

Osmolalität – Einflussfaktoren auf die Messmethode

ALKOHOLFREIE BIERE | Die Zahl von isotonisch ausgelobten alkoholfreien Bieren nimmt stetig zu. Inzwischen sind auch alkoholfreie Biermischgetränke wie Radler auf dem Markt. Isotonische Getränke sind Flüssigkeiten, deren Anzahl an osmotisch aktiven Teilchen pro kg dem des menschlichen Blutes entsprechen. Größe oder Art der Teilchen spielen für den osmotischen Druck keine Rolle, da es sich nicht um ein chemisches, sondern um ein physikalisches Phänomen handelt. Einzig die Zahl der Teilchen (gelöste Atome und Ionen, aber auch Moleküle wie Zucker, Proteine, Ethanol) ist entscheidend. Daher ist der osmotische Druck eine kolligative Eigenschaft.

ALS KOLLIGATIVE EIGENSCHAFT

(von lat. colligere „sammeln“) wird eine Stoffeigenschaft bezeichnet, die nur von der Teilchenzahl (d.h. dem Stoffmengenanteil) der gelösten Komponente abhängt, nicht aber von der Art der Teilchen oder ihrer chemischen Zusammensetzung [1].

Laut Stellungnahme Nr. 2011/42 des Arbeitskreises Lebensmittelchemischer Sachverständiger der Länder und des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (ALS) auf der 98. Sitzung am 25. und 26. Oktober 2011 in Münster haben isotonische Getränke eine Osmolalität von 300 mOsm +/-10 Prozent



Autoren: Dr. Martin Zarnkow (Foto), Florian Mallok, Hubert Walter, Prof. Fritz Jacob, alle Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, TU München, Freising

(entspricht 270-330 mOsm/kg). Der Arbeitskreis schloss sich dem Scientific Committee on Food in seiner Stellungnahme SCF/CS/NUT/Sport/5 Final (corrected) von 2001 an. Getränke mit einer niedrigeren Teilchendichte werden als hypoton oder auch hypotonisch bezeichnet, solche mit einer höheren Teilchendichte heißen hyperton oder hypertonisch. Der Vorteil isotonischer Getränke bei körperlicher Belastung besteht in einer raschen Resorption

der Inhaltsstoffe und somit einem schnellen Ausgleich der unter Belastung auftretenden Verluste [2-4].

Eine Methode ist bisher offiziell in den anerkannten Methodensammlungen aufgenommen worden. Die Methode „2.10.2 Osmolalität mittels Osmometer“ ist in der Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK) Band Würze, Bier, Biermischgetränke (WüBiBimi), Auflage 2012 beschrieben. Hierbei wird der Gefrierpunkt des Substrates nach vorheriger Entkohlensäuerung ermittelt. Diese Entkohlensäuerung ist jedoch nicht exakt beschrieben und festgelegt.

Einfluss der Kohlensäure und des Alkoholgehaltes

Um dies zu klären, wurden Versuche gefahren, die den Einfluss der Kohlensäure und des Alkoholgehaltes auf die Osmolalität aufzeigen, sowie verschiedene Entkohlensäuerungsmethoden und deren Einfluss auf den verbleibenden Kohlensäuregehalt, den verbleibenden Alkoholgehalt und die Osmolalität. Die Messung der Osmolalität erfolgte immer mit dem Cryostar I der

