

Zum Verbleib einiger Hopfeninhaltsstoffe beim Hopfenstopfen (Teil 1)

KALTHOPFUNG IM TEST | Das Hopfenstopfen, englisch „dry hopping“, ist eine Technologie, die wieder größere Aufmerksamkeit erfährt. Dabei werden üblicherweise Doldenhopfen, gemahlener Hopfen oder Pellets ins kalte Bier gegeben, um insbesondere Aromakomponenten ohne Verdampfung mit geringeren Verlusten ins Bier zu transferieren. Weil keine thermische Belastung und geringerer Einfluss der Hefe vorliegt, kommt es bei diesem Verfahren zu verminderten chemischen Veränderungen der Aromakomponenten [1, S. 295-301, 2, 3, 4, 5, 6].

DIE ANGABEN ZU MENGEN an Hopfeninhaltsstoffen, die durch das Hopfenstopfen ins Bier gelangen, streuen erheblich. Nach Mitter und Cocuzza [4] sind Transferraten für die Alpa-Säuren von etwa sechs Prozent relativ und für Myrcen wird unter einem Prozent angegeben. Die je nach Dosiertechnik erzielten Steigerungen des Linalools können beträchtlich sein, Transferaten sind nicht angegeben. Da insgesamt die Angaben zu Transferraten spärlich sind, wurde dieser Frage in einer orientierenden Serie nachgegangen. Auch das Verhalten einiger Hopfenaromakomponenten bei der Alterung von Bier wurde untersucht.

Die Versuche

In der Forschungsbrauerei St. Johann (2 hl) entstanden fünf Biere. Basis und Vergleich war ein hopfenbetontes helles Vollbier, das folgende Merkmale aufweist:

Autoren: Adrian Forster, Berater, HVG Hopfenverwertungsgenossenschaft e.G., Wolnzach, und Andreas Gahr, Forschungsbrauerei, Hopfenveredlung St. Johann GmbH & Co. KG, Train-St. Johann

Pellets Typ 90 der Sorten Hallertauer Tradition (HHT) und Hallertauer Mittelfrüh (HHA);

- 1. Gabe 75 g/hl HHT bei Kochbeginn;
- 2. Gabe 70 g/hl HHT bei Kochmitte;
- 3. Gabe 50 g/hl HHA bei Kochende;
- 4. Gabe 50 g/hl HHA als Vorlage in den Whirlpool;
- Kochdauer (Innenkocher) 75 Min.;
- Hefe W 34/70;
- kalte Hauptgärung ca. 1 Woche bei 9 °C;
- Reifung ca. 1 Woche bei 15 °C;
- Kaltlagerung 3 Wochen bei 0 - 1 °C.

Zum Hopfenstopfen kamen die vier kürzlich zugelassenen Hüller Neuzüchtungen Mandarina Bavaria (HMB), Hüll Melon (HHN), Hallertauer Blanc (HHC) und Polaris (HPA) mit speziellen Aromausprägungen.

ANALYSENDATEN UND DOSAGEMENGEN DER ZUM HOPFENSTOPFEN VERWENDETEN HOPFEN

Merkmal	Einheit	HMB	HHN	HHC	HPA
α-Säuren (EBC 7.7)	Gew.-%	8,7	7,0	9,8	19,5
Ges.-Polyphenole (AHA)	Gew.-%	4,4	4,3	5,6	3,8
Gesamtöl (EBC 7.10)	ml/100g	2,05	1,45	1,65	3,80
Dosage	g/hl	73	103	91	40

Tab. 1

GEHALTE VON SIEBEN NIEDERMOLEKULAREN HPLC-POLYPHENOLEN IN MG/100G IM SORTENVERGLEICH

	HHA	HMB	HHN	HHC	HPA
Procyandin B3 C/C	154	56	69	64	22
Catechin	287	51	89	76	33
Kaffeeoylchinasäure	96	68	69	59	29
Quercetinglukosid	158	87	153	178	67
Quercetinmalonylhexosid	310	132	83	164	56
Kämpferol-3-glukosid	75	42	95	107	50
Kämpferolmalonylhexosid	235	91	69	151	78

Tab. 2

gen als gemahlener Doldenhopfen zum Einsatz. Die jeweiligen Mengen wurden im Lagertank vorgelegt, der Tank mit CO₂ gespült und das Jungbier nach der Hauptgärung in den Lagertank gepumpt. Der Hopfen blieb während der Reifung und Lagerung im Tank und wurde durch Abschießen zusammen mit der Hefe am Vortag der Filtration abgetrennt.

