

# Flüchtige Hopfenaromastoffe im Brauprozess

**VERLUSTPROZESSE** | Das Aromaspektrum des Rohmaterials Hopfen unterscheidet sich in der Regel deutlich von dem Aroma, das er im Bier verursacht. Dieser Umstand ist neben Umwandlungsreaktionen flüchtiger Hopfenverbindungen auf deren Verluste während des Brauprozesses zurückzuführen. Der Konzentrationsabfall bestimmter Stoffe während der Gärung ist dramatisch, kann jedoch beeinflusst werden.

**HOPFEN TRÄGT ZU** einem bedeutenden Anteil zum Bieraroma bei. Biertypen wie etwa Pilsner und India Pale Ale (IPA) werden durch höhere Gehalte an aromawirksamen Bittersäuren und flüchtigen Stoffen des Hopfens, den ätherischen Ölkompontenten, geprägt. Sehr hopfenaromatische Biere werden in der Regel mit mehreren Sudhausgaben, optional einer Whirlpool-Gabe und auch mit Hilfe des Hopfenstopfens hergestellt. Das Hopfenstopfen (Dry Hopping) bezeichnet die Dosis von Hopfen im Kaltbereich der Brauerei. Diese sehr alte [1, 2] Hopfungstechnik wird seit einigen Jahren wieder vermehrt

verwendet, um aromatische Spezialbiere herzustellen. Liebhaber hopfengestopfter Biere sind – bewusst oder unbewusst – mit dem Geruch von  $\beta$ -Myrcen vertraut. Das  $\beta$ -Myrcen ist ein hochwirksamer, aber auch sehr flüchtiger Hopfenaromastoff, der an frische Hopfendolden erinnert [3]. Im Bier kann diese Substanz zu Gerüchen wie „grün“, „harzig“ und „balsamisch“ beitragen. Bei sehr hohen Konzentrationen führt dieses Terpen allerdings zu einem unangenehm „stechenden“ oder „grasigen“ Aromaeindruck. Liegt der Fokus der Hopfung auf einer hohen Isomerisierungsrate der  $\alpha$ -Säuren, also auf einer Gabe zu Beginn der Würzekochung, wird keine relevante Menge an  $\beta$ -Myrcen gelöst und ein Beitrag

zum Bieraroma ist nicht zu erwarten. Für die flüchtigen Stoffe kann stark vereinfacht zusammengefasst werden: Je später (und höher) die Hopfendosis im Brauprozess, desto höher ist die Konzentration im Bier. Für ein besseres Verständnis zum Verbleib bestimmter Hopfenaromasubstanzen im Heiß- und Kaltbereich der Brauerei ist etwas Grundwissen zu dem chemischen Hintergrund wichtig.

Die ätherischen Ölkompontenten des Hopfens, die etwa 0,5 - 3 Prozent der Trockenmasse der Dolde ausmachen, sind eine große Anzahl an flüchtigen aromaaktiven Komponenten, von denen bereits über 400 identifiziert wurden [4]. Darunter sind etwa zwei bis drei Dutzend für das Aroma von Bier relevant. Im Hopfenöl haben die Terpenkohlenwasserstoffe  $\beta$ -Myrcen,  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen einen Anteil von etwa 80 Prozent. Im Bier sind diese Stoffe allerdings in der Regel nur in Spurenbereichen nachweisbar. Einigkeit herrscht darüber, dass die Verluste dieser Substanzen dem hydrophoben Charakter und der damit verbundenen schlechten Löslichkeit in Würze bzw. Bier geschuldet ist, bei gleichzeitig sehr hoher Stoffflüchtigkeit [5]. Insbesondere  $\beta$ -Myrcen, das oft einen Anteil von über 50



**Autoren:** Korbinian Haslbeck (Foto), Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, TU München, Freising; Stefan Bub, Brauerei Bub GbR, Leinburg; Dr. Christina Schönberger, Joh. Barth & Sohn GmbH & Co. KG, Nürnberg; Dr. Martin Zarnkow, Prof. Fritz Jacob, Prof. Mehmet Coelhan, alle ebenfalls Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität

## LÖSLICHKEITSGRENZEN (IN WASSER) UND MAXIMALE KONZENTRATIONEN ...

... der während der Gärung freigesetzten und in der Wasserkaskade „aufgefangenen“ Stoffe; n. d. = nicht detektiert

