

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität

Methodenentwicklung der Headspace-Trap-GC-MS Analyse zur schnellen quantitativen Bestimmung flüchtiger Verbindungen in Hopfen und Bier – mit Korrelationsanalyse der Hopfenölkomponenten.

Anita Aberl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigte Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. M. Rychlik
Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. M. Coelhan
2. Univ.-Prof. Dr. K.-H. Engel

Die Dissertation wurde am 21.05.2015 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 01.03.2016 angenommen.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit am Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan unter der Leitung von Herrn apl. Prof. Dr. Mehmet Coelhan.

An erster Stelle danke ich Herrn apl. Prof. Dr. Mehmet Coelhan für die Bereitstellung des interessanten Themas, die wissenschaftliche Betreuung und für die Anregungen und Diskussionen. Bei Herrn Prof. Dr. Fritz Jacob möchte ich mich für die Ermöglichung dieser Forschungsarbeit bedanken. Des Weiteren danke ich allen Kollegen und Mitarbeitern des Forschungszentrums, insbesondere der Abteilung instrumentelle Analytik, für die gute Zusammenarbeit. Bei dem Bacheloranden Christoph Bichlmann bedanke ich mich für seinen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

Ferner bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Michael Rychlik für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes und bei Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Engel für die Übernahme des Co-Referates.

Der Joh. Barth & Sohn GmbH & Co. KG und der Simon H. Steiner Hopfen GmbH möchte ich für das freundlicherweise zur Verfügung gestellte Probenmaterial danken.

Meinem Ehemann Winfried Aberl danke ich von ganzen Herzen für die immerwährende motivierende Unterstützung und das stete Verständnis während der gesamten Entstehungszeit dieser Arbeit.

Abstract

Within the scope of this thesis, the Headspace-Trap-GC-MS method was used to develop and validate a new procedure for the fast quantitative determination of volatile compounds in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. In general, the HS trap method is characterised by its speed and simplicity of use and its high degree of sensitivity. In order to derive the extract of hops, an ultrasound extraction procedure was developed. The sample preparation is limited to a small number of steps. In addition, only a small sample quantity of 2.0 g of ground hops/pellets was needed. When determining the optimal extraction parameters (55°C, 45 min), particular attention was paid to producing the highest possible yield whilst at the same time subjecting the sample to the lowest possible thermal load. The HS sampler used was a TurboMatrix HS trap sampler with an “Air Toxic” trap made from graphitic carbon and a carbon molecular sieve. By using up to four trap enrichment cycles, it was possible to use this highly sensitive system to achieve a significant reduction in the limits of detection. The HS-trap method was initially established in a series of model solutions and subsequently transferred to the beer and hops matrix. Two trap cycles proved to be the ideal number for doing so. It was possible to identify more than 65 volatile compounds in the hop samples, from which 20 important hop components were determined quantitatively. For testing the practicability of the method a total of 70 authentic hop samples of various varieties and from different growing regions were analysed quantitatively using the new HS-trap-GC-MS method and compared with the results of the established “European Brewery Convention” (EBC) method for the analysis of hop oil. In contrast to the established EBC standard method, which is based on steam distillation, the HS trap method is particularly effective due to its high degree of automation. In addition, it is possible to prepare a large number of samples at the same time, representing an additional time-saving factor. The HS trap method is therefore considerably faster and more efficient than the EBC hop oil method.

The precision of analytical data yielded by the HS trap method was good. In order to evaluate the results, the concentrations ($\mu\text{g/g}$) which had been measured using both methods were subjected to a correlation analysis. A good correlation was found between the results yielded by the HS trap method and the EBC method for

virtually all components except caryophyllene oxide. Based on the results it is possible to conclude that the correlation of the analytical data is highly dependent on either the boiling point or the partial pressure of the individual substances. It was found that substances with a boiling point $< 215^{\circ}\text{C}$ showed an optimal correlation ($R \geq 0.9800$) between the HS trap data and the hop oil data. Compounds with a relatively low boiling point, e.g. monoterpene, the terpene alcohol linalool and some esters and ketones, yielded higher analytical results with the HS trap method than with the EBC hop oil method. In contrast, substances with a higher boiling point, such as the sesquiterpenes α -humulene and β -caryophyllene and some esters and ketones achieved higher concentrations under the EBC hop oil method. The results for the epoxide caryophyllene oxide, with a high boiling point, did not correlate with the other results. In this case, the results yielded by the HS trap method were on average 2.9 times higher than those recorded using the hop oil method. Based on the low volatility of these components, it would have been reasonable to expect higher analytical results using the hop oil method.

Tests confirmed that the oxidation of carophyllene into caryophyllene oxide took place neither during the production of the hop extract nor during the analytical process itself. Consequently, redistillation tests were used to precisely examine the effects of steam distillation on the composition of the hop oil. The results indicated that the epoxide caryophyllene oxide partially disintegrated under steam distillation and that its recovery was thereby greatly reduced. The redistillation tests also showed significant reductions especially in the concentrations of the highly volatile monoterpenes and some esters. This serves to explain the higher HS trap results for these substances.

In contrast to earlier bodies of opinion in the relevant literature, it was clear upon evaluating the results that it was only possible in certain cases to tell the hop varieties apart based on their hop oil content. With most hop varieties it is possible to determine a concentration range regarding the hop oil content, but this often overlaps with the oil content of other varieties. In order to facilitate the clear identification and differentiation of the hop varieties, the analytical results were used to draw up so-called hop oil aroma charts. These correlation charts are

graphic indicators of the linear relation between the hop oil content ($\mu\text{g/g}$) and the concentration of individual hop aromas ($\mu\text{g/g}$). These charts show that each variety of hop processes a characteristic concentration range, so called "cluster". These charts were used to construct variety-specific hop aroma profiles which can be used as a "fingerprint" to reveal the respective characteristics of each variety. The newly developed hop aroma profiles factor in both the hop oil content as well as the variety-specific concentration ranges for the individual hop aroma components. In order to arrive at the conclusive identification of a variety or to clearly differentiate between varieties, the analytical results from the hop samples can be tested to see if they match the hop aroma profiles in the database.

The results of the correlation analysis also reveal that a purely arithmetical calculation of the hop oil content would in principle also have been possible from the data yielded by the HS-trap-GC-MS hop analysis. The sum total of individual components ($\mu\text{g/g}$) from the HS trap analysis correlates with the actual quantity of hop oil from the EBC analysis to the degree $R = 0.9682$. By expanding the number of components analysed, the arithmetical calculation of the hop oil content under the HS trap method could, under certain circumstances, transpire to be very much more precise. Furthermore, a t-test was conducted in order to subject the HS-trap-GC-MS method and the EBC method to a process of statistical verification. The results of the t-test confirmed that there had been no systematic errors in either series of measurements or analysis methods. Data evaluation from the correlation analysis confirmed that components from the same chemical substance group correlated especially well with each other, i.e. at $R > 0.9000$. This is for example true for the group of monoterpenes and the group of sesquiterpenes. Linalool did not correlate with any of the other hop oil components analysed. The correlation analysis also indicated that only the monoterpenes showed a good correlation with hop oil quantities ($R > 0.9000$). The correlation coefficients R were calculated from the concentration data ($\mu\text{g/g}$).

It was also possible to successfully adapt the HS-trap-GC-MS method to determine the quantity of volatile compounds in beer. It was also possible to tap into the high advantages of the method's ease use and the high level of automation. With HS trap analysis 97 volatile compounds were identified, with 30

being evaluated quantitatively. A total of 161 authentic beer samples were subjected to analysis. The analytical data yielded by the HS trap method was highly precise. Due to the method's high degree of sensitivity, it was possible to identify volatile compounds such as heptylacetate, octylacetate, ethylphenylacetate, α -humulene, β -caryophyllene and styrole in beer in concentrations as low as 0.1 $\mu\text{g/l}$. A batch comparison revealed that some beers showed very significant concentration fluctuations from batch to batch. The results showed that some batches of conventionally-brewed beers did not breach the threshold at which the aromas characteristic to beer are still detectable by the senses – such as linalool, isoamylalcohol or isoamylacetate – whilst in subsequent batches the threshold was exceeded. Some beers were also subjected to supplementary tests using the HS-trap-GC-MS method to assess changes in those ingredients relevant to the ageing process. Thereby the changes of linalool concentration during the ageing process were especially observed. Compared with fresh beers, aged beers showed increased concentrations of free linalool which can be explained by the release of glycosidically bound linalool. These results confirm the findings documented in the literature.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Abstract	II
Tabellenverzeichnis	XI
Abbildungsverzeichnis	XIV
Abkürzungsverzeichnis	XVII
1 Einleitung und Zielsetzung	1
2 Theoretische Grundlagen	3
2.1 Hopfen	3
2.1.1 Herkunft und Biologie des Hopfens.....	3
2.1.2 Eigenschaften und Verwendung des Hopfens.....	4
2.1.3 Zusammensetzung der Hopfendolden	4
2.1.4 Einteilung der Hopfensorten	5
2.1.5 Zusammensetzung des ätherischen Hopfenöls.....	9
2.1.6 Historische Entwicklung zur Identifizierung und Analyse von Hopfenöl / - komponenten.....	14
2.1.7 Grundlagen zu den terpenoider Verbindungen.....	15
2.1.7.1 Monoterpene – C ₁₀	17
2.1.7.2 Monoterpen – Linalool.....	18
2.1.7.3 Sesquiterpene – C ₁₅	18
2.1.8 Einflussfaktoren auf die Zusammensetzung des Hopfenöls	19
2.2 Bier	22
2.2.1 Einteilung der Biere in Bierarten und Biersorten.....	23
2.2.2 Einteilung der Biere in Biergattungen	26
2.2.3 Charakteristische Aromastoffe im Bier	27
2.2.3.1 Aromawert – Flavour Unit (FU)	27
2.2.3.2 Hopfenaromastoffe im Bier	28
2.2.3.3 Aromastoffe im Bier – Alkohole	29
2.2.3.4 Aromastoffe im Bier – Ester	31
2.2.3.5 Aromastoffe im Bier – Organische Säuren	33
2.2.3.6 Aromastoffe im Bier – Aldehyde und Ketone	34
2.2.3.7 Aromastoffe im Bier – Vinylaromaten.....	37
2.2.3.8 Aromastoffe im Bier – Schwefelhaltige Komponenten	38
2.2.4 Veränderungen der Bieraromastoffe bei Bieralterung	39
2.3 Analysenmethoden zur Bestimmung der Aromastoffe in Hopfen und Bier	42
2.3.1 Wasserdampfdestillation	43
2.3.1.1 Prinzip der Wasserdampfdestillation	43

2.3.1.2	Applikation der Wasserdampfdestillation	44
2.3.1.3	Beurteilung der Wasserdampfdestillation.....	44
2.3.2	Hochvakuumdestillation – SAFE	45
2.3.2.1	Prinzip der Hochvakuumdestillation	45
2.3.2.2	Applikation der Hochvakuumdestillation.....	46
2.3.2.3	Beurteilung der Hochvakuumdestillation	46
2.3.3	Direkte Thermodesorption – DTD.....	47
2.3.3.1	Prinzip der Direkten Thermodesorption.....	47
2.3.3.2	Applikation der Direkten Thermodesorption	47
2.3.3.3	Beurteilung der Direkten Thermodesorption	48
2.3.4	Headspace Analyse – HS	48
2.3.4.1	Prinzip der Headspace-Analyse	49
2.3.4.2	Applikation der Headspace-Analyse	49
2.3.4.3	Beurteilung der Headspace-Analyse.....	50
2.3.5	Festphasenmikroextraktion – SPME	50
2.3.5.1	Prinzip der Festphasenmikroextraktion	50
2.3.5.2	Applikation der Festphasenmikroextraktion	51
2.3.5.3	Beurteilung der Festphasenmikroextraktion.....	51
2.3.6	Stir Bar Sortive Extraction – SBSE.....	52
2.3.6.1	Prinzip der Stir Bar Sorptive Extraction	52
2.3.6.2	Applikation der Stir Bar Sorptive Extraction	52
2.3.6.3	Beurteilung der Stir Bar Sorptive Extraction.....	52
2.4	Headspace-Trap-Analyse – HS-Trap.....	53
2.4.1	Funktionsprinzip der Headspace Trap Technik	53
2.4.2	Eigenschaften und Vorteile der Headspace Trap Analyse	55
2.5	GC-/ MS Kopplung.....	56
2.5.1	Funktionsweise eines GC-/MS-Systems	56
2.5.2	Massenspektrometer als Detektor.....	57
2.5.2.1	Massenscan und Totalionenstrom-Chromatogramm	57
2.5.2.2	Selektive Ionenregistrierung.....	58
2.5.3	Anwendungsmöglichkeiten der GC-MS Kopplung.....	58
3	Material und Methoden	59
3.1	Geräte.....	59
3.2	Hopfen und Hopfenprodukte.....	60
3.2.1	Analysierte Aromahopfensorten	60
3.2.2	Analysierte Bitterhopfensorten	61
3.3	Bierproben	61
3.3.1	Analysierte Pilsener Biere	62
3.3.2	Analysierte Helle Biere	63

