

D. Kaltner, M. Steinhaus, W. Mitter, M. Biendl, P. Schieberle \*

# (R)-Linalool als Schlüsselaromastoff für das Hopfenaroma in Bier und sein Verhalten während der Bieralterung

Linalool, eine chirale Verbindung, die für die typische blumige Aromanote hopfenbetonter Biere verantwortlich ist, kommt in Hopfen unabhängig von der Sorte überwiegend in der deutlich geruchsaktiveren (R)-Form vor (92 – 94 %). Die Verarbeitung des Naturhopfens zu den verschiedenen Hopfenprodukten beeinflusst die Enantiomerenverteilung nicht. Im Rahmen des Brauprozesses findet jedoch eine mehr oder weniger starke Umlagerung in das geringer geruchsaktive (S)-Enantiomer statt. In fünf kommerziellen Bieren wurden Linaloolkonzentrationen zwischen 6 und 130 µg/l und R/S-Verhältnisse von 84:16 bis 52:48 bestimmt. Die großen Unterschiede können mit der unterschiedlichen Hopfungstechnik erklärt werden. Bei der Lagerung dieser Biere blieb die Gesamtkonzentration von Linalool jeweils konstant, die Enantiomerenverhältnisse verschoben sich jedoch in Richtung des Racemats. Modellversuche zeigten, dass der pH-Wert ein wichtiger Faktor für die Racemisierung von Linalool bei der Lagerung von Bier ist.

BC 25 Bier

(Deskriptoren: Hopfenaroma, Hopfensorte, Hopfenprodukte, Linalool, Enantiomerenverteilung, Racemisierung, Lagerung, Geschmacksstoffe)

Descriptors: Hop aroma, hop variety, hop products, linalool, enantiomeric distribution, racemisation, storage, taste compounds)

## 1 Einleitung

In ausführlichen Forschungsarbeiten (1,2) wurde das Hopfenaroma von Pilsener Bieren in den letzten Jahren systematisch untersucht. Dabei ermöglichte die Anwendung der Aromaextraktverdünnungsanalyse (AEVA) (3) die Identifizierung der sensorisch relevanten Aromastoffe in Pilsener Bieren (1) und deren Abgrenzung gegenüber den sensorisch inaktiven flüchtigen Verbindungen. Mit diesem Vorgehen konnte Linalool als Character Impact Compound (Schlüsselaromastoff) für hopfenaromatische Biere erkannt werden (1), und es konnte gezeigt werden, wie der Brauprozess zur Erzeugung hopfenbetonter Biere geführt werden muss (2,4).

Als chirale Verbindung kommt Linalool in der Natur in zwei verschiedenen Formen, (R)-Linalool und (S)-Linalool, vor, die sich wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten (Abb. 1). Die jeweiligen Anteile von (R)- und (S)-Form sind hierbei für die Aromawirksamkeit von Linalool von herausragender Bedeutung. (R)-Linalool besitzt eine Geruchsschwelle, die um das 80-fache niedriger liegt als die des (S)-Enantiomeren, d.h. die (R)-Form ist 80-mal geruchsaktiver als die (S)-Form (5). Eine Veränderung der Enantiomerenverteilung bei Linalool im Zuge der Verarbeitung von Hopfen, der Bierbereitung und der Bieralterung beeinflusst

Autoren: Dr. Dietmar Kaltner, Simon H. Steiner, Hopfen GmbH, Auhofstr. 18, D-84048 Mainburg; Dr. Martin Steinhaus, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Lichtenbergstr. 4, 85748 Garching; Willi Mitter, Simon H. Steiner, Hopfen GmbH, Auhofstr. 18, D-84048 Mainburg; Dr. Martin Biendl, Hopsteiner – Hallertauer Hopfenveredelungsges. m.b.H., Auhofstr. 16, D-84048 Mainburg; Univ.-Prof. Dr. Peter Schieberle, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Lichtenbergstr. 4, 85748 Garching

daher entscheidend dessen Aromabeitrag. Insbesondere über die Stabilität des Hopfenaromas bei der Lagerung von Bier wird in der Literatur (2,11) sehr uneinheitlich berichtet. Mit der Kenntnis von (R)-Linalool als Schlüsselaromakomponente hopfenbetonter Biere besteht nun erstmals die Möglichkeit, Veränderungen im Aroma- profil hopfenaromatischer Biere im Zuge der Bieralterung auf chemisch-analytischem Weg nachzuweisen.

Mit der vorliegenden Arbeit werden insbesondere folgende Fragen geklärt:

- Wie unterscheiden sich die Linaloolgehalte typischer Aromahopfenarten?
- Welche Enantiomerenverteilung findet sich für Linalool in Hopfen?
- Wie ändert sich die Enantiomerenverteilung bei der Verarbeitung von Hopfen?
- Wie ändern sich Gehalt und Enantiomerenverteilung von Linalool bei der Bieralterung?