### Verflüchtigung von Aromastoffen bei der Gärung

	Löslichkeitsgrenze in mg/l	max. Konzentration gemessen in mg/l
Linalool	1556	n. d.
$\beta$ -Myrcen	4,0 - 30,0	0,280
Ethylhexanoat	630 - 650	0,117
Isoamylacetat	2000	0,956
Styrol	160 - 300	0,122

Tab. 1

Prozent des ätherischen Öls in der Dolde bildet, fällt während des Brauprozesses stark in seiner Konzentration ab. Die hydrophobe Eigenschaft des  $\beta$ -Myrcen ist anhand der niedrigeren Löslichkeitsgrenze in Wasser (4-30 mg/l) im Vergleich zu Linalool (1556 mg/l) in Tabelle 1 ersichtlich. Während der Würzekochung tritt ein nahezu vollständiger Verlust der (flüchtigen) hydrophoben Hopfenaromastoffe auf, was in erster Linie deren Ausdampfung zugeschrieben wird, aber auch einer Adsorption an den Heißtrub. Im Fall von  $\beta$ -Myrcen werden geringe Mengen polymerisiert oder oxidiert. Sind allerdings in der Kaltwürze Mengen an Terpenkohlenwasserstoffen vorhanden, etwa durch Hopfenstopfen (und/oder auch ein wenig durch Whirlpool-Gaben), sind ebenso während der Gärung deutliche Verluste dieser Stoffgruppen zu beobachten. Die Analyse von Faktoren, die den Gehalt an  $\beta$ -Myrcen während der Gärung beeinflussen, nahm sich die im Folgenden vorgestellte Studie zum Ziel. Sie wurde am Forschungszent-

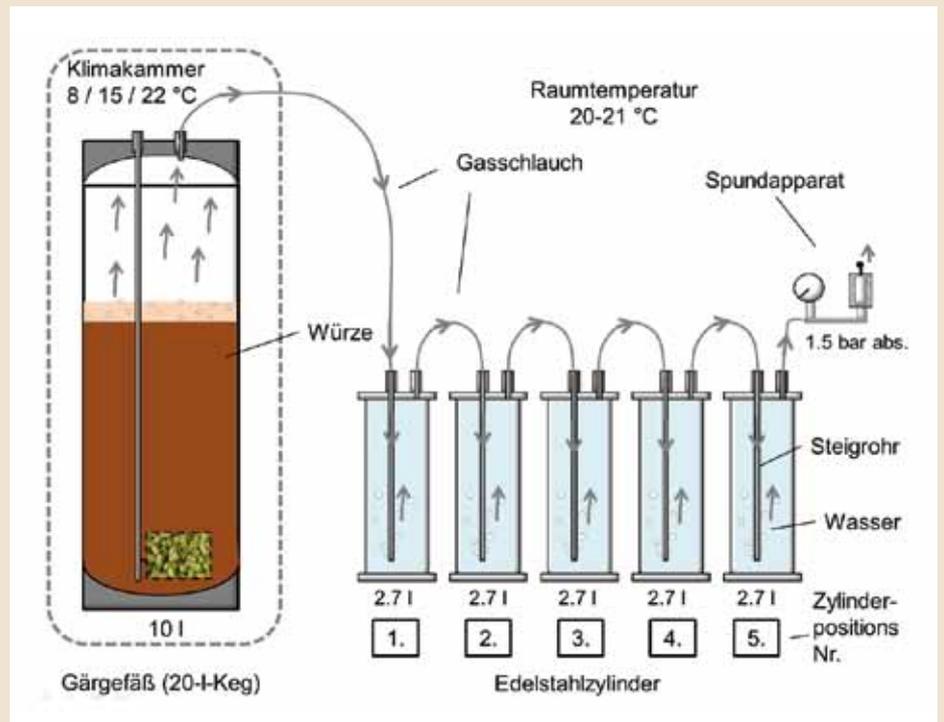


Abb. 1 Versuchsaufbau zur Lösung flüchtiger Stoffe aus dem Gärgas in einer Wasserkaskade