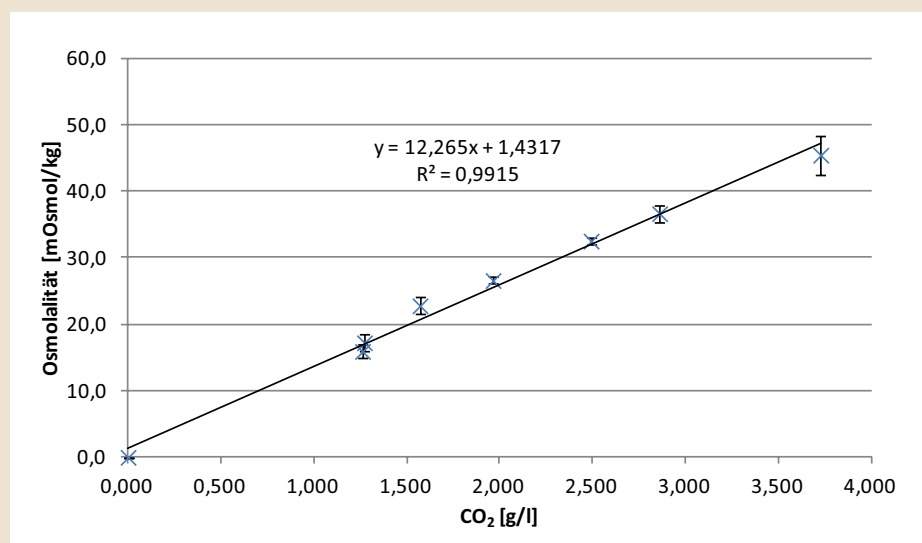


Abb. 1 Zusammenhang des CO₂-Gehaltes auf die Osmolalität in einer wässrigen Lösung

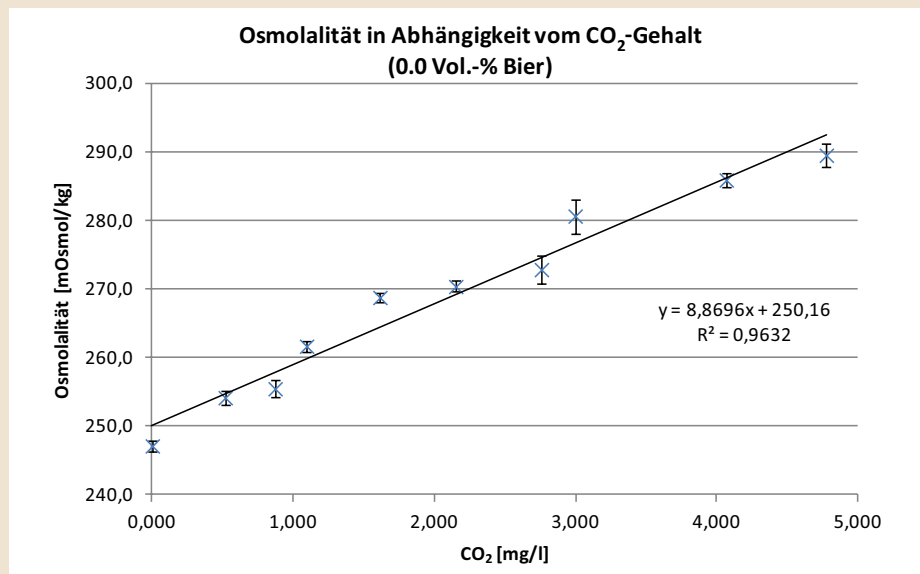


Abb. 2 Zusammenhang des CO₂-Gehaltes auf die Osmolalität eines alkoholfreien Bieres (0,0 Vol.-%).

Funke-Dr. N. Gerber Labortechnik GmbH, Berlin. Es war eine Zweipunktkalibrierung:

- A-Kalibrierung: 0,000 °C (Hersteller biorapid; 8 ml in Glasflasche);
- B-Kalibrierung: -0,800 °C ± 431 mOsmol/kg bei den Versuchen Abb. 1, 2 und 5 (Hersteller biorapid; 8 ml in Glasflasche);
- B-Kalibrierung: -1,000 °C ± 538 mOsmol/kg bei den Versuchen Abb. 3 und 4 (Hersteller biorapid; 8 ml in Glasflasche);
- Kontrolle mittels Kontrollstandard C: -0,512 °C ± 276 mOsmol/kg (Hersteller Funke Gerber; 250 ml in PE Flasche); Die erste Versuchsreihe sollte den Ein-