■ Die Hopfenanalysen

Tabelle 1 gibt allgemeine Analysendaten der fünf Hopfen und die Dosagemengen wieder. Sie errechnen sich aus dem Ölgehalt der Hopfen und einer gewünschten Dosage von 1,5 ml Hopfenöl pro hl.

In Tabelle 2 sind sieben ausgewählte niedermolekulare HPLC-Polyphenole mit ihren Gehalten in mg/100 g aufgeführt und einem typischen Hallertauer Mittelfrühen gegenübergestellt. Die Mengen schwanken sortenbedingt in einem größeren Bereich, als man es z. B. aus anderen Darstellungen kennt [7].

Die Aromastoffe der Hopfen wurden mittels GC-FID quantitativ erfasst. Zehn in-

GEHALTE VON ZEHN AUSGEWÄHLTEN AROMAKOMPONENTEN IN MG/100G IM SORTENVERGLEICH

	HHA	HMB	HHN	HHC	HPA
Myrcen	173	833	771	914	2248
Ocimen	1	9	14	5	107
Humulen	273	143	25	145	739
α- und β-Selinen	10	113	193	218	27
Isobutylisobutytrat	1	12	14	6	28
Isoamylpropanoat	1	5	5	10	28
3-Methylbutyl-2-methylpropanoat	1	4	8	6	19
2-Methylbutyl-2-methylpropanoat	4	30	48	26	89
Linalool	6	6	4	7	9
Geraniol	1	14	8	2	4

Tab. 3

teressant erscheinende Einzelsubstanzen sind in Tabelle 3 aufgelistet. Die geringste Spannweite weist Linalool auf, die höchste Ocimen. Die neuen Sorten warten mit einigen Spezifika auf. So sind zum Beispiel der Ocimen-Gehalt bei Polaris außergewöhnlich hoch, der Alpha-Humulen-Gehalt bei Hüll Melon extrem niedrig: Hüll Melon und

Hallertau Blanc weisen ungewöhnlich hohe Werte an Alpha- und Beta-Selinen auf, während der Selina-(4,7)-(3,7)-dien-Wert nur bei Hüll Melon sehr hoch war. Alle vier Hopfen, besonders aber Polaris, enthalten ungewöhnlich hohe Estergehalte. Geraniol ist stark bei Mandarina Bavaria und Hüll Melon vertreten.

ALLGEMEINE ANALYSENDATEN DER FÜNF BIERE

	Einheit	Kont- rolle	HMB	HHN	HHC	HPA
Stammwürze	Gew.-%	11,58	11,61	11,43	11,77	11,84
pH		4,47	4,46	4,45	4,51	4,56
Bittere (EBC 9.8)	IBU	26	27	29	28	27
Iso- α -Säuren (EBC 9.47)	mg/l	22,8	21,6	21,8	21,5	20,5
α -Säuren (nach EBC 9.47)	mg/l	2,8	5,8	5,7	6,4	6,6
Gesamtpolyphenole (EBC 9.11)	mg/l	201	221	219	227	215

Tab. 4

GEHALTE AUSGEWÄHLTER NIEDERMOLEKULARER HPLC-POLYPHENOLE [MG/L] IN DEN FÜNF BIERN

	Kontrolle	HMB	HHN	HHC	HPA
Procyanidin B3 C/C	1,1	1,4	1,7	1,7	1,3
Catechin	6,4	6,9	7,3	7,0	6,7
Kaffeoylchinasäure	1,2	1,8	1,9	1,7	1,4
Quercetinglukosid	2,4	3,1	3,9	3,7	2,7
Quercetinmalonylhexosid	1,2	1,8	1,8	2,0	1,3
Kämpferol-3-glukosid	1,2	1,6	2,2	2,0	1,4
Kämpferolmalonylhexosid	0,8	1,3	1,4	1,6	1,0

Tab. 5

Auffällig ist, dass ausgerechnet das als Leitsubstanz für ein Hopfenaroma in Bier benutzte Linalool sich am wenigsten sorten- und sorten-geprägt erweist [8]. Das ist ein klarer

Hinweis darauf, dass es innerhalb der vier neuen Sorten und als Abgrenzung zu etablierten Sorten als Kenngröße zur Dosage weniger geeignet erscheint.