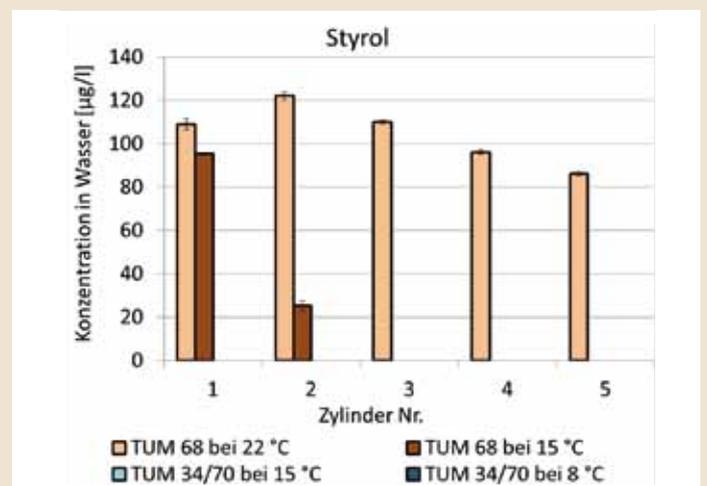
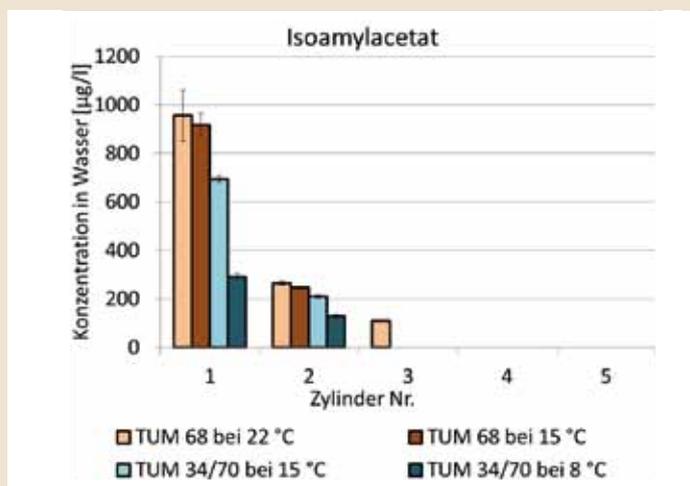
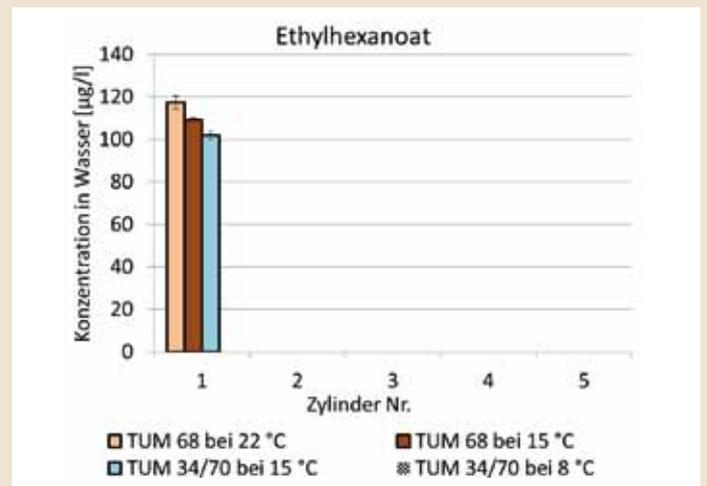
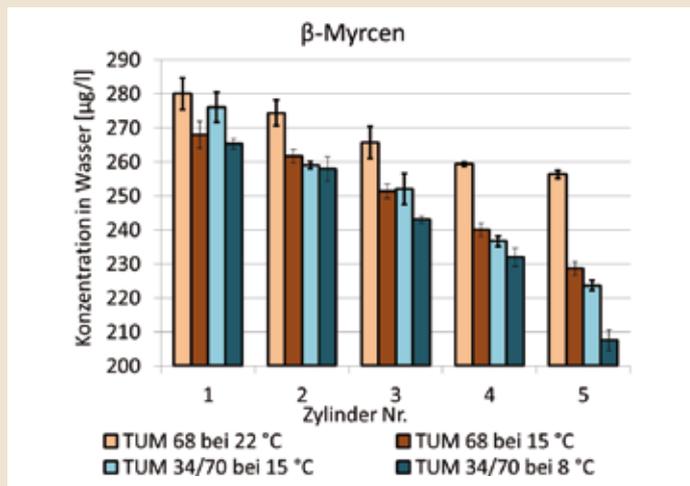


Abb. 2 Ausgasung von Aromastoffen – Stoffkonzentrationen, die während der Gärung verflüchtigt und in der Wasserkaskade (5 x 2,7-l-Edelstahlzylindern) aufgefangen wurden.