fluss des CO₂-Gehaltes auf die Osmolalität aufzeigen. Hierzu wurden in bidest. Wasser verschiedene CO₂-Gehalte durch Aufkarbonisierung eingestellt. Die Osmolalität wurde mittels Dreifachbestimmung und der CO₂-Gehalt mittels Doppelbestimmung ermittelt. Für den CO₂-Gehalt wurde das cBoxQC der Anton Paar GmbH, Graz, Österreich, verwendet.

Tabelle 1 zeigt, dass mit steigendem CO₂-Gehalt auch die Messwerte der Osmolalität linear ansteigen. Dies ist auch nochmal deutlich in Abbildung 1 dargestellt.

Nachdem ein signifikanter Zusammenhang des CO₂-Gehaltes in wässrigen Lösun-

gen nachgewiesen werden konnte, wurde in der zweiten Versuchsreihe die Matrix Wasser durch alkoholfreies Bier mit 0,0 Vol.-% Alkohol ersetzt. Die Einstellung des Bieres auf verschiedene CO₂-Gehalte erfolgte durch stufenweise Entkohlensäuerung. Die Osmolalität wurde mittels Dreifachbestimmung und der CO₂-Gehalt mittels Doppelbestimmung ermittelt. Für den CO₂-Gehalt wurde wieder das cBoxQC von Anton Paar verwendet.

Tabelle 2 und Abbildung 2 zeigen klar, dass in der Matrix Bier (untergärig, ohne Alkohol) die Messung der Osmolalität linear von dem CO₂-Gehalt abhängt. Der Unterschied zwischen unbehandeltem Bier und völlig entgastem Bier betrug über 42 mOsmol/kg.

Eine weitere Versuchsreihe wurde aufgestellt, um den Einfluss des Alkoholgehaltes auf die Osmolalität zu verdeutlichen. Die Matrix hierbei war wieder bidest. Wasser. Dazu wurde die wässrige Lösung auf verschiedene Alkoholgehalte durch Dosierung einer 96-prozentigen Ethanol-Lösung eingestellt. Beide relevanten Merkmale wurden mittels Dreifachbestimmung ermittelt. Bewusst wurden mehr Messpunkte in dem für alkoholfreie Biere relevanten Bereich ausgewählt. Der Alkohol wurde enzymatisch nach der Methode (MEBAK WüBiBimi 2.9.7.1); Bestimmungssatz Ethanol, R-Biopharm AG, Darmstadt, gemessen.

Wie in der Tabelle 3 und der Abbildung 3 ersichtlich, spielt der Alkoholgehalt auch in dem für alkoholfreie Biere relevanten Be-

EINFLUSS DES CO₂-GEHALTES EINER WÄSSRIGEN LÖSUNG AUF DIE OSMOLALITÄT

Probe Nr.	Einfluss des CO ₂ -Gehaltes auf die Osmolalität Probe: Bidest. H ₂ O								
	Osmolalität [mOsmol/kg]						CO ₂ -Gehalt [g/l]		
	1	2	3	Mittelwert	Stabw	Konfidenzintervall P=95%	1	2	Mittelwert
0	0	0	0	0,0	0,00	0,00	0	0	0,000
1*	13,8	14,4	14,5	14,2	0,38	0,94	1,207	1,207	1,207
2	15,6	15,2	14,5	15,1	0,56	1,38	1,229	1,229	1,229
3	15,6	15,7	16,5	15,9	0,49	1,23	1,262	1,261	1,262
2*	17,4	17,0	17,3	17,2	0,21	0,52	1,273	1,271	1,272
4*	22,9	22,6	22,9	22,8	0,17	0,43	1,570	1,572	1,571
5	26,9	26,9	26,0	26,6	0,52	1,29	1,963	1,965	1,964
6	31,2	33,2	33,2	32,5	1,15	2,87	2,492	2,491	2,492
7	37,9	36,6	35,5	36,7	1,20	2,98	2,862	2,858	2,860
8	44,4	45,7	46,3	45,5	0,97	2,41	3,739	3,715	3,727

Tab. 1

reich eine entscheidende Rolle. So hat sie bei einem Alkoholgehalt von 0,54 Vol.-% über 90 mOsmol/kg. Die Osmolalität ist direkt linear abhängig vom Alkoholgehalt.

