

A. Forster, A. Gahr, M. Ketterer, B. Beck und S. Massinger

Xanthohumol in Bier – Möglichkeiten und Grenzen einer Anreicherung

Dem Hopfenpolyphenol Xanthohumol werden positive physiologische Eigenschaften zugesprochen. Die entsprechenden Untersuchungen insbesondere an lebenden Zellen sind noch lange nicht abgeschlossen, aber trotzdem mag es interessieren, ob und ggf. wie Xanthohumol im Bier angereichert werden kann. Neben konventionellen Pellets oder Hopfentreber nach der CO₂-Extraktion gibt es bereits eigens entwickelte Xanthohumol-Extrakte, die gezielt einsetzbar sind. Einer Erhöhung der Gehalte von Xanthohumol und seinen Isomeren Isoxanthohumol in handelsüblich filtrierten Bieren sind allerdings enge Grenzen gesetzt. Deshalb unterscheiden sich z. B. untergärige Handelsbiere in den Gehalten von Xanthohumol bzw. Isoxanthohumol nur auf einem niedrigen Niveau von unter 0,1 ppm bzw. unter 1 ppm. Am Ende des gesamten Herstellprozesses von Bier findet sich in die Würze dosiertes Xanthohumol nur mit 10 – 20% relativ wieder. Soll Xanthohumol wirkungsvoll angereichert werden, empfehlen sich Dosagen mit speziellen Xanthohumol-Extrakten nach der Hauptgärung oder der Hefefiltration, wobei man allerdings mit einer Dauertrübung rechnen muss. Xanthohumol/Isoxanthohumol-gehaltvolle Biere sind folglich aus heutiger Sicht nur als Spezialitäten denkbar. Darüber hinaus können Xanthohumol-Extrakte allen Arten von trüben und leicht bitteren Getränken zugefügt werden, die ihrerseits auch die Basis von Biermischgetränken darzustellen vermögen.

BC 25 Bier

(Deskriptoren: Xanthohumol, Isoxanthohumol, Hopfen, Polyphenole, Prenylflavonoide, Physiologie).

Descriptors: Xanthohumol, isoxanthohumol, hops, polyphenols, prenylflavonoids, physiology).

Einleitung

Xanthohumol ist ein Flavonoid der Chalkongruppe und den Pflanzenpolyphenolen zuzuordnen. Bisher kann Xanthohumol nur in Hopfen gefunden werden und ist schwer zu synthetisieren. In Kulturhopfen sind Gehalte von 0,1 bis knapp über 1,0 Gew.-% nachgewiesen. Xanthohumol wandelt sich beim Würzekochen in das Flavanon Isoxanthohumol um. In normalen Bieren sind daher nur Spuren von Xanthohumol und Isoxanthohumol-Gehalte bis etwa 1,5 mg/l zu finden.

Xanthohumol ist in den letzten 5 Jahren überwiegend In-vitro-Tests unterworfen worden, die ein beachtenswertes anticarcinogenes Potential belegen. Hierüber wurde bereits umfangreich berichtet (z. B. 1 – 3). Ein jüngerer Vortrag beschreibt chemopräventive Eigenschaften von Xanthohumol auch an Organkulturmodellen (4). Die Wirksamkeit an Tieren oder Menschen ist noch nicht nachgewiesen.

Die meisten Untersuchungen deuten darauf hin, dass Xanthohumol wirksamer als Isoxanthohumol ist, wohl ein Grund dafür, dass

das noch verhaltene Interesse der Pharma-Industrie hauptsächlich dem Xanthohumol gilt.

Der vorliegende Beitrag befasst sich mit der Fragestellung, welche Möglichkeiten einer Anreicherung von Xanthohumol und Isoxanthohumol im Bier gegeben sind. Dabei sind relativ enge Grenzen durch Forderungen an die Trübungsanfälligkeit und den Nitratgehalt des Bieres gesetzt. Auch das deutsche Reinheitsgebot für Bier ist zu berücksichtigen.

Analytik von Xanthohumol und Isoxanthohumol

Zur Zeit existiert noch keine offizielle Analysenmethode zur Bestimmung von Xanthohumol und Isoxanthohumol in Hopfen/Hopfenprodukten sowie in Würze und Bier. Xanthohumol ist erheblich unpolarer als die üblichen Hopfenpolyphenole und daher quantitativ in Ethylether nach Analytica-EBC 7.7 erfassbar. Die entsprechende Lösung kann analog in eine HPLC-Anlage eingespritzt werden. Die isocratische Trennung nach EBC 7.7 liefert nur Hinweise. Es empfiehlt sich eine aufwändige Gradienten-Trennung, wie sie beispielsweise bereits beschrieben wurde (5). Zur Analytik von Würze und Bier eignet sich eine Festphasenextraktion auf PH (EC)-Säulen mit anschließender Methanol-Elution.

Xanthohumol in Hopfen

Xanthohumol ist als einziges wichtiges Polyphenol in der Lupulindrüse zusammen mit den unpolaren Bitter- und Aromastoffen angereichert. Seine Biogenese vollzieht sich demnach parallel zu den Bittersäuren. Damit nimmt Xanthohumol eine Sonderstellung unter den Polyphenolen ein. Während im allgemeinen bitter-säurenärmere Aromahopfen deutlich höhere Gehalte an niedermolekularen Polyphenolen als Bitterhopfen aufweisen (6), verhält sich Xanthohumol eher umgekehrt.

Tabelle 1 Kennzahlen für Xanthohumol (XN) in wichtigen Hopfensorten

Sorte	XN-Gehalt [Gew.-% lfr.]	Anhaltswerte für Kennzahlen		
		α : XN	$(\alpha+\beta)$: XN	XN : Nitrat
HHA	0,30	12	27	0,4
HHE	0,30	8	30	0,35
TTE	0,35	13	27	0,45
SSP	0,40	12	26	0,5
CZ-SA	0,35	10	24	0,5
HPE	0,60	12	18	0,8
HHT	0,40	15	25	0,5
HSE	0,50	10	20	0,7
HNB	0,75	10	18	1,0
HHM	0,65	19	27	1,0
HTU	1,00	15	20	1,5

Xanthohumol lässt sich damit auch parallel zu den α - und β -Säuren in lupulinangereicherten Pellets konzentrieren. Es ist in Kaltwasser kaum, in Heißwasser und damit in Würze begrenzt, dagegen gut in Ethanol löslich. In Kohlendioxid-Extrakten findet es sich nur in Spuren.

Jeweils 10 Hopfenpartien einiger wichtiger Hopfensorten der Ernten 2000 und 2001 wurden auf ihren Xanthohumol-Gehalt untersucht. Tabelle 1 enthält folgende Angaben:

- Durchschnittlicher Xanthohumol-Gehalt;
- Kennzahl „ α -Säuren : Xanthohumol-Gehalt“;
- Kennzahl „(α -plus β -Säuren) : Xanthohumol-Gehalt“;
- Kennzahl „Xanthohumol : Nitrat-Gehalt“.

