

Verhalten von Linalool bei der Bieralterung

HOPFENAROMA | Schon immer hat es hopfenaromatische Biere gegeben. Als Indikatorsubstanz für den sensorischen Eindruck wird häufig das Linalool genannt [1-4]. Die Wiederentdeckung des Hopfenstopfens hat zu vielen hopfenbetonten, vollmundigen Bieren auf dem Markt geführt – doch wie sieht es mit der Stabilität des Hopfenaromas aus? Dazu liegen widersprüchliche Angaben in der Literatur vor. Dieser Beitrag analysiert das Verhalten von Linalool in unterschiedlichen Bieren über viele Probenahmen während einer Alterung bei 20 und 30 °C. Auf die sensorische Bewertung wurde zunächst verzichtet.

DIE RASANTE Entwicklung der Craft Brewing-Szene hat mit der Wiederentdeckung des Hopfenstopfens dazu geführt, dass eine Vielzahl hopfenaromatischer Biere auf dem Markt sind, besonders Pale Ales und India Pale Ales. Die Geschmacksstabilität derartiger vollmundiger, oft alkoholreicher und hopfenbetonter Biere ist meist besser als die von schwächer gehopften hellen Lagerbieren. Im Laufe der Bieralterung unterliegen die vom Hopfen stammenden sensorischen Eindrücke allerdings Veränderungen, was Fragen nach der Stabilität des Hopfenaromas im Bier aufwirft.

Die hier durchgeführten Untersuchungen beschränken sich auf das Verhalten von Linalool als Schlüsselaromastoff bei der Alterung von Bier. Linaloolgehalte in Hopfen liegen je nach Sorte üblicherweise in einem Bereich von 4 bis 12 mg/100 g [1]. Je nach

Kochsystem schwanken die Transferraten von Linalool bei einer späten Hopfengabe in die Würzpfanne und/oder in den Whirlpool von etwa 20 bis 60 Prozent relativ im abgefüllten Bier [1-4]. Das Hopfenstopfen bewirkt je nach Technik Transferraten von 40 bis nahe 100 Prozent [5, 6]. Somit sind bei einer späten Hopfung etwa 20 bis 100 µg/l Linalool im Bier zu erwarten, in hopfengestopften Bieren sogar über 500 µg/l, wie Beispiele zeigen [7].

Linalool besteht aus zwei Enantiomeren, der R- und der S-Form. Die sensorische Intensität des R-Linalools ist bei einem ungefähren Schwellenwert von 10 bis 20 µg/l Bier erheblich höher als die des S-Linalools mit etwa 200 µg/l. *Fritsch et al.* geben für R-Linalool 2,2 und für die S-Form 170 µg/l als Geruchsschwellen an [8]. In frischen Hopfen beträgt der Anteil des R-Linalools etwa 90 Prozent, was analog auch für die daraus hergestellten Biere gilt. Gealterter Hopfen zeigt steigende S- und sinkende R-Anteile, woraus im Bier niedrigere R-Linaloolwerte und eine geringere sensorische Intensität resultieren [1, 2].

Zum Verhalten von Linalool bei der Bieralterung liegen widersprüchliche Angaben in der Literatur vor. So berichten *Tressl et al.* [9] von einem Totalverlust (96 %) bei einer moderaten Bieralterung von acht Monaten bei 4 °C. Demgegenüber stellten *Peacock et al.* [10] eine Abnahme des Linalools von elf Prozent nach einer Bierlagerung von 57 Tagen bei 20 °C fest. *Kaltner et al.* [11] wiederum konnten keine Linaloolverluste nach einer einjährigen Alterung von Bieren bei 20 °C konstatieren.

VERSUCHSSERIEN MIT ANZAHL DER JEWEILIGEN BIERE, LAGERTEMPERATUREN UND -TAGE ...