In der vierten Versuchsreihe sollte die Matrixunabhängigkeit gezeigt werden, indem der Alkoholgehalt in tatsächlich alkoholfreiem Bier stufenweise durch Zugabe von Alkohol erhöht wurde. Zuerst wurde das Bier (0,0 Vol.-%) vollständig entkohlensäuert. Die Alkoholeinstellung erfolgte durch eine 96-prozentige Ethanol-Lösung. Die Osmolalität und der Alkoholgehalt wurden dreifach bestimmt. Bewusst wurden wieder mehrere Messpunkte in dem für alkoholfreie Biere relevanten Bereich ausgewählt. Der Alkohol wurde mit der enzymatischen Methode (MEBAK WüBiBimi 2.9.7.1); Bestimmungssatz Ethanol, R-Biopharm AG gemessen.

Die Ergebnisse waren ähnlich zu der wässrigen Matrix. In „alkoholfreiem“ Bier nahm die Osmolalität bei 0,48 Vol.-% um 98 mOsmol/kg zu (vgl. Tab. 4 und Abb. 4).

Zentrale Versuchsreihe

Die zentrale Versuchsreihe bezog sich nun auf die Methoden zur Entkohlensäuerung, da diese bisher nicht festgeschrieben waren und es zu unterschiedlichen Ergebnissen u. a. bei Ringanalysen kam. Für diese Versuche wurde ein obergäriges alkoholfreies Bier gewählt, welches etwa 0,5 Vol.-% an Alkohol hatte. Es wurden verschiedene Entkohlensäuerungsmethoden angewendet, die zu einer vollständigen Entkohlensäuerung

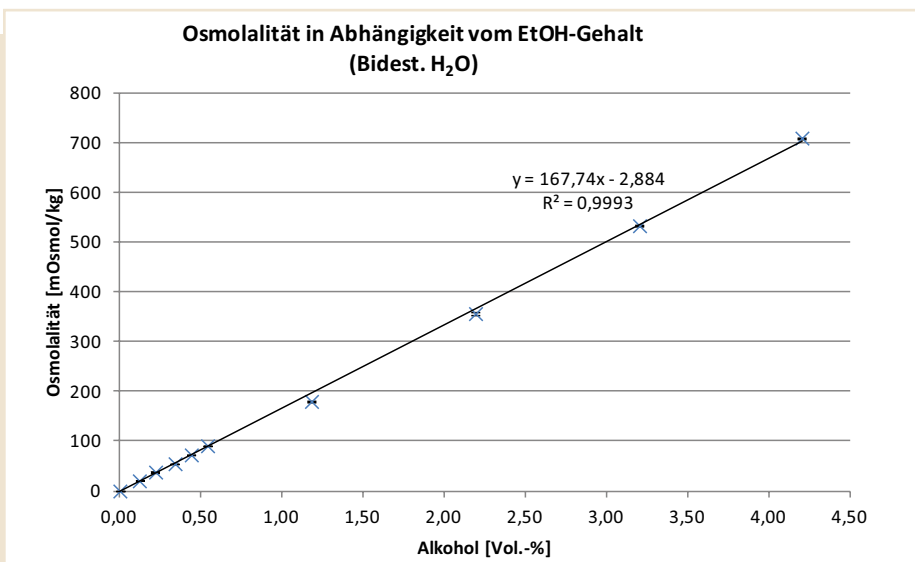


Abb. 3 Zusammenhang des Alkoholgehaltes auf die Osmolalität eines alkoholfreien Bieres (0,0Vol.-%)