Die Daten lassen sich wie folgt kommentieren:

- Bitterhopfen enthalten die höchsten Xanthohumol-Gehalte, gefolgt von den Zucht- und den klassischen Aromahopfen.
- In der Kennzahl „ α -Säuren : Xanthohumol-Gehalt“ überlappen sich die verschiedenen Sortengruppen. Niedrige Kennzahlen bedingen eine höhere Xanthohumol-Dosage parallel zu den α -Säuren. „Günstig“ liegen hier die Sorten HHE, CZ-SA, HSE und HNB, im Mittelfeld finden sich HHA, TTE, SSP, HPE, HHT und HTU. HHM bringt parallel zu den α -Säuren am wenigsten Xanthohumol in die Würze ein.
- Die Kennzahl „(α - plus β -Säuren) : Xanthohumol-Gehalt“

zeigt noch deutlicher die parallele Biogenese der Bittersäuren und des Xanthohumols.

- Der Nitratgehalt einer Hopfensorte sinkt mit dem Blattanteil der Dolde und verhält sich somit umgekehrt. Das Verhältnis „Xanthohumol : Nitrat“ ist damit bei Bitterhopfen höher und „günstiger“ als bei Aromahopfen.

Über die Auswahl der Hopfensorte lässt sich also nur in begrenztem Maße die Dosage von Xanthohumol zur Bierbereitung beeinflussen, insbesondere wenn der Nitratreintrag berücksichtigt wird.

Neben anderen Polyphenolen reagiert auch Xanthohumol auf den Parameter Anbaugbiet (6). Ein Vergleich zweier Hopfensorten in den Anbaugebieten USA und Hallertau in Tabelle 2 zeigt die Konfidenzintervalle von Xanthohumol. Die in der Hallertau geernteten Hopfen der Sorten Perle und Nugget weisen statistisch abgesichert höhere Xanthohumol-Gehalte auf als die in den USA angebauten gleichen Sorten.

Xanthohumol im Brauprozess – Stand des Wissens

1998 entstand eine erste Stufenkontrolle zum Verhalten von Xanthohumol bei der Bierbereitung (7). Tabelle 3 zeigt die damaligen Ergebnisse. Auch wenn Ausscheidungsvorgänge in einer Pilotbrauerei intensiver ablaufen, ist das Resultat eher enttäuschend:

Tabelle 3 Stufenkontrollen von Xanthohumol (XN) und Iso-Xanthohumol (IX) beim Brauprozess

	Xanthohumol [mg/l]	Iso-Xanthohumol [mg/l]	Ausbeute an XN und IX [% rel.]
Dosage	5,0	–	100
Würze	0,4	1,6	40
Jungbier	0,2	1,3	30
Bier vor Filtration	0,1	0,8	18
Bier nach Filtration	0,05	0,75	16
Bier nach PVPP	Spur	0,5	10

- Die Ausbeuten an Xanthohumol und Isoxanthohumol liegen deutlich niedriger als an α - bzw. Iso- α -Säuren.
- Die Ausscheidung über Hefe, Trub und Filterhilfsmittel ist beträchtlich.
- Lediglich etwa 10% des dosierten Xanthohumol konnten als Isoxanthohumol wiedergefunden werden.

Tabelle 2 Einfluss des Anbaugbietes auf den Xanthohumolgehalt

	Konfidenzintervalle von Xanthohumol [Werte in g/100g]					
	1996		1997		1998	
	US	HAL	US	HAL	US	HAL
Nugget	0,48 – 0,50	0,53 – 0,56	0,46 – 0,49	0,61 – 0,63	0,68 – 0,75	0,87 – 0,91
Perle	0,30 – 0,33	0,44 – 0,46	0,28 – 0,31	0,46 – 0,50	0,35 – 0,52	0,63 – 0,66

Eine jüngste Datenerfassung von 30 verschiedenen untergärigen Bieren ergab folgende Gehalte in mg/l:

	Xanthohumol	Isoxanthohumol
Höchster Wert mg/l	0,15	1,26
Niedrigster Wert mg/l	n.n.	n.n.
Durchschnitt mg/l	0,03	0,63

Xanthohumol-angereicherte Produkte

Vergegenwärtigt man sich, dass mit z. B. 100 mg α -Säuren/l Würze maximal 10 mg Xanthohumol dosiert werden können, erhellt, warum bei etwa 10% Ausbeute nur um 1 mg Xanthohumol plus Isoxanthohumol pro Liter Bier resultieren können. Eine Anreicherung von Xanthohumol, bzw. Isoxanthohumol in Bier geht mit der Frage nach einem möglichst von anderen Hopfeninhaltsstoffen unabhängigen Hopfenprodukt einher. Hier deuten sich verschiedene Lösungsansätze an.

Beispielsweise kann ein Xanthohumol-haltiger Ethanol-Extrakt mit überkritischem CO₂ von seinen Aromastoffen und den Weichharzen befreit werden. Zurück bleibt ein Gemisch aus Hartharz und Xanthohumol (8). Zur technischen Durchführung des Prozesses ist der Einsatz von Kieselgur empfohlen. Das Produkt besteht zu 80% aus Kieselgur, ca. 20% Hartharz sowie 1,8% Xanthohumol und lässt sich in heiße Würze dosieren (9).

Ein anderer Weg stellt die Extraktion eines Ausgangsproduktes mit Ethanol bzw. Ethanol-Wassergemischen dar. Als derzeit geeignete Quelle stehen die Hopfenrückstände nach einer üblichen CO₂-Extraktion zur Verfügung. Besonders die Sorte Taurus mit ihrem hohen Xanthohumol-Gehalt und einem günstigen Verhältnis Xanthohumol : Nitrat bietet sich für Folgeextraktionen an. Ein entsprechender Extrakt kann bis zur Zähflüssigkeit eingeeengt werden. Noch einfacher für alle Einsatzfälle in der Lebensmittelindustrie ist ein sprühgetrocknetes, pulverförmiges Produkt ohne Trägermaterial. Für einen derartigen Trockenextrakt sind außer Ethanol und Wasser keine Hilfsstoffe erforderlich.

Tabelle 4 zeigt einige Beispiele für derartige Produkte. Je nach angewandter Technologie lässt sich das Nitrat weitgehend abreiichern. Das Verhältnis von Xanthohumol : Nitrat in Höhe von 1,5 im Ausgangsstoff kann auf über 20 angehoben werden. Die Herstellung orientiert sich an einer Patentanmeldung (10). Ein derartiges Xanthohumol-angereichertes Produkt ist nicht auf den Einsatz in Bier beschränkt, sondern eignet sich auch für andere Applikationen.

Vorversuche zur Anreicherung von Xanthohumol und Isoxanthohumol in Bier

In Vorversuchen wurde geklärt, wo etwa die Grenzen der Xanthohumol-Dosagen liegen könnten. Ein intensiv (72 Stunden bei 20 °C) mit 15,3 mg/l Xanthohumol geschütteltes Bier weist nach einfachem Zentrifugieren noch 2,8 mg/l Xanthohumol auf. Kocht man alternativ Würze, beispielsweise 30 min. mit einem Xanthohumol-Produkt, ergeben sich in der kalten Würze und im Endvergärungsansatz Gehalte gemäß Tabelle 5. In einem weiteren Vorversuch wurde bei maximaler Dosage eine Stufenkontrolle in der Forschungsbrauerei St. Johann vorgenommen. Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse. Die Ausbeuten an Xanthohumol und Isoxanthohumol liegen bei ca. 3% relativ.

In allen Vorversuchen zeichnet sich eine maximale Löslichkeit von ca. 3 mg Xanthohumol und 7 mg Isoxanthohumol pro Liter zentrifugiertem Bier ab.