3.3.3	Analysierte Hefeweizenbiere	64
3.3.4	Analysierte Dunkle Biere	65
3.4	Chemikalien und Gase	65
3.4.1	Chemikalien und Lösemittel	65
3.4.2	Interne Standards für die Bieranalyse	66
3.4.3	Interne Standards für die Hopfenanalyse	67
3.4.4	Reinstwasser	68
3.4.5	Reinstgas	68
3.5	Methodenentwicklung und –validierung	68
3.5.1	Entwicklung der HS-Trap-Methode	68
3.5.2	Entwicklung der GC-Methode.....	71
3.5.2.1	Auswahl der GC-Trennsäule.....	71
3.5.2.2	Vorgehensweise bei der GC-Methodenentwicklung.....	71
3.5.2.3	GC-Parameter für die Hopfenölanalyse	73
3.5.3	Entwicklung der MS-Methode – Selected Ion Monitoring	73
3.5.4	Vorgehensweise und Umfang der Methodenvalidierung	76
3.5.4.1	Überprüfung der Robustheit	76
3.5.4.2	Überprüfung der Präzision der Messergebnisse – Wiederholbarkeit ...	76
3.5.4.3	Überprüfung der Richtigkeit der Analysenergebnisse	77
3.5.4.4	Überprüfung der Selektivität der Methode.....	77
3.5.4.5	Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse	77
3.5.4.6	Überprüfung der Linearität der Analysenmethode	77
3.5.4.7	Überprüfung der Stabilität der Probelösungen	78
3.5.4.8	Überprüfung der Wiederfindung	78
3.6	Kalibrierung	78
3.6.1	Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Hopfen-analyse	78
3.6.2	Kalibrierung der Hopfenöl-Methode (EBC).....	79
3.6.3	Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Bieranalyse.....	80
3.7	Analytische Methoden bzw. Probenvorbereitung zur Aromastoff-analyse von Hopfen und Bier	81
3.7.1	Hopfenextraktion für die HS-Trap-GC-MS- Analyse.....	81
3.7.2	Gewinnung von Hopfenöl durch Wasserdampfdestillation für die GC-/MS-Analyse (EBC-Methode)	82
3.7.3	Re-Destillationsversuch von Hopfenöl.....	83
3.7.4	Probenvorbereitung für die HS-Trap-GC-MS-Analyse von Bier	83
3.8	„Forcierte“ Alterung der Biere	84
3.9	Statistische Methoden für die Auswertung der Messergebnisse	84
3.9.1	Arithmetisches Mittel bzw. Mittelwert.....	84
3.9.2	Standardabweichung.....	84

3.9.3	Variationskoeffizient	85
3.9.4	t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte	85
3.9.5	Korrelationsanalyse	85
3.9.6	Regressionsanalyse	87
3.10	Nachweis- und Bestimmungsgrenze	88
4	Ergebnisse und Diskussion	89
4.1	HS-Trap-GC-/ MS Methodenentwicklung.....	89
4.1.1	Vorgehensweise bei der HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung.....	89
4.1.2	Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung	90
4.2	Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS-Kalibrierung	92
4.2.1	Kalibrierung der HS-Trap-Methode zur Hopfenanalyse.....	92
4.2.2	Kalibrierung der HS-Trap-Methode zur Bieranalyse.....	93
4.3	Auswertung der HS-Trap-GC-MS-Analysen	96
4.3.1	Hopfenproben – Chromatographische Auswertung der HS-Trap-GC-MS Analysen.....	96
4.3.2	Bierproben – Chromatographische Auswertung der HS-Trap-GC-MS Analysen.....	100
4.4	Validierung der HS-Trap-GC-MS-Methode	102
4.4.1	Präzision der Messergebnisse – Hopfenanalyse.....	102
4.4.2	Präzision der Messergebnisse – Bieranalyse.....	103
4.4.3	Überprüfung der Messergebnisse durch Aufstockung.....	104
4.4.4	Empfindlichkeit bzw. Messgenauigkeit der HS-Trap-GC-MS Analysen- methode	107
4.5	Vergleich der Analysenergebnisse von HS-Trap- und Hopfenöl- analyse	108
4.5.1	Dichtebestimmung von Hopfenöl.....	108
4.5.2	Gegenüberstellung der Analysenergebnisse.....	109
4.5.3	Interpretation der Analysenergebnisse anhand der Korrelations- koeffizienten und Siedepunkte	111
4.6	Auswirkungen der Wasserdampfdestillation auf die Zusammen- setzung des Hopfenöls	114
4.6.1	Resultate aus dem Re-Destillationsversuch von Hopfenöl.....	114
4.6.2	Interpretation der Re-Destillations-Ergebnisse	117
4.7	Sortendifferenzierung von Hopfen	121
4.7.1	Hopfenölgehalt verschiedener Sorten	121
4.7.2	Darstellung von Hopfenölaromadiagrammen	123
4.7.2.1	Hopfenölaromadiagramme der Monoterpene	124
4.7.2.2	Hopfenölaromadiagramme der Sesquiterpene	127
4.7.2.3	Hopfenölaromadiagramm des Terpenalkohols Linalool	128

4.7.2.4	Hopfenölaromadiagramme der Ester	129
4.7.2.5	Hopfenölaromadiagramme der Ketone	132
4.7.2.6	Hopfenölaromadiagramm des Epoxides Caryophyllenoxid.....	136
4.7.3	Charakterisierung der Hopfensorten hinsichtlich ihrer Aromastoffkomposition	137
4.7.3.1	Generierung sortenspezifischer Hopfenaromaprofile	137
4.7.3.2	Bedeutung der Hopfenaromaprofile zur Sortendifferenzierung und – identifizierung.....	138
4.8	Korrelationsanalyse der Hopfenergebnisse	140
4.8.1	Korrelation der Hopfenaromastoffe	140
4.8.2	Korrelation der Hopfenaromastoffe und der Hopfenölmenge	144
4.8.3	Korrelation der Hopfenbitterstoffe und der Hopfenölmenge	144
4.8.4	Korrelation der Hopfenaromastoffe mit den α -Säuren und β -Säuren	145
4.8.5	Korrelation der Summe der Einzelkomponenten und der Hopfenölmenge..	146
4.9	Lagerbedingungen des Hopfens bis zur Analyse	147
4.10	Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen mit Literaturwerten.....	147
4.11	Methodenvergleich zur Hopfenaromastoffanalyse	149
4.12	Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS-Analyse von Bier	150
4.12.1	Additive Wechselwirkungen der Bieraromastoffe	150
4.12.2	Gesamtübersicht der Ergebnisse der Bieraromastoffan-alsen	150
4.12.3	Auswertung der einzelnen Aromastoffe im Bier	154
4.12.3.1	Konzentrationsverteilung ausgewählter Alkohole im Bier.....	154
4.12.3.2	Konzentrationsverteilung ausgewählter Ester in Bier	156
4.12.3.3	Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Organische Säuren.	163
4.12.3.4	Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Terpene	164
4.12.3.5	Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Vinylaromaten	169
4.12.3.6	Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Lactone.....	173
4.13	Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier mit Literaturwerten	175
4.14	Methodenvergleich zur Aromastoffanalyse von Bier	176
5	Zusammenfassung.....	178
6	Abschließende Diskussion und Ausblick.....	182
	Literaturverzeichnis	185
	Anhang	205

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Zusammensetzung getrockneter Hopfendolden	5
Tabelle 2:	Klassifizierung der Aromahopfen – Europa	6
Tabelle 3:	Klassifizierung der Aromahopfen – weltweit	7
Tabelle 4:	Klassifizierung der Dualhopfen – weltweit	7
Tabelle 5:	Klassifizierung der Bitterhopfen – Europa	8
Tabelle 6:	Klassifizierung der Bitterhopfen – weltweit	8
Tabelle 7:	Aromabeschreibung der „Special-Flavor“-Hopfensorten	9
Tabelle 8:	Konzentrationen [%] der Kohlenwasserstoffen im ätherischen Hopfenöl	10
Tabelle 9:	Konzentrationen [%] sauerstoffhaltiger Verbindungen im ätherischen Hopfenöl	11
Tabelle 10:	Konzentrationen [%] sauerstoffhaltiger Verbindungen im ätherischen Hopfenöl – Fortsetzung	12
Tabelle 11:	Klassifizierung der Hopfenölkomponenten, nach Nijssen	13
Tabelle 12:	Übersicht zu den aromaaktiven Komponenten in Hopfen	14
Tabelle 13:	Hauptkomponenten des Bieres	23
Tabelle 14:	Einteilung deutscher und ausländischer Biersorten	24
Tabelle 15:	Einteilung der Biergattungen	26
Tabelle 16:	Einteilung der Flavour Units	27
Tabelle 17:	Hopfenaromastoffe im Bier	29
Tabelle 18:	Übersicht der Alkohole im Bier	30
Tabelle 19a:	Übersicht der Ester im Bier	31
Tabelle 19b:	Übersicht der Ester im Bier – Fortsetzung	32
Tabelle 20:	Übersicht der organischer Säuren im Bier	33
Tabelle 21:	Übersicht der Aldehyde im Bier	35
Tabelle 22:	Übersicht der Ketone im Bier	36
Tabelle 23:	Übersicht der Schwefelverbindungen im Bier	38
Tabelle 24:	Alterungsreaktionen im Bier	40
Tabelle 25:	Verfahren zur Bestimmung der Aromastoffen in Hopfen und Bier	42
Tabelle 26:	Applikation der Direkten Thermodesorption	47
Tabelle 27:	Beurteilung der Direkten Thermodesorption	48
Tabelle 28:	Einsatzmöglichkeiten der Headspace – Analyse	49
Tabelle 29:	Einsatzmöglichkeiten der SPME-Analyse	51
Tabelle 30:	Einsatzmöglichkeiten der Stir Bar Sortive Extraction	52
Tabelle 31:	Übersicht der verwendeten Geräte	59
Tabelle 32:	Übersicht der analysierten Aromahopfensorten	60
Tabelle 33:	Übersicht der analysierten Bitterhopfensorten	61
Tabelle 34:	Übersicht der analysierten untergärigen Biere der Sorte „Pilsener“	62
Tabelle 35:	Übersicht der analysierten untergärigen Biere der Sorten „Hell“ und „Hell- Export“	63

Tabelle	36:	Übersicht der analysierten obergärigen Biere der Sorte „Hefeweizenbier“	64
Tabelle	37:	Übersicht analysierter untergäriger Biere der Sorte „Dunkel“ und „Märzen“	65
Tabelle	38:	Reinsubstanzen für die Hopfen- und Bieranalyse	66
Tabelle	39:	HS-Trap Sampling Parameter	68
Tabelle	40:	Vorgehensweise bei der GC-Methodenentwicklung	72
Tabelle	41:	Temperaturprogramm zur Aromastoffanalyse in Hopfen und Bier	73
Tabelle	42:	Vorgehensweise bei der Entwicklung der SIM-Methoden zur Aromastoffanalysen von Hopfen und Bier	74
Tabelle	43:	Retentionszeitfenster für die HS-Trap-GC-MS Methode zur Hopfenanalyse	75
Tabelle	44:	Retentionszeitfenster für die HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse	75
Tabelle	45:	Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Hopfenanalyse	79
Tabelle	46:	Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Bieranalyse	80
Tabelle	47:	Interpretation des Korrelationskoeffizienten	86
Tabelle	48:	Ablaufschema zur HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung	89
Tabelle	49:	Übersicht zur Methodenentwicklung der HS-Trap-Parameter	90
Tabelle	50:	Parameter der HS-Trap-GC-MS Kalibrierung für die Analyse von Hopfenaromastoffen	92
Tabelle	51:	Parameter der HS-Trap-GC-MS-Kalibrierung für die Analyse von Bieraromastoffen	94
Tabelle	52:	Detektierbare Verbindungen in Hopfen mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	98
Tabelle	53:	Präzision der HS-Trap-Daten am Beispiel der Hopfenanalyse von „Hallertauer Magnum“	103
Tabelle	54:	Reproduzierbarkeit der HS-Trap-Daten am Beispiel des Bieres „Weihenstephan Original“	104
Tabelle	55:	Aufstockung zur Überprüfung der Richtigkeit der Analyseergebnisse am Beispiel des Referenzbieres „Weihenstephan Original“	106
Tabelle	56:	Dichtebestimmung von Hopfenöl verschiedener Sorten, mittels Pyknometer (bei 20°C)	108
Tabelle	57:	Vergleich der Dichte von Hopfenölen verschiedener Sorten, bezugnehmend auf die Konzentrationen ihrer Hauptkomponenten im Hopfen	109
Tabelle	58:	Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für ausgewählte Bitterhopfen	110
Tabelle	59:	Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für ausgewählte Aromahopfen	110
Tabelle	60:	Korrelationskoeffizient (R) für die Korrelation der Ergebnisse aus HS-Trap- und Hopfenölanalysen-Methode	111
Tabelle	61:	Temperaturversuch für Caryophyllen und Caryophyllenoxid im GC-Ofen (100°C)	114