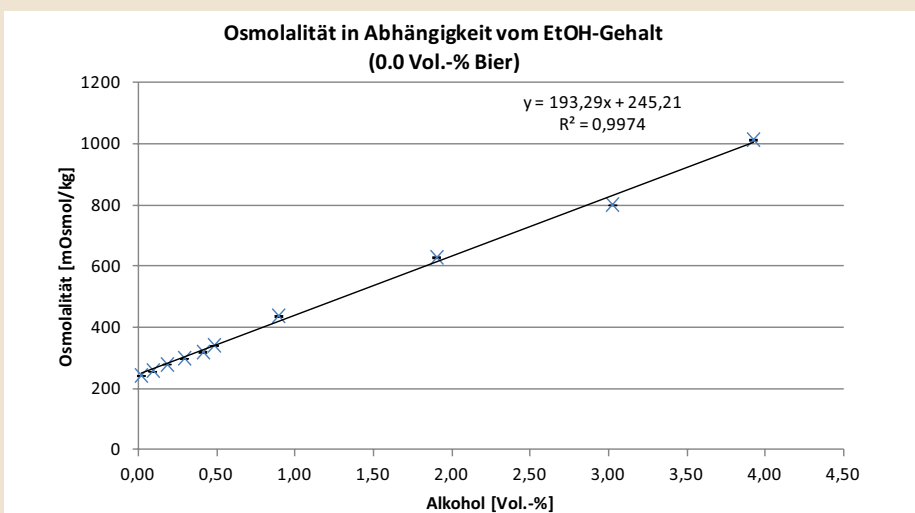


Abb. 4 Zusammenhang des Alkoholgehaltes auf die Osmolalität eines „alkoholfreien“ Bieres

EINFLUSS DES CO₂-GEHALTES EINES ALKOHOLFREIEN BIERES (0,0 VOL.-%) AUF DIE OSMOLALITÄT

Probe Nr.	Probe	Einfluss des CO ₂ -Gehaltes auf die Osmolalität									
		Osmolalität [mOsmol/kg]							CO ₂ -Gehalt [g/l]		
		1	2	3	Mittelwert	Stabw	Konfidenzintervall P=95 %	1	2	Mittelwert	
4	Methode BLQ	246,8	247,1	247,5	247,1	0,35	0,87	0,000	0,000	0,000	
7	2x Faltenfilter	253,7	254,3	254,5	254,2	0,42	1,03	0,524	0,509	0,517	
3	1x Faltenfilter	256,0	255,4	255,0	255,5	0,50	1,25	0,883	0,857	0,870	
12		262,0	261,4	261,6	261,7	0,31	0,76	1,006	1,180	1,093	
9	1x schütteln, 180 ml Bügel	269,0	268,8	268,5	268,8	0,25	0,63	1,605	1,620	1,613	
5	500 ml Messzylinder; 600 ml Becherglas; 180 ml Bügel	270,0	270,6	270,5	270,4	0,32	0,80	2,175	2,124	2,150	
10	1x Maischbecher; 180 ml Bügel	272,5	273,8	272,2	272,8	0,85	2,11	2,758	2,755	2,757	
11	2x schütteln	279,7	280,5	281,7	280,6	1,01	2,50	2,976	3,015	2,996	
2	1x in 180 ml Bügel	285,4	286,1	286,2	285,9	0,44	1,08	4,253	3,879	4,066	
1	Nullprobe	288,9	290,2	289,4	289,5	0,66	1,63	4,792	4,758	4,775	