Tabelle 4 Beispiele für pulverförmige Xanthohumol-Produkte

	XN [Gew.-%]	IX [Gew.-%]	Nitrat [Gew.-%]	(XN+IX) : Nitrat
Ausgangsprodukt (HTU-Treber)	1,05	nn	0,70	1,5
Produkt Charge 01	5,06	1,56	1,85	3,6
Produkt Charge 02	10,60	0,65	0,72	15,6
Produkt Charge 03	11,00	1,25	0,50	24,5

Tabelle 5 Vorversuch zur Löslichkeit von Xanthohumol / Iso-Xanthohumol

Kochen eines Xanthohumol-Produktes in Würze			
		Xanthohumol	Iso-Xanthohumol
Dosage	[mg/l]	27,8	8,0
Würze*	[mg/l]	6,1	8,1
Endvergorene Würze*	[mg/l]	2,9	6,2

*) Proben zentrifugiert

Tabelle 6 Vorversuch zu einer Stufenkontrolle von Xanthohumol und Iso-Xanthohumol

	Xanthohumol [mg/l]	Iso-Xanthohumol [mg/l]	XN + IX [mg/l]
Dosage Pellets	12,6	–	12,6
Dosage XN-Produkt	216,8	61,2	278,0
Summe der Dosagen	229,4	61,2	290,6
Ausschlagwürze	35,6	25,0	60,6
Jungbier zentrifugiert	11,0	17,5	28,5
Lagertankbier zentrifugiert	3,0	8,6	11,6
Bier moderat filtriert	1,3	6,4	7,7
Bier normal filtriert	1,0	5,6	6,6

Hauptversuche

Material und Methodik

Alle Brauversuche wurden in der Forschungsbrauerei St. Johann mit einer Ausschlagmenge von 200 Litern durchgeführt (11). Einem Standardinfusionsverfahren für helles Vollbier folgte eine 75-minütige Kochung mit bis zu 3 Hopfenproduktgaben, eine konventionelle Gärung bei 9 °C sowie nach Diacetylrastr und Schlauchreife eine 3-wöchige kalte Reifung bei 0 °C. Der Kieselgurfiltration schloss sich nur eine Sterilfiltration an.

Tabelle 7 zeigt die Charakteristika der eingesetzten Hopfenprodukte. Der CO₂-Extrakt diente zur Bitterung des Nullbieres oder zur Grundbittere beim Einsatz Xanthohumol-reicher Produkte. Als konventionelle Xanthohumol-haltige Produkte gelten der Ethanol-Extrakt (Sorte HNB) sowie lupulinangereicherte Pellets Typ 45 (Sorte SSE). Die Anreicherung des Xanthohumols entsprach der der α -Säuren. Als natürliche Xanthohumol-Quelle dienten CO₂-Extraktionsrückstände der Sorte HTU. Ferner wurde ein Xanthohumol-Produkt der Charge 01 (siehe Tabelle 4) verwandt. Der im Vergleich zu anderen Chargen hohe Nitratgehalt sollte zur Stufenkontrolle des Nitrates im Bier beitragen. Man bediente sich der folgenden Analysemethoden:

- α-Säuren nach Analytica EBC 7.7;
- Iso-α-Säuren nach Analytica EBC 7.8;
- Xanthohumol und Isoxanthohumol, Lösetechnik nach Analytica EBC 7.7, Gradienten-HPLC gemäß (5);
- Gesamtpolyphenole in Anlehnung an Jerumanis (12);
- Nitrat, HPLC-Methode veröffentlicht im Auftrag der AHA (13).

Hauptziel der Versuchsanstellung war es, ungeachtet von Bierbittere, Sensorik, chemisch-physikalischer Stabilität und anderen üblichen Qualitätsparametern eine möglichst große Menge an Xanthohumol zu applizieren, also gerade nicht „normal“ vorzugehen. Neben einer Zugabe zur heissen Würze wurden auch Dosagen im Kaltbereich beim Schlauchen, vor und nach der Filtration erprobt.

Tabelle 8 gibt die Versuchsanstellungen wieder. Es wurden folgende Parameter variiert:

- Produktart;

- Dosierte Mengen an Xanthohumol/Isoxanthohumol;
- Dosagezeitpunkt des Xanthohumol-Trägers (HTU-Treber/Xanthohumol-Produkt) bei Kochbeginn (KB), Kochmitte (KM), Kochende (KE);
- Würze pH über Zugabe von Milchsäure oder Ca (OH)₂;
- Dosage des Xanthohumol-Produktes als alkoholische Lösung beim Schlauchen, vor und nach der Filtration in den Bierstrom über ein Dosagekit, wie er für isomerisierte Extrakte Verwendung findet.

CO₂- und Ethanolextrakt gelangten zu Kochbeginn in die Würze. Die Pellets Typ 45 wurden zusammen mit den Trebern auf 3 gleiche Gaben verteilt.

Versuchsergebnisse

Tabelle 9 zeigt die allgemeinen Bieranalysen Stammwürze, Alkohol, pH und Farbe. Das pH der Normalbiere bewegt sich zwischen

Tabelle 7 Charakteristik der eingesetzten Hopfenprodukte (alle Werte in Gew.-%)

	α-Säuren [EBC 7.7] Gew.-%	Iso-α-Säuren [EBC 7.8] Gew.-%	XN Gew.-%	IX Gew.-%	Gesamtpolyphenole Gew.-%	Nitrat Gew.-%	α + Iso-α XN + IX
CO ₂ -Extrakt HNB	46,5	nn	nn	nn	nn	nn	–
Ethanol-Extrakt HNB	34,3	3,6	2,1	0,4	0,20	0,04	15,2
Pellets Typ 45 SSE	6,8	nn	0,78	nn	8,7	0,76	8,7
CO ₂ -Extraktionsrückstand HTU	0,4	nn	0,95	nn	5,3	0,70	0,4
XN-Produkt Charge 01	nn	1,5	5,1	1,6	13,0	1,85	0,2

Tabelle 8 Versuchsanordnung mit Hopfenprodukten, Anzahl der Hopfengaben, Würze-pH und dosierte Mengen an Xanthohumol und Iso-Xanthohumol

Nr.	Hopfenprodukt(e)	Gabe(n)	Würze-pH	Xanthohumol u. Iso-Xanthohumol [mg/l]
1	CO ₂ - Extrakt	1	5,25	0
2	Ethanol-Extrakt	1	5,18	5,9
3	CO ₂ - Extrakt und Treber	1	5,19	50
4	CO ₂ - Extrakt und Treber	3	5,20	50
5	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	3	5,15	66
6	Pellets Typ 45 und Treber	3	5,15	45
7	CO ₂ - Extrakt und Treber	1	5,75 (erhöht)	50
8	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	3	6,12 (erhöht)	66
9	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	Schlauchen	5,25	10
10	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	vor Filtration	5,20	15
11	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	nach Filtration	5,20	8
12	Ethanol und XN-Produkt	nach Filtration	5,18	5,9 + 2,5