Tabelle	62:	Re-Destillationversuch mit der Hopfensorte „Slovenia Bobek“ P45, 2008	115
Tabelle	63:	Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) von „Rapid Solvent Extraction“-Methode (RSE) und Wasserdampfdestillation (SD) für verschiedene Hopfensorten	118
Tabelle	64:	Einteilung der Hopfensorten nach Hopfenöl- und Linaloolgehalt, ermittelt durch Hopfenölanalyse	121
Tabelle	65:	Hopfensorten mit den Anteil der wichtigsten Hopfenölkomponenten in %	122
Tabelle	66:	Gegenüberstellung der Aromahopfensorten „Spalter Select“ und „Saphir“ hinsichtlich ihrer Aromastoffkonzentrationen	139
Tabelle	67:	Korrelation der einzelnen Hopfenaromastoffe (EBC-Hopfenölanalyse)	140
Tabelle	68:	Korrelation der einzelnen Hopfenaromastoffe (HS-Trap-GC-MS Analyse)	141
Tabelle	69:	Korrelation zwischen den Hopfenölkomponenten und der Hopfenölmenge	144
Tabelle	70:	Korrelation zwischen den Hopfenbitterstoffen und der Hopfenölmenge	145
Tabelle	71:	Korrelation zwischen den Hopfenaromastoffen und den α -Säuren	145
Tabelle	72:	Vergleich der Hopfenölmenge mit der Summe der Einzelkomponenten aus der Hopfenölanalyse und der HS-Trap-Analyse (Auswahl an Hopfenproben)	146
Tabelle	73	Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap Analyse von Hopfen mit Literaturwerten von Biendl et al., 2012	148
Tabelle	74	Vergleich der Analysenergebnisse aus der Hopfenölanalyse mit Hopfenölanalysen von Narziß et al., 1985	148
Tabelle	75:	Methodenvergleich zur Analyse von Aromastoffen in Hopfen	149
Tabelle	76:	Chargenvergleich von Isoamylalkohol bei verschiedenen Bieren	156
Tabelle	77:	Chargenvergleich von Isoamylacetat bei verschiedenen Bieren	158
Tabelle	78:	Chargenvergleich von Linalool bei verschiedenen Bieren	166
Tabelle	79:	Chargenvergleich von Styrol bei verschiedenen Weizenbieren	170
Tabelle	80:	Chargenvergleich von 4-Vinylguakol bei verschiedenen Weizenbieren	173
Tabelle	81:	Vergleich der Ergebnisse der HS-Trap Analyse von ausgewählten Bieraromastoffen in Weizenbier und Hellem Vollbier mit Literaturwerten von Back, 2008	175
Tabelle	82:	Vergleich der Ergebnisse der HS-Trap Analyse von ausgewählten Estern in Pils Bieren mit Literaturwerten von SPME- und SBSE-Analysen von Horak et al., 2010	176
Tabelle	83:	Methodenvergleich zur Analyse von Aromastoffen in Bier	177

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-3:	Hopfendolden, Lupulindrüsen auf Doldenblätter, mikroskopische Aufnahme einer Lupulindrüse	3
Abbildung 4:	Schematische Einteilung der wichtigsten Sekundärmetaboliten des Hopfens	4
Abbildung 5:	Biosynthese von Isopentenylpyrophosphat und Geranylpyrophosphat	16
Abbildung 6:	Biosynthese von Limonen	16
Abbildung 7:	Struktur typischer Monoterpene in Hopfenöl	17
Abbildung 8:	Struktur typischer Sesquiterpene in Hopfenöl	19
Abbildung 9:	Einflussfaktoren auf die Hopfenölzusammensetzung	20
Abbildung 10:	Bildung von 4-Vinyl-Aromaten	37
Abbildung 11:	Beladung der Trap durch Entspannung des Überdruckes aus dem Probenvial	53
Abbildung 12:	Trocknen der Trap mit Trägergas – DryPurge	54
Abbildung 13:	Thermodesorption der Analyten von der Trap und Injektion in den GC	54
Abbildung 14:	Schematische Darstellung der Ionisierung	56
Abbildung 15:	Ionisierungskammer	56
Abbildung 16:	Schematischer Aufbau des Quadrupols	57
Abbildung 17:	Schematische Darstellung zur Probenvorbereitung der HS-Trap-GC-MS Hopfenanalyse	81
Abbildung 18a:	Testlauf mit 2 Trapyzklen und 0,1 min Desorptionszeit	91
Abbildung 18b:	Testlauf mit 4 Trapyzklen und 0,1 min Desorptionszeit	91
Abbildung 18c:	Testlauf mit 2 Trapyzklen und 0,2 min Desorptionszeit	91
Abbildung 18d:	Testlauf mit 4 Trapyzklen und 0,2 min Desorptionszeit	91
Abbildung 18e:	Testlauf mit 2 Trapyzklen und 0,6 min Desorptionszeit	91
Abbildung 18f:	Testlauf mit 4 Trapyzklen und 0,6 min Desorptionszeit	91
Abbildung 19:	Kalibriergerade für Linalool (HS-Trap-GC-MS Methode Hopfenanalyse)	93
Abbildung 20:	Kalibriergerade für α -Humulen (HS-Trap-GC-MS Methode Hopfenanalyse)	93
Abbildung 21:	Kalibriergerade für Essigsäure-Isopentylester (HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse)	95
Abbildung 22:	Kalibriergerade für 2-Methyl-propanol (HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse)	95
Abbildung 23:	Übersicht der analysierte Komponenten in Hopfen mittels HS-Trap-GC-MS Methode	96
Abbildung 24:	HS-Trap-GC-MS-Analyse einer Hopfenprobe der Sorte "Hallertauer Magnum"	97
Abbildung 25a:	SIM-Chromatogramm für β -Caryophyllen und α -Humulen in Hopfen	99
Abbildung 25b:	SIM-Chromatogramm für Linalool in Hopfen	99
Abbildung 25c:	SIM-Chromatogramm für Octansäuremethylester in Hopfen	99
Abbildung 25d:	SIM-Chromatogramm für Limonen in Hopfen	99

Abbildung 25e:	SIM-Chromatogramm für Isobutylisobutyrat in Hopfen	99
Abbildung 25f:	SIM-Chromatogramm für 2-Undecanon in Hopfen	99
Abbildung 26:	HS-Trap-GC-MS Analyse der Bierprobe „Kirner Pils“	100
Abbildung 27a:	SIM-Chromatogramm für Essigsäure-Isopentylester in Bier	101
Abbildung 27b:	SIM-Chromatogramm für Linalool in Bier	101
Abbildung 27c:	SIM-Chromatogramm für Phenylethanol in Bier	101
Abbildung 27d:	SIM-Chromatogramm für Styrol in Bier	101
Abbildung 27e:	SIM-Chromatogramm für Hexansäureethylester in Bier	101
Abbildung 27f:	SIM-Chromatogramm für Octansäureethylester in Bier	101
Abbildung 27g:	SIM-Chromatogramm für Ethylacetat in Bier	102
Abbildung 28:	Aufstockungsdiagramm für 3-Methyl-1-Butanol in „Weihenstephan Original“ (Referenzbier)	105
Abbildung 29:	Einfluss des Siedepunktes auf das Ergebnis von HS-Trap- und Hopfenöl-Analyse	113
Abbildung 30:	Hopfenprobe SL-BO nach der 1. Destillation	116
Abbildung 31:	Hopfenprobe SL-BO nach der Re-Destillation	116
Abbildung 32:	Darstellung der Umwandlungswege der strukturisomeren Terpenalkohole Nerol, Geraniol, Linalool und α -Terpineol	117
Abbildung 33:	Veränderung der Zusammensetzung der flüchtigen Bestandteile einer äquimolaren Mischung aus Linalool, Geraniol und Nerol in Wasser (pH 5,5) bei der Wasserdampfdestillation in Abhängigkeit von der Zeit	117
Abbildung 34:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Myrcen	125
Abbildung 35:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und α -Humulen	127
Abbildung 36:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Linalool	129
Abbildung 37:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Hexansäuremethylester	130
Abbildung 38:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Octansäuremethylester	131
Abbildung 39:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Nonanon	133
Abbildung 40:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Dodecanon	135
Abbildung 41:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Damascenon	136
Abbildung 42:	Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Caryophyllenoxid	137
Abbildung 43:	Hopfenaromaprofil des Aromahopfens „Spalter Select“	138
Abbildung 44:	Übersicht der Biosynthesewege von Mono- und Sesquiterpenen	141
Abbildung 45:	Korrelation von β -Caryophyllen und Caryophyllenoxid (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)	142
Abbildung 46:	Korrelation von Linalool und Myrcen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)	143
Abbildung 47:	Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller	151

		Weizenbiere	
Abbildung	48:	Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller Hellen-Biere	152
Abbildung	49:	Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller Pils-Biere	153
Abbildung	50:	Isoamylalkohol-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	155
Abbildung	51:	Isoamylacetat-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	157
Abbildung	52:	2-Phenylethylacetat-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	159
Abbildung	53:	Buttersäure-Ethylester-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	160
Abbildung	54:	Hexansäure-Ethylester-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	161
Abbildung	55:	Nicotinsäure-Ethylester-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	162
Abbildung	56:	Vergleich von „frischen“ und „forciert gealterten“ Bieren am Beispiel von Nicotinsäureethylester	162
Abbildung	57:	Hexansäure-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	163
Abbildung	58:	Octansäure-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	164
Abbildung	59:	Linalool-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS-Analyse	165
Abbildung	60:	Vergleich „frische“ und „forciert gealterte“ Biere am Beispiel von Linalool	167
Abbildung	61:	Verteilung der Styrol-Konzentration in Weizenbier	169
Abbildung	62:	Lineare Korrelation zwischen Styrol und 4-Vinylguajacol	171
Abbildung	63:	4-Vinylguajakol-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	172
Abbildung	64:	γ -Nonalacton-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse	173
Abbildung	65:	Vergleich von „frischen“ und „forciert gealterten“ Bieren am Beispiel von γ -Nonalacton	174

Abkürzungsverzeichnis

a	Schnittpunkt der Geraden mit der Y-Achse
A	Peakfläche
ADI	Acceptable Daily Intake
α	α -Säuren
α -Hum	α -Humulen
APCIMS	Atmospheric Pressure Chemical Ionisation Massenspektrometer
ASBC	American Society Brewing Chemists
AU	Australien
b	Steigung der Geraden
β	β -Säuren
β -Car	β -Caryophyllen
BE	Bittereinheiten
BETX	Benzol, Ethylbenzol, Toluol, Xylol
BSG	Bestimmungsgrenze
c	Konzentration eines Stoffes
CAS	Chemical Abstracts Service
C_i^G	Gleichgewichtskonzentration der Komponente i in der Gasphase
CH_2Cl_2	Dichlormethan
C_i^L	Gleichgewichtskonzentration der Komponente i in der Lösung
CMP	China Marco Polo
CN	China
CZ	Tschechien (Tschechische Republik)
CZ-SA	Tschechien Saazer
\bar{d}	mittlere Differenz einer Grundgesamtheit
DE	Deutschland
ΔK_p	Differenz Siedebereich
DMS	Dimethylsulfid
DMAPP	3,3-Dimethylallylpyrophosphat
3SH	3-Sulfanyl-hexan-1-ol
3SHA	3-Sulfanylhexylelessigsäure
3SP	3-Sulfanyl-pentan-1-ol
3S4MP	3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol
3S4MPA	3-Sulfanyl-4-methylpentylelessigsäure
DSX	Direct Solvent Extraction
DTD	Direct Thermal Desorption
DUN	Dunkles Bier
e	Fehlerterm
EBC	European Brewery Convention
EHM	Elbe-Saale Hallertauer Magnum
EHS	Elbe-Saale Hallertauer Herkules
EHT	Elbe-Saale Hallertauer Tradition
EMR	Elbe-Saale Hallertauer Merkur
ENB	Elbe-Saale Northern Brewer
ENU	Elbe-Saale Nugget
e_p^-	Primärelektron
EPE	Elbe-Saale Perle