Die Bieranalysen

Die Analysen der fünf Biere wurden gesammelt; die des Kontrollbieres, das bereits als aufwändig gehopft gelten kann, und die Analysen der vier hopfengestopften Biere. Die Tabelle 4 gibt allgemeine Resultate wieder.

Die Abweichungen der Stammwürzen, Alkoholgehalte, pH-Werte und Iso-Alpha-Säuren belegen eine gute Reproduzierbarkeit der fünf Sude. Eine Erhöhung des pH-Wertes durch das Hopfenstopfen kann nicht abgeleitet werden. Die Bittereinheiten steigen gegenüber dem Kontrollbier moderat an. Deutlich höher liegen die Alpha-Säuren mit einem Plus von durchschnittlich drei mg/l. Auffällig ist der Anstieg der Gesamtpolyphenole. Einige niedermolekulare HPLC-Polyphenole sind in Tabelle 5 für die fünf Biere zusammengestellt. Ein Anstieg gegenüber dem Kontrollbier ist unschwer zu erkennen.

Schließlich sind in Tabelle 6 noch die Messwerte von neun Aromakomponenten in den fünf Bieren wiedergegeben, wobei eine Head-Space-SPME-GC-MS zum Einsatz kam [9]. Entsprechende – teilweise bedeutende – Zunahmen in den hopfengestopften Bieren fallen sofort ins Auge. Dass der Schwellenwert von Linalool bereits im Kontrollbier deutlich überschritten wurde, war zu erwarten. Im Fall von Geraniol ist das nur bei der Kalthopfung gelungen. Aber auch Myrcen und einige Ester haben mit Sicherheit den Schwellenwert überschritten.

Transferraten durch das Hopfenstopfen

Über den Gehalt einer Komponente im Hopfen und dessen Gabe lässt sich die Dosage einer Substanz in mg/l oder μ g/l errechnen. Vom Analysenwert dieser Substanz in den hopfengestopften Bieren wird der des Kontrollbieres abgezogen und so die Mehrmenge errechnet. Die Mehrmenge bezieht man auf die Dosage und erhält so die Transferrate in Alpha-Säuren relativ. Abbildung 1 zeigt die relativen Ausbeuten der Alpha-Säuren mit der Fehlerbreite.

Bei der vorliegenden Versuchsanstellung resultieren gleichartige Transferraten der Alpha-Säuren von vier bis fünf Prozent relativ, was etwa drei bis vier mg/l, also mehr als dem Doppelten im Vergleich zum ungestopften Kontrollbier, entspricht. Unisomerisierten Alpha-Säuren im Bier wird eine positive Schaumwirkung und auch

über die Chelatierung von Eisen eine mögliche Verbesserung der Geschmacksstabilität zugeschrieben [1, S. 249 und 257-259]. In Abbildung 2 sind die Transferraten der Gesamtpolyphenole und HPLC-Polyphenole mit den Schwankungsbreiten dargestellt, in Abbildung 3 die einiger Einzelsubstanzen. Eindeutige Sortenunterschiede lassen sich nicht ableiten.

Festgehalten werden kann jedoch Folgendes: Erstens, die Ausbeute an Gesamtpolyphenolen liegt trotz niedrigem pH und tiefer Temperatur der Biere bei etwa 50-60 Prozent. Zweitens, niedermolekulare Polyphenole weisen eine geringfügig höhere Ausbeute auf. Drittens, die Transferraten von Procyanidin B3, Catechin, Kaffeylchinasäure und den beiden Glukosiden liegen um 100 Prozent, deutlich darunter dagegen Quercetin- und Kaempferolmalonylhexosid.

Polyphenolen wird eine Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres zugeschrieben, nicht oxidierte Polyphenole beeinflussen die Vollmundigkeit (Mundgefühl) von Bieren positiv. Proanthocyanidine vermögen als Komplexe mit mittel- und hö-

ANALYSENERGEBNISSE DER NEUN INTERESSANTESTEN HOPFENAROMAKOMPONENTEN [$\mu\text{G/L}$] ...