Tabelle 9 Allgemeine Bieranalysen

Nr.	Hopfenprodukt(e)	pH	Farbe [EBC]	BU	Gesamt-Polyph. [mg/l]	Nitrat [mg/l]
1	„Nullsud“	4,68	5,6	27	171	4
2	„Ethanol-Extrakt“	4,53	5,6	27	164	4
3	„Treber, 1 Gabe“	4,54	6,9	44	245	47
4	„Treber, 3 Gaben“	4,59	7,0	40	240	47
5	„XN-Produkt, 3 Gaben“	4,51	7,5	35	183	22
6	„Pellets + Treber, 3 Gaben“	4,56	6,7	35	252	50
7	„Würze pH ↑, Treber“	4,77	7,6	48	241	49
8	„Würze pH ↑↑, XN-Produkt“	4,99	9,7	45	184	24
9	„Dosage beim Schlauchen“	4,56	5,9	32	173	6
10	„Dosage in unfiltriertes Bier“	4,52	5,8	28	170	6
11	„Dosage in filtriertes Bier“	4,54	6,0	30	174	5
12	„Dosage in filtriertes Bier“	4,51	6,3	29	173	4

4,5 und 4,6, die pH-Erhöhung schlägt bei Sud 7 mit pH 4,77 und bei Sud 8 mit pH 4,99 durch. Die hohen Dosagen an HTU-Trebern und Xanthohumol-Produkt bewirken moderate Farbzunahmen um ca. eine EBC-Einheit. Die Farben bei den Bieren mit hohem pH fallen deutlich dunkler aus.

Tabelle 10 enthält die wichtigsten Informationen zur Bierbittere in Form der Bittereinheiten (EBC 9.8), sowie der Iso- α - und α -Säuren. Die letzte Spalte enthält den Faktor „spezifische α -plus Iso- α -Säuren zu Bittereinheiten“. Mit den Xanthohumol-Trägern werden Substanzen in die Würze dosiert, die mit der unspezifischen Bittereinheitenmethode (Messung bei 275 nm) eine Absorption im UV-Bereich bewirken. Diese Erscheinung ist bei den komplexen HTU-Trebern ausgeprägter, als bei dem selektiveren Xanthohumol-Produkt. In Tabelle 10 blieben die Sude mit einer kalten Xanthohumol-Dosage unberücksichtigt, da die vergleichsweise geringen Mengen keine Messwertänderungen bei den Bitterstoffanalysen zeigten.

Es ist ungewiss, ob die unselektive Gesamtpolyphenolanalyse in Würze und Bier nach Analytica-EBC 9.11 Xanthohumol und

Isoxanthohumol miterfasst. Einige der Würzen und Biere wurden daher auf ihre Polyphenolaten untersucht. Neben der EBC-Färbemethode setzten wir eine HPLC-DAD-Analytik ein (6). Die Probenaufbereitung von Würze und Bier erfolgte über eine Festphasenextraktion an einer PA-Kartusche. Nach Aufgabe von 10 ml Bier werden die niedermolekularen Polyphenole mit 0,25%iger NH_3/MeOH Lösung eluiert. Die Lösung wird eingengt, membranfiltriert und injiziert. Tabelle 11 enthält die Werte der unspezifischen Färbemethode und die Summe aller mit dieser Methode erfassbaren niedermolekularen Polyphenole ohne Xanthohumol und Isoxanthohumol für einige ausgesuchten Würzen und Biere. Die Gesamtpolyphenolwerte lagen bei 170 ± 10 mg/l, die der niedermolekularen Polyphenole bei 70 ± 5 mg/l.

Mit dem Xanthohumol-Produkt werden neben Xanthohumol und Isoxanthohumol auch andere Polyphenole dosiert, was die etwa 12% höheren Gehalte gegenüber den Hopfenpolyphenol-freien Bieren belegen. Mit den HTU-Trebern ergibt sich ein Anstieg um ca. 30%, beim Einsatz von Pellets Typ 45 kombiniert mit den HTU-Trebern resultieren etwa 50% höhere Werte.

Tabelle 10 Bittereinheiten und spezifische Bittersäuren im Bier

Nr.	Hopfenprodukt(e)	IBU [EBC]	Iso- α [mg/l]	α [mg/l]	<u>Iso-α + α</u> IBU
1	„Nullsud“	27	28,5	2,1	1,13
2	„Ethanol-Extrakt“	27	28,5	1,5	1,11
3	„Treber, 1 Gabe“	44	21,0	2,9	0,54
5	„XN-Produkt, 3 Gaben“	35	26,7	1,9	0,82
4	„Treber, 3 Gaben“	40	20,8	3,1	0,60
6	„Pellets + Treber, 3 Gaben“	35	21,1	2,9	0,69
7	„Würze pH ↑, Treber“	48	24,9	4,0	0,60
8	„Würze pH ↑↑, XN-Produkt“	45	32,3	3,7	0,80

Tabelle 11 Gehalte an niedermolekularen HPLC-Polyphenolen und Gesamtpolyphenolen nach EBC 9.11 in den Bieren

Nr.	Produktart	Gesamtpolyphenole		Niedermolekulare Polyphenole (HPLC)	
		[mg/l]		[mg/l]	
		Ausschlagwürze	Bier	Ausschlagwürze	Bier
1	CO ₂ - Extrakt	170	170	80	59
2	Ethanol-Extrakt	175	165	76	57
3	CO ₂ - Extrakt und Treber	330	240	95	75
4	CO ₂ - Extrakt und Treber	320	245	97	74
5	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt	240	180	81	65
6	Pellets Typ 45 und Treber	350	250	99	86

Tabelle 12 Xanthohumol- und Iso-Xanthohumol-Werte in den fertigen Bieren und Wiederfindungsraten in % relativ gegenüber den Dosagen

Nr.	Produktart	XN	IX	XN u. IX	Wiederfindung
		[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[% rel.]
1	CO ₂ - Extrakt	< 0,1	0,1	0,1	Eintrag durch Hefe
2	Ethanol-Extrakt	< 0,1	0,6	0,6	10
3	CO ₂ - Extrakt und Treber 1 x	< 0,1	2,0	2,0	4
4	CO ₂ - Extrakt und Treber 3 x	0,1	1,6	1,7	3
5	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt 3 x	0,1	4,1	4,2	6
6	Pellets Typ 45 und Treber 3 x	0,1	4,5	4,6	7
7	CO ₂ - Extrakt und Treber (pH ↑)	0,1	4,5	4,6	9
8	CO ₂ - Extrakt und Treber (pH ↑)	0,1	4,6	4,7	7
9	CO ₂ -Extrakt und XN-Produkt beim Schlauchen	0,1	0,9	1,0	10
10	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt vor Filtration	0,7	0,9	1,6	11
11	CO ₂ - Extrakt und XN-Produkt nach Filtration	3,5	2,1	5,6	70
12	Ethanol-Extrakt und XN-Produkt nach Filtration	1,4	1,3	2,7	10 + 84