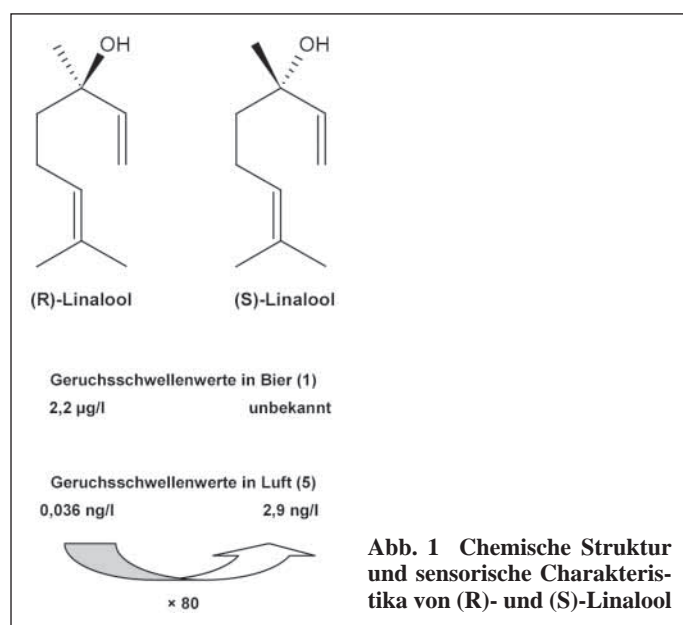


Abb. 1 Chemische Struktur und sensorische Charakteristika von (R)- und (S)-Linalool

- Welche Parameter beeinflussen hierbei die Enantiomerenverschiebung?
- Wie verhalten sich parallel dazu die *Geschmacksstoffe* bei der Bialterung?

## 2 Material und Methoden

Zur Bestimmung der Konzentration von Linalool in Naturhopfen und Hopfenprodukten wurde ein wässriger Hopfenauszug nach Zugabe des internen Standards Borneol durch Festphasenextraktion (SPE) aufgereinigt und das Eluat anschließend per GC/MS unter Verwendung einer FFAP-Kapillarsäule analysiert (6). Zur Bestimmung der Enantiomerenverteilung wurde eine chirale Trennsäule verwendet (2).

Für die Quantifizierungen in den Bierproben wurde ein neu entwickeltes, hoch präzises Verfahren angewandt, das die simultane Bestimmung von Konzentration und Enantiomerenverteilung von Linalool mit Hilfe einer Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIDA) ermöglicht (7). Deuteriummarkiertes Linalool dient hierbei als interner Standard, wodurch Aufarbeitungsverluste in idealer Weise kompensiert werden. Dies ermöglichte insbesondere die Anwendung der Festphasenmikroextraktion (SPME) als Probenextraktionsverfahren, wodurch die Analysenzeit erheblich verkürzt wurde. Das Ergebnis über Konzentration und Enantiomerenverteilung liegt bei Anwendung der SPME/SIDA-Methode bereits eine bis zwei Stunden nach der Probenahme vor. Die Probenvorbereitung und Analyse erfolgt dabei wie folgt:

- 1 – 10 ml Bier werden in ein 20-ml-Bördelrand-Headspace-Vial mit Rührfisch pipettiert; ggf. wird mit Wasser auf ca. 10 ml aufgefüllt;
- Zugabe von 120 ng [<sup>2</sup>H<sub>2</sub>]-Linalool gelöst in 50 µl Ethanol;
- Homogenisieren durch kurzes Aufrühren;
- Zugabe von 4 g Natriumchlorid;
- Verschließen des Vials mit einem Bördelverschluss mit Septum;
- Aufrühren, bis das NaCl weitgehend gelöst ist (Sättigung, es verbleibt ein Bodensatz!);
- Einstellen des Probengläschens in das Probengeber-Tablett des Autosamplers.

Die folgende Analyse im GC×GC/MS-System erfolgt vollständig automatisiert (7):

- Extraktion der flüchtigen Verbindungen aus dem Kopfraum über der Bierprobe durch SPME mit einer PDMS/DVB-Faser;
- Desorption in einem standardmäßigen GC-Heißinjektor;
- Vortrennung auf einer polaren GC-Kapillarsäule (FFAP);
- Zeitgesteuerter Transfer von Linalool und [<sup>2</sup>H<sub>2</sub>]-Linalool während deren Elution mit einem Säulenschaltssystem auf eine Kühlfalle;
- Feintrennung auf einer chiralen GC-Kapillarsäule (BGB-176);
- Detektion mit einem massenselektiven Ionenfallendetektor im CI-Modus mit Methanol als Reaktantgas.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Konzentration und Enantiomerenverteilung von Linalool in Aromahopfen