... sowie der Anzahl der Messungen

Serie	Biere	Temperaturen [°C]	Lagerdauer [Tage]	Anzahl Messungen
1	5	20	700	5
2	16	20	420	16
3	6	20	79, 140	12
4	4	20	28, 56, 84, 112	16
		30	21, 42, 63, 84, 105	20
5	3	20	28, 105, 112	9
		30	21, 42, 63, 84, 105	15
6	4	20	56, 84	8
Summe	38			101

Tab. 1

Autoren: Dr. Adrian Forster, Hopfenverwertungsgenossenschaft e.G., Wolnzach; Andreas Gahr, Hopfenveredlung St. Johann, Forschungsbrauerei, St. Johann; Roland Schmidt, Alois Faltermeier, NATECO₂ GmbH, Wolnzach

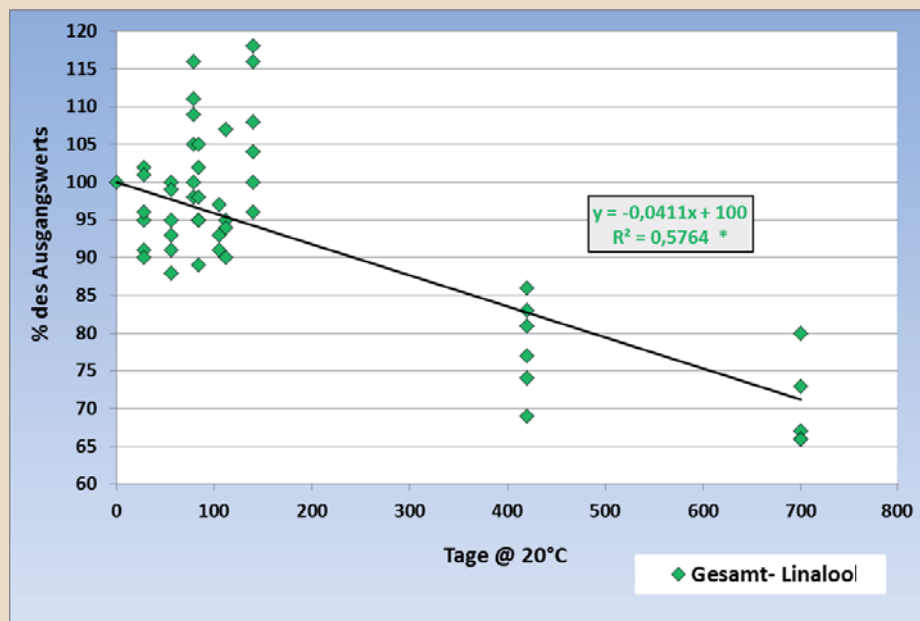


Abb. 1 Verlauf der gemittelten Messwertänderungen von 6 Serien nach einer Lagerung bei 20°C über 700 Tage; Werte in % rel. vom Ausgangswert

Die Alterung bewirkte lediglich eine moderate Verschiebung von R- zu S-Linalool; der R-Anteil sank von 72 auf 64 Prozent.

Qian [12] berichtete jüngst von Umwandlungen des Linalools während der Bieralterung. Neben einer Racemisierung von R- zu S-Linalool beobachtete er eine Umwandlung zu S- und R-Alpha-Terpineol sowie zu Nerol.

Die hier präsentierten Untersuchungen zeigen das Alterungsverhalten von Linalool in unterschiedlichen Bieren und einer Vielzahl von Probenahmen während einer Alterung bei 20 und 30 °C. R- und S-Linalool werden dabei gaschromatographisch getrennt. Auf die sensorische Bewertung wurde zunächst verzichtet, der Fokus lag auf der analytischen Betrachtung. Die Ergebnisse sind detailliert in [13] veröffentlicht.

38 Biere Versuchsbiere genau definiert

Für die Versuchsbiere wurden folgende Hopfensorten verwendet:

- HA = Hallertauer mittelfrüh;
- SR = Saphir;
- HT = Hallertauer Tradition;
- TU = Taurus;
- SP = Spalter aus Spalt;
- HE = Hersbrucker;
- MB = Mandarina Bavaria;
- HC = Hallertauer Blanc;
- HN = Hüll Melon;
- PA = Polaris;

■ CA = Cascade aus Hallertau und Yakima. Die Hopfen stammten aus der Hallertau, soweit keine anderen Angaben erfolgen.