ETA	Elbe-Saale Target
EtOH	Ethanol
ETU	Elbe-Saale Hallertauer Taurus
EuGH	Europäischer Gerichtshof
Eur. Brew. Conv.	European Brewery Convention
eV	Elektronenvolt
f	Freiheitsgrade
FD factor	Flavor Dilution factor (Aromaverdünnungsfaktor)
FID	Flame Ionisation Detector (Flammenionisationsdetektor)
FPP	Farnesylpyrophosphat
Fr.	Früchte
FR	Frankreich (France)
FR-HT	France Hallertauer Tradition
FR-ST	France Spalter
FTIR	Fourier Transformed Infrared Spectroscopy
FU	Flavor Unit
g	Gramm
GB	Großbritannien
GC	Gaschromatographie
GC-GC	Multidimensionale Gaschromatographie
GPP	Geranylpyrophosphat
ha	Hektar
Hall.	Hallertau
HCF	Hydrocarbon Fraction (Kohlenwasserstoff-Fraktion)
HEL	Helles-Bier
HHA	Hallertau Hallertauer
HHM	Hallertau Hallertauer Magnum
HHS	Hallertau Hallertauer Herkules
HHT	Hallertau Hallertauer Tradition
HMR	Hallertau Hallertauer Merkur
HNB	Hallertau Northern Brewer
HNU	Hallertau Nugget
HOL	Hallertau Opal
HPE	Hallertau Perle
HS	Headspace
HSD	Hallertau Smaragd
HSE	Hallertau Spalter Select
HSR	Hallertau Saphir
HS-Trap	Headspace Trap
HTU	Hallertau Hallertauer Taurus
H ₂ O	Wasser
H ₂ S	Hydrogensulfid
IHGC	International Hop Growers Convention
IPP	Isopentenylpyrophosphat
JP	Japan
k.A.	keine Angaben
Kap.	Kapitel
K _i	Verteilungskoeffizient

LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LHKW	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe
Lin	Linalool
LLE	Liquid Liquid Extraction (Flüssig-Flüssig-Extraktion)
M	Molare Masse
(M) ⁺	Radikalkation
MAK	Maximale Arbeitsplatz-Konzentration
Mand. Bavaria	Mandarina Bavaria
MEBAK	Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommision
min	Minuten
MS	Massenspektrometer
msec	Millisekunde
Myr	Myrcen
m/z	Verhältnis von Masse zu Ladung
n	Anzahl der unabhängigen Einzelergebnisse
N	Anzahl Proben
n.n.	nicht nachweisbar
NaCl	Natriumchlorid
NWG	Nachweisgrenze
NZ	New Zealand
O	Olfaktometrie
OF	Oxygen Fraction (Sauerstoff-Fraktion)
P	Wahrscheinlichkeit
PAH	Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PDMS	Polydimethylsiloxan
PIL	Pils-Bier
PL	Polen (Poland)
PL-LU	Poland Lublin
R	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
RI	Retentionsindex
RSD	Relative Standard Deviation (relative Standardabweichung)
RSE	Rapid Solvent Extraction
s	Standardabweichung
s ²	Varianz
SAFE	Solvent Assisted Flavor Evaporation
Sahnekaram.	Sahnekaramell
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SD	Steam Distillation
SDE	Simultaneous Distillation Extraction
SFE	Supercritical Fluid Extraction
SIM	Selected Ion Monitoring
SK-SA	Slovakia Saazer
SI	Slovenien (Slovenia)
SI-AU	Slovenia Aurora
SI-BO	Slovenia Bobek
SI-GO	Slovenia Golding
SMM	S-Methylmethionin

SPE	Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion)
SPME	Solid Phase Micro Extraction (Festphasenmikroextraktion)
SSE	Spalt Spalter Select
SSP	Spalt Spalter
t	t-Verteilung
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TDI	Tolerable Daily Intake
th	threshold (Schwellenwert eines Stoffes)
THA	Tettnang Mittelfrüher
THF	Tetrahydrofuran
THT	Tettnang Hallertauer Tradition
TIC	Totalionenstrom-Chromatogramm
TOFMS	Time of Flight Massenspektrometer
TPE	Tettnang Perle
TTE	Tettnang Tettnanger
US	United States of America
US-CO	United States Columbus
US-ZS	United States Zeus
4MMP	4-Mercapto-4-methylpentan-2-on
4MSP	4-Methyl-4-sulfanylpentan-2-on
WEI	Weizen-Bier
Wf	Wiederfindung
\bar{x}	Mittelwert der Verteilung
x	Wert eines unabhängigen Einzelergebniss
Y_{Blind}	Achsenabschnitt der Kalibrierfunktion
ZA	Südafrika

1 Einleitung und Zielsetzung

Hopfen (*Humulus lupulus* L.) wird in Zentraleuropa seit mehr als 1.000 Jahren kultiviert und ist ein unverzichtbarer Rohstoff bei der Bierherstellung [Biendl et al., 2012]. Er verleiht dem Bier nicht nur einen bitteren Geschmack sondern auch ein angenehmes Hopfenaroma. Neben den Bitterstoffen gehört das ätherische Hopfenöl zu den wichtigsten Bestandteilen des Hopfens. Die Menge an Hopfenöl ist sortenabhängig [Lermusieau und Collin, 2002] und setzt sich aus über 400 Hopfenaromakomponenten zusammen [Nijssen et al., 1996]. Weltweit gibt es mehr als 200 verschiedene Hopfensorten [Biendl et al., 2012], die sich jeweils durch eine spezifische Hopfenaromakomposition auszeichnen. Die Aromastoffzusammensetzung des Bieres wird zum einen durch den Brauprozess und zum andern durch die verwendeten Rohstoffe wie Malz und insbesondere Hopfen bestimmt [Salzer und Siewek, 2000]. Für die Brauer sind aromaaktive flüchtige Hopfenbestandteile von besonderem Interesse in Hinblick auf die Entwicklung von Bieren mit einem ausgeprägten Hopfenaroma. Durch spezielle Verfahren der Kalthopfung können die wichtigsten Schlüsselaromastoffe des Hopfens wie Linalool und Myrcen noch gezielter in das Bier eingebracht und angereichert werden [Mitter und Cocuzza, 2013]. Eine neue Hopfenkategorie stellen die sog. „Flavor-Hops“ dar. Diese neuen Flavor-Hopfensorten zeichnen sich beispielsweise durch eine, für Hopfen eher ungewöhnlich ausgeprägte, fruchtige beziehungsweise zitrusartige Aromanote aus. Mit diesen Sorten können neue Biere mit ausgefallenen Geschmacksrichtungen und speziellen Aromen entwickelt werden [LfL Pflanzenbau „Special Flavor-Hops“, 2013]. Nachdem die Auswahl der Hopfensorten einen grossen Einfluss auf das Aroma, den Geschmack und die Bittere des Bieres hat, ist die Kenntnis über die analytische Zusammensetzung der Hopfenaromastoffe von besonderer Bedeutung. Es gibt verschiedene Methoden um das ätherische Hopfenöl zu analysieren und dessen Aromastoffzusammensetzung quantitativ zu bestimmen. Sie basieren entweder auf dem Prinzip der Wasserdampfdestillation oder auf der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln. Die Extraktion mit Kohlendioxid und die direkte thermische Desorption werden dafür ebenfalls angewandt [EBC, 2006; ASBC, 1992; Lam et al., 1986b; Langezaal et al., 1990; Eri et al., 2000]. Nachteilig bei den meisten dieser Methoden sind die umfangreiche Probenvorbereitung und der hohe Aufwand an spezieller Apparatur.

Eine komplexe Probenvorbereitung für die Analyse flüchtiger Verbindungen ist zudem häufig mit dem Risiko undefinierbarer Analytverluste verbunden [Eri et al., 2000]. Bei der Wasserdampfdestillation ist auch eine große Probenmenge und eine lange Extraktionszeit von 3 – 4 Stunden notwendig [EBC, 2006]. Außerdem können bei der Lösungsmittlextraktion wie auch bei der Kohlendioxid-Extraktionsmethode fremde schwerflüchtige Rückstände zusammen mit dem ätherischen Öl extrahiert werden. Dadurch können die GC-Säulen nachteilig von diesen nichtflüchtigen Rückständen beeinträchtigt werden [Eri et al., 2000].

Die Zielsetzung dieser Arbeit lag darin, mit der Headspace-Trap-GC-MS Methode ein alternatives, zuverlässiges Verfahren für die schnelle quantitative Analyse flüchtiger Hopfenaromastoffe zu entwickeln und dessen Zuverlässigkeit und Eignung nachzuweisen. Im Rahmen der Methodvalidierung wurden die Ergebnisse der HS-Trap Methode den Ergebnissen der Hopfenölanalyse (gemäß EBC Methode) gegenübergestellt und einer Korrelationsanalyse unterzogen. Ferner sollte durch Re-Destillationsversuche die Auswirkung der Wasserdampfdestillation auf die Zusammensetzung des Hopfenöls untersucht werden. Die Generierung von Hopfenölaromadiagrammen und sortenspezifischen Hopfenaromaprofilen (Fingerprints) zielte darauf ab, eine graphische Auswertungsform der Analysendaten zu schaffen, welche eine eindeutige Sortendifferenzierung bzw. Sortenidentifizierung von Hopfen erleichtert. Zudem sollte auf Basis umfangreicher Korrelationsanalysen der Grad des linearen Zusammenhangs zwischen den einzelnen Hopfenaromastoffen sowie die Korrelation der Hopfenaromastoffe mit der Hopfenölmenge genau untersucht werden.

Gegenstand der vorliegenden Studie war auch die Adaption der HS-Trap-GC-MS Methode zur quantitativen Analyse ausgewählter flüchtiger Verbindungen in Bierproben und die systematische Auswertung der Analyseergebnisse. Ferner sollten zur besseren Beurteilung der Bierqualität Chargenvergleiche durchgeführt werden. Die Versuche waren darauf ausgerichtet die Konstanz bzw. die Veränderung der charakteristischen Aromakomposition in den aufeinander folgenden Produktionschargen zu untersuchen und zu bewerten. Bei einigen Proben wurde zusätzlich die Veränderung alterungsrelevanter Aromastoffe bei frischen und forciert gealterten Bieren miteinander verglichen.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Hopfen

2.1.1 Herkunft und Biologie des Hopfens

Die Kulturpflanze Hopfen (*Humulus lupulus* L.) gehört zur Familie der Hanfgewächse (Cannabaceae) und zur Ordnung der Nesselgewächse (Urticales) [Biendl et al., 2012]. Verwendung finden nur die Blütenstände, die sog. Dolden der weiblichen Hopfenpflanze [Lieberei und Reisdorff, 2012]. Hopfendolden, auch Hopfenzapfen genannt, bestehen aus einer Spindel und Blättern mit Drüsen, die ein gelbes klebriges Pulver (Lupulin) absondern [Biendl et al., 2012]. Das Lupulin ist an den Doldenblättern, insbesondere an den sogenannten Vorblättern, in den Lupulindrüsen zu finden. Die Ausbildung und Form der Hopfendolden sind wichtige botanische Unterscheidungskriterien für die Hopfensorten [Biendl et al., 2012]. Die in Mitteleuropa heimische Pflanze wird seit dem 9. Jh. zum Bierbrauen eingesetzt und seit dem 13. Jh. in Mitteleuropa und dem 18. Jh. in Nordamerika kultiviert [Lieberei und Reisdorff, 2012].



Abbildung 1 – 3: (1) Hopfendolden, (2) Lupulindrüsen auf Doldenblätter, (3) mikroskopische Aufnahme einer Lupulindrüse [Kammhuber, 2007]

Frisch geerntete, grüne Hopfendolden weisen einen Wassergehalt von etwa 75 – 80% auf. Da der Hopfen in diesem Zustand nicht lagerfähig ist wird er unmittelbar nach der Ernte bei einer maximalen Temperatur von 60°C auf einen Restwassergehalt von 10 – 12 % getrocknet [Narziß et al., 1985].

2.1.2 Eigenschaften und Verwendung des Hopfens

Hopfen ist ein qualitätsbestimmender Rohstoff bei der Bierherstellung. Für den hopfenbitteren Geschmack des Bieres ist vor allem die Iso- α -Säure verantwortlich, welche durch Isomerisierung der α -Säure während der Würzekochung gebildet wird. Der Schwellenwert der Iso- α -Säure liegt bei ca. 5 ppm. [Biendl et al., 2012]. Hopfen bewirkt zudem als Klärmittel eine Fällung der Eiweißstoffe in der Würze und trägt durch seine antibakteriellen Eigenschaften zur biologischen Haltbarkeit des Bieres bei. Ferner unterstützt Hopfen durch seinen Pektingehalt die Schaumbildung. Die Aromastoffe des Hopfens können im Bier eine typische Hopfennote bewirken [Narziß, 1992]. Seit einiger Zeit wird auch das Wirkpotenzial verschiedener Hopfeninhaltsstoffe, wie z.B. Xanthohumol in der pharmakologischen Forschung untersucht, mit dem Ziel die alternativen medizinischen Verwendungsmöglichkeiten von Hopfen weiter auszubauen [Biendl, 2006].

2.1.3 Zusammensetzung der Hopfendolden

Die wertgebenden Inhaltsstoffe der Hopfendolden sind das ätherische Hopfenöl, die Bitterstoffe und die Polyphenole. Diese drei Fraktionen zählen zu den sekundären Stoffwechselprodukten [Biendl et al., 2012].