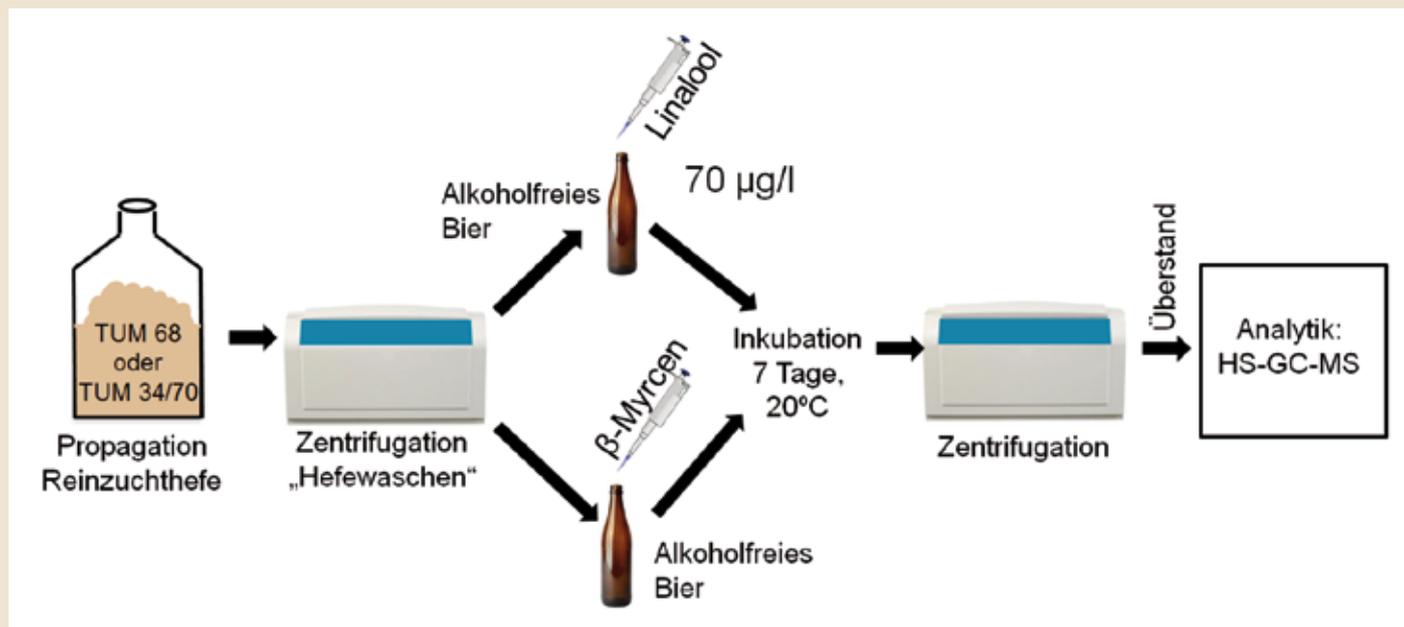


Abb. 3 Versuchsaufbau zur Bestimmung der adsorbierenden Wirkung der Hefe

rum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität durchgeführt und bereits in der BrewingScience Nr. 11/12, 2017, S. 159-169, vorgestellt. Hierbei ist  $\beta$ -Myrcen stellvertretend für eine Vielzahl weiterer flüchtiger hydrophober Aromastoffe zu sehen, die die Qualität des Bieres verbessern können und somit in gewissen Mengen im Bier anzustreben sind.