Alle untersuchten Biere entstammten Versuchen, die auch für andere Zwecke in der 2-hl-Forschungsbrauerei der Hopfenveredelung St. Johann hergestellt wurden. Es handelte sich bis auf drei Ausnahmen um untergärige, mit unterschiedlichen Sorten und Mengen gehopfte Lagerbiere. Für alle galten folgende Merkmale:

- 90 Prozent Pilsner Malz, 10 Prozent Carahell®;
- Infusionsverfahren;
- Innenkocher mit 70 min. Kochzeit;
- Hopfung bei Kochbeginn (KB), Kochmitte (KM); die späte Hopfung geteilt in 50 Prozent bei Kochende (KE) und 50 Prozent in den Whirlpool (WP);
- Hauptgärung mit W 34/70 bei 8 °C, ca. 1 Woche;

- Reifung bei 14 °C, 1 Woche;
- Lagerung bei 0 °C, 2 Wochen;
- Kieselgur- und Membranfiltration;
- Abfüllung in Flaschen mit 2-facher Vor-evakuierung unter Verwendung von Scavenger-Kronkorken.

Das Hopfenstopfen wurde über die Vorlage von Pellets im Lagertank beim Tankwechsel nach der Hauptgärung realisiert. Daraus leitet sich eine Kontaktzeit von einer Woche bei 14 °C und zwei Wochen bei 0 °C ab. Es wurden verschiedene Versuchsserien durchgeführt:

- Serie 1 gemäß [6]: spät gehopftes Vergleichsbier (HT, HA) zusätzlich mit den Sorten MB, HN, HC und PA hopfengestopft (5 Biere);
- Serie 2: Vergleich von jeweils spät (KE und WP) und zusätzlich mit HC, MB, HN, PA, HA, SR sowie CA aus USA und der Hallertau hopfengestopften Bieren (8 spät und 8 zusätzlich hopfengestopfte Biere = 16 Biere);
- Serie 3: Biere ohne Hopfung bei KB; Hopfung bei KM + KE mit HT und MB, nur bei KE mit HT und SR und nur gestopft mit TU und HC (6 Biere);
- Serie 4: Vergleich zweier Sorten spät gehopft und zusätzlich hopfengestopft; PA und Hüller Zuchtstamm 89/002/025 (4 Biere);
- Serie 5: Bier mit Ölzusätzen aus TU; Gabe nur bei KE sowie KE + gestopft (3 Biere);
- Serie 6: Genussbiere gemäß [7], alle spät gehopft und hopfengestopft:
- leichtes Ale: spät gehopft mit SR und HA; gestopft mit CA, PA, HC;
- IPA: spät gehopft mit SR; gestopft mit HC, PA;
- leichtes Weizen: spät gehopft mit SR, MB; hopfengestopft mit MB;
- untergäriges Festbier, spät gehopft mit HA, HE, SR, SP; gestopft mit HC, PA, MB, HN.

R- UND S-LINALOOLWERTE IN DEN FRISCHEN BIEREN DER EINZELNEN SERIEN ...

... in ihren Schwankungsbreiten (Werte in µg/l); R-Anteil in % rel.

Serie	R-Linalool	S-Linalool	R-Anteil
1	45–123	4–9	92–94
2	44–112	4–13	90–92
3	50–666	5–35	91–95
4	36–342	6–20	86–94
5	66–254	5–16	93–94
6	119–264	10–21	92–93

Tab. 2

VERGLEICH DER REAKTIONSINTENSITÄT BEI EINER LAGERUNG BEI 20 UND 30 °C; ...

... Berechnung der relativen Veränderungen auf 100 Tage Lagerzeit

	20 °C	30 °C	Faktor
S-Linalool	45	180	4
R-Linalool	-8	-25	3,1
R-Anteil	-4,5	-15,6	3,5

Tab.3

Tabelle 1 gibt die Temperaturen und die Lagertage bis zu einer Probenahme bei den jeweiligen Serien wieder. Bei zwei Temperaturen und 38 Bieren resultieren so 101 Probenahmen mit Messwerten für R- und S-Linalool nach den entsprechenden Lagerzeiten. Hinzu kommen die 38 Ausgangsdaten.