Der Gehalt an Linalool in verschiedenen Aromahopfen variiert deutlich (Tabelle 1). So wurde bei der Untersuchung von insgesamt neun Proben unterschiedlicher Sorten und Provenienzen in der Probe mit dem höchsten Gehalt, einem Hopfen der Sorte „Steirer Golding“, rund viermal mehr Linalool quantifiziert als in der Probe eines „Tettngang Tettnganger“, in dem die niedrigste

**Tabelle 1 Konzentration und Enantiomerenverteilung von Linalool in verschiedenen Aromahopfsorten<sup>1</sup>**

Sorte	Linalool [mg/kg]	(R)-Linalool [%]	(S)-Linalool [%]
Hallertau Hallertauer	25	93	7
Tettngang Hallertauer	39	93	7
Spalt Hallertauer	23	93	7
Hersbruck Hersbrucker	36	94	6
Hallertau Hersbrucker	33	94	6
Spalt Hersbrucker	24	94	6
Tettngang Tettnganger	21	92	8
Slowenischer Golding	87	93	7
Hallertau Spalter Select	47	94	6

<sup>1</sup> Vierfachbestimmungen

**Tabelle 2 Enantiomerenverteilung von Linalool in verschiedenen Hopfenprodukten**

Hopfenprodukt	(R)-Linalool (%)	(S)-Linalool (%)
Rohhopfen (Aromasorten) <sup>1</sup>	92 – 94	6 – 8
Pellets <sup>1</sup>	92 – 94	6 – 8
Reinharzextrakt <sup>2</sup>	92 – 94	6 – 8
Hopfenöl <sup>3</sup>	92 – 94	6 – 8

<sup>1</sup> Es wurden insgesamt 20 verschiedene Proben untersucht

<sup>2</sup> Es wurden insgesamt 10 verschiedene Proben untersucht

<sup>3</sup> Es wurden insgesamt 5 verschiedene Proben untersucht

Konzentration gemessen wurde. Die Sorte ist aber nicht allein ausschlaggebend für den Linaloolgehalt, da Proben der gleichen Varietät aus unterschiedlichen Anbaugebieten z. T. deutlich unterschiedliche Linaloolgehalte aufweisen.

Im Gegensatz zum Gesamtlinaloolgehalt schwankt die Enantiomerenverteilung von Linalool in Hopfen kaum (Tabelle 1). Das geruchsaktivere (R)-Enantiomere überwiegt deutlich, sein Anteil liegt unabhängig von der Sorte bei 92 bis 94 %.

### 3.2 Enantiomerenverteilung von Linalool in Hopfenprodukten

Die Veredelung des Rohhopfens zu den verschiedenen Hopfenprodukten hat keine Auswirkung auf die Enantiomerenverteilung von Linalool (Tabelle 2). Bei Pellets (Typ 45 und Typ 90), Reinharzextrakt (CO<sub>2</sub>- und Ethanolextrakt) sowie bei Hopfenöl wurde mit 92 – 94 % (R)-Anteil das gleiche Enantiomerenverhältnis gefunden wie im Rohhopfen.

### 3.3 Konzentration und Enantiomerenverteilung von Linalool bei der Bialterung

Fünf kommerzielle Biere, die sich durch die Art der Hopfengabe unterschieden, wurden für diese Versuchsreihe ein Jahr lang bei Raumtemperatur (20 °C) im Dunkeln gelagert. Zu Beginn, nach einem halben Jahr und am Ende der einjährigen Lagerzeit wurden sowohl Gehalt als auch Enantiomerenverteilung von Linalool bestimmt.

Die Linaloolkonzentrationen (Summe aus (R)- und (S)-Linalool) der frischen Biere zeigten große Unterschiede, die sich mit der unterschiedlichen Hopfengabe erklären lassen (Tabelle 3). Die Biere 1 und 2, die nur eine einmalige Gabe mit CO<sub>2</sub>- (Bier 1) bzw. Ethanolextrakt (Bier 2) zu Kochbeginn erfahren hatten, zeigten mit 8 bzw. 6 µg Linalool je Liter Bier die niedrigsten Konzentrationen der fünf Biere. Es ist davon auszugehen, dass hier der größte Teil des mit dem Hopfen eingebrachten Linalools beim

**Tabelle 3 Linaloolgehalt in verschiedenen gehopften Bieren vor und nach Lagerung<sup>1</sup>**

Bier	Hopfenprodukt	Linalool [ $\mu\text{g/l}$ ] frisches Bier	Linalool [ $\mu\text{g/l}$ ] n. 6 Monaten	Linalool [ $\mu\text{g/l}$ ] n. 12 Monaten
1	CO <sub>2</sub> -Extrakt <sup>2</sup>	8,1	8,8	8,6
2	Ethanolextrakt <sup>2</sup>	6,2	6,6	7,8
3	Pellets <sup>3</sup>	33	34	34
4	Pellets+Hopfenstopfen <sup>4</sup>	130	130	120
5	CO <sub>2</sub> -Extrakt+Hopfenöl <sup>5</sup>	17	18	17