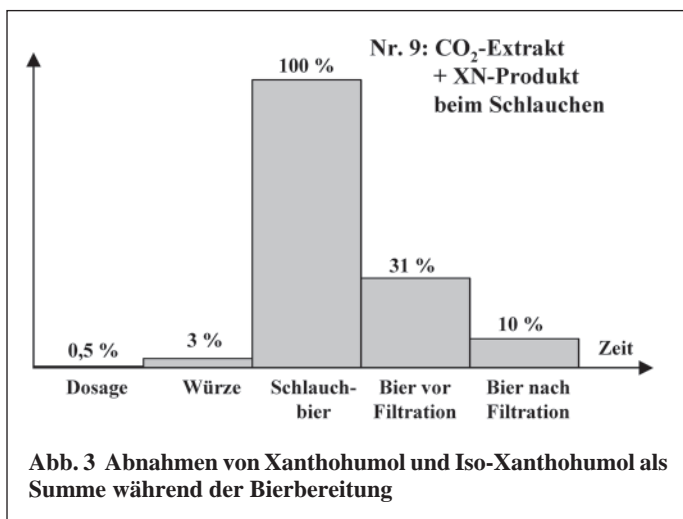
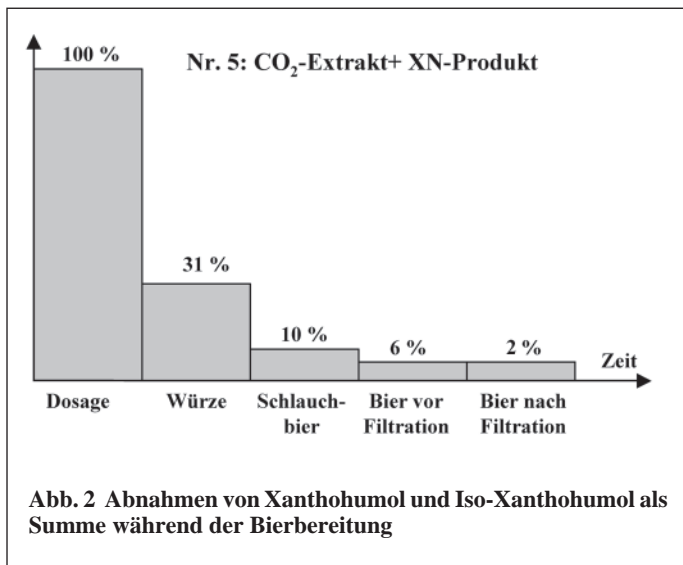
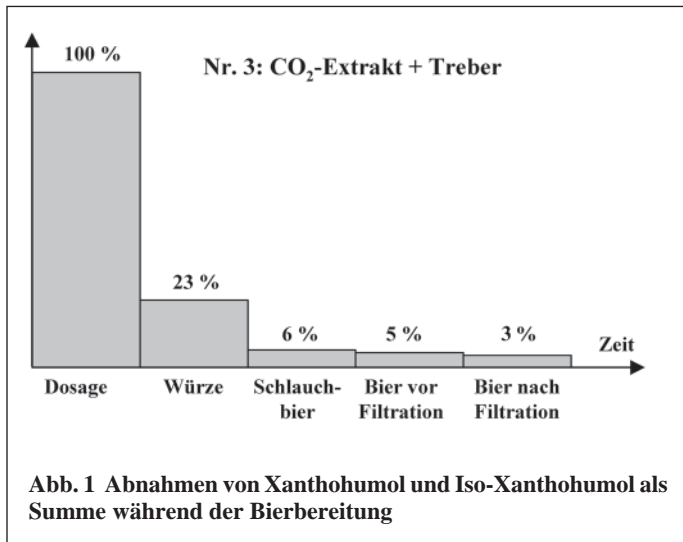
In Tabelle 12 sind die Gehalte an Xanthohumol und Isoxanthohumol in den fertigen Bieren zusammengestellt. Die letzte Spalte ist als Gesamtwiederfindung (% relativ), im Bier bezogen auf die dosierte Summe der beiden Substanzen, zu verstehen. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Wiederfindungsraten in den Bieren sinken mit steigenden Dosagen von ca. 10% auf etwa 5% relativ.
- Insbesondere Xanthohumol lässt sich in „Normalbieren“ nicht wirkungsvoll anreichern.
- Ein höheres Würze-pH führt tendenziell zu einer geringfügig höheren Wiederfindungsrate.
- Eine Dosage von Xanthohumol zum Schlauchen verbessert zwar die Ausbeute etwas, aber die Ausscheidung ist während der Lagerung und Filtration immer noch beträchtlich.

- Auch eine übliche Kieselgur- und Sterilfiltration nimmt mehr als 90% des dosierten Xanthohumol heraus. Für Isoxanthohumol ergibt sich eine Ausbeute von ca. 30%.
- Lediglich eine Dosage von Isoxanthohumol und besonders Xanthohumol nach der Filtration ins fertige Bier scheint eine sinnvolle Anreicherung zu versprechen.

Die Abbildungen 1 bis 3 verdeutlichen anhand einiger Beispiele die Verluste auf dem Bierbereitungsweg.

Es muss noch auf zwei wichtige Aspekte verwiesen werden: Die chemisch-physikalische Stabilität der Biere leidet auch bei einer Dosage von Xanthohumol-Trägern in die Würze ganz erheblich. Die Warmtage bei einer Treberzugabe verringerten sich auf etwa ein Drittel, beim Xanthohumol-Produkt auf die Hälfte. Dies dürfte u. a. mit dem Zusatz von trübungsaktiven Polyphenolen zusammenhängen.



In Tabelle 13 finden sich die Nitratangaben. Ohne Nitrat aus dem Bereich Hopfen ergab sich ein Wert von 5 mg/l Nitrat im Bier. Die Tabelle enthält die mit den jeweiligen Hopfenprodukten dosierten Nitratmengen sowie die Analysenzahlen abzüglich der 5 mg/l als Nullwert. Es muss davon ausgegangen werden, dass mit Hopfen dosiertes Nitrat sich quantitativ im Bier niederschlägt. Dieser

Tabelle 13 Entwicklung des Nitrates (Der Nullsud enthält 5 mg/l Nitrat aus Malz und Wasser)

Nr.	Hopfenprodukt(e)	Mit Hopfen dosierte Menge [mg/l]	Wiedergefundene Menge abzgl. 5 mg/l [mg/l]
3	„Treber, 1 Gabe“	37	40
5	„XN-Produkt, 3 Gaben“	19	17
4	„Treber, 3 Gaben“	37	40
6	„Pellets + Treber, 3 Gaben“	38	37
7	„Würze pH ↑, Treber“	37	40
8	„Würze pH -↑, XN-Produkt“	19	17
∅		32	32

Faktor ist bei allen Überlegungen zu berücksichtigen, wobei die deutlich Nitrat-reduzierten Xanthohumol-Produkte klare Vorteile bringen.

In Tabelle 14 sind die Verkostungsergebnisse dargestellt. Die sensorische Bittere wurde nach den Iso-α-Säuren bewertet. Sud 3, 4, 6 und 7 wurden dem 11-köpfigen Panel als Vollbiere präsentiert, der Rest als Pilsener. Die Benotung erfolgte nach dem DLG-Schema. Die Resultate lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Der Zusatz auch grosser Hopfentrebemengen verlieh den Bieren eine fruchtig-hopfenaromatische Note, die von den Verkostern in ihrer Qualität unterschiedlich beurteilt wurde.
- Am besten schnitt das Bier 6 (Pellets Typ 45 und Treber) ab.
- Das dosierte Xanthohumol-Produkt wurde zwar von den Verkostern unterschiedlich bewertet, führte aber in keiner Dosisform (heiß oder kalt) zu einer negativen oder gar fremdartigen Bewertung.
- Am schlechtesten wurden die Biere mit den erhöhten Würze-pH-Werten beurteilt. Neben einer härteren Bittere fiel eine unangenehme, hefige Note auf.

