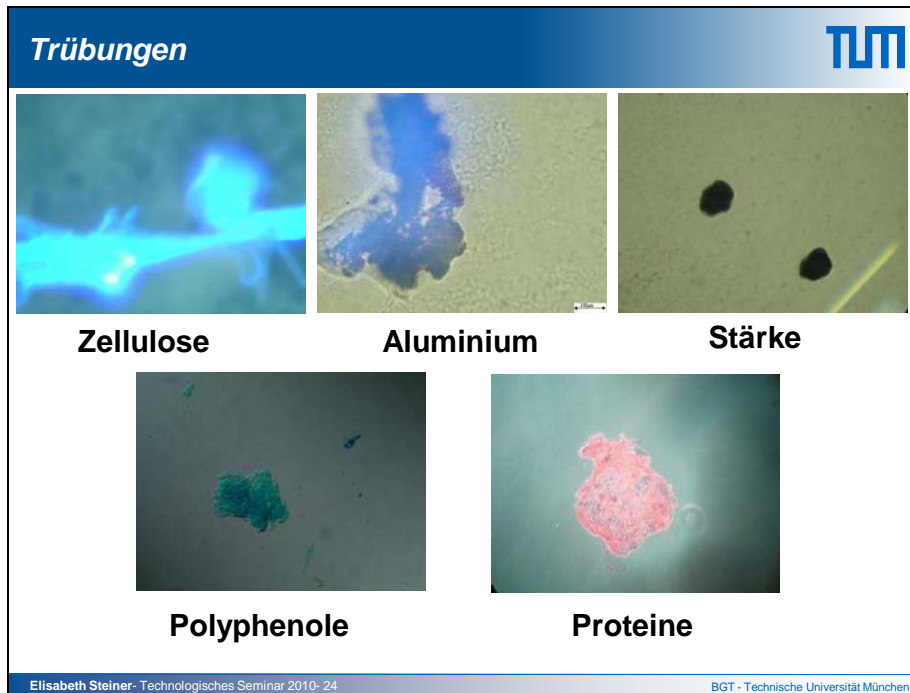
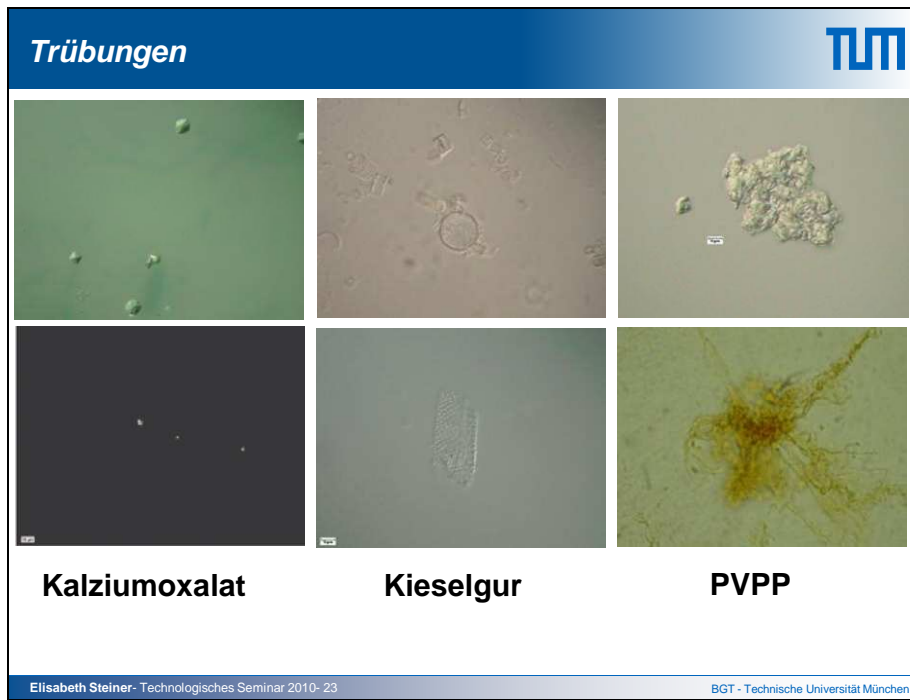


Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 20

BGT - Technische Universität München



- ### Mikroskopische Trübungsuntersuchung
- Probenaufbereitung
    - Zentrifugation: Färbungen möglich
    - Membranfiltration: Quantifizierung möglich
  - Einstellungen am Mikroskop
    - Polarisiertes Licht (Calcium-Oxalat)
    - Auflicht (Aluminiumteilchen)
    - Fluoreszenz (Zellulose)
  - Färbungen:
    - Eosin Yellow (proteinische Trübungen)
    - Jod (Stärke-trübung, PVPP)
    - Methylenblau (Polyphenole)
    - Thionin (neutrale Polysaccharide)
- Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 22 BGT - Technische Universität München