<sup>1</sup> Lagerung bei Raumtemperatur (20 °C) im Dunkeln

<sup>2</sup> einmalige Hopfengabe zu Kochbeginn

<sup>3</sup> zwei Hopfengaben

<sup>4</sup> Kombination aus Pelletdosage beim Würzekochen und Pelletvorlage im Gärkeller

<sup>5</sup> Kombination aus CO<sub>2</sub>-Extrakt dosage beim Würzekochen und Hopfenöl dosage bei der Filtration

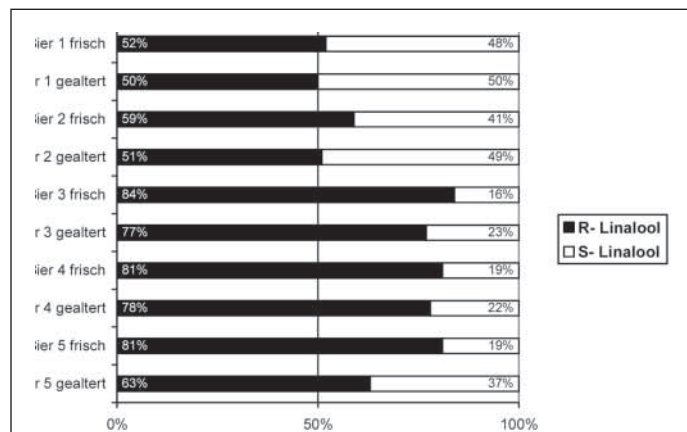
Würzekochen ausgetrieben worden ist. Einen deutlich höheren Wert ergab erwartungsgemäß das mit zwei Hopfengaben (Kochbeginn und Kochende) hergestellte Bier 3, in dem 33  $\mu\text{g/l}$  bestimmt wurden. Bei Bier 4, bei dem neben der Pelletdosage beim Würzekochen eine zusätzliche Pelletzugabe im Gärkeller („Hopfenstopfen“, „Dry-Hopping“) erfolgt war, wurde mit 130  $\mu\text{g/l}$  der mit Abstand höchste Wert der fünf Proben gefunden. In Bier 5, bei dem neben der Extraktzugabe beim Kochen der Würze eine Hopfenöldosage bei der Filtration erfolgte, wurde dagegen mit 17  $\mu\text{g/l}$  ein vergleichsweise niedriger Wert ermittelt.

Die erneute Bestimmung der Linaloolkonzentrationen nach einem halben und nach einem Jahr (Tabelle 3) zeigte im Rahmen der Messgenauigkeit keine Veränderungen. Das im frischen Bier vorhandene Linalool blieb bei allen untersuchten Bieren auch nach einjähriger forcierter Lagerung erhalten.

**Tabelle 4 Enantiomerenverteilung von Linalool in verschiedenen gehopften Bieren vor und nach Lagerung sowie pH-Werte der Biere**

Bier <sup>1</sup>	Linalool R/S [%] frisches Bier	Linalool R/S [%] n. 6 Monaten	Linalool R/S [%] n. 12 Monaten	pH-Wert
1	52:48	52:48	50:50	4,4
2	59:41	52:48	51:49	4,4
3	84:16	79:21	77:23	4,5
4	81:19	80:20	78:22	4,1
5	81:19	66:34	63:37	3,9

<sup>1</sup>Die Nummerierung der Biere bezieht sich auf Tabelle 3



**Abb. 2 Chirale Verteilung von Linalool im frischen und 12 Monate gelagerten Bier**

Neben dem Linaloolgehalt zeigten sich in den frischen Bieren auch deutliche Unterschiede bei der Enantiomerenverteilung von Linalool (Tabelle 4, Abb. 2). Auch hierfür kann die Art der Hopfengabe als Erklärung dienen. Bei den Bieren mit einmaliger Hopfengabe zu Kochbeginn (Bier 1 und 2) wurden (R)-Linaloolanteile von lediglich 52 und 59 % ermittelt. Ausgehend von einem Anteil von 92 bis 94, die in Hopfen gefunden werden (vgl. 3.1) fand hier eine deutliche Verschiebung der Enantiomerenverteilung in Richtung des Racemats statt. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von *Fritsch* (1), der zeigte, dass in Abhängigkeit vom pH-Wert bei der Temperatur des Würzekochens eine Racemisierung des Linalools stattfinden kann. Unter Berücksichtigung der Enantiomerenverteilung ergaben sich für die Biere 1 und 2 Gehalte für das geruchsaktive (R)-Linalool, die mit 4  $\mu\text{g/l}$  knapp über dessen Schwellenwert in Bier (1) lagen. Der zu erwartende Aromabeitrag von Linalool ist bei diesen Bieren daher gering.