### Die Verflüchtigung von $\beta$ -Myrcen

Geruchsstoffe sind Substanzen, die olfaktorisch wahrgenommen werden können, was deren Flüchtigkeit voraussetzt. In der Brauerei wird das Prinzip der Verflüchtigung von Aromastoffen in gegensätzlicher Weise forciert; während bei der Würzekochung das Austreiben von freiem DMS bis auf Spuren angestrebt wird, so ist man hingegen im

Weißbierkeller darauf bedacht, zu starkes Austreiben von Isoamylacetat (Banane), 4-Vinylguajacol (4VG, Nelke) und weiterer sogenannter Schlüsselaromastoffe zu verhindern. Solche Maßnahmen haben auch Auswirkung auf bestimmte Hopfenduftstoffe.

Welches Ausmaß die Verflüchtigung von Aromastoffen bei der Gärung haben kann, sollte die Analyse des Gärgases zeigen. In der Studie wurde eine robuste Methode zum „Auffangen“ des Gärgases zu Analysezwecken gewählt, die für verschiedene Versuchsmaßstäbe nutzbar ist. Dazu wurde das Prinzip angewandt, dass gasförmige Substanzen, die durch eine Flüssigkeit „sprudeln“ (zu einem gewissen Grad) darin gelöst werden. In Abbildung 1 ist der Versuchsaufbau schematisch dargestellt. Das

Gärgas wurde durch fünf in Reihe geschaltete, mit Wasser gefüllte Edelstahlzylinder geleitet, sodass die Gase gezwungen waren, die Flüssigkeitssäulen zu passieren. Als Gärmedium wurde eine industriell erzeugte Lagerbierwürze (11,5 °P) verwendet, in die zum Anstellen Mosaic Hopfen (1 g/l) zugegeben wurde. Die hopfengestopfte Würze wurde in mehreren Ansätzen mit den Hefestämmen TUM 68 (obergärig) und TUM 34/70 (untergärig) bei unterschiedlichen Temperaturen vergoren. Die Ergebnisse der gaschromatographischen Analyse in Abbildung 2 zeigen, dass  $\beta$ -Myrcen und die Hefestoffwechselprodukte Isoamylacetat, Ethylhexanoat und Styrol während der Gärung in der Wasserbehälterkaskade gelöst wurden. Die Verluste im Grünbier stehen im engen Zusammenhang mit der Hefeaktivi-

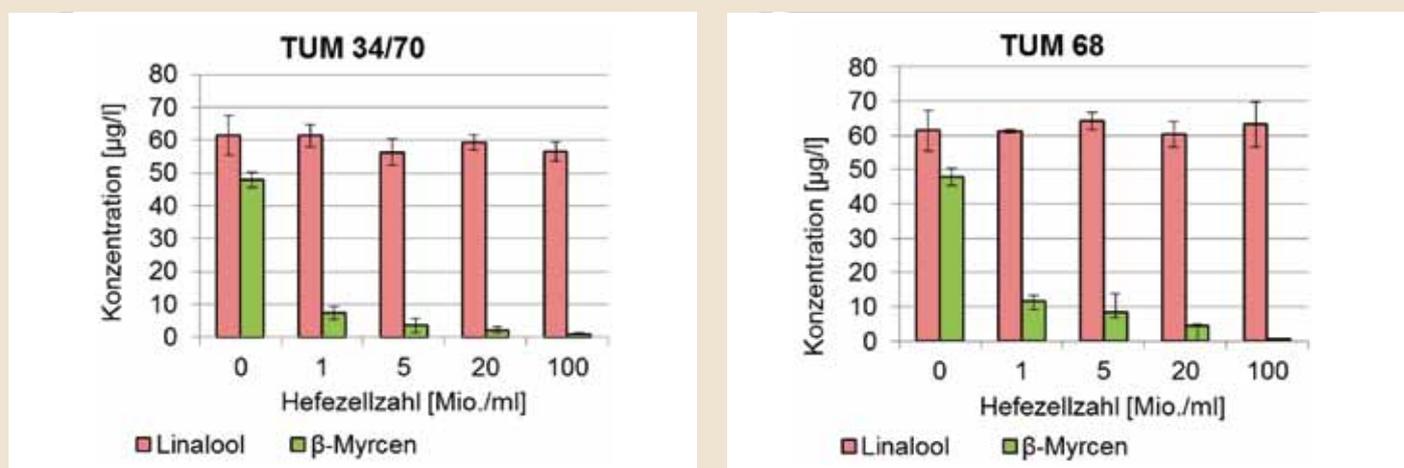


Abb. 4 Konzentrationsabfall an  $\beta$ -Myrcen durch die Adsorption an der Hefezelle