... in den fünf Bieren

	Kontrolle	HMB	HHN	HHC	HPA
Linalool	38	87	79	103	76
Geraniol	4	54	44	36	42
Myrcen	2,7	10,6	9,3	26,3	21,0
Ocimen	0,4	2,3	2,0	4,7	4,7
Humulen	4,0	4,2	4,5	5,6	8,4
Isoamylpropanoat	3,0	25,5	43,5	751	89,4
3-Methylbutyl-2-methylpropanoat	1,7	25,5	67,5	42,8	76,4
2-Methylbutyl-2-methylpropanoat	20	338	706	371	596
Isobutylisobutyrat	2,2	63,2	86,5	23,8	60,6

Tab. 6

hermolekularen Proteinen die Trübungsneigung eines Bieres zu erhöhen [1, S. 290-291].

Die Ausbeuten der bekannten Terpen-Kohlenwasserstoffe Myrcen (ca. 0,2 %), Beta-Caryophyllen (unter 1 %) und Humulen (eher unter 1 %) sind sehr gering. Für vier

Aromasubstanzen sind die prozentualen Transferraten in den Abbildungen 4 und 5 gezeigt.

Einige Erkenntnisse lassen sich aus den Grafiken ableiten: Die Linaloolausbeute liegt bei etwa 100 Prozent. Inwieweit darin glykosidisch gebundenes und von der ver-