Bei den Bieren 3 bis 5, in denen der Hauptteil des gefundenen Linalools erst sehr spät beim Würzekochen (Kochende) durch eine zweite Hopfengabe (Bier 3), eine Hopfendosage im Gärkeller (Bier 4) bzw. einen Zusatz von Hopfenöl (bei der Filtration, Bier 5) erfolgt war, fanden sich erwartungsgemäß mit 81 bis 84 % signifikant höhere Anteile des geruchsaktiveren (R)-Enantiomeren. Die sich ergebenden (R)-Linaloolkonzentrationen lagen bei diesen Bieren mit 14  $\mu\text{g/l}$  (Bier 5), 28  $\mu\text{g/l}$  (Bier 3) bzw. 105  $\mu\text{g/l}$  (Bier 4) zum Teil erheblich über dessen Geruchsschwelle. Entsprechend leistet Linalool hier einen deutlichen Beitrag zum Gesamtaroma der Biere.

Im Gegensatz zum Gesamtlinaloolgehalt änderte sich die Enantiomerenverteilung im Linalool während der Lagerung deutlich (Tabelle 4). Bei den Bieren 1 und 2, in denen bereits im frischen Bier Enantiomerenverhältnisse nahe des Racemats vorlagen, fand innerhalb der 12-monatigen Lagerung praktisch eine vollständige Racemisierung statt. Auch bei den Bieren 3 bis 5 änderte sich die Enantiomerenverteilung im Laufe der Lagerzeit. Der Effekt war hier jedoch unterschiedlich stark. Während der (R)-Linaloolanteil bei Bier 4 nur um drei Prozentpunkte in 12 Monaten abnahm, betrug die Abnahme bei Bier 3 sieben Prozentpunkte und bei Bier 5 sogar 18 Prozentpunkte. Die Bestimmung der Enantiomerenverteilung zeigte damit, dass sich bei allen untersuchten Bieren durch die Enantiomerenverschiebung die Aromawirksamkeit von Linalool durch die Lagerung änderte, obwohl dessen Gesamtkonzentration nahezu unverändert blieb.

Die Bestimmung der pH-Werte der Biere nach halbjähriger Lagerung (Tabelle 4) zeigte darüber hinaus, dass Bier 5, in dem die stärkste Abnahme des (R)-Linaloolanteils beobachtet worden war (siehe auch Abb. 2), mit einem pH-Wert von 3,9 auch das sauerste aller untersuchten Biere war. Hier erschien ein Zusammenhang zwischen dem pH-Wert und dem Grad der Racemisierung bei der Lagerung möglich. Um dies zu überprüfen, wurden Modelllösungen von reinem (R)-Linalool in Wasser/Ethanol (96:4; m:m) mit Citronensäure/Natriumcitrat-Puffer (0,1 M) auf definierte pH-Werte eingestellt und diese anschließend unter den gleichen Bedingungen wie die Biere bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert. Nach sechs Monaten wurden jeweils die Enantiomerenverhältnisse im Linalool bestimmt.

Die Ergebnisse (Tabelle 5) zeigten eine deutliche Abhängigkeit der Racemisierung vom pH-Wert. Während im Ansatz mit pH 4,5 am Ende der halbjährigen Lagerzeit noch 96 % (R)-Linalool vorhanden waren, waren dies bei pH 4,0 nur noch 91 % und bei pH 3,5 nur noch 79 %. Der pH-Wert konnte damit als ein entscheidender Faktor für die Racemisierung von Linalool bei der Lagerung von Bier geklärt werden. Allerdings müssen neben dem pH-Wert weitere Einflussgrößen vorhanden sein, da beispielsweise bei

Bier 3 trotz des höheren pH-Wertes von 4,5 eine stärkere Enantiomerenverschiebung zu beobachten war als bei Bier 4 mit einem pH-Wert von 4,1.