Tab. 2

EINFLUSS DES ALKOHOLGEHALTES AUF DIE OSMOLALITÄT IN WÄSSRIGER LÖSUNG

Probe Nr.	Einfluss des Alkoholgehalts auf die Osmolalität Medium: Bidest. H ₂ O						Alkohol [vol.%] Mittelwert
	Osmolalität [mOsmol/kg]						
	1	2	3	Mittelwert	Stabw	Konfidenzintervall P=95%	
1	0	0	0	0,0	0,00	0,00	0,00
2	20,5	20,4	20,4	20,4	0,06	0,14	0,12
3	38,1	38,2	37,8	38,0	0,21	0,52	0,22
4	54,5	55,1	54,8	54,8	0,30	0,75	0,34
5	72,8	72,6	72,3	72,6	0,25	0,63	0,44
6	91,1	90,9	90,8	90,9	0,15	0,38	0,54
7	180,1	179,7	180,4	180,1	0,35	0,87	1,18
8	357,5	356,1	356,3	356,6	0,76	1,88	2,19
9	533,1	533,6	533,1	533,3	0,29	0,72	3,20
10	709,5	709,8	709,1	709,5	0,35	0,87	4,20

Tab.3

EINFLUSS DES ALKOHOLGEHALTES AUF DIE OSMOLALITÄT IN „ALKOHOLFREIEM“ BIER

Probe Nr.	Einfluss des Alkoholgehalts auf die Osmolalität Medium: untergäriges Bier mit 0,0 Vol.-% Alkohol						Alkohol Vol.-% Mittelwert
	Osmolalität [mOsmol/kg]						
	1	2	3	Mittelwert	Stabw	Konfidenzintervall P=95%	
1	242,0	242,4	242,4	242,3	0,23	0,00	0,014
2	258,3	258,4	258,0	258,2	0,21	0,52	0,09
3	278,1	278,0	278,0	278,0	0,06	0,14	0,18
4	298,9	298,3	298,4	298,5	0,32	0,80	0,29
5	318,4	318,0	319,3	318,6	0,67	1,65	0,41
6	340,6	341,3	340,4	340,8	0,47	1,17	0,48
7	438,1	437,5	436,1	437,2	1,03	2,55	0,89
8	629,8	628,0	627,3	628,4	1,29	3,20	1,9
9	801,5	800,3	800,3	800,7	0,69	1,72	3,02
10	1013,7	1013,1	1012,5	1013,1	0,60	1,49	3,92

Tab. 4

(0,0 g/l) führten. Für die Versuche wurde eine Probenmenge von 200 g gewählt. Insgesamt wurden drei Versuchsreihen durchgeführt. Jede Versuchsreihe setzte sich aus den Methoden Nullprobe, A, B, C und D zusammen (vgl. Kasten). Von jeder Versuchsreihe erfolgte jeweils eine Doppelbestimmung der Merkmale CO₂, Alkohol und Osmolalität. Das Konfidenzintervall resultiert aus den Mittelwerten der vorangegangenen Versuchsreihen.

Wie zu erwarten war, so hatte die Nullprobe – also die unbehandelte – einen durch die Kohlensäure stark beeinflussten Osmolalitätswert. Die verschiedenen Methoden entfernten vollständig die Kohlensäure und funktionieren reproduzierbar. Aber sie entfernen auch ein wenig den Alkoholgehalt. Die Methoden B bis D hatten eine mittlere Differenz von 0,03 Vol.-% zum ursprünglichen Bier. Die Methode A zeigte im Mittel eine Differenz von 0,02 Vol.-%, was im Mittel 3 mOsmol/kg ausmachte, womit sich diese Methode zum Entkohlensäuren besser eignet (vgl. Tab 5. und Abb. 5).