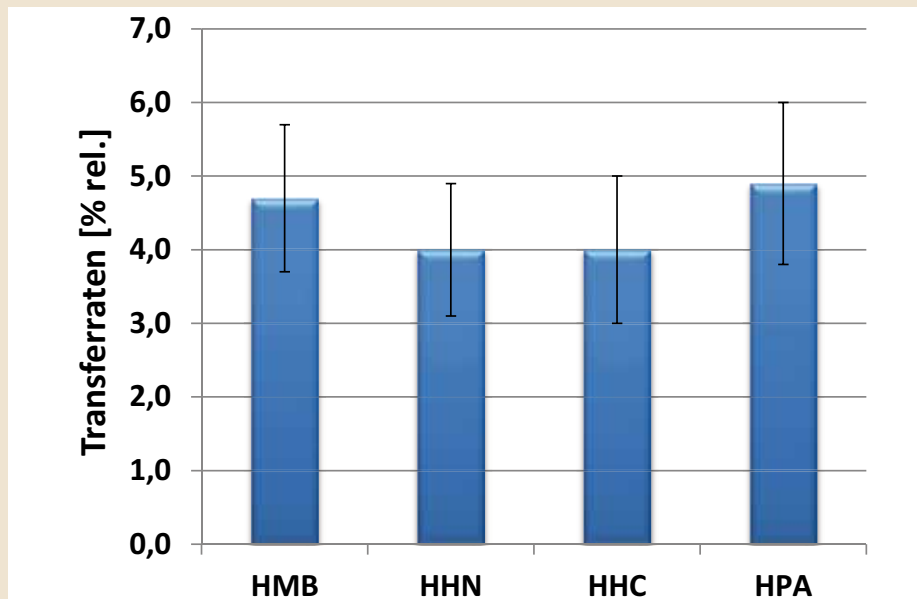


Abb. 1 Transferraten der Alpha-Säuren durch das Hopfenstopfen

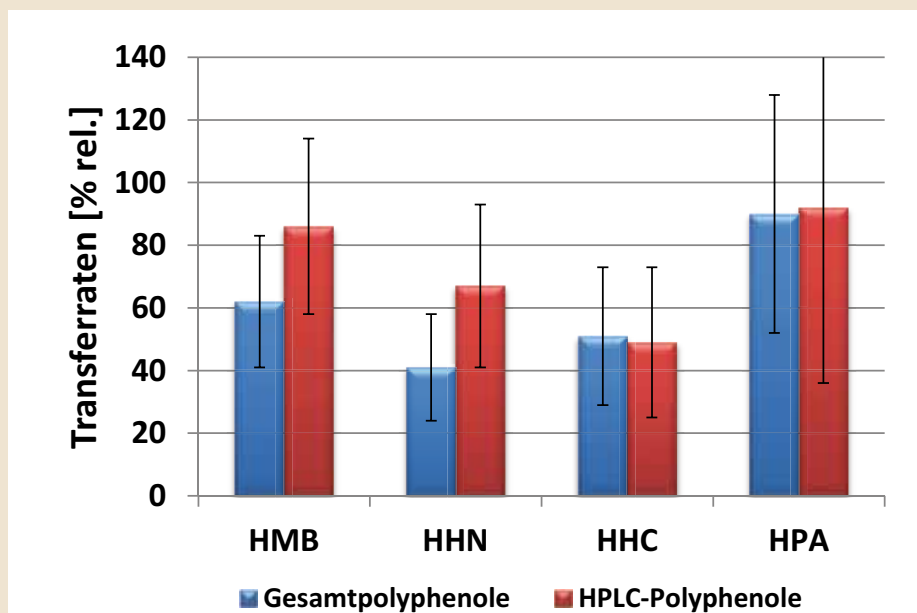


Abb. 2 Transferraten der Gesamt- und niedermolekularen HPLC-Polyphenole

wendeten Hefe freigesetztes Linalool enthalten ist, kann aus diesen Versuchen nicht abgeleitet werden.

Unklarheit herrscht beim Geraniol: Zwei Sorten zeigen eine Transferrate um 50 Prozent, zwei dagegen deutlich über 100 Prozent. Dieses Phänomen sollte man im Auge behalten, da es Hinweise gibt, dass durch enzymatische Hefeaktivitäten Vorläufer von Geraniol zu unterschiedlichen Gehalten führen [10]. Denkbar ist zusätzlich, dass glykosidisch gebundene Terpenalkohole je nach Hopfensorte in unterschiedlichen Mengen vorliegen und durch Hefeenzyme gespalten werden, womit eine sortengeprägte Quelle an z. B. Geraniol oder Linalool

zur Verfügung stehen könnte [11]. Kein klares Bild liefern auch 3- und 2-Methylbutyl-2-methylpropanoat. Eine Zunahme – gegebenenfalls sogar sortengeprägt – kann nicht ausgeschlossen werden.

Die Schwierigkeit bei einer kritischen Betrachtung der Transferraten liegt darin, dass Umwandlungen in einem Medium mit intakten Hefeenzymen mannigfaltig sein können. Reichlich vorhandene Methylester des Hopfens können zu Ethylestern werden. Terpenalkohole wie z. B. Linalool, Geraniol, Nerol, Citronellol oder Alpha-Terpineol wandeln sich wechselseitig ineinander um. Ester dieser Terpenalkohole können gespalten werden. Alle diese Vorgänge hängen

von vielen Parametern ab, wie z. B. Hefestamm, Hefezellzahl, Temperatur des Bieres und Kontaktzeit. Immerhin könnten Unterschiede im enzymatischen Potenzial verschiedener Hefen (z. B. unter- oder obergärige, Ale-Hefen) auch ein Grund dafür sein, dass das Aroma von Hopfensorten beim Stopfen in Bieren unterschiedlich wahrgenommen wird. Ein Vergleich mit einem gleichartigen, aber hefefreien und enzymatisch inaktivierten Bier wäre sinnvoll.

Alterung der Biere

Die vier hopfengestopften und das Vergleichsbier wurden 100 Tage bei Raumtemperatur (20 °C +/- 1 °C) im Dunkeln gelagert und anschließend auf einige Hopfenaromastoffe untersucht. Ein Überblick lässt den Schluss zu, dass im Abbauverhalten der fünf Biere keine gravierenden Unterschiede bestehen, daher erfolgte eine durchschnittliche Berechnung der zehn Substanzen vor und nach der Alterung.

Tabelle 7 zeigt die über die fünf Biere gemittelten Gehalte der zehn Komponenten im frischen und gealterten Bier. Die Terpenalkohole Linalool und besonders Geraniol steigen während der Lagerung insgesamt um 46,8 µg/l. Dem steht eine Abnahme von Nerol und Citronellol in Höhe von 31,4 µg/l gegenüber. Die Umwandlungen zwischen diesen Substanzen werden von *Takoi* [10] beschrieben, allerdings eher in die umgekehrte Richtung. Der Verlust der Terpene Myrcen, β-Caryophyllen, Humulen und Ocimen kann mit einer Adsorption an der Dichtungsmasse von Kronkorken erklärt werden [12]. Die Abnahme der Ester liegt im Durchschnitt deutlich über 50 Prozent. Es darf angenommen werden, dass auch ein filtriertes Bier noch über Hefeenzyme verfügt, solange keine Inaktivierung durch Hitze stattgefunden hat. So sind Umesterungen in Ethylester denkbar. Auch nicht enzymatisch angeregte, rein chemische Umwandlungen sind möglich. Dass mit derartig intensiven Messwertänderungen auch sensorische Eindrücke einem Wechsel unterworfen sind, liegt auf der Hand. Das betrifft sowohl die Intensität als auch die Art und/oder die Qualität des Hopfenaromas. Auf diesem Sektor besteht jedenfalls noch intensiver Forschungsbedarf.