### 3.4 Verhalten der Bitterstoffe bei der Bieralterung

Während der Beitrag des Hopfens zum Aroma von Bier durch die aktuellen Forschungsarbeiten (1,2), die (R)-Linalool als maßgebliche Geruchs Komponente ergaben, weitgehend als geklärt betrachtet werden kann, fehlen bisher umfassende systematische Studien zu den aus dem Hopfen stammenden Geschmacksstoffen in Bier. Dabei ist unstrittig, dass die Hopfenbittere in der Regel einen weit stärkeren Einfluss auf den Gesamteindruck beim Biergenuss ausübt als das Hopfenaroma. Die Begriffe „Aroma“ und „Geschmack“ müssen hierbei streng differenziert werden: während „Aromastoffe“ flüchtige Substanzen sind, die mit den Geruchsrezeptoren der menschlichen Nase wahrgenommen werden können, versteht man unter „Geschmacksstoffen“ Verbindungen, die meist nicht flüchtig sind und mit den Sinneszellen auf der Zunge detektiert werden (8). Für die Bierbittere werden vor allem die Iso- $\alpha$ -Säuren verantwortlich gemacht (12). Parallel zur Bestimmung von Gehalt und Enantiomerenverteilung von Linalool wurden in den Bieren des Lagerversuchs deshalb auch die Konzentrationen der Iso- $\alpha$ -Säuren bestimmt. Dabei zeigte sich, dass diese Verbindungen im Laufe der Bieralterung zum Teil deutlich abnahmen (Tabelle 6). Am größten war die Abnahme bei den beiden mit CO<sub>2</sub>-Extrakt gehopften Bieren 1 und 5. Dagegen erwiesen sich die Iso- $\alpha$ -Säuren im mit Ethanol extrakt gehopften Bier 2 und dem mit einer Kombination aus Pelletgabe & Hopfenstopfen hergestellten Bier 4 als deutlich stabiler.

Die Methode zur Bestimmung der Bitterstoffe in Bier nach EBC 9.8 (13) erfasst neben den Iso- $\alpha$ -Säuren auch unspezifische Substanzen, die zur Bierbittere beitragen können. Im Laufe der Lagerung zeigten die Bittereinheiten nach EBC in den mit Reinharz hergestellten Bieren 1 und 2 die geringsten Veränderungen (10 %). Bei Bier 5, das bereits aufgrund seines niedrigen pH-Wertes (pH 3,9) und wegen der starken Racemisierung des Linalools aufgefallen war, nahmen die Bittereinheiten dagegen mit 22 % während der einjährigen Lagerung am deutlichsten ab.

### 3.5 Sensorische Veränderungen im Rahmen der Bieralterung

#### 3.5.1 Intensität und Qualität des Hopfenaromas

Bei Betrachtung der Biere mit konventioneller Hopfung (Biere 1 bis 3) ist die Intensität des Hopfenaromas beim pelletgehopften Bier 3 am ausgeprägtesten (Tabelle 8). Die Hopfungstechnik mit einer zusätzlichen Aromahopfung in den Whirlpool sorgt für ein sensorisch deutlich wahrnehmbares Hopfenaroma, das auch im gealterten Bier noch akzeptiert wird.

Das Bier 5 mit Zusatz von Hopfenöl bei der Filtration weist das intensivste Hopfenaroma auf. Die ausgeprägte Hopfennote wird qualitativ allerdings abgewertet. Das hängt vermutlich damit zusammen, dass durch diese unkonventionelle Hopfungstechnik neben dem Linalool weitere Aromastoffe aus dem Hopfen ins Bier gelangen. Mit zunehmendem Alterungsgrad nimmt die Güte des Hopfenaromas hier nochmals deutlich ab.

Auch Bier 4, das mit einer Dosage von Pellets beim Würzekochen und einer zusätzlicher Gabe bei der Gärung/Lagerung hergestellt worden war, zeigt ein deutlich wahrnehmbares Hopfenaroma. Die Güte dieser Hopfennote wird allerdings sehr schlecht beurteilt. Ähnlich wie bei Bier 5 dürften hierfür aromaaktive Substanzen aus dem Hopfen verantwortlich sein, die im Rahmen der üblichen

**Tabelle 5 Veränderungen der Enantiomerenverteilung von Linalool im Laufe der Lagerung<sup>1</sup> von Modellansätzen<sup>2</sup> bei verschiedenen pH-Werten**

pH-Wert	Linalool R/S [%] frischer Ansatz	Linalool R/S [%] nach 6 Monaten
4,5	100:0	96:4
4,0	100:0	91:9
3,5	100:0	79:21

<sup>1</sup> Lagerung bei Raumtemperatur (20 °C) im Dunkeln

<sup>2</sup> Modell: (R)-Linalool in einer Konzentration von 50 µg/l in Wasser/Ethanol (96:4; m:m), pH-Wert eingestellt mit Citronensäure/ Natriumcitrat (0,1 M)

**Tabelle 6 Verhalten der Iso- $\alpha$ -Säuren verschieden gehopfter Biere bei der Lagerung**

Bier <sup>1</sup>	Iso- $\alpha$ -Säuren [mg/l] frisches Bier	Iso- $\alpha$ -Säuren [mg/l] n. 6 Monaten	Iso- $\alpha$ -Säuren [mg/l] n. 12 Monaten	rel. Abnahme [%] n. 12 Mon.
1	31	27	25	19
2	31	32	30	5
3	29	28	26	10
4	17	17	17	2
5	31	27	24	25