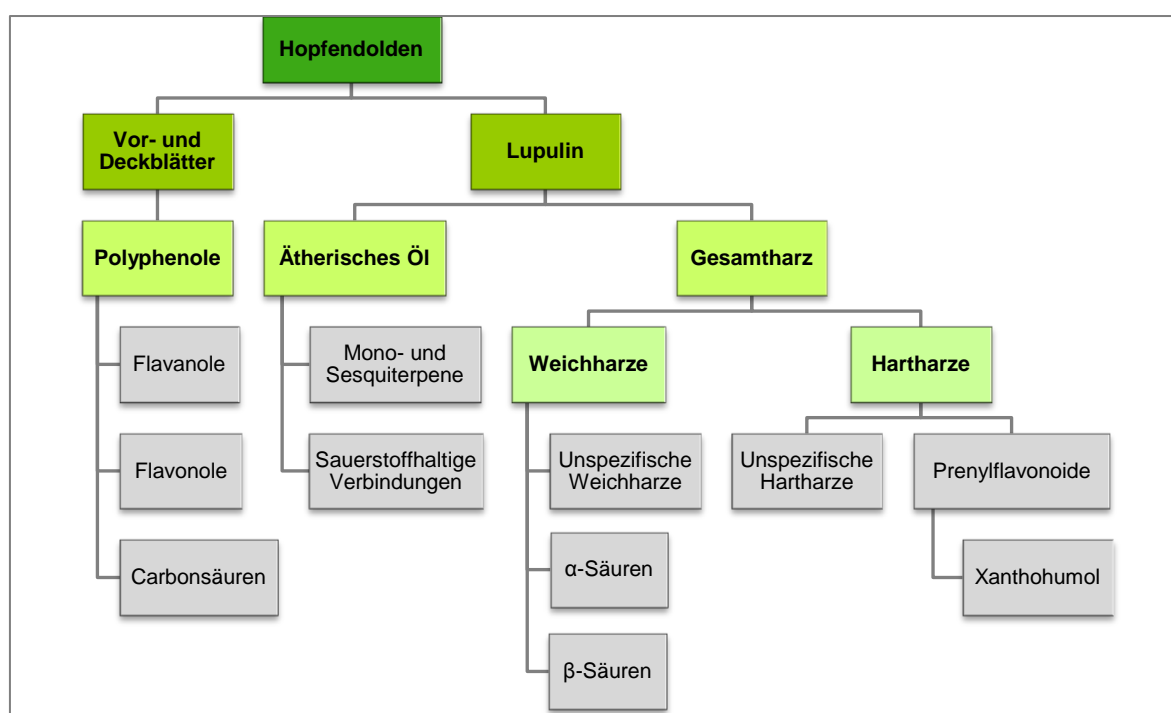


Abbildung 4: Schematische Einteilung der wichtigsten Sekundärmetaboliten des Hopfens [Biendl et al., 2012]

Hopfen zeichnet sich durch einen sehr hohen Anteil an Sekundärmetaboliten aus. Die meisten polyphenolischen Verbindungen liegen in den Doldenblättern vor. Das ätherische Öl und die Bitterstoffe (Harze) befinden sich dagegen in den Lupulindrüsen. Nur hier sind Enzyme enthalten, die in der Lage sind, sogenannte Prenylgruppen als Seitenketten in terpenophenolische oder polyphenolische Grundstrukturen einzuführen. Speziell diese prenylierten Verbindungen stellen daher die Besonderheit des Hopfens dar [Biendl et al., 2012]. Die Zusammensetzung des Hopfens ist insbesondere abhängig von der Sorte, dem Jahrgang, der Provenienz, dem Erntezeitpunkt, der Trocknung und der Lagerung [Moir, 2000]. Sie lässt sich wie folgt darstellen:

Tabelle 1: Zusammensetzung getrockneter Hopfendolden, gem. Eur. Brew. Con. [Steinhaus, 2000]

Stoff (-klasse)	Anteil [%]	Stoff (-klasse)	Anteil [%]
α -Säuren	2 – 17	Proteine	15
β -Säuren	2 – 10	sonst. Lipide	1 – 5
ätherisches Öl	0,5 – 3	Pektin	2
Polyphenole	3 – 6	Asche	10
Monosaccharide	2	Wasser	8 – 12
Aminosäuren	0,1	Cellulose, Lignin	40 – 50

2.1.4 Einteilung der Hopfensorten

Die Einteilung in Aroma- und Bittersorten erfolgt durch die Zulassungsbehörden nach den Angaben des Züchters. Eine Klassifizierung wird vor allem auf der Grundlage des α -Säure-Gehaltes vorgenommen, denn aus den α -Säuren entstehen während des Brauvorgangs mit den Iso- α -Säuren die Hauptbitterstoffe des Bieres [Biendl et al., 2012]. Aromahopfen zeichnen sich üblicherweise durch ein mildes, angenehmes Aroma, höhere Polyphenolgehalte und Alphawerte deutlich unter 10% aus. Bei den Bittersorten liegt der α -Säure-Gehalt über 10%. Eine züchterische Weiterentwicklung sind die Hochalphasorten mit α -Säure-Gehalten über 12% und die „Superhochalpha“-Sorten mit α -Säure-Werte über 15%. Die Sortengruppierung bringt eher zum Ausdruck welchem Einsatzziel eine Hopfensorte in der Brauerei dient [Biendl et al., 2012]. Nachfolgende Tabellen 2 bis 6 zeigen eine Klassifizierung der Aroma-, Dual- und Bitterhopfen. Einzelne Hopfensorten der IHGC (International Hop Growers Convention) Liste 2012 sind aufgrund fehlender Analysendaten in der Auflistung nicht berücksichtigt. Dies betrifft insbesondere ukrainische und japanische Sorten.

Tabelle 2: **Klassifizierung der Aromahopfen – Europa** (DE: Deutschland, CZ: Tschechien, PL: Polen, SI: Slovenien, FR: Frankreich, GB: Großbritannien) [a: LfL Pflanzenbau: „List of world hop varieties“]; [b: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2011], [c: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012], [d: Hopsteiner – Hopfsorten], [e: Kammhuber, 2013]

Hopfsorten	Kat.	Anbau	Gesamtöl	Linalol	Myrcen	Humulen	Aromabeschreibung
[a, b, c]	[a]	[a]	[ml/100g] [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	Rohhopfen [b, c]
Hall. Blanc [e]	Flavor	DE	1,5 – 1,8	ca. 0,4	ca. 57,0	ca. 1,4	blumig, fruchtig
Hall. Mittelfrüh	Aroma	DE	0,7 – 1,3	0,7 – 1,1	20 – 28	45 – 55	sehr fein, würzig (8), holzig (6)
Hall. Tradition	Aroma	DE	0,5 – 1,0	0,7 – 1,2	17 – 32	35 – 50	fein, Zitrus u. Limette (7)
Hall. Perle	Aroma	DE	0,5 – 1,5	0,2 – 0,6	20 – 35	35 – 55	vegetal (7), würzig (6)
Hersbrucker	Aroma	DE	0,5 – 1,0	0,5 – 1,0	15 – 30	20 – 30	würzig (5), blumig (3), Menthol (4)
Hüll Melon [e]	Flavor	DE	0,8 – 2,1	ca. 0,1	ca. 49,9	ca. 1,2	süße Fr. (7), rote Beeren (6)
Mand. Bavaria [e]	Flavor	DE	1,5 – 2,2	ca. 0,3	ca. 63,3	ca. 6,3	grüne Fr. (6), Zitrus (5), würzig (4)
Opal	Aroma	DE	0,8 – 1,3	1,0 – 1,5	20 – 45	30 – 50	würzig (7), holzig, (5), süße Fr. (3)
Saphir	Aroma	DE	0,8 – 1,4	0,8 – 1,3	25 – 40	20 – 30	würzig (7), holzig (5), rote Beere (6)
Smaragd	Aroma	DE	0,4 – 0,8	0,9 – 1,4	20 – 40	30 – 50	würzig (8), süße Fr. (4), vegetal (5)
Spalter	Aroma	DE	0,5 – 0,9	0,5 – 0,8	20 – 35	20 – 30	würzig (6), holzig (6)
Spalter Select	Aroma	DE	0,6 – 0,9	1,0 – 1,5	20 – 40	10 – 22	holzig (4), süße Fr. (4), blumig (5)
Tettnanger	Aroma	DE	0,5 – 0,9	0,4 – 0,9	20 – 35	22 – 32	holzig (7), Sahnekaram. (7)
Bohemie	Aroma	CZ	1,0 – 1,5	0,5 – 0,75	30 – 45	k.A.	k.A.
Bor [d]	Aroma	CZ	1,0 – 2,0	0,2 – 0,4	40 – 55	k.A.	k.A.
Harmonie	Aroma	CZ	0,9 – 1,4	0,9 – 1,4	30 – 40	k.A.	k.A.
Kazbek	Aroma	CZ	0,9 – 1,8	0,3 – 0,5	40 – 55	k.A.	k.A.
Premiant	Aroma	CZ	0,9 – 1,3	0,4 – 0,7	35 – 50	k.A.	würzig (5), holzig (4)
Saaz	Aroma	CZ	0,4 – 1,0	ca. 0,5	25 – 40	k.A.	k.A.
Saaz Late	Aroma	CZ	0,5 – 1,0	0,2 – 0,4	25 – 35	k.A.	k.A.
Saazer	Aroma	CZ	0,4 – 0,7	ca. 0,5	25 – 40	15 – 25	würzig (8), holzig (7)
Sladek	Aroma	CZ	0,8 – 1,0	0,15 – 0,3	25 – 40	30 – 40	Zitrus (8), rote Beere (8)
Limbus	Aroma	PL	1,1 – 1,5	0,2 – 0,3	30 – 40	k.A.	k.A.
Lomik	Aroma	PL	0,6 – 1,2	0,6 – 0,7	30 – 45	k.A.	k.A.
Lublin	Aroma	PL	0,5 – 1,1	k.A.	22 – 29	30 – 40	würzig (8), blumig (4), Menthol (4)
Sybilla	Aroma	PL	1,2 – 2,1	0,1 – 0,3	30 – 50	k.A.	k.A.
Aurora	Aroma	SI	0,9 – 1,4	k.a.	35 – 53	20 - 27	würzig (7), Zitrus(7)
Bobek	Aroma	SI	0,7 – 4,0	0,9 – 1,3	49 – 57	k.A.	k.A.
Cerera	Aroma	SI	1,5 – 3,6	0,6 – 1,2	26 – 40	k.A.	k.A.
Celeia	Aroma	SI	0,5 – 1,0	k.A.	27 – 33	20 – 35	würzig (8), Menthol (7)
Styrian Gold	Aroma	SI	1,3 – 2,3	1,3 – 2,3	38 – 47	k.A.	k.A.
Styrian Golding	Aroma	SI	0,5 – 0,9	0,7 – 1,2	25 – 45	k.A.	Zitrus (7), grüne Fr. (5), Tee (5)
Styrian Savinjski	Aroma	SI	0,5 – 1,0	ca. 0,8	27 – 33	k.A.	k.A.
Aramis	Aroma	FR	1,2 – 1,6	ca. 0,8	ca. 40	k.a.	süße Fr. (4), rote Beere (5)
Strisselspalter	Aroma	FR	0,6 – 0,8	ca. 0,8	35 – 52	15 - 25	Zitrus (8), Sahnekaram. (5)
Triskel	Aroma	FR	1,5 – 2,0	ca. 0,7	ca. 60	k.A.	grün (5), vegetal (4), Sahnekaram. (4)
Bramling Cross	Aroma	GB	0,7 – 1,0	ca. 0,9	ca. 37	k.A.	würzig (7), holzig (5), süße Fr. (4)
East Kent Golding	Aroma	GB	0,4 – 0,8	0,5 – 0,8	38 – 44	k.A.	würzig (5), holzig (4), Zitrus (4)
Endeavour	Aroma	GB	1,2 – 1,8	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
First Gold	Aroma	GB	0,7 – 1,5	0,4 – 0,6	24 – 27	20 - 24	holzig (4), rote Beere (4)
Fuggle	Aroma	GB	0,7 – 1,4	0,5 – 0,7	24 – 28	30 - 38	holzig (8), würzig (5)
Golding [d]	Aroma	GB	0,8 – 1,0	k.A.	23 – 27	k.A.	k.A.
Progress	Aroma	GB	0,5 – 0,8	ca. 1,5	24 – 28	k.A.	würzig (7), holzig (6)
Sovereign	Aroma	GB	0,5 – 1,0	k.A.	k.A.	k.A.	süße Fr. (6), grüne Früchte (4)
Whitbread Gold.	Aroma	GB	0,8 – 1,2	k.A.	25 – 29	k.A.	süße Fr. (6), Sahnekaram. (6)

Für einige Hopfsorten liegt auch eine sensorische Beschreibung vor. Von der Fa. Barth wurden der Rohhopfen und ein Kaltauszug des Hopfens sensorisch bewertet, um ansatzweise die Aromaveränderung beim Hopfenstopfen zu simulieren. Für die Beurteilung des Hopfens wurden Deskriptoren wie „blumig“, „würzig/krautig“, „holzig/aromatisch“, „grün“, „Zitrus“, „süße Früchte“, „grüne Früchte“, „rote Beeren“, „Sahnekaramell“, „vegetal“, „Tee“ und „Menthol“ verwendet. Die Ausprägung des Aromas wurde auf einer Skala von 1 – 9 bewertet [Joh. Barth & Sohn, 2011 und Joh. Barth & Sohn, 2012]. Die Ergebnisse dieser Beurteilung sind in den Tabellen 2 bis 6 berücksichtigt. Generell wird die sensorische

Bewertung von Hopfensorten eher kritisch bzw. als wenig aussagefähig betrachtet, da sie subjektiv ist und es keine einheitliche Methodik mit definierten Deskriptoren zur Aromabeschreibung gibt. Die tatsächliche Aromaentfaltung des Hopfens im Bier kann nur über Brauversuche ermittelt werden [Biendl et al., 2012].