tät. Während der Gärung (bis zum Jungbier) produziert die Hefe aus einem Liter Würze von 12 °P in etwa 35 g CO<sub>2</sub>, wovon ca. 2 g/l in Bier gebunden werden [4]. Das restliche Kohlendioxid wird abgegeben, was ca. 16,8 l Gas pro Liter Würze entspricht. Der Aufstieg von Kohlendioxidbläschen in der fermentierenden Würze fördert das Ausgasen von sehr flüchtigen Komponenten. Darüber hinaus fördert dies auch die Migration von hydrophoben Verbindungen in die Schaumschicht [6]. Des Weiteren ist die Tendenz zu erkennen, dass höhere Temperaturen bei der Hauptgärung eine erhöhte Freisetzung von Aromaverbindungen in die Gasphase verursacht hat. Dies kann mit der gesteigerten Flüchtigkeit von Aromastoffen bei höheren Temperaturen erklärt werden [7]. Festzustellen ist, dass hydrophile und damit gut lösliche Stoffe, wie etwa Linalool (vgl. Tab. 1), nachweislich nicht (oder nur in Spuren) ausgedampft werden [8].

### Adsorption von $\beta$ -Myrcen an Hefezellen

Trotz der geringen Größe einer Hefezelle mit 5-12  $\mu\text{m}$  Länge und 5-10  $\mu\text{m}$  Breite kann die Hefe – als reiner Zellkörper gesehen – deutlichen Einfluss auf die in Grünbier gelösten Stoffe haben. In einer früheren Studie wurden in verschiedenen Erntehefen Bittersäuren in erhöhten Mengen nachgewiesen [9]. Dies ist der enormen Anzahl von etwa 100 Millionen Zellen pro Milliliter Würze während der Hauptgärung geschuldet. Bei einer durchschnittlichen Zelloberfläche von etwa 150  $\mu\text{m}^2$  beträgt die aufsummierte Zelloberfläche beträchtliche 15 m<sup>2</sup> pro Liter im Jungbier. Da die Oberfläche der Hefezelle hydrophob ist, was etwa bei der Flokkulation eine wichtige Rolle spielt, wirken anziehende Effekte auf andere hydrophobe Stoffe [4].

Die Auswirkungen der Hefezellmasse und die Folgen für das Bieraroma wurden anhand des  $\beta$ -Myrcens und des Linalools untersucht. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 3 skizziert. Das  $\beta$ -Myrcen bzw. das Linalool wurden in Reinform zusammen mit unterschiedlichen Zellzahlen (0, 1, 5, 20, 100 Mio Zellen/ml) der Stämme TUM 34/70 oder TUM 68 (Reinzucht) in ein neutrales, dem Grünbier ähnliches Medium (alkoholfreies Bier) gegeben. Als Behälter wurden 0,5-l-Flaschen verwendet, bei denen vor dem Schließen die Kronkork-Liner mit Alufolie abgedeckt wurden, um

die Migration von  $\beta$ -Myrcen in diese [10] zu verhindern.

Die befüllten und verschlossenen Flaschen wurden zu Bedingungen gelagert, wie sie bei Hauptgärungen vorkommen (20 °C, 7 Tage). Im Anschluss wurde die Hefe abzentrifugiert und der Überstand analysiert. Der Abbildung 4 ist zu entnehmen, dass die eingestellte Konzentration des  $\beta$ -Myrcens in Abhängigkeit von der Hefezellzahl gesunken ist. Bei einer Zellzahl von 100 Mio/ml wurde es nahezu vollständig von der Hefe adsorbiert. Kein Unterschied war zwischen dem ober- und untergärigen Hefestamm zu erkennen. Weiter wurde gezeigt, dass die Anziehungskräfte relativ stark sind, denn selbst mit purem Ethanol, das als Lösungsmittel von hydrophoben Stoffen verwendet wird, wurde im Mittel lediglich 17 Prozent der ursprünglich dosierten Menge losgelöst. Ein schwächeres Lösungsmittel (5 bzw. 10 % Ethanol-Lösung) konnte kein gebundenes  $\beta$ -Myrcen freisetzen. Daraus wurde gefolgert, dass die gebundenen Mengen für das Bieraroma keinen Beitrag leisten. Das Linalool wurde von der Hefezellpräsenz nicht beeinflusst, was auf dessen sehr gute Löslichkeit in Würze und Bier zurückzuführen ist.