<sup>1</sup>Die Nummerierung der Biere bezieht sich auf Tabelle 3

<sup>2</sup>Bittereinheiten nach EBC 9.8

**Tabelle 7 Veränderung der Bittereinheiten verschieden gehopfter Biere bei der Lagerung**

Bier <sup>1</sup>	BE <sup>2</sup> frisches Bier	BE <sup>2</sup> n. 6 Monaten	BE <sup>2</sup> n.12 Monaten	rel.Abnahme n. 12 Mon. [%]
1	29	28	25	10
2	30	29	27	10
3	30	29	27	12
4	30	27	26	13
5	38	34	30	22

<sup>1</sup>Die Nummerierung der Biere bezieht sich auf Tabelle 3

<sup>2</sup>Bittereinheiten nach EBC 9.8

**Tabelle 8 Verkostung: das Hopfenaroma verschieden gehopfter Biere bei der Lagerung**

Bier <sup>1</sup>	frisches Bier		n. 12 Monaten		n. 6 Monaten	
	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>
1	2,1	3,8	2,1	3,1	2,0	2,8
2	2,2	3,2	2,4	3,2	2,1	3,2
3	3,5	3,5	2,8	3,4	2,4	3,0
4	3,6	1,7	3,4	1,8	3,6	1,8
5	4,0	2,4	3,4	1,4	3,4	1,2

<sup>1</sup> Die Nummerierung der Biere bezieht sich auf Tabelle 3

<sup>2</sup> Wertung von 1 = nicht wahrnehmbar über 3 = deutlich wahrnehmbar bis 5 = parfümartig, intensiv

<sup>3</sup> Wertung von 1 = unangenehm über 3 = neutral bis 5 = angenehm

Brautechnik normalerweise entfernt werden (1). Dazu zählt beispielsweise das für das Aroma von Hopfen selbst bedeutende Myrcen (9, 10), dessen Aromanote im Bier unerwünscht ist.

Die mit Reinharzextrakt gebrauten Biere 1 und 2 sind durch ein dezentes Hopfenaroma charakterisiert. Entsprechend dem Gehalt an (R)-Linalool, der mit 4 µg/l nur knapp über dem Schwellenwert von 2,2 µg/l (1) liegt, ist die nasale Wahrnehmung der Hopfenblume bei beiden Bieren nur schwach ausgeprägt. Die Güte des

**Tabelle 9 Verkostung: die Bittere verschieden gehopfter Biere bei der Lagerung**

Bier <sup>1</sup>	frisches Bier		n. 6 Monaten		n. 12 Monaten	
	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>	Intensität <sup>2</sup>	Güte <sup>3</sup>
1	3,2	3,6	3,4	3,5	3,2	3,2
2	3,2	3,7	3,4	3,1	3,2	3,7
3	3,2	3,6	3,1	3,4	2,6	3,1
4	3,0	2,4	2,9	2,2	3,3	1,8
5	3,8	2,5	3,2	1,9	2,6	1,6

<sup>1</sup> Die Nummerierung der Biere bezieht sich auf Tabelle 3  
<sup>2</sup> Wertung von 1= sehr schwach bis 5 = sehr stark  
<sup>3</sup> Wertung von 1= unangenehm über 3 = neutral bis 5 = angenehm

Hopfenaromas liegt beim mit Ethanolextrakt gehopften Bier 2 über den gesamten Verlauf der Lagerung auf einem konstant hohen Niveau.

3.5.2 Intensität und Güte der Bittere

Die sensorische Beurteilung der Bierbittere (Tabelle 9) ergab eine nahezu gleiche Bitterintensität für alle frischen Biere, nur Bier 5 wurde als etwas bitterer beurteilt. Im Rahmen der Lagerung nahmen Intensität und Güte der Bittere vor allem bei den Bieren 3 und 5 deutlich ab. Eine eindeutige Korrelation der sensorischen Daten war jedoch weder mit den Bittereinheiten nach EBC 9.8 noch mit den Konzentrationen der Iso- $\alpha$ -Säuren gegeben.

4 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die chirale Verteilung von Linalool in Aromahopfen, ausgehend von Rohhopfen bis hin zu sämtlichen konventionellen Hopfenprodukten, annähernd stabil bei 94 % R-Linalool bleibt.

In Bier werden jedoch zum Teil deutlich niedrigere R-Linaloolgehalte gefunden. Als Ursache hierfür wird eine Racemisierung während des Brauprozesses angenommen. Der Grad der Racemisierung ist hierbei offensichtlich erheblich von der Art der Hopfung abhängig.

Bei der Bieralterung setzt sich die Racemisierung fort, während der Gesamtgehalt an Linalool konstant bleibt. Daraus resultiert ein auch sensorisch bemerkbarer Aromaverlust. Ein wesentlicher Faktor für die Umwandlung von (R)- in (S)-Linalool bei der Alterung von Bier scheint der pH-Wert zu sein.

Die Bitterstoffe unterliegen während der Bieralterung Veränderungen, die sich in einer sensorischen und analytischen Verringerung der Intensität und Güte der Bierbittere widerspiegeln.