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der Kohlensäure und des Alkoholgehaltes in den bierrelevanten Bereichen in den Matrices Wasser und Bier untersucht. Dabei wurden weitgehend matrixunabhängige, lineare Zusammenhänge aufgezeigt. Das macht deutlich, wie wichtig es ist, die Kohlensäure zu entfernen, da sie die Messung entscheidend beeinflusst. Die eigentliche Versuchsreihe betrachtete die Methoden zum Entkohlensäuren bei der Probenvorbereitung. Dabei zeigte sich die Faltenfiltermethode (Methode A) als die Methode, welche den Alkoholgehalt der ursprünglichen Probe am geringsten beeinträchtigt.

Literatur

1. Kremer, B. P.; Bannwarth, H.: Einführung in die Laborpraxis, Springer, Berlin, Heidelberg, 2014.
2. Brouns, E.: Essentials of sports nutrition, 2. Aufl., John Wiley & Sons Chichester/ Großbritannien, 2002.
3. Brouns, E.; Kovacs, E.: Functional drinks for athletes, Trends in Food Science & Technology 8(12), 1997, S. 414-421.
4. Brouns, E.; Kovacs, E.M.R.; Senden, J.M.G.: The effect of different rehydration drinks on post-exercise electrolyte excretion in trained athletes, International Journal of Sports Medicine 19(1), 1998, S. 56-60.

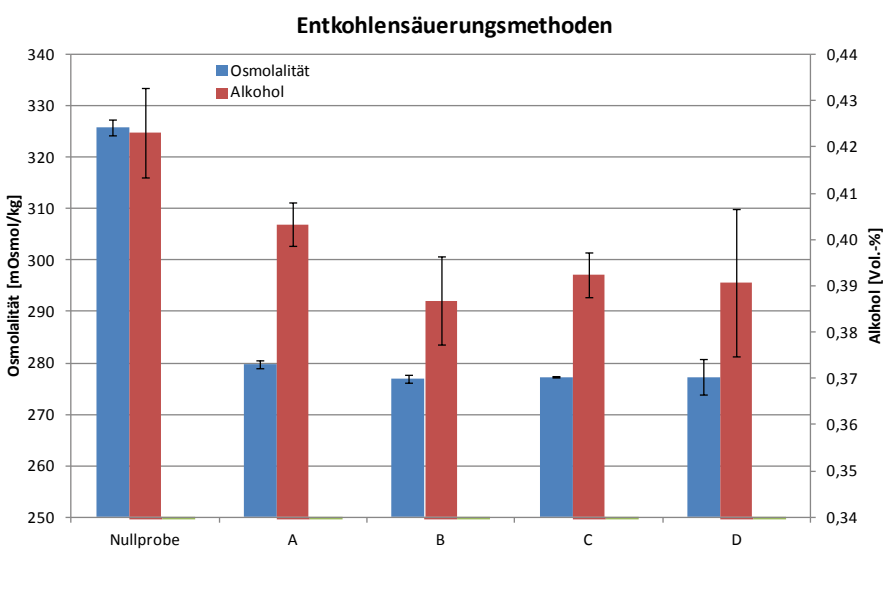


Abb. 5 Verschiedenen Methoden zum Entkohlensäuren und deren Einfluss auf den Alkoholgehalt und die Osmolalität von einem alkoholfreiem Bier mit ursprünglich 0,5 Vol.-% an Alkohol

VERSCHIEDENE METHODEN ZUM ENTKOHLensäUREN UND DEREN EINFLUSS AUF DEN ALKOHOLGEHALT UND DIE OSMOLALITÄT ...