Tabelle 14 Verkostungsergebnisse

Nr.	Hopfenprodukt(e)	Charakterisierung	Benotung nach DLG
1	„Nullsud“	rein	4,2
2	„Ethanol-extrakt“	Spur schweflig-hefig	4,1
3	„Treber, 1 Gabe“	hopfenaromatisch	3,9
4	„Treber, 3 Gaben“	hopfenaromatisch	4,0
5	„XN-Produkt, 3 Gaben“	rein	4,0
6	„Pellets + Treber, 3 Gaben“	angenehm hopfenaromatisch	4,2
7	„Würze pH ↑, Treber“	estrig, leicht hefig	3,9
8	„Würze pH ↑↑, XN-Produkt“	unangenehm hefig	3,6
9	„Dosage beim Schlauchen“	rein	4,2
10	„Dosage in unfiltriertes Bier“	rein	4,1
11	„Dosage in filtriertes Bier“	rein, etwas bitterer	3,9
12	„Dosage in filtriertes Bier“	Spur schweflig-hefig	4,0

Nr.	Hopfenprodukt(e)	Linalool [$\mu\text{g/l}$]
1	„Nullsud“	< 3
2	„Ethanolextrakt“	< 3
3	„Treber, 1 Gabe“	10
5	„XN-Produkt, 3 Gaben“	< 3
4	„Treber, 3 Gaben“	12
6	„Pellets + Treber, 3 Gaben“	18

Tabelle 15 zeigt noch die Linalool-Daten einiger Biere. Die von Goldstein (14) publizierten Beobachtungen über glycosidisch gebundenes Linalool bestätigen sich. Obwohl die HTU-Treber kein freies Linalool enthielten, war ein deutlicher Anstieg in den entsprechenden Bieren zu verzeichnen. Das Xanthohumol-Produkt ist dagegen frei von Linalool-Glycosiden.

Direkte Dosage von Xanthohumol ins Bier

Um das Trübungsverhalten besser einordnen zu können, wurde fertigen Flaschenbieren in drei Abstufungen Xanthohumol-haltige alkoholische Lösungen zupipettiert. Die Biere waren ein helles Lagerbier, ein hefetrübes Weizenbier und ein Kristallweizenbier. Die dosierten Mengen entsprachen 3, 10 und 30 mg/l Xanthohumol. Außerdem wurde Xanthohumol als 95%ige Reinsubstanz in einer Konzentration von 3 mg/l eingesetzt. Die Biere wurden bei 8 °C, 18 °C und 28 °C über eine Zeit von 6 Wochen gelagert. Einmal wöchentlich wurde die Trübung in EBC-Trübungseinheiten gemessen.

Setzt man den Bieren 3 mg/l Xanthohumol als Reinsubstanz zu, ergeben sich keine relevanten Trübungszunahmen. Xanthohumol selbst scheint als nicht direkt trübungsaktiv zu wirken.

Mit dem Xanthohumol-Produkt werden dagegen auch in bedeutendem Umfang trübungsaktive Polyphenole dosiert. Die Abbildungen 4 – 6 illustrieren den Trübungsverlauf der drei Biere bei einer Dosage von 3 mg/l.