5 Summary/Résumé

**Kaltner, D., Steinhaus, M., Mitter, W., Biendl, M., and Schieberle, P: (R)-Linalool as key flavour for hop aroma in beer and its behaviour during beer staling** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 56, No. 11/12, 192 – 196, 2003.

BC 25 Beer

Within the scope of this assignment it could be shown that the chiral distribution of Linalool in aroma hops starting with raw hops up to all conventional hop products stays almost stable at 94 % R-Linalool. In beer considerably lower amounts of R-Linalool are found. A racemisation during the brewing process is thought to be the cause. Hereby the degree

of racemisation obviously depends considerably on the type of hopping. In the course of beer staling racemisation continues with the overall amount of Linalool remaining constant. As a result a flavour loss is detectable also by organoleptic testing. A main factor for the transformation from (R)-Linalool into (S)-Linalool during beer staling may be the pH.– Bitter compounds undergo changes during beer staling that are reflected in an organoleptical and analytical decline of the intensity and quality of the beer bitterness.

**Kaltner, D., Steinhaus, M., Mitter, W., Biendl, M., and Schieberle, P: (R)-linalool en tant que composé clé pour l'arôme du houblon dans la bière et son comportement pendant le vieillissement de la bière** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 56, No. 11/12, 192 – 196, 2003.

BC 25 Bière

Dans le cadre de ce travail, on a pu montrer que la répartition chirale du R-linalool était stable à près de 94 % dans le houblon aromatique du houblon pressé, jusqu'aux produits conventionnels du houblon.– Dans la bière on a trouvé parfois des teneur en R-linalool nettement plus faibles. On suppose comme cause une racémisation pendant la production de la bière. Le degré de racémisation dépend fortement du mode de houblonnage.– Au cours du vieillissement de la bière, la racémisation se poursuit pendant que la teneur en linalool reste constante. Il en résulte une perte d'arôme appréciable par l'analyse organoleptique. La valeur du pH semble être un facteur important dans la transformation du R-linalool en S-linalool au cours du vieillissement de la bière.– Les composés amères subissent des transformations au cours du vieillissement de la bière qui se traduisent par une diminution sensorielle et analytique de l'intensité et de la qualité de l'amertume de la bière.

6 Literatur

1. Fritsch, H.: „Untersuchungen zum Hopfenaroma in Pilsner Bieren“, Dissertationsschrift, Technische Universität München, 2001.
2. Kaltner, D.: „Untersuchungen zur Ausbildung des Hopfenaromas und technologische Maßnahmen zur Erzeugung hopfenaromatischer Biere“ Dissertationsschrift, Technische Universität München, 2000.
3. Schieberle, P.: „Recent developments in methods for analysis of flavor compounds and their precursors“, in Goankar, A. (Hrsg.) „Characterization of food: emerging methods“, Elsevier, Amsterdam, S. 403-431 (Review).
4. Kaltner, D., Thum, B., Forster, C., Back, W.: „Hopfen – Untersuchungen über technologische und geschmackliche Auswirkungen im Bier“, Brauwelt, Nr. 18, 704-709, 2000.
5. Jagella, T.: „Untersuchungen über das Aroma und Fehl aroma von schwarzem und weißem Pfeffer“, Dissertationsschrift, Technische Universität München, 1999.
6. Thum, B., Back, W.: „Schonende Analysenmethoden zur Quantifizierung von Schlüsselaromastoffen in Bier“, Proc. Eur. Brew. Congr. 45-52, 1999.
7. Steinhaus, M., Fritsch, H. T., Schieberle, P.: „Quantitation of (R)- and (S)-linalool in beer using solid phase microextraction (SPME) in combination with a stable isotope dilution assay (SIDA)“, J. Agric. Food Chem., in Press.
8. Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P.: „Lehrbuch der Lebensmittelchemie“, Springer Verlag, Berlin, 5. Auflage, 2001.
9. Steinhaus, M., Schieberle, P.: „Comparison of the most odor-active compounds in fresh and dried hop cones (Humulus lupulus L. variety Spalter Select) based on GC-olfactometry and odor dilution techniques“, J. Agric. Food Chem. 48, 1776-1783, 1999.
10. Steinhaus, M.: „Wichtige Aromastoffe in Hopfen (Humulus lupulus L.)“, Dissertationsschrift, Technische Universität München, 2001.
11. Forster, A.: „Hopfen – ein natürlicher Rohstoff oder Basis für maßgeschneiderte Moleküle?“, Mitteilungen Österreichisches Getränkeinstitut, 3&4, 28-34, 1998.
12. Narziss, L.: Die Bierbrauerei – Technologie der Würzebereitung. 7. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 269 ff., 1992.
13. Analytica-EBC/European Brewery Convention. Issued by the EBC Analysis Committee Nürnberg: Carl, Getränke-Fachverlag, Grundwerk: 1998.