## Trübungen - Membranfiltration



**Etikettenrest**

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 25

BGT - Technische Universität München


## Praxisbeispiel 1

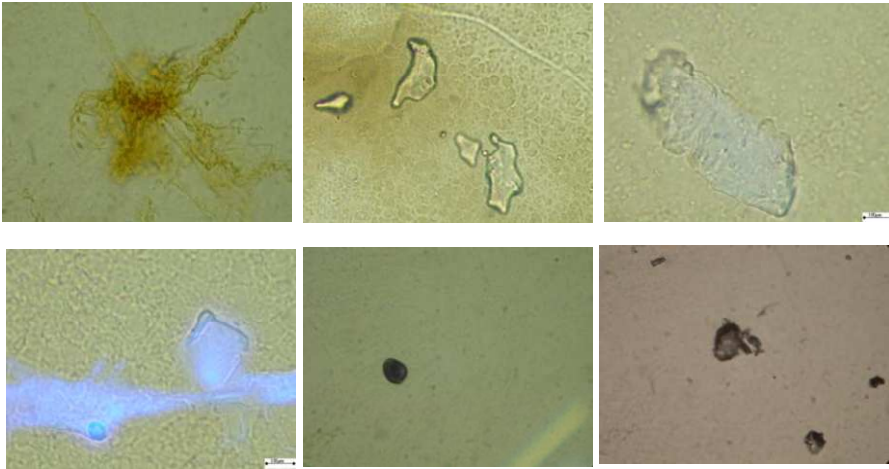


- Problem: Trübung im abgefüllten Bier
- Ursachenfindung
  - Enzymatische Trübungsidentifizierung → Proteinische Trübung
  - Mikroskopische Trübungsidentifizierung
- Lösung

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 26


BGT - Technische Universität München

**Praxisbeispiel 1 - Lösung** 

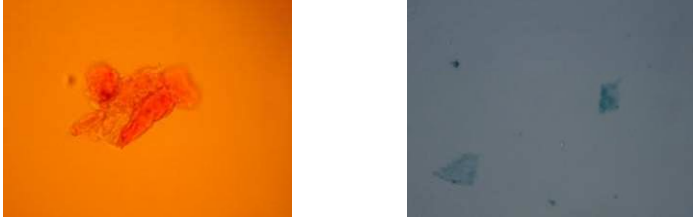


**Flaschenwaschmaschine**

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 27 BGT - Technische Universität München

**Praxisbeispiel 2** 

- Problem: Probe nach Transport im Tankwagen trüb
- Ursachenfindung
  - Enzymatische Trübungsidentifizierung → Proteinische Trübung
  - Mikroskopische Trübungsidentifizierung
- Lösung
  - Reste von Lauge/Säure im Tankwagen

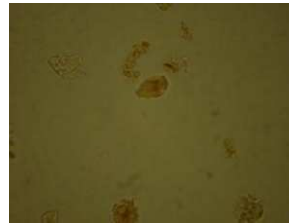
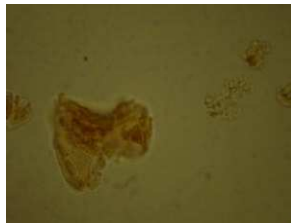


Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 28 BGT - Technische Universität München

### Praxisbeispiel 3



- Problem: Probe nach Filtration trüb
- Ursachenfindung
  - Enzymatische Trübungsidentifizierung → Trübung nicht abbaubar
  - Mikroskopische Trübungsidentifizierung
- Lösung
  - PVPP
  - Trap-Filter funktioniert nicht



Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 29

BGT - Technische Universität München

### Zusammenfassung



- Bier ist ein sehr komplexes Medium → daher ist auch die Trübungsproblematik sehr vielseitig
- Durch enzymatische und mikroskopische Trübungsidentifizierung sind viele Trübungsarten und –ursachen erkennbar
- Auch wenn die Trübung organisch ist, kann die Trübungsursache anorganisch sein
- Trübungsprobleme sind lösbar und zu einem gewissen Grad auch vermeidbar

Elisabeth Steiner- Technologisches Seminar 2010- 30

BGT - Technische Universität München

- [1] Bamforth, Charles W.: Beer haze. In: Journal of the American Society of Brewing Chemists 57 (1999), Nr. 3, S. 81-90
- [2] Briggs, D. E. , Boulton, C. A., Brookes, P. A. and , Stevens, R.: Brewing: science and practice. 1. Cambridge UK/CRC Press: 2004
- [3] Siebert, Karl J.: Effects of Protein-Polyphenol Interactions on Beverage Haze, Stabilization, and Analysis. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (1999), Nr. 2, S. 353-362
- [4] Siebert, Karl J., Carrasco, Aurea, Lynn, Penelope Y.: Formation of protein-polyphenol haze in beverages. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry 44 (1996), Nr. 8, S. 1997-2005
- [5] Siebert, Karl J., Troukhanova, Nataliia V., Lynn, Penelope Y.: Nature of Polyphenol-Protein Interactions. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry 44 (1996), Nr. 1, S. 80-5