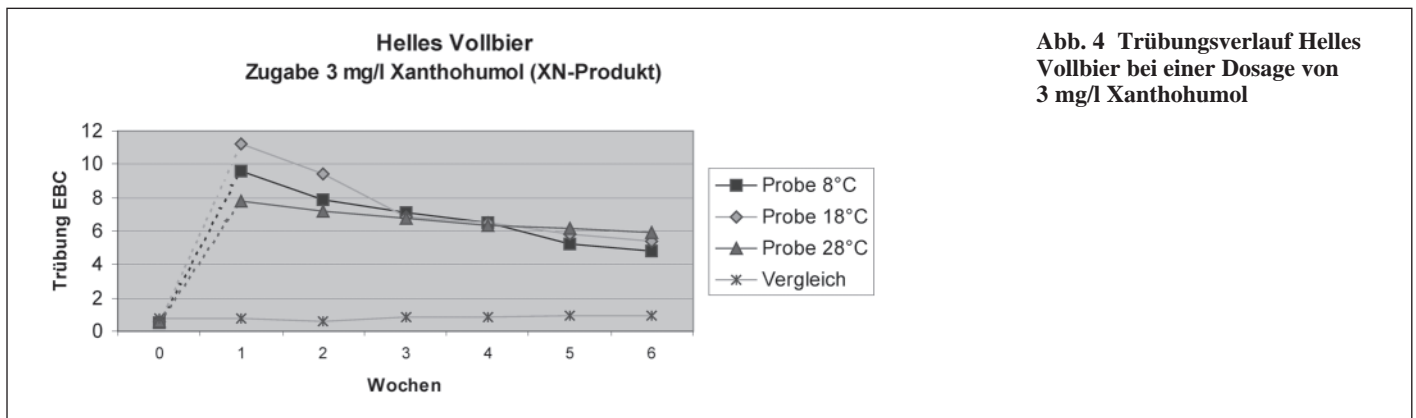


Abb. 4 Trübungsverlauf Helles Vollbier bei einer Dosage von 3 mg/l Xanthohumol

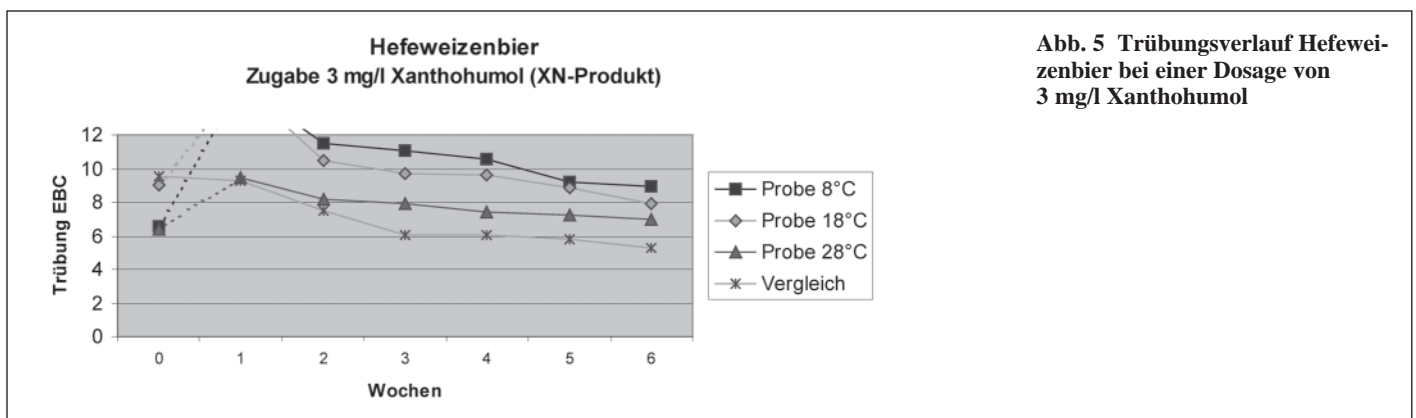


Abb. 5 Trübungsverlauf Hefeweizenbier bei einer Dosage von 3 mg/l Xanthohumol

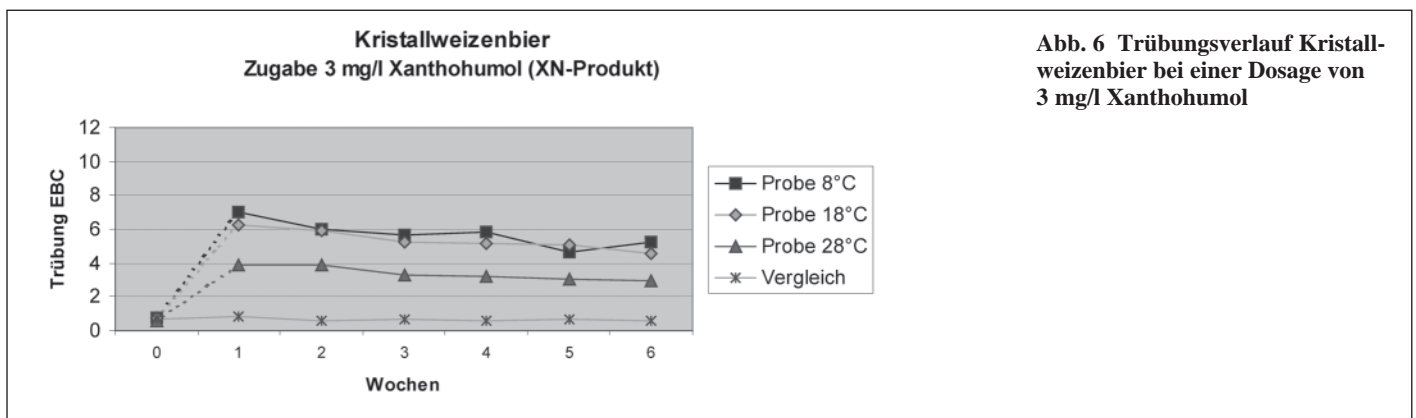


Abb. 6 Trübungsverlauf Kristallweizenbier bei einer Dosage von 3 mg/l Xanthohumol

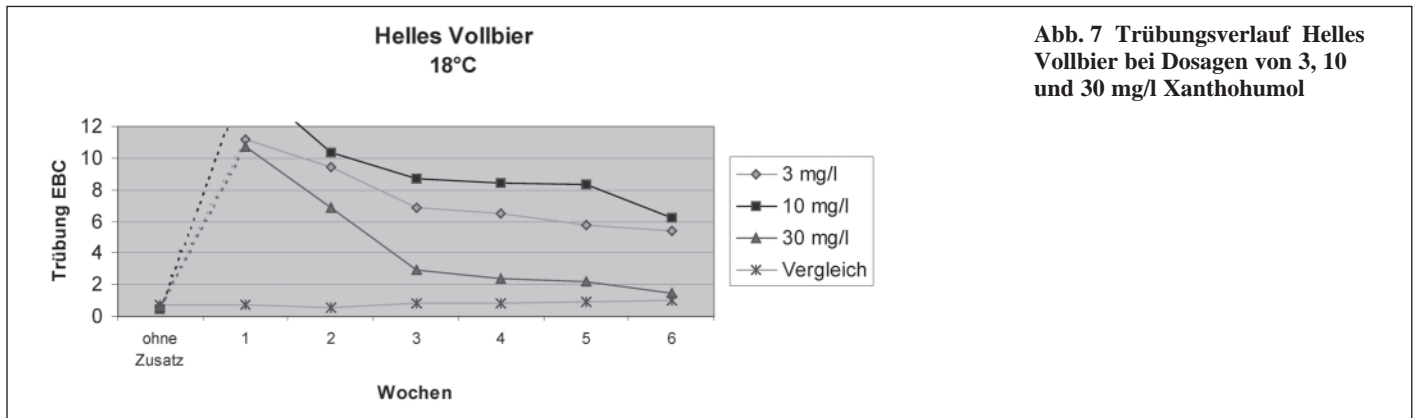


Abb. 7 Trübungsverlauf Helles Vollbier bei Dosagen von 3, 10 und 30 mg/l Xanthohumol

Das helle Vollbier (Abb. 7) entwickelte unmittelbar nach der Zugabe von 30 mg/l Xanthohumol eine starke Trübung. Bereits nach einer Woche hatte sich ein deutlicher Bodensatz in der Flasche gebildet und das Bier klarte danach aus. Die Weizenbiere, klar und hefetrib, zeigten bei Dosagen von 10 und 30 mg/l trotz der Bildung von Bodensätzen stabile Dauertrübungen über 12 EBC-Einheiten.

Durch die Zugabe des Xanthohumolproduktes wurden im Anwendungsbereich von 3 bis 10 mg/l Xanthohumol in klaren Bieren dauerhafte Trübungen verursacht, im Hefeweizenbier die Trübung verstärkt. Die Dosage von 30 mg/l bewirkte im hellen Vollbier zunächst eine starke Trübung, dann aber bei allen Lager-temperaturen ein Ausklaren des Bieres bei gleichzeitiger Bildung eines Bodensatzes.

Verhalten von Xanthohumol bei der Alterung von Bier

Altert man Bier, stellt man überraschenderweise eine Isomerisierung von Xanthohumol zu Isoxanthohumol fest. Diese beträgt bei 3 mg/l Xanthohumol etwa 12% relativ nach 7 Wochen Lagerung bei 12 °C und immerhin knapp 50% bei 28 °C. Über eine allerdings deutlich niedrigere Isomerisierung von Rest- α -Säuren zu Iso- α -Säuren in gealtertem Bier wurde bereits berichtet (15).

Orientierende Versuche zum Einfluss der Pasteurisation zeigen bei 30 bis 40 Pasteur-Einheiten eine zusätzliche Isomerisierung von Xanthohumol in der Höhe von 3 bis 5% relativ.

Schlussfolgerungen

Einer wirkungsvollen Dosage von Xanthohumol im Würzebereich sind durch die geringen Ausbeuten Grenzen gesetzt. Während bei normal gehopften untergärigen Bieren Wiederfindungsraten zwischen 10 und 20% üblich sind, verringern sich diese mit gezielt hohen Dosagen. Aus Sicht der vorliegenden Versuche lassen sich normale untergärige Biere auch mit hohen Hopfengaben nur schwer auf deutlich erhöhte Isoxanthohumol- oder Xanthohumol-Werte trimmen. Die meisten dieser Bemühungen sind mit Nebenwirkungen, z. B. hohe Nitratwerte oder Trübungsneigung verbunden. Eine pH-Erhöhung der Würze bringt geringfügig bessere Ausbeuten bei negativen Auswirkungen auf die Sensorik. Unter diesen Aspekten leitet sich eine gewisse Skepsis gegenüber einer Aussage von Walker (16) ab:

„Einer der höchsten Antioxidantien-Spiegel in einem handelsüblichen Bier lag bei 0,69 mg/l Xanthohumol. Diese Konzentrationen sind möglicherweise zu niedrig, um einen positiven Einfluss auf die Gesundheit zu nehmen, aber eine

wohlüberlegte Auswahl der Hopfenprodukte und Hopfungsmethoden bieten den Handlungsspielraum, um den Gehalt dieser nützlichen Inhaltsstoffe im Bier zu erhöhen“.