Analytik von R- und S-Linalool

Die Aromastoffe aus Würze und Bier werden über Festphasenextraktion angereichert und anschließend über GC aufgetrennt. Dabei erfolgt die chirale Trennung des Linalools. Mittels FID werden die R- und S-Enantiomere des Linalools detektiert und quantifiziert, wobei die Stabilität der Kalibrierung auch über längere Zeiträume gewährleistet ist [13].

Da die Biere allesamt kräftig gehopft waren, bewegten sich die absoluten Gehalte in einem vergleichsweise hohen Bereich, was zu verlässlichen Daten führte. Die Standardabweichungen bei dreifach Bestimmungen lagen für R-Linalool bei $\pm 2 \mu\text{g/l}$ und bei S-Linalool bei $\pm 1 \mu\text{g/l}$.

Der Datenauswertung liegt folgende Berechnung zugrunde:

Veränderung in % rel. = $\frac{\text{Messwert nach der Lagerung}}{\text{Messwert vor der Lagerung}} \times 100\%$

Dabei kann es sich um Zu- oder Abnahmen handeln. Die Variationskoeffizienten der relativen Messwertänderungen schwanken beim R-Linalool von ± 3 bis ± 5 Prozent, beim S-Linalool aufgrund der niedrigeren Absolutwerte von ± 4 bis ± 8 Prozent. Zusätzlich zu den Messwertänderungen lässt sich der Anteil des R-Linalools wie folgt berechnen:

R-Anteil in % rel. = $\frac{\text{R-Linalool} \times 100\%}{\text{Gesamtlinalool}}$

Die Fehlerabweichung errechnet sich hier mit ± 3 Prozent.

Absolute Linaloolwerte der Biere

Auf die einzelnen Messwerte für R- und S-Linalool sowie das daraus ermittelte Gesamtlinalool wird der Datenfülle wegen verzichtet, da ohnehin nur die durch die Bieralterung bedingten Messwertänderungen interessant sind. In Tabelle 2 sind lediglich die absoluten Linaloolwerte der frisch abgefüllten Biere innerhalb der einzelnen Serien in ihrer Schwankungsbreite angegeben (Werte in $\mu\text{g/l}$). Die Geschmacksschwelle von R-Linalool ist stets überschritten. Sie wird in der Literatur mit 2 bis $80 \mu\text{g/l}$ angegeben [1], in unserem Panel in St. Johann bewegt sie sich je nach Biertyp in einem Rahmen von 5 bis $20 \mu\text{g/l}$. Im Durchschnitt aller Biere liegt der relative R-Anteil bei über 90 Prozent mit einer Schwankung von 86 bis 95 Prozent, was in dieser Höhe für den Einsatz von frischen bzw. sachgerecht gelagerten Hopfen und den daraus hergestellten Pellets spricht.

Messwertänderung Lagerung bei 20 °C

Es wurden die Messwertänderungen der einzelnen Serien gemittelt und über die Lagerzeit aufgetragen. Abbildung 1 zeigt die relativen Messwertabnahmen des Gesamtlinalools über eine Lagerdauer von 700 Tagen. Die relativen Fehlerabweichungen sind mit ± 5 Prozent ermittelt worden. In den ersten 140 Tagen ergibt sich noch kein klares Bild. Einigen Verlusten von bis zu zwölf Prozent stehen Zunahmen bis zu 18 Prozent gegenüber.

Nach 420 und 700 Tagen zeichnet sich ein eindeutiger Trend ab. Im Durchschnitt resultieren etwa 15 Prozent Verlust an Gesamtlinalool pro Jahr. Linalool ist also keine im Bier stabile Substanz, die Veränderungen zeigen aber erst nach längerer Zeit eine klare Richtung.

Aufschlussreicher ist die getrennte Betrachtung von R- und S-Linalool gemäß Abbildung 2. Der Anstieg des S-Linalools ist hochsignifikant. Pro Jahr errechnet sich im Durchschnitt ein Anstieg um etwa das 1 ½-fache. Die Abnahme des R-Linalools schlägt pro Jahr dagegen mit knapp 30 Prozent zu Buche, ebenfalls hochsignifikant. Mit der Racemisierung von R- zu S-Linalool sind die Verluste von R-Linalool nur zur Hälfte zu erklären. Es muss noch andere Reaktionen geben, beispielsweise eine Umwandlung in R- und S-Alpha-Terpineol bzw. auch zu Nerol [12].