Tabelle 3: **Klassifizierung der Aromahopfen – weltweit** (US: United States of Amerika, AU: Australien, NZ: Neuseeland, JP: Japan) [a: LfL Pflanzenbau: „List of world hop varieties“]; [b: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2011], [c: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012], [d: Hopsteiner – Hopfensorten]

Hopfensorte	Kat.	Anbau	Gesamtöl	Linalol	Myrcen	Humulen	Aromabeschreibung
[a, b, c]	[a]	[a]	[ml/100g] [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	Rohhopfen [b, c]
Ahtanum	Aroma	US	0,8 – 1,2	k.A.	50 – 55	16 – 20	würzig, blumig
Amarillo	Aroma	US	1,5 – 1,9	k.A.	68 – 70	9 – 11	süße Fr. (8), würzig (4)
Cascade	Aroma	US	0,7 – 1,4	k.A.	40 – 60	8 – 13	rote Beeren (8), Sahnkaram. (7)
Centennial	Aroma	US	1,5 – 2,3	k.A.	45 – 55	10 – 18	holzig (8), rote Beeren (6), würzig (5)
Citra	Aroma	US	2,2 – 2,8	1,0 – 2,0	60 – 65	11 – 13	süße Fr. (9), blumig (8), rote B. (8)
Crystal	Aroma	US	0,8 – 2,1	k.A.	40 – 65	k.A.	blumig (Kamille) (4), Zitrus (7)
Delta [d]	Aroma	US	0,5 – 1,1	0,8 – 1,2	25 – 40	k.A.	k.A.
Liberty [d]	Aroma	US	0,7 – 1,2	k.A.	32 – 42	k.A.	k.A.
Mosaic	Aroma	US	1,0 – 1,5	k.A.	47 – 53	k.A.	Zitrus (7), grüne Fr. (6)
Mount Hood	Aroma	US	1,2 – 1,7	0,5 – 0,7	30 – 40	30 – 38	würzig (7)
Palisade	Aroma	US	1,4 – 1,6	k.A.	9 – 10	19 – 22	rote Beeren (6), süße Fr. (6)
Santiam	Aroma	US	1,3 – 1,7	k.A.	30 – 45	k.A.	k.A.
Sterling	Aroma	US	0,8 – 1,2	0,7 – 0,9	44 – 48	k.A.	k.A.
Ultra	Aroma	US	0,5 – 1,0	k.A.	15 – 25	k.A.	k.A.
Vanguard	Aroma	US	0,8 – 1,2	k.A.	20 – 25	k.A.	k.A.
Willamette	Aroma	US	1,0 – 1,5	k.A.	30 – 40	20 – 27	harzig-holzig (8), rote Beere (6)
Galaxy	Aroma	AU	2,4 – 2,7	k.A.	33 – 42	10 – 20	rote Beere (8), würzig (8)
Helga	Aroma	AU	0,6 – 0,7	0,2 – 0,6	2 – 12	35 – 47	würzig (6), holzig (4)
Sylva	Aroma	AU	0,5 – 1,1	0,3 – 0,6	17 – 23	19 – 26	rote Beere (7), würzig (7), holzig (7)
Ella	Aroma	AU	ca. 2,9	0,2 – 0,7	ca. 33	k.A.	k.A.
Summer	Aroma	AU	0,9 – 1,3	0,2 – 0,6	5 – 13	42 – 46	würzig (8), Menthol (5), Zitrus (4)
Motueka [d]	Aroma	NZ	0,8 – 1,1	k.A.	46 – 50	k.A.	k.A.
Pacifica [d]	Aroma	NZ	1,0 – 1,3	k.A.	25 – 39	k.A.	k.A.
Riwaka [d]	Aroma	NZ	1,4 – 1,6	k.A.	60 – 70	k.A.	k.A.
Wakatu	Aroma	NZ	0,9 – 1,1	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Sorachi Ace	Aroma	JP	2,0 – 3,0	k.A.	k.A.	k.A.	süße Fr. (9), Zitrus (7), holzig (5)

Als Dualhopfen werden die Hopfensorten bezeichnet, bei denen der Einsatz sowohl als Aroma- als auch als Bitterhopfen denkbar ist [Biendl et al., 2012].

Tabelle 4: **Klassifizierung der Dualhopfen – weltweit** (ZA: Südafrika; CN: China) [a: LfL Pflanzenbau: „List of world hop varieties“]; [b: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2011], [c: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012], [d: Hopsteiner – Hopfensorten], [e: Kammhuber, 2013]

Hopfensorte	Kat.	Anbau	Gesamtöl	Linalool	Myrcen	Humulen	Aromabeschreibung
[a, b, c]	[a]	[a]	[ml/100g] [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	Rohhopfen [b, c]
Polaris [e]	Flavor	DE	4,4 – 4,8	ca. 0,2	ca. 51,4	ca. 21,2	Menthol (7), Zitrus (6)
Extra Styrian Dana	Dual	SI	2,4 – 3,9	0,5 – 1,0	42 – 60	k.A.	k.A.
Boadicea	Dual	GB	1,3 – 1,5	0,2 – 0,4	30 – 34	k.A.	k.A.
Wye Challenger [d]	Dual	GB	1,0 – 1,5	k.A.	28 – 32	k.A.	süße Fr. (7)
Calypso [d]	Dual	US	1,6 – 2,5	0,3 – 0,5	30 – 40	k.A.	k.A.
Chinook	Dual	US	1,7 – 2,7	k.A.	35 – 40	18 – 23	würzig (7), Zitrus (6)
Cluster [d]	Dual	US	0,4 – 0,8	0,3 – 0,5	45 – 55	15 – 18	blumig (7), süße Fr. (6)
El Dorado®	Dual	US	2,5 – 2,8	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Glacier	Dual	US	0,7 – 1,6	k.A.	33 – 62	k.A.	süße Fr. (5), Tee (6)
Horizon [d]	Dual	US	1,5 – 2,5	1,1 – 1,3	60 – 70	k.A.	k.A.
Simcoe®	Dual	US	2,0 – 2,5	k.A.	60 – 65	10 – 15	rote Beere (9), süße Fr. (7)
Southern Star	Dual	ZA	1,3 – 1,6	ca. 0,6	30 – 38	k.A.	würzig (6), vegetal (7)
Southern Dawn	Dual	ZA	ca. 0,8	ca. 0,7	22 – 44	k.A.	Sahnkaram. (7), süße Fr. (5)
Southern Promise	Dual	ZA	0,7 – 1,1	ca. 0,4	20 – 23	k.A.	vegetal (9), würzig (6)
Dr Rudi	Dual	NZ	1,3 – 1,6	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Green Bullet	Dual	NZ	0,9 – 1,3	k.A.	38 – 52	k.A.	k.A.
Nelson Sauvín	Dual	NZ	1,1 – 1,5	k.A.	30 – 56	k.A.	k.A.
Tsingtao Flower	Dual	CN	ca. 0,6	ca. 0,2	k.A.	k.A.	rote Beere (7), holzig (5)

Mit Bitter- und Hochalphahopfen soll Bier primär gebittert werden, mit Aromahopfen verfolgt man auch andere Intentionen wie ein Hopfenaroma im Bier und/ oder die Geschmacksförderung durch Polyphenole [Biendl et al., 2012].

Tabelle 5: **Klassifizierung der Bitterhopfen – Europa** (Deutschland, Tschechien, Polen, Großbritannien) [a: LfL Pflanzenbau: „List of world hop varieties“]; [b: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2011], [c: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012], [d: Hopsteiner – Hopfensorten]

Sorte	Kat.	Anbau	Gesamtöl	Linalool	Myrcen	Humulen	Aromabeschreibung
[a, b, c]	[a]	[a]	[ml/100g] [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	Rohhopfen [b, c]
Hall. Magnum	Hochalpha	DE	1,6 – 2,6	0,2 – 0,7	30 – 45	30 – 45	grün (5), Zitrus (5)
Hall. Merkur [d]	Hochalpha	DE	1,4 – 1,9	0,6 – 1,1	25 – 35	k.A.	k.A.
Hall. Taurus	Hochalpha	DE	0,9 – 1,4	1,0 – 1,5	30 – 50	23 – 33	würzig (6), holzig (6)
Herkules	Hochalpha	DE	1,6 – 2,4	0,3 – 0,8	30 – 50	30 – 45	grün (6), grüne Fr. (3)
Agnus	Hochalpha	CZ	2,0 – 3,0	0,4 – 0,8	40 – 55	k.A.	würzig (6), süße Fr. (5)
Rubin	Alpha	CZ	1,0 – 2,0	0,3 – 0,5	30 – 45	k.A.	k.A.
Vital	Alpha	CZ	1,5 – 2,5	0,5 – 0,9	40 – 60	k.A.	k.A.
Lunga	Hochalpha	PL	1,5 – 2,5	0,1 – 0,3	40 – 55	k.A.	k.A.
Magnat	Hochalpha	PL	ca. 1,0	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Marynka	Alpha	PL	1,8 – 2,2	k.a.	28 – 31	26 - 33	würzig (8), blumig (4)
Oktawia	Alpha	PL	0,7 – 1,4	0,2 – 0,4	30 – 50	k.A.	k.A.
Pulawski	Alpha	PL	ca. 1,65	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Zbyszko	Alpha	PL	1,0 – 1,5	0,5 – 1,0	40 – 50	k.A.	k.A.
Zula	Alpha	PL	1,1 – 2,0	0,2 – 0,4	40 – 50	k.A.	k.A.
Admiral	Hochalpha	GB	1,0 – 1,7	ca. 1,0	39 – 48	k.A.	grün (5), süße Fr. (6)
Brewers Gold	Alpha	GB	0,8 – 1,8	ca. 0,3	40 – 50	k.A.	rote Beere (4), würzig (3)
North. Brewer	Alpha	GB	1,0 – 1,6	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Phoenix [d]	Alpha	GB	1,2 – 2,5	k.A.	22 – 26	k.A.	k.A.
Pilgrim [d]	Alpha	GB	1,6 – 1,8	k.A.	30 – 36	k.A.	k.A.
Wye Northdown [d]	Alpha	GB	1,2 – 2,2	k.A.	24 – 28	k.A.	k.A.
Wye Target	Alpha	GB	1,2 – 1,4	0,8 – 1,0	45 – 55	17 – 22	holzig (7), Sahnekaram. (5)

Die neuen Bitterhopfensorten „Magnat“ und „Pulawski“ wurden 2012 freigegeben. Sie werden in Polen angebaut.