Eine Dosage von Xanthohumol im kalten Bereich erscheint dagegen erfolgreicher, wenn die Trübungsneigung der Biere akzeptiert wird. Will man Xanthohumol im Bier wirkungsvoll anreichern, provoziert man gleichzeitig eine Trübung. Geeignete Xanthohumol-angereicherte Hopfenprodukte – pastös oder trocken – teilweise mit stark reduziertem Nitratgehalt und einer lebensmittelrechtlich unbedenklichen Herstellung (keine Zusatzstoffe, außer Wasser und Ethanol) existieren. Biere mit beispielsweise einem 10fach höheren Niveau an Xanthohumol und Isoxanthohumol sind so realisierbar.

Ganz bewusst wurde in diesem Beitrag die Anreicherung von Xanthohumol und Isoxanthohumol in trüben, unter- oder obergärigen Bieren mit gestoppter Gärung ausgeklammert. Hierzu laufen Versuche am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I in Weihenstephan.

Ein Xanthohumol-Produkt kann im Übrigen in viele trübe und leicht bittere Getränke appliziert werden. Diese können für sich beispielsweise als „Wellnessgetränke“ existieren oder auch einem Biermischgetränk zugefügt werden. Der Phantasie sind hier keine Grenzen gesetzt, solange die beiden Faktoren „Trübung“ und „leichte Bittere“ berücksichtigt bleiben. Anreicherungen durch eine direkte Dosage, ähnlich der im filtrierten Bier, auf ein Vielfaches der Werte in traditionellem Bier sind darstellbar. Ein direkter Zusatz ist auch nicht mit nennenswerten Verlusten verbunden und damit erheblich wirtschaftlicher. Eine separate Herstellung eines Xanthohumol-Produktes z.B. aus CO₂-Extraktionsrückständen resultiert immerhin in Kosten von 1000 bis 2000 Euro pro kg reines Xanthohumol.

Summary

Forster, A., Gahr, A., Ketterer, M., Beck, B., and Massinger, S.: Xanthohumol in beer-possibilities and limitations of enrichment – Monatsschrift für Brauwissenschaft 55, No 9/10, 184 – 194, 2002

BC 25 Beer

Xanthohumol, a polyphenol of hops, is said to have positive physiological properties. Adequate research particularly on living cells has not been completed for a long time yet, but it still might be of interest, if and how xanthohumol may be enriched in beer. Besides conventional pellets or spent hops after CO₂- extraction there are already especially developed xanthohumol extracts available, which may be specifically used. However, there are limits to elevation of xanthohumol levels and its isomer isoxanthohumol in commercially filtered beers. Thus, xanthohumol and

respectively isoxanthohumul levels in, for example bottom fermented commercial beers, differ on a low scale from less than 0.1 ppm or rather less than 1 ppm. At the end of the production process of beer there can only 10–20% rel. be found of the amount of xanthohumul that has been spiked to wort. If xanthohumul is supposed to be enriched effectively a dosage with special xanthohumul extracts after fermentation or yeast filtration is recommended, whereas a constant turbidity has to be anticipated. Thus, beers rich in xanthohumul/isoxanthohumul are currently only imaginable as specialities. Beyond that, xanthohumul extracts can be added to any kind of turbid and lightly bitter beverages, which on their part can be the basis of beer mix beverages.

Forster, A., Gahr, A., Ketterer, M., Beck, B., et Massinger, S.: Xanthumulone dans la bière – possibilités et limites d'un enrichissement — *Monatsschrift für Brauwissenschaft* 55, No. 9/10, 184 – 194, 2002

BC 25 Bière

On attache une importance physiologique positive au polyphénol du houblon xanthumulone. Les examens sur des cellules vivantes sont loin d'être achevés mais toutefois il peut être intéressant de connaître l'enrichissement de xanthumulone dans la bière. A côté de pellets conventionnels ou drèches de houblon après extraction au CO₂, il y a des extraits au xanthumulone développés par nos soins qui sont ponctuellement utilisables. Il y a des limites étroites, pour augmenter dans les bières commerciales filtrées, la teneur en xanthumulone et ses isomères l'isoxanthumulone. Les bières commerciales, par exemple de fermentation basse, se distinguent par une teneur basse, inférieure à 0,1 ppm et à 1 ppm au niveau de la concentration respective en xanthumulone ou isoxanthumulone. Le xanthumulone ajouté au moût se retrouve après la fabrication avec une perte de 10 à 20 % dans la bière. Si le xanthumulone devait être enrichi de façon efficace, on recommande d'ajouter des extraits de xanthumulone après la fermentation principale ou la filtration séparant la levure. Toutefois il faut compter avec un trouble permanent dans la bière. Les bières contenant un taux élevé en xanthumulone/isoxanthumulone sont considérées aujourd'hui comme des spécialités. On peut de plus ajouter les extraits de xanthumulone à des boissons troubles et légèrement amères qui de leur côté présentent la base pour des mélanges avec la bière.

Literatur

1. Stevens, J. F., Miranda, C. L., Buhler, D. R.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **56**, 136 – 145, 1998.
2. Miranda, C. L., Stevens, J. F., Helmrich, A., Henderson, M. C., Rodriguez, R. J., Yang, Y.-H., Deinzer, M. L., Barnes, D. W., Buhler, D. R., *Food and Chemical Toxicology* **37**, 271 – 285, 1999.
3. Miranda, C. L., Stevens, J. F., Willard, C., Bradford, S., Yang, Y.-H., Deinzer, M. L., Buhler, D. R.: *Toxicologist*, Band 48, 348 ff., 1999.
4. Gerhäuser, C., Alt, A., Heiss, E., Gamal-Eldeen, A., Klimo, K., Knauf, J., Neumann, I., Scherf, H., Frank, N., Bartsch, H. & Becker, H.: *Proceedings 28th EBC-Congress, Budapest 2001*, Vortrag noch nicht veröffentlicht.
5. Forster, A., Beck, B., Köberlein, A., Schmidt, R.: *EBC Proceedings 26th Congress, Maastricht* 223 – 230, 1997.
6. Forster, A., Beck, B., Schmidt, R., Jansen, C., Mellenthin, A.: *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **55**, 98 – 108, 2002.
7. Forster, A., Köberlein, A., *Brauwelt* **138**, 1677 – 1679, 1998.
8. Czerwonatis, N., Eggers, R.: *Lebensmitteltechnik* **11**, 74 – 76, 2000.
9. Mitter, W.: *Mitteilungsblatt der Firma Steiner vom 21.01.2002*.
10. DE-OS 199 39 350 A1.
11. Forster A.: *Hopfenrundschaue International*, 82 – 84, 1998.
12. Jerumanis, J.: *Brauwissenschaft* **25**, 319 – 322, 1972.
13. Anderegg, P.; Pfenninger, H.: *Brauerei- und Getränke-Rundschaue* **99**, 133 – 136, 1988.
14. Goldstein, H., Thing, P., Navarro, A., Ryder, D.: *Proceedings 27th EBC-Congress, Cannes 1999*, 53 – 62.
15. Forster, A., Beck, B., Anderegg, P., Pfenninger, H.: *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **41**, 236–243, 1988.
16. Walker, C. J.: *Brauwelt* **141**, 1280 – 1283, 2001.

(Manuskripteingang 29. 7. 2002)