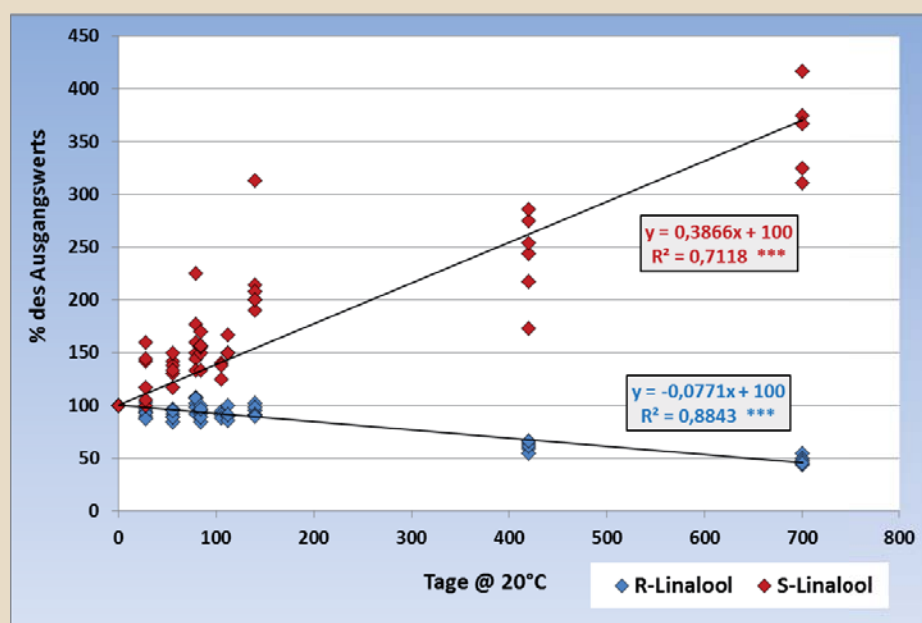


Abb. 2 Verlauf der Messwertänderungen von R- und S-Linalool gemittelt über 6 Serien nach einer Lagerung bei 20 °C bis 700 Tage; Werte in Prozent relativ zu den Ausgangswerten

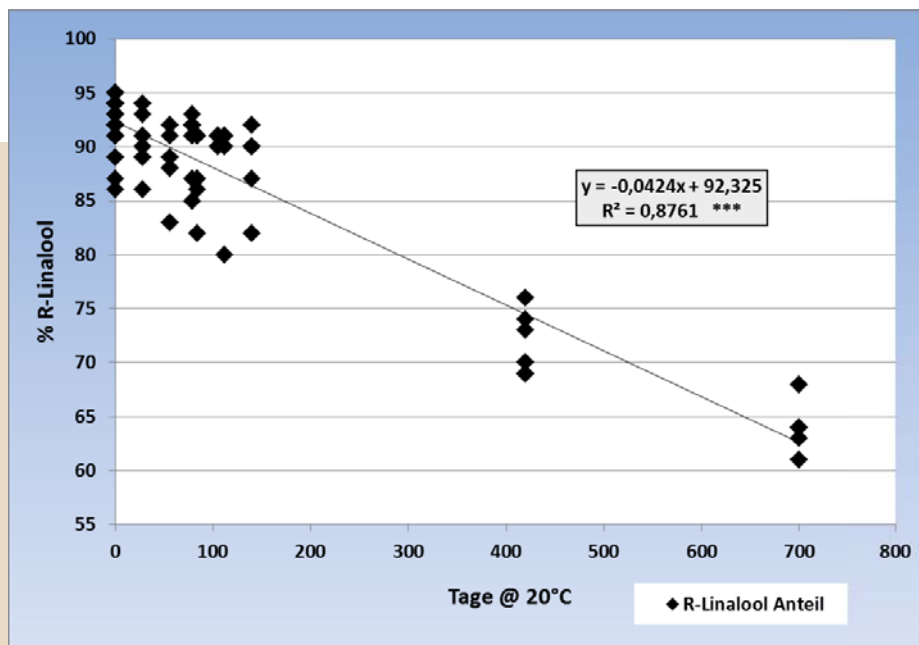


Abb. 3 Verlauf des R-Anteils als Teil des Gesamtlinalools; Werte in % rel.