Tabelle 6: **Klassifizierung der Bitterhopfen – weltweit** (USA, Australien, Neuseeland, China) [a: LfL Pflanzenbau: „List of world hop varieties“]; [b: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2011], [c: Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012], [d: Hopsteiner – Hopfensorten]

Hopfensorte	Kat.	Anbau	Gesamtöl	Linalool	Myrcen	Humulen	Aromabeschreibung
[a, b, c]	[a]	[a]	[ml/100g] [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	[%] von Öl [b, c]	Rohhopfen [b, c]
Apollo [d]	Hochalpha	US	1,5 – 2,5	0,2 – 0,4	30 – 55	k.A.	k.A.
Bravo	Hochalpha	US	1,6 – 2,4	0,2 – 0,3	25 – 50	k.A.	würzig (7), vegetal (5)
Chelan	Hochalpha	US	1,5 – 1,9	k.A.	45 – 55	12 – 15	rote B. (7), Sahnekaram. (8)
Columbus	Hochalpha	US	2,5 – 3,5	ca. 0,17	50 – 60	k.A.	blumig (5), Grün (5)
Comet	Hochalpha	US	1,4 – 3,3	k.A.	k.A.	k.A.	Zitrus (9), blumig (7)
Galena	Hochalpha	US	0,9 – 1,3	k.A.	55 – 60	10 – 13	süße Fr. (8), grüne Fr. (8)
Millennium	Hochalpha	US	1,8 – 2,2	k.A.	30 – 40	23 – 27	Sahnekaram. (8), rote Be. (6)
Newport	Hochalpha	US	1,6 – 3,4	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Nugget	Hochalpha	US	0,9 – 1,3	0,5 – 1,0	27 – 42	k.A.	Tee (4), Zitrus (4)
Summit	Hochalpha	US	1,5 – 2,5	k.A.	35 – 50	k.A.	vegetal (9), Grün (6)
Super Galena [d]	Hochalpha	US	1,5 – 2,5	0,3 – 0,5	45 – 60	k.A.	süße Fr. (5), holzig (5)
Tomahawk	Hochalpha	US	2,5 – 3,5	k.A.	50 – 60	k.A.	k.A.
Warrior®	Hochalpha	US	1,3 – 1,7	k.A.	40 – 50	15 – 19	würzig (6), holzig (7)
Zeus	Hochalpha	US	2,5 – 3,5	k.A.	50 – 60	k.A.	k.A.
Pride of Ringwood	Alpha	AU	1,0 – 2,0	ca. 0,4	25 – 50	ca. 2	würzig (8)
Stella	Hochalpha	AU	ca. 2,9	k.A.	ca. 33	ca. 1,2	würzig (9), holzig (6)
Super Pride [d]	Hochalpha	AU	1,0 – 2,0	ca. 0,4	25 – 50	ca. 0,9	würzig (7), Sahnekaram. (6)
Topaz	Hochalpha	AU	0,8 – 1,7	0,4 – 0,7	25 – 43	11 – 13	rote Beere, süße Fr. (4)
Pacific Gem [d]	Hochalpha	NZ	1,2 – 1,4	k.A.	50 – 60	k.A.	k.A.
Pacific Jade [d]	Hochalpha	NZ	1,3 – 1,5	k.A.	30 – 36	k.A.	k.A.
Southern Cross [d]	Hochalpha	NZ	1,0 – 1,4	k.A.	55 – 63	k.A.	k.A.
Sticklebract [d]	Hochalpha	NZ	0,9 – 1,3	k.A.	48 – 54	k.A.	k.A.
Marco polo	Hochalpha	CN	ca 1,1	ca. 0,5	k.A.	k.A.	k.A.

Aufgrund der großen Nachfrage der Brauindustrie wurden neue Hopfensorten, die den Bieren besonders blumige, fruchtige, zitrusartige und harzige Aroma- und Geschmackseindrücke verleihen, entwickelt. Aus speziellen Kreuzungen sind vier neue deutsche „Special-Flavor-Hopfensorten“ entstanden, mit für Hopfen eher untypischen fruchtigen-zitrusartigen Aromanuancen [LfL Pflanzenbau „Special Flavor-Hops“, 2013]. Die Aromen der vier neuen „Hüller“-Sorten und ihre Auswirkung im Bier lassen sich folgendermaßen beschreiben:

Tabelle 7: Aromabeschreibung der „Special-Flavor“-Hopfensorten [* LfL Pflanzenbau: „Special Flavor-Hops“, 2013]

„Special-Flavor“-Hopfensorten (*)	Aromabeschreibung des Hopfens (*)	Aromabeschreibung Bier (sortenrein gehopft) (*)
„Polaris“	<ul style="list-style-type: none"> - würzig und fruchtig - mit erfrischender Minznote 	<ul style="list-style-type: none"> - hohe Aroma- und Bitterqualität - vielfältige Aromacharakteristika - fruchtige, minzige und leicht zitrusartige Noten
„Mandarina Bavaria“	<ul style="list-style-type: none"> - angenehm hopfig - frisch, fruchtig - ausgeprägte Mandarinen- und Zitrusnote 	<ul style="list-style-type: none"> - hopfige, Grundnote mit sehr fruchtig-zitrusartigem Potential - Mandarinen-Orangen-Aroma - exzellente „Drinkability“
„Hallertau Blanc“	<ul style="list-style-type: none"> - fruchtig-blumiges Weißweinbouquet - Mango-, Stachelbeer- und Grapefruitnoten 	<ul style="list-style-type: none"> - Aromanuancen von grünen Früchten und Mango - wahrnehmbare Stachelbeernote - ähnlich dem Bouquet eines feinen Weißweins
„Hüll Melon“	<ul style="list-style-type: none"> - fruchtig und süß - markante Honigmelonennote 	<ul style="list-style-type: none"> - faszinierende süßliche Aromen und Bittercharakteristika - wahrnehmbares Honigmelonenaroma - leichte Aprikosenuancen und blumige Aromanoten

2.1.5 Zusammensetzung des ätherischen Hopfenöls

Gemäß dem Deutschen Arzneibuch versteht man unter ätherischen Ölen komplexe Gemische lipophiler Stoffe, die aus den verschiedensten Pflanzenteilen durch Wasserdampfdestillation, Pressung oder Extraktion gewonnen werden und im Bereich von ca. 50 bis 320°C sieden. Sie zeichnen sich durch einen aromatischen, häufig charakteristischen Geruch aus und kommen vor allem in höheren Pflanzen vor [Pfannkuche, 2000].

Die Zusammensetzung und die Menge des ätherischen Hopfenöls sind vor allem von der Hopfensorte abhängig. Getrocknete Hopfendolden weisen ungefähr einen Gehalt von 0,1 – 2,0% an ätherischem Öl auf [Lermusieau und Collin, 2002]. Das

Hopfenöl besteht aus einer großen Anzahl flüchtiger Verbindungen von denen bis heute etwa 400 identifiziert und chemisch charakterisiert sind [Nijssen et al., 1996]. Diese lassen sich in zwei Hauptklassen einteilen. Die Kohlenwasserstoffe, deren Anteil am Gesamtöl bei 40 – 80% liegt, und die sauerstoffhaltigen Komponenten [Lermusieau und Collin, 2002]. Die Kohlenwasserstofffraktion lässt sich in die Gruppe der Monoterpene, mit einem Hauptbestandteil von Myrcen (10 – 73 %) und in die Gruppe der Sesquiterpene, mit den Hauptkomponenten α -Humulen (15 – 42%) und β -Caryophyllen (3 – 15%), unterteilen [Nijssen et al., 1996]. In den nachfolgenden Tabellen sind wichtige Verbindungen des ätherischen Hopfenöls aufgeführt:

Tabelle 8: Konzentrationen [%] der Kohlenwasserstoffe im ätherischen Hopfenöl [* Nijssen et al., 1996]

Kohlenwasserstoffe	Konzentration in Hopfenöl [%]	Kohlenwasserstoffe	Konzentration in Hopfenöl [%]
Nr. Monoterpene [*]		Nr. Sesquiterpene [*]	
1. β -Ocimen	< 0,04 – 0,4	1. β -Farnesen	< 0,01 – 16
2. (Z)- β -Ocimen	< 0,02	2. α -Bisabolen	< 0,01 – 3,0
3. (E)- β -Ocimen	< 0,01 – 1,0	3. β -Bisabolen	< 0,01 – 0,2
4. β -Myrcen	10 – 73	4. Germacren D	< 0,01 – 0,4
5. α -Phellandren	< 0,01	5. α -Humulen	15 – 42
6. β -Phellandren	< 0,02	6. <i>cis</i> - α -Bergamoten	< 0,03
7. γ -Terpinen	< 0,38	7. <i>trans</i> - α -Bergamoten	< 0,01 – 1,0
8. Terpinolen	< 0,01	8. α -Cadinen	< 0,01 – 0,5
9. Limonen	< 0,02 – 0,5	9. γ -Cadinen	< 0,01 – 1,2
10. α -Pinen	< 0,01 – 0,4	10. δ -Cadinen	0,1 – 3,7
11. β -Pinen	< 0,01 – 1,8	11. 1,4-Cadinadien	< 0,48
12. Camphen	< 0,02	12. α -Muurolen	< 0,01 – 0,5
13. Sabinen	< 0,01 – 1,4	13. γ -Muurolen	< 0,01 – 1,9
		14. α -Selinen	< 0,01 – 7,0
		15. β -Selinen	< 0,01 – 6,1
		16. 4,11-Selinadien	< 0,01 – 0,9
		17. α -Guajen	< 0,01
		18. β -Caryophyllen	3 – 15
		19. α -Cubebene	< 0,09
		20. α -Copaen	< 0,01 – 1,0
		21. α -Ylangene	< 0,01 – 0,3
		22. Aromadendren	< 0,01
		23. Alloaromadendren	0,09 – 3,5
		24. Calamenen	< 0,01 – 0,6
		25. α -Calacoren	< 0,01 – 0,8

Das Monoterpen Myrcen ist die wichtigste und sensorisch dominante Komponente des grünen Aromas der Hopfendolden [Biendl et al., 2012]. Die Fraktion der polaren Verbindungen, die 10 – 30% des Hopfenöls ausmacht, besteht insbesondere aus Estern, Alkoholen und Ketonen [Nijssen et al., 1996].

Tabelle 9: Konzentrationen [%] sauerstoffhaltiger Verbindungen im ätherischen Hopfenöl [* Nijssen et al., 1996]

Sauerstoffhaltige Verbindungen		Konzentration in Hopfenöl [%]	Sauerstoffhaltige Verbindungen		Konzentration in Hopfenöl [%]
Nr.	Aldehyde [*]		Nr.	Alkohole [*]	
1.	Hexanal	< 0,01	1.	2-Methyl-1-butanol	< 0,01 – 0,7
2.	(E)-2-Hexenal	< 0,01	2.	3-Methyl-2-buten-1-ol	< 0,01 – 0,7
3.	Geranial	< 0,01	3.	2-Methyl-3-buten-2-ol	0,3 – 1,0
4.	Benzaldehyd	< 0,01	4.	1-Octanol	< 0,01
	Ketone [*]		5.	2-Octanol	< 0,01
1.	2-Pentanon	< 0,01	6.	1-Octen-3-ol	< 0,01
2.	3-Methyl-2-pentanon	< 0,01	7.	2-Nonanol	< 0,02
3.	4-Methyl-2-pentanon	< 0,01 – 0,8	8.	2-Decanol	< 0,01
4.	2-Nonanon	< 0,01 – 0,6	9.	2-Undecanol	< 0,1 – 0,6
5.	2-Decanon	< 0,01 – 0,3	10.	2-Tridecanol	< 0,01
6.	Decen-2-on	< 0,02	11.	Citronellol	< 0,02
7.	9-Methyl-2-decanon	< 0,01 – 0,3	12.	Geraniol	< 0,01 – 1,5
8.	2-Undecanon	< 0,01 – 1,5	13.	Nerol	< 0,01 – 0,1
9.	Undecen-2-on	< 0,04 – 0,07	14.	Linalool	< 0,1 – 1,1
10.	2-Dodecanon	< 0,04 – 0,27	15.	Farnesol	< 0,01
11.	2-Tridecanon	< 0,01 – 1,7	16.	Nerolidol	< 0,02
12.	Tridecen-2-on	< 0,01 – 0,23	17.	(E)-Nerolidol	< 0,2
13.	2-Tetradecanon	< 0,16	18.	α -Terpineol	< 0,02
14.	Tetradecen-2-on	< 0,05	19.	4-Terpineol	< 0,01
15.	Tetradecadien-2-on	< 0,09	20.	Humulol	< 0,01 – 0,1
16.	2-Pentadecanon	< 0,01 – 0,15	21.	Humulenol II	< 0,01 – 1,5
17.	Pentadecen-2-on	< 0,01 – 0,18	22.	α -Cadinol	< 0,08
18.	Pentadecadien-2-on	< 0,01 – 1,24	23.	δ -Cadinol	< 0,01 – 0,1
19.	2-Hexadecanon	< 0,03	24.	T-Cadinol	< 0,01 – 0,25
20.	2-Heptadecanon	< 0,01	25.	T-Muurolol	< 0,01 – 0,2
21.	(E)- β -Damascenon	k.A.	26.	Cubenol	< 0,07
	(Ep)oxide [*]		27.	Epicubenol	< 0,01 – 0,15
1.	Humulenepoxid I	< 0,01 – 0,42	28.	α -Eudesmol	< 0,01 – 0,22
2.	Humulenepoxid II	< 0,01 – 1,86	29.	β -Eudesmol	< 0,01
3.	Humulenepoxid III	< 0,01	30.	γ -Eudesmol	< 0,03
4.	Humulendiepoxid	< 0,01 – 0,21	31.	Guaiol	< 0,01
5.	β -Caryophyllenoxid	< 0,01 – 0,64	32.	Caryolan-1-ol	< 0,02
6.	α -Bisabololoxid	< 0,34			

Die Carbonsäure-Ester sind, mit einem Anteil von über 15%, die drittgrößte Substanzgruppe im ätherischen Hopfenöl. In Hopfenöl findet man hauptsächlich Methyl ester verschiedenster geradkettiger oder verzweigter Carbonsäuren, aber auch deren Ethyl-, Propyl- oder (Iso-)Butylester [Biendl et al., 2012].