Zusammenfassung

Das Hopfenstopfen (Dry Hopping) erfreut sich besonders in kleineren Brauereien zunehmender Beliebtheit, da es eine zwar

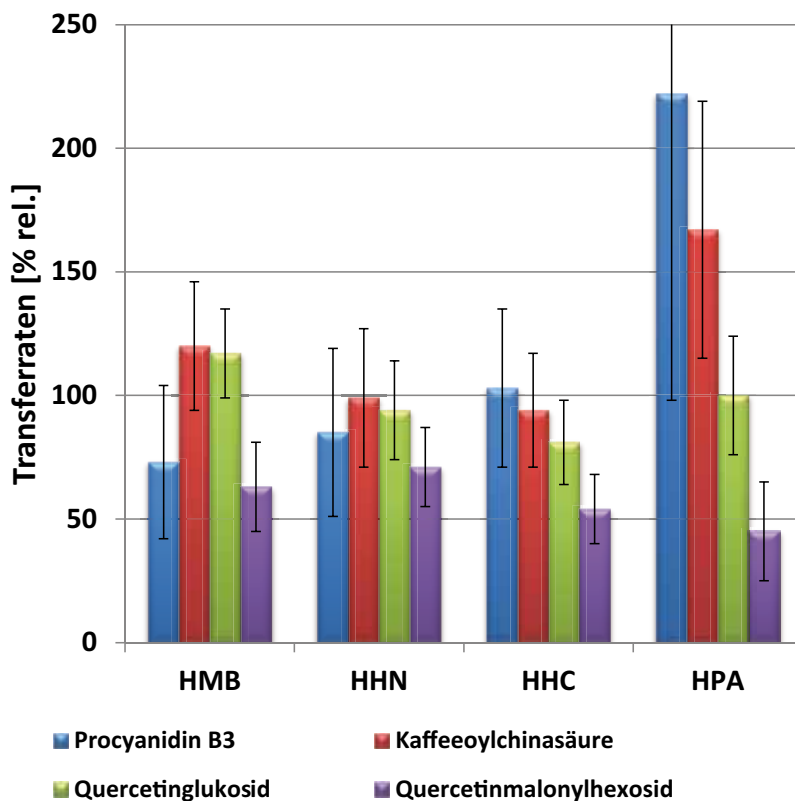


Abb. 3 Transferraten von 4 Einzelkomponenten der Polyphenole

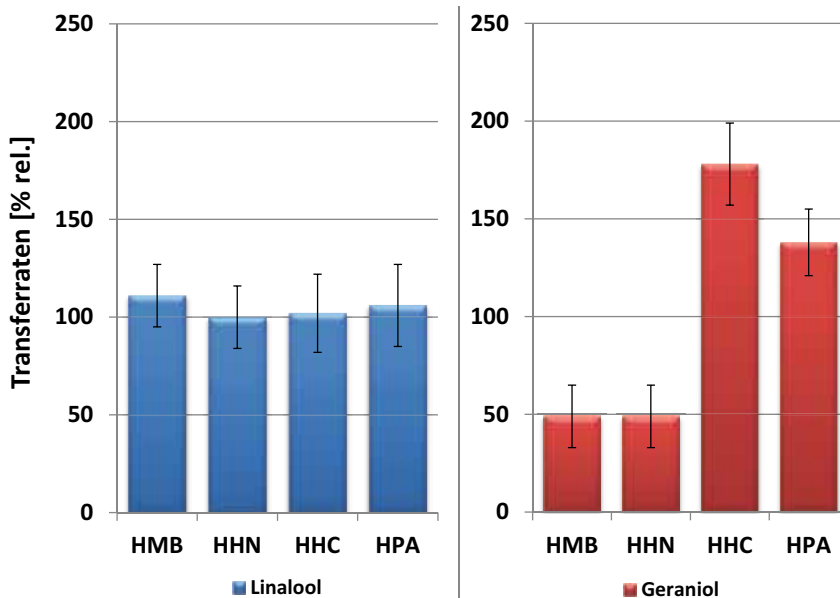


Abb. 4 Transferraten von zwei Terpenalkoholen durch das Hopfenstopfen

aufwändige, aber dadurch gerade für Craft-Brewers höchst effiziente Methode ist, sich von der breiten Masse der Biere abzuheben. Dabei dominieren empirische Erfahrungen bei der Wahl der Hopfensorten und Einsatz-techniken. Noch wenig bekannt ist über die Transferraten der Hopfeninhaltsstoffe beim Hopfenstopfen, das sich zudem durch eine