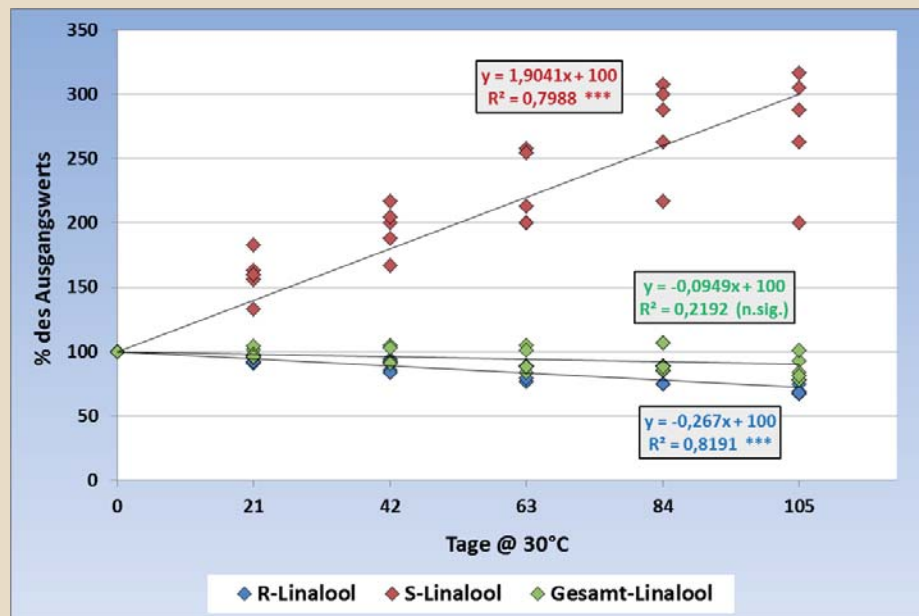


Abb. 4 Verlauf von R-, S- und Gesamtlinalool bei einer Lagerung von 30°C über 105 Tage

Trägt man den prozentualen Anteil des R-Linalools vom Gesamtlinalool über die Lagerzeit auf, erhält man einen Verlauf gemäß Abbildung 3. Die Abnahme des R-Anteils bewegt sich im Schnitt bei etwa 15 Prozent pro Jahr und ist hochsignifikant.

Messwertänderung Lagerung bei 30°C

Lagerversuche bei höheren Temperaturen beschleunigen Reaktionen und dienen dem Zweck, rascher zu Ergebnissen zu kommen. Dabei sollte auch geprüft werden, ob die verbreitete Annahme, dass eine Temperaturerhöhung um 10°C eine Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeit hervorruft, zutrifft. In Abbildung 4 ist der Verlauf aller Messwertänderungen von R-, S- und Gesamtlinalool über die Lagerdauer der Biere bis 105 Tage bei 30°C aufgetragen.

S-Linalool steigt hochsignifikant an, im Mittel um etwa 180 Prozent. R-Linalool nimmt um ca. 25 Prozent ab. Dieser Verlauf ist ebenfalls hochsignifikant.

In Abbildung 5 sind die einzelnen Verläufe des R-Anteils aufgetragen. Die Einzelnen verlaufen parallel zur gemittelten Abnahme. Diese beträgt 15,6 Prozent in 100 Tagen.

In Tabelle 2 sind die Veränderungen des R- und S-Linalools sowie des R-Anteils bei den Lagertemperaturen 20 und 30°C bei 100 Tagen Lagerzeit einander gegenübergestellt. Der Faktor gibt die Intensitätssteigerung von 30°C im Vergleich zu 20°C an. Nach van't Hoff bewirkt eine Temperatursteigerung von 10°C in vielen Fällen eine

um das Zwei- bis Dreifache erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit [14]. In dieser Versuchsanstellung sind die festgestellten 3,1- bis 4-fach intensiveren Reaktionen wohl an der Obergrenze einer sinnvollen Forcierung der Lagertemperatur. Allerdings sind Biere nicht selten Temperaturen über 20°C auf dem Weg zum Konsumenten ausgesetzt.

