

**Diss. Nr. 3874**

**Untersuchungen  
über die Proanthocyanidine  
im Bier**

ABHANDLUNG

zur Erlangung

der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

**BOŽO ORŠANIĆ**

dipl. Ing. Chem. Universität Zagreb

geboren am 1. September 1928

jugoslawischer Staatsangehöriger

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. H. Neukom, Referent

Prof. Dr. J. Solms, Korreferent

Juris Druck + Verlag Zürich

1967

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

1. Proanthocyanidine sind einfache oder kondensierte Flavanderivate, die beim Erhitzen mit Salzsäure in rotgefärbte Anthocyanidine übergehen und aufgrund dieser Reaktion nachgewiesen und bestimmt werden können. Proanthocyanidine finden sich auch im Bier, Malz und der Gerste und sind massgeblich beteiligt an der Bildung der Kältetrübungen im Bier.

2. Die Bestimmungsmethoden der Proanthocyanidine durch Adsorption an Nylon 66 oder Polyclar AT und anschliessende BuOH/HCl-Hydrolyse wurden zunächst studiert. Mit steigenden Mengen Polyclar bzw. Nylon nahm die nachweisbare Menge der Proanthocyanidine bis zu einem bestimmten Wert zu und blieb bei höheren Mengen konstant. Die durch Hydrolyse entwickelte rote Farbe nahm mit der Zeit beträchtlich ab. Die Proanthocyanidingehalte variierten je nach Bier zwischen 20 und 35 mg/l. Die mit Nylon ermittelten Werte sind dabei um 5 - 10 % höher als die mit Polyclar gefundenen Werte. Polyclar ist daher ein selektiveres Adsorptionsmittel als Nylon. Die Proanthocyanidinkomponente betrug nur 2 - 3 % der gesamten an Polyclar bzw. Nylon adsorbierten Substanzmenge. Ein beinahe gleicher Proanthocyanidingehalt wurde auch in der Kältetrübung gefunden. Die an Polyclar adsorbierten Proanthocyanidine konnten nicht mehr unverändert eluiert werden.

3. Um die Proanthocyanidine und andere Polyphenole direkt aus dem Bier in unveränderter Form zu isolieren wurde eine Extraktionsmethode mit Aethylacetat ausgearbeitet. Durch zweidimensionale Dünnschichtchromatographie dieser Extrakte konnten darin mindestens 16 verschiedene Phenolkörper gefunden werden.

4. Die phenolischen Verbindungen wurden durch Fällung mit Isooctan in zwei Gruppen aufgetrennt und näher studiert. Die vier Substanzen der ersten Gruppe (No.1,3,11 und 12) wurden an einer Polyamid-Kolonnenoneinander getrennt. Zwei der Verbindungen konnten als (+)Catechin und (-)Epicatechin identifiziert werden, zwei weitere sind schnellaufende unbekannte Substanzen (rote Färbung). Die zweite Gruppe (mit Isooctan fällbar) enthält die Proanthocyanidine.

5. Durch Alkohol- und Aethylacetatextraktion von geschrotetem Malz und anschliessende zweidimensionale Dünnschichtchromatographie wurden nur drei Flecken gefunden. Der eine wurde als (+)Catechin identifiziert, bei den anderen (No.4 und 5) handelt es sich um Proanthocyanidine, die auch im Bier gefunden wurden. Die Extraktion und anschliessende Dünnschichtchromatographie der Gerste ergab das gleiche chromatographische Bild. Die Substanzen 4 und 5 konnten durch Isooc-

tan-Fällung vom (+)Catechin getrennt werden.

6. Durch Chromatographie an einer Polyamid-Kolonnen konnte die Substanz 4 rein isoliert und als ein zusammengesetztes Proanthocyanidin charakterisiert werden. Durch scharfe Hydrolyse bildete sich Cyanidin und Delphinidin, durch milde Hydrolyse (+)Catechin und (-)Epicatechin. Zusammengesetzte Proanthocyanidine sind in letzter Zeit in verschiedenen Pflanzen gefunden worden, während sie bisher in Gerste, Malz und Bier noch nicht nachgewiesen worden sind.

7. Es wird ein mutmasslicher Reaktionsmechanismus diskutiert, der zu nichtbiologischen Trübungen im Bier führt. Es wird dabei angenommen, dass durch Spaltung und anschliessende Kondensation der zusammengesetzten Proanthocyanidine sich höher kondensierte Proanthocyanidine (mit Gerbstoffcharakter) bilden, die mit Proteinen unlösliche Assoziat bilden.

8. Bei längerer Aufbewahrung von Bier bei konstanten niederen Temperaturen bildet sich eine geringere Menge Kältetrübung (29,2 mg/l Bier) als bei Lagerung unter abwechselnder Kühlung und Erwärmung (85,2 mg/l Bier).

9. Die quantitative Zusammensetzung einer Kältetrübung wurde ermittelt. Der Proteingehalt beträgt ca. 60 %, der Proanthocyanidingehalt 3,7 % und der Kohlenhydratgehalt 9,8 %.