... von einem alkoholfreien Bier mit ursprünglich 0,5 Vol.-% an Alkohol

Entkohlensäuerungsmethoden								
Merkmal	Einheit	Methode	Versuchsreihe 1	Versuchsreihe 2	Versuchsreihe 3	Mittelwert	Stabw.	Konfidenzintervall P = 95 %
Alkohol	g/l	Nullprobe	3,34	3,32	3,38	3,35	0,031	0,076
		A	3,18	3,2	3,17	3,18	0,015	0,038
		B	3,02	3,06	3,08	3,05	0,031	0,076
		C	3,08	3,1	3,11	3,10	0,015	0,038
		D	3,13	3,03	3,09	3,08	0,050	0,125
Alkohol	Vol.-%	Nullprobe	0,42	0,42	0,43	0,42	0,004	0,010
		A	0,40	0,41	0,40	0,40	0,002	0,005
		B	0,38	0,39	0,39	0,39	0,004	0,010
		C	0,39	0,39	0,39	0,39	0,002	0,005
		D	0,40	0,38	0,39	0,39	0,006	0,016
Osmolalität	mOsmol/kg	Nullprobe	326	325,1	326,3	325,80	0,624	1,551
		A	279,53	279,67	280,17	279,79	0,335	0,833
		B	277,30	276,67	276,87	276,95	0,323	0,803
		C	277,20	277,20	277,30	277,23	0,058	0,143
		D	276,20	276,80	278,86	277,29	1,395	3,466

Tab. 5

Zentrale Versuchsreihe

Nullprobe: unbehandelt

Methode A

Materialien:

- Trichter (Durchmesser oben: ca. 15 cm);
- Urglas aus Kunststoff zum Abdecken der Trichter;
- Faltenfilter; Hersteller: Whatman PLC, Little Chalfont, Großbritannien, (2555 1/2); 320 mm;
- Weithalsglas 500 ml (evtl. Gummistopfen zum Entkohlensäuern).

Probenvorbereitung:

1. Die Probe in den mit dem Filter versehenen Trichter schütten. Den Trichter während der Filtration mit Urglas abdecken, um der Verflüchtigung des Alkohols bei alkoholhaltigen Proben entgegenzuwirken.
2. Nach dem Durchlaufen der Probe die Öffnung des Weithalsglases mit einem Gummistopfen verschließen.
3. Die Probe fünfmal schütteln und das CO₂ entweichen lassen. Diesen Vorgang fünfmal wiederholen.
4. Die Schritte 1 bis 3 zweimal wiederholen.

Methode B

Materialien:

- Becherglas 1000 ml;
- Urglas aus Kunststoff.

Probenvorbereitung:

1. Flasche auf 20 °C temperieren.
2. 200 g (+/- 0,1 g) Probe in ein 1-l-Becherglas (aus Glas, gereinigt und getrocknet) einwiegen.
3. Durch 40-maliges Umschütten (5 cm Höhe) in weiteres 1-l-Becherglas entkohlensäuern. Dabei ist darauf zu achten, dass weder Bier noch Schaum verlorengeht. Über den Ausgießer lässt sich die Probe verlustfrei umschütten.

4. 15 min warten. Der Schaum fällt hierbei noch gut zusammen. Dann durch Schwenken Schaumreste an der Wand des Becherglases ablösen und homogenisieren.
5. Überführung der Probe in Vials: Aufpassen, dass kein Schaum an der Pipettenspitze hängenbleibt. Pipettenspitze nur einmal blasenfrei aufziehen und in leicht schräg gehaltenes Vial überführen. Aufpassen, dass nichts an der Wandung des Vials hängenbleibt. Bei jeder Messung neue Pipettenspitze und neues Vial verwenden.

Methode C

Materialien:

- Saugflasche 1000 ml;
- Gummistopfen;
- Vakuumpumpe.

Probenvorbereitung

1. 200 g der auf 20 °C temperierten Probe in 1-l-Saugflasche einwiegen.
2. Probe 35 min über Vakuumpumpe entgasen.

Methode D

Materialien:

- Weithalsglas 500 ml;
- Gummistopfen mit Bohrung;
- Magnetrührer;
- Magnetrührstäbchen, PTFE, 55 x 14 mm, dreieckig.

Probenvorbereitung:

1. 200 g der auf 20 °C temperierten Probe in Weithalsglas einwiegen und mit Gummistopfen verschließen.
2. Probe 80 min auf Magnetrührer bei 500 rpm entgasen.