Sonstige Beobachtungen

In zwei Serien wurde ein Anstieg des R-Linalools zu Beginn der Lagerung beobachtet. Es ist also denkbar, dass eine kurze Phase einer moderaten Zunahme von R-Linalool bei der Bieralterung in einigen Fällen vorkommt. Das spielt allerdings für eine Bewertung in der Praxis keine große Rolle, wird aber trotzdem weiter verfolgt. Es sind bisher keine gravierenden Unterschiede zwischen den eingesetzten Hopfensorten und den Linalool-Abnahmen festzustellen. Diese Fragestellung bleibt aber ebenfalls weiter im Fokus.

Zum Vergleich von spät gehopften und hopfengestopften Bieren können zwei Beispiele herangezogen werden. In Serie 2 mit acht spät gehopften und acht zusätzlich hopfengestopften Bieren wurden jeweils gleiche Sorten eingesetzt. Der durchschnittliche Verlust des Gesamtlinalools lag nach 420 Tagen und 20°C bei 37 Prozent (spät gehopft) bzw. 43 Prozent (gestopft). Ein Vergleich jeweils zweier Biere in Serie 3 zeigte nach 105 Tagen und 30°C Verluste von elf Prozent (spät) und neun Prozent (gestopft). Damit liegen keine Anzeichen dafür vor, dass sich Linalool während der Alterung von spät gehopften und hopfengestopften Bieren unterschiedlich verhält.

Zusammenfassung

Will man das Verhalten von Linalool während der Bieralterung verfolgen, ist eine Auftrennung von R- und S-Linalool nötig, da die sensorische Aktivität des R-Linalools um ein Vielfaches höher ist als die des S-Linalools. Die Ergebnisse von umfassenden Lagerversuchen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Das sensorisch wenig relevante S-Linalool ist in frischen Bieren aus frischen Pellets nur mit etwa zehn Prozent vom Gesamtlinalool vertreten, nimmt aber im Verlauf der Bieralterung stetig zu. In der Größenordnung sind es etwa 150 Prozent relativ in einem Jahr bei 20°C.
- Demgegenüber stehen Abnahmen des R-Linalools in Höhe von etwa 30 Pro-

zent relativ in einem Jahr bei 20 °C. Die Racemisierung zum S-Linalool erklärt nur etwa die Hälfte dieses Verlustes; daneben sind Wege zu Nerol bzw. Terpeneol denkbar.

- Entsprechend nimmt der R-Anteil in Prozent vom Gesamtlinalool im Zuge der Bieralterung von z. B. 92 auf 77 in einem Jahr bei 20 °C ab.
- Ob bei Lagerbeginn auch eine geringfügige Zunahme des R-Linalools möglich ist, wie hier in zwei Fällen beobachtet, wird zwar weiter verfolgt, hat aber keine Relevanz für die Praxis.
- Die Erhöhung der Lagertemperatur der Biere von 20 auf 30 °C bewirkt eine Verstärkung der Ab- bzw. Zunahmen um das ca. 3,5-fache, womit Lagerversuche nicht ohne Einschränkungen bei höheren Temperaturen ablaufen sollten, nur um zu schnellen Ergebnissen zu kommen.
- Das Verhalten von Linalool weist keine Unterschiede auf zwischen spät gehopften und hopfengestopften Biere.
- Ein Einfluss von Hopfensorten ist nicht klar zu erkennen.
- Die Racemisierung des R- zu S-Linalool wirkt sich auf die Sensorik eines Bieres aus. Die Intensität des Hopfenaromas nimmt während der Bieralterung zwangsläufig ab.