### Zusammenfassung

Die Hefe beziehungsweise der Gärprozess hat einen starken Einfluss auf flüchtige Hopfenaromastoffe und damit auf die Hopfenblume eines Bieres. Hier finden verschiedene Umwandlungsreaktionen und Verlustprozesse statt. In Bezug auf die Verluste von Bestandteilen des ätherischen Öls des Hopfens sind in erster Linie Substanzen wie  $\beta$ -Myrcen betroffen, die schlecht in Würze und Bier löslich sind. Die Verflüchtigung, die durch die Bildung und Ableitung von CO<sub>2</sub> angetrieben wird, aber auch die Adsorption an die Oberfläche von Hefezellen, spielen dabei eine wichtige Rolle. Für Biere, die deutlich grün-hopfenaromatische Noten aufweisen sollen, erscheint eine Gabe des Hopfens nach dem Erreichen des Endvergärungsgrades bzw. nach dem Schlauchen als ein probates Mittel. Falls das Hopfenstopfen keine Option darstellt, können niedrige Gärttemperaturen die Flüchtigkeit der Aromastoffe und damit deren Verluste reduzieren, was allerdings im Zusammenhang mit der gesamten Gärführung betrachtet werden muss.

Die Hefe besitzt eine Reihe von Enzymaktivitäten, die Umwandlungsreaktionen von

Terpenoiden wie etwa Linalool bewirken, was in einer noch folgenden Veröffentlichung behandelt wird. ■

### Quellen

1. von Hohberg, W. H.: *Georgica curiosa*, Verlag Michael und Johann Friedrich Endters seel. Erben, Nürnberg, 1687, S. 103-104.
2. Meußdoerffer, F.; Zarnkow, M.: *Bier – Eine Geschichte von Hopfen und Malz.*, CH Beck Verlag, München, 2015.
3. Biendl, M.; Engelhard, B.; Forster, A.; Gahr, A.; Lutz, A.; Mitter, W.; Schmidt, R. und Schönberger, C.: *Hopfen: Vom Anbau bis zum Bier*, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 2012.
4. Narziß, L.; Back, W.; Gastl, M. und Zarnkow, M.: *Abriss der Bierbrauerei*, 8. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, 2017.
5. Rettberg, N.; Biendl, M. und Garbe, L.-A.: „Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools – A Review“, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, Nr. 1 (76), 2018, S. 1-20.
6. Siebert, K. J.: „Sensory analysis of hop oil-derived compounds in beer: flavor effects of individual compounds. Quality control“, *EBC Monograph 22, Symposium on Flavor Hops*, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 1994, S. 198-212.
7. Schneiderbanger, H.; Hutzler, M.; Müller-Auffermann, K.; Cotterchio, D.; Friess, A. und Jacob, E.: „Volatilization of Aroma Compounds Relevant for Wheat Beer in Water under Conditions Simulating Alcoholic Fermentation“, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* Nr. 4 (69), 2011, S. 187-190.
8. Haefliger, O. P. und Jeckelmann, N.: „Stripping of aroma compounds during beer fermentation monitored in real-time using an automatic cryotrapping sampling system and fast gas chromatography/mass spectrometry“, *Anal. Methods-UK*, Ausgabe 5, Nr. 17, 2013, S. 4409-4418.
9. Bryant, R. W. und Cohen, S. D.: „Characterization of Hop Acids in Spent Brewer's Yeast from Craft and Multinational Sources“, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* Nr. 2 (73), 2015, S. 159-164.
10. Wietstock, P. C.; Glattfelder, R.; Garbe, L.-A. und Methner, E.-J.: „Characterization of the Migration of Hop Volatiles into Different Crown Cork Liner Polymers and Can Coatings“, *J. Agr. Food Chem.* Nr. 13 (64), 2016, S. 2737-2745.