breite Variabilität in der Applikation auszeichnet.

In einer Versuchsanstellung wurden vier hopfengestopfte helle Lagerbiere einem Vergleichsbier gegenübergestellt, wobei die neuen deutschen Sorten Mandarina Bavaria, Hüll Melon, Hallertauer Blanc und Polaris bei der Kalthopfung zum Einsatz

kamen. Die dosierte Menge orientierte sich am Hopfenölgehalt und betrug 1,5 ml/hl. Die Transferraten errechnen sich aus der Differenz von Analysenwerten der gestopften Biere und des Vergleichsbieres bezogen auf die beim Dry Hopping dosierten Mengen. Durch die Berechnung aus drei Analysenwerten resultieren zwangsläufig relativ große Schwankungsbreiten.

Von den dosierten Alpha-Säuren fanden sich vier bis fünf Prozent im Bier, von den Gesamtpolyphenolen 50 bis 60 Prozent und von den niedermolekularen Polyphenolen 60 bis 70 Prozent. Die Transferraten einzelner Polyphenole zeigen systematische Unterschiede, eine Sortenabhängigkeit war nicht erkennbar. Auch die untersuchten Aromakomponenten verhalten sich uneinheitlich. Terpenkohlenwasserstoffe weisen geringe Ausbeuten bis etwa drei Prozent auf, Linalool geht nahezu quantitativ über. Geraniol verhält sich sortenspezifisch mit zweimal ca. 50 Prozent und zweimal deutlich über 100 Prozent Ausbeute. Auch bei 2- und 3-Methylbutyl-2-methylpropanoat zeigt sich ein sortenspezifisches Phänomen. Chemische Umwandlungen mit und ohne Hefeenzyme dürften die Ursache sein. Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, wie viel Arbeit noch ansteht.

Die beobachteten Abnahmen und Umwandlungen von Hopfenaromasubstanzen während der Bieralterung sind ein Hinweis darauf, dass Intensität und Art des Hopfenaromas Veränderungen unterworfen sind.

Die fünf Biere wurden durch ein 30-köpfiges Konsumentenpanel verkostet. Darüber wird in einem zweiten Teil berichtet. Die wissenschaftlichen Ausführungen zum Thema mit deutlich mehr Zahlenmaterial sind in der Fachzeitschrift *BrewingScience – Monatsschrift für Brauwissenschaft*, July/August 2013, Vol. 66, S. 93-103, publiziert worden.

Literatur

1. Biendl M.; Engelhard, B.; Forster, A.; Gahr, A.; Lutz, A.; Mitter, W.; Schmidt, R.; Schönberger, C.: „Hopfen – Vom Anbau bis zum Bier“, Fachverlag Hans Carl, 2012.
2. Hieronymus, S.: „For the love of hops; The practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops“, Brewers Publications, Boulder, Colorado, 2012, S. 205-224.
3. Schönberger, C.; Gahr, A.; Wiesen, E.: „Hopfenstopfen – gut gestopft ist halb