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, ISBN: 978-3-418-00808-0.
2. Kaltner, D.: „Untersuchungen zur Ausbildung des Hopfenaromas und technologische Maßnahmen zur Erzeugung hopfenaromatischer Biere“; Dissertation, Technische Universität München, 2000.
3. Steinhaus, M.; Schieberle, P.: „Transfer of the potent hop odorants linalool, geraniol and 4-methyl-4-sulfanyl-2-pentanone from hops into beer“; 31st EBC Proc., Venice, 2007; paper 112.
4. Forster, A.; Gahr, A.: „Hopping of Low Alcohol Beers“; in: *BrewingScience*, 65 (Juli/August 2012), S. 72-82.
5. Mitter, W.; Cocuzza, S.: „Die Kalthopfung – Untersuchung verschiedener Parameter“; in: *Brauindustrie* 97, 2012, S. 74-78.
6. Forster, A.; Gahr, A.: „Zum Verbleib einiger Hopfeninhaltsstoffe beim Hopfenstopfen“; in: *BRAUWELT* 137, 2013, Teil 1 in Nr. 36, S. 1094-1101; Teil 2 in Nr. 37, S. 1189-1190.
7. Forster, A.; Gahr, A.; Ruiz C.: „Vier Beispiele für außergewöhnlich Biere“; in: *Hopfenrundschaue International*, 2015/2016, S. 36-40.
8. Fritsch, H. T.; Kaltner, D.; Schieberle, P.; Back, W.: „Entschlüsselung des Hopfenaromas im Bier“; in: *BRAUWELT* 144, 2004, Nr. 39/40, S. 1206-1207.
9. Tressl, R.; Fendesack, E.; Reinke, A.: „Chemistry of Foods and Beverages: Recent developments“; in Academic Press, New York, 1982.
10. Peacock, V.; Deinzer, M.: „Fate of Hop Oil Components in Beer“; in: *J. of Am. Soc. Brew. Chem.* 46, 1988, S. 104-107.
11. 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“; in: *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 56, 2003, Nr. 11/12, S. 192-196.
12. Qian, M.: „Aroma compounds in ‘Centennial’, ‘Citra’ and ‘Nelson Sauvin’ hops and their stability in model systems“; paper at International Society for Horticultural Science IV Humulus Symposium (IHS), Yakima, August 6-8, 2015.
13. Forster, A.; Gahr, A.; Schmidt, R.; Faltermeier, A.: „The Behaviour of Stereoisomers of Linalool During Beer Ageing“; *BrewingScience* 68, Nov./Dez. 2015, S. 146-152.
14. Kolditz, L. (Hrsg.): „Anorganikum“, 6. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 1974, S. 176.

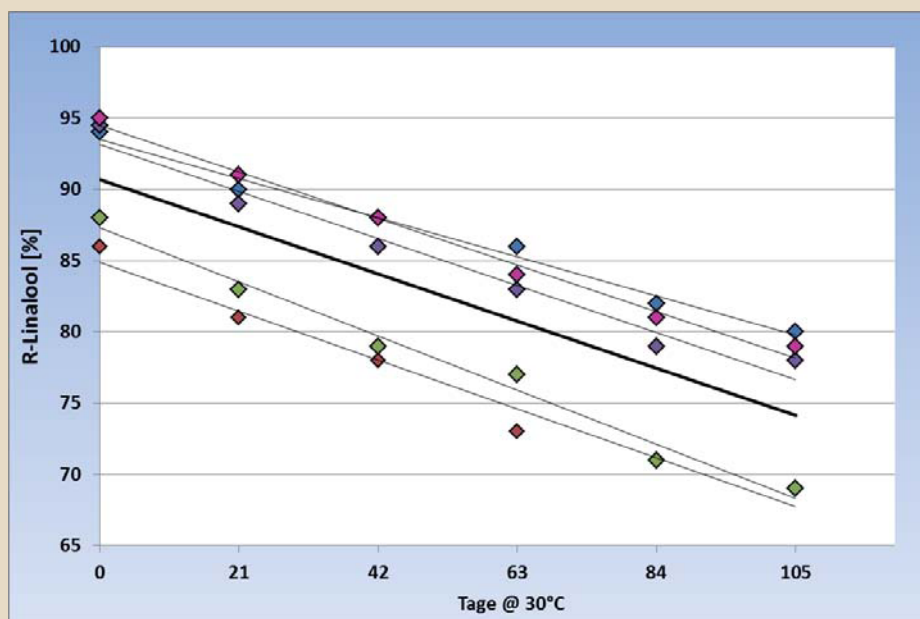


Abb. 5 Verläufe der R-Anteile als Teil des Gesamtlinalools in % rel.; einzelne Serien und als Mittel (dicke Linie) dargestellt