- gewonnen“, BRAUWELT 152, Nr. 9-10, 2012, S. 251-254.
4. Mitter, W.; Cocuzza, S.: „Die Kalthopfung – Untersuchung verschiedener Parameter“, Brauindustrie, 97, 2011, S. 74-78.
 5. Gahr, A.: „Hopfenstopfen – Dry hopping“, Vortrag beim 2. Deutschen Hopfentag, Wernesgrün, 2012.
 6. Derdelinckx, G.; Daenen, L.; Rock, J.-M.; Pypaert, A.-F.; Shellhammer, T.; Delvigne F.: „80 years of industrial dry hopping knowledge“, oral presentation at EBC Hop Symposium, Wolnzach, 2010.
 7. Forster, A.; Gahr, A.: „Hopping of Low Alcohol Beers“, BrewingScience, Vol. 65, 2012, S. 72-82.
 8. Kaltner, D.; Steinhaus, M.; Mitter, W.; Biendl, M.; Schieberle, R.: „(R)-Linalool as key factor for hop aroma in beer and its behaviour during beer staling“, BrewingScience, Vol. 56, 2003, S. 192-196.
 9. Van Opstaele, F.; De Causmacker, B.; Aerts, G.; De Cooman, L.: „Characterisation of Novel Varietal Floral Hop Aromas by Headspace Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography – Mass Spectrometry/Olfactometry“, J. Agric. Food Chem., 60, 2012, S. 12270-12281.
 10. Takoi, K.: „Biotransformation of monoterpene alcohols by lager yeast and their contribution to the citrus flavor of beer“, paper 40 at ASBC Annual Meeting, Sanibel, Florida, 2011.
 11. Kollmannsberger, H.; Biendl, M.; Nitz, S.: „Occurrence of glycosidically bound flavour compounds in hops, hop products and beer“, BrewingScience, Vol. 59, 2006, S. 83-89.
 12. Peacock, V.; Deinzer, M.: „Fate of Hop Oil Components in Beer“, J. of Am. Soc. Brew. Chem., 46, 1988, S. 104-107.

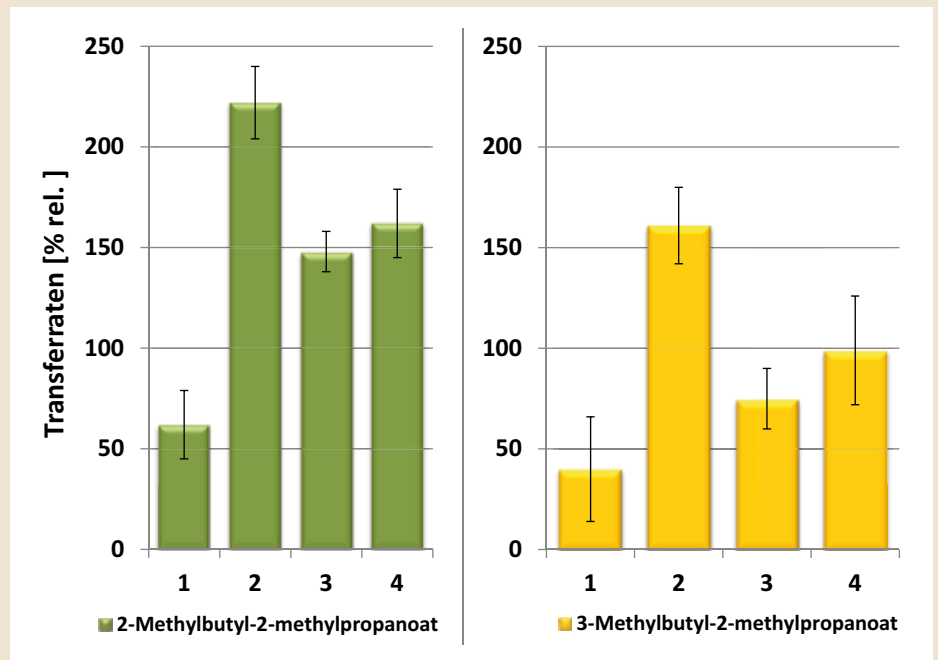


Abb. 5 Transferraten zweier Ester durch das Hopfenstopfen

HOPFENAROMASTOFFE IN FRISCHEN UND GEALTERTEN BIEREN (100 TAGE/20 °C); DURCHSCHNITT DER FÜNF BIERE IN µG/L UND VERÄNDERUNG IN % REL.

	frisch (µg/l)	gealtert (µg/l)	Veränderung (% rel.)
Linalool	76,6	92,4	+21
Geraniol	36,0	69,0	+92
Nerol + Citronellol	40,0	8,6	-78
Myrcen	14,0	3,4	-76
Humulen	5,3	2,9	-45
Ocimen	2,8	0,8	-71
Isoamylpropanoat	47,3	15,9	-66
3-Methylbutyl-2-methylpropanoat	42,8	17,7	-59
2-Methylbutyl-2-methylpropanoat	406,2	117,4	-71
Isobutylisobutytrat	42,3	34,1	-19

Tab. 7