Tabelle 10: Konzentrationen [%] sauerstoffhaltiger Verbindungen im ätherischen Hopfenöl - Fortsetzung [a: Nijssen et al., 1996; b: Takoi, 2012]

Sauerstoffhaltige Verbindungen		Konzentration in Hopfenöl [%]	Sauerstoffhaltige und Schwefel-Verbindungen		Konzentration in Hopfenöl [%]
Nr.	Ester [a]		Nr.	Organische Säuren [a]	
1.	Octylacetat	< 0,01	1.	Isobuttersäure	< 0,1
2.	Geranylacetat	< 0,01 – 1,4	2.	Isovaleriansäure	< 1,0
3.	Nerylacetat	< 0,01 – 0,15	3.	Isocaprinsäure	< 0,12
4.	2-Methylbutylpropanoat	0,08 – 1,0	4.	Hexansäure	< 0,09
5.	Propansäurehexylester	0,11 – 0,38	5.	Heptansäure	< 0,13
6.	Propansäureheptylester	< 0,01 – 0,09	6.	6-Methylheptansäure	< 0,03
7.	Geranylpropanoat	< 0,01 – 0,74	7.	Octansäure	< 0,01 – 0,02
8.	Isobutylisobutytrat	< 0,01 – 0,92	8.	Nonansäure	< 0,01
9.	2-Methylbutylisobutytrat	< 0,01 – 4,4	9.	Nonensäure	< 0,01
10.	Isoamyl-isobutytrat	< 0,01 – 0,71	10.	Decansäure	< 0,02
11.	Hexyl-2-methylpropanoat	< 0,01 – 0,09	11.	4-Decensäure	< 0,06
12.	Heptyl-2-methylpropanoat	0,02 – 0,1	12.	4,8-Decadiensäure	< 0,02
13.	Octyl-2-methylpropanoat	< 0,01 – 0,09	13.	Dodecadiensäure	< 0,01
14.	Geranyl-2-methylpropanoat	< 1,0			
15.	2-Methylbutyl-2-methylbutanoat	< 0,01 – 0,22		Schwefel-Verbindungen [a]	
16.	2-Methylbutyl-3-methylbutanoat	< 0,01 – 0,15	1.	Methanethiol	k.A.
17.	Methylhexanoat	< 0,01 – 0,15	2.	Hydrogensulfid	k.A.
18.	Methyl-5-methylhexanoat	< 0,01 – 0,61	3.	Dimethylsulfid	k.A.
19.	Methyl-4-methyl-2-hexenoat	< 0,01 – 0,44	4.	Diethylsulfid	k.A.
20.	Methylheptanoat	< 0,01 – 0,71	5.	Dimethyldisulfid	< 0,001
21.	Methyl-6-methylheptanoat	< 0,01 – 0,75	6.	Diethyldisulfid	k.A.
22.	Methyloctanoat	< 0,01 – 1,25	7.	Dimethyltrisulfid	k.A.
23.	Methyl-2-octenoat	< 0,01	8.	Methional	k.A.
24.	Methyl-7-methyloctanoat	< 0,01 – 0,12	9.	2-Thiahexan-3-on	< 0,001
25.	Methylnonanoat	< 0,01 – 0,50	10.	Methylhexanethioat	< 0,12
26.	Methyl-5-nonenoat	< 0,02	11.	S-Methylhexanethioat	< 0,001 – 0,01
27.	Methyl-7-methylnonanoat	< 0,01	12.	Methylheptanethioat	< 0,01 – 0,25
28.	Methyl-8-methylnonanoat	< 0,04 – 0,25	13.	S-Methylheptanethioat	< 0,001
29.	Methyldecanoat	< 0,01 – 1,40	14.	S-Methyloctanethioat	< 0,001
30.	Methyl-4-decenoat	< 0,01 – 5,6	15.	S-Methylnonanethioat	< 0,001
31.	Methyldecanoat	< 1,1	16.	S-Methyldecanethioat	< 0,001
32.	Methyl-4,8-decadienoat	< 0,01 – 2,4	17.	1,2-Epithiohumulen	< 0,001 – 0,93
33.	Methyldecadienoat	0,5 – 2,4	18.	4,5-Epithiohumulen	< 0,001
34.	Methyl-2-undecenoat	< 0,01	19.	Myrcensulfid	k.A.
35.	Methylundecenoat	< 0,02	20.	Myrcendisulfid	< 0,001
36.	Methylundecadienoat	< 0,12	21.	Myrcentrisulfid	k.A.
37.	Methyldodecenoat	< 0,03 – 0,66	22.	4,5-Epithiocaryophyllen	< 0,001 – 0,34
38.	Methyldodecadienoat	< 0,09 – 0,36	23.	4-Methyl-4-sulfanylpentan-2-on (4MSP) [b]	k.A.
39.	Methyltridecenoat	< 0,01 – 0,32	24.	3-Sulfanyl-pentan-1-ol (3SP) [b]	k.A.
40.	Methylgeranate	< 0,01 – 1,5	25.	3-Sulfanyl-hexan-1-ol (3SH) [b]	k.A.
41.	Methylphenylacetat	< 0,02	26.	3-Sulfanylhexylessig-Säure (3SHA) [b]	k.A.
			27.	3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol (3S4MP) [b]	k.A.
			28.	3-Sulfanyl-4-methylpentylessigsäure (3S4MPA) [b]	k.A.

Freie Carbonsäuren bzw. Fettsäuren, wie z.B. Butansäure, die bei der Lagerung von Hopfen gebildet werden, verursachen einen käsigen Geruch [Biendl et al., 2012]. Bestimmte Hopfensorten enthalten auch geruchsaktive Thiole

(Mercaptane). So kommt beispielsweise in der amerikanischen Hopfensorte Cascade die Verbindung 4-Methyl-4-sulfanylpentan-2-on (4MSP, früher als 4-MMP bezeichnet) vor. Diese ist dort für den Geruch nach schwarzer Johannisbeere bekannt geworden. Weitere geruchsaktive schwefelhaltige Verbindungen des Hopfens sind 3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol (3S4MP) und 3-Sulfanyl-4-methylpentylelessigsäure (3S4MPA). Diese schwefelhaltigen Stoffe entfalten ihr Aroma bereits in extrem niedrigen Konzentrationen von wenigen ng pro Liter (ppt) im Bier [Biendl et al., 2012]. Die „neuen“ flüchtigen Thiole, 3S4MP und 3S4MPA, wurden zum ersten Mal in der neuseeländischen Hopfensorte „Nelson Sauvín“ und dem daraus hergestellten Bier nachgewiesen. Diese beiden neuen Thiole haben eine Grapefruit-/Rhabarber-Aromanote, ähnlich wie 3-Sulfanyl-hexan-1-ol (3SH). Der Schätzwert für die Schwellenwerte von 3S4MP und 3S4MPA beträgt 40 ppt bzw. 120 ppt. Sie verleihen dem Bier einen Geschmack nach Sauvignon Blanc [Takoi, 2012].

Zusammenfassend lassen sich die Hopfenölkomponenten in folgende Verbindungsklassen einteilen:

Tabelle 11: Klassifizierung der Hopfenölkomponenten, nach Nijssen [Steinhaus, 2000]

Stoffklassen	Anzahl Verbindungen	Stoffklassen	Anzahl Verbindungen
Kohlenwasserstoffe	85	schwefelhaltige Verbindungen	41
Alkohole	78	Acetale	1
Aldehyde	20	Ether	3
Ketone	52	halogenhaltige Verbindungen	1
Carbonsäuren	34	Furane	7
Ester	62	Epoxide, Pyrane, Cumarine	16
Basen	9		
Summe:			409

Die große Komplexität des Hopfenaromas wird durch die Vielzahl der enthaltenen Verbindungen deutlich. Es gibt jedoch Indikatorsubstanzen, welche für die typische Aromacharakteristik der verschiedenen Hopfensorten verantwortlich sind [Lutz et al., 2012; Kamhuber, 2013]. In allen untersuchten Hopfensorten erweisen sich Linalool und Myrcen als die geruchsaktivsten flüchtigen Verbindungen in Hopfen, mit dem höchsten Aromaverdünnungsfaktor [Steinhaus et al., 2007].

Tabelle 12: Übersicht zu den aromaaktiven Komponenten in Hopfen [Kammhuber, 2013]

Aromabeschreibung	Aromaaktive Komponenten in Hopfen			
fruchtig	2-Methylbutyl-2-methylbutyrat 2-Methylbutyl-isobutyrat 4,8-Decadiensäuremethylester 4-Decensäuremethylester 2-Nonanon		Methyl-6-Methylheptanoat Heptansäuremethylester Octansäuremethylester Isobutylisobutyrat	
würzig / holzige	Myrcen α -Copaen	β -Caryophyllen α -Humulen	Caryophyllenoxid Eudesmol	
blumig	Linalol Nerol Pentadecanon	Tridecanon 2-Decanon	Geraniol 2-Undecanon	Farnesol Geranylacetat
grasig / heuartig	Hexanal			
zitrusartig	Zitronellal	Zitronellol	Limonen	
schwefelig	Dimethylsulfid	4-Mercapto-4-methylpentan-2-on		
nach Kräuter / Gemüse	α -Pinen β -Pinen	α -Selinen β -Selinen	Selinadien Cadinen	β -Farnesen β -Phellandren

2.1.6 Historische Entwicklung zur Identifizierung und Analyse von Hopfenöl / -komponenten

Eine Zusammenfassung zu dem Thema ätherisches Hopfenöl bietet die Übersicht von Sharpe und Laws (1981). Sie zeigt die Historie zur Gewinnung des Hopfenöls, zur Identifikation der Hopfenölkomponenten und zur chemischen Zusammensetzung des ätherischen Hopfenöls. Ferner werden die Sortenunterschiede des Hopfens, die Hopfenölverlusten bei Trocknung und Lagerung und die Hopfenölkomponenten in Würze und Bier beschrieben [Sharpe und Laws, 1981].

Chapman führte mit der Fraktionierung des Hopfenöls erste zielgerichtete Versuche und Untersuchungen an Hopfenöl durch. Er entdeckte dabei eine Hauptkomponente des Hopfenöls. Das Sesquiterpen mit der Formel $C_{15}H_{24}$ benannte er als Humulen [Chapman, 1893, 1894, 1895a, b]. Chapman konnte in weiterführenden Studien, neben Humulen, Myrcen und Linalool, auch Geraniol in Hopfen identifizieren [Chapman, 1929b]. Sorm (1949a, b) identifizierte zum ersten Mal β -Caryophyllen und Farnesen in Hopfen. Mittels Röntgenstrukturanalyse konnten Hartsuck und Paul (1964) die Struktur des α -Humulens aufklären. Die Gaschromatographie revolutionierte die Hopfenölanalyse. Howard (1956) trennte mit Hilfe der Gaschromatographie erstmals 18 Hopfenölkomponenten. Durch

Anwendung der Säulenchromatographie konnte Howard erstmals eine Fraktionierung des Hopfenöls in eine Kohlenwasserstoff- und eine Sauerstofffraktion durchführen. Dabei stellte er fest, dass die Kohlenwasserstofffraktion 70 – 80% des Hopfenöls ausmachte und hauptsächlich aus den drei Verbindungen Myrcen, Caryophyllen und Humulen bestand [Howard, 1957]. Jahnsen, (1962, 1963) identifizierte eine Vielzahl von Hopfenölverbindungen aufgrund ihres Retentionsverhaltens. Durch die Anwendung der Gaschromatographie-Massenspektrometrie konnte dann eine große Vielzahl von Verbindungen im Hopfenöl identifiziert werden. Dieses Verfahren wurde erstmalig von Buttery bei der Analyse von Hopfenöl angewandt [Buttery et al., 1963]. Nijssen et al. (1996) hat in einer Übersicht eine Katalogisierung der Hopfenölkomponenten nach Stoffgruppen vorgenommen. Dabei hat er die Literatur aus dem Zeitraum 1962 bis 1994 hinsichtlich der identifizierten Hopfenölkomponenten mit quantitativen Angaben ausgewertet und aufgelistet.

2.1.7 Grundlagen zu den terpenoider Verbindungen

Rund 20.000 Terpene sind derzeit bekannt [Connolly und Hill, 1991]. Ihre Struktur folgt einem einheitlichen Bauprinzip. Sie bestehen aus 2-Methyl-1,3-butadien bzw. Isopren-Einheiten $(C_5)_n$ und werden daher auch Isoprenoide genannt. Die Isopren-Regel wurde von Ruzicka (1959) formuliert. Terpene kommen in der Natur vor allem als Kohlenwasserstoffe, als Alkohole und deren Glycoside, als Ether, Aldehyde, Ketone, Carbonsäuren und Ester vor [Breitmaier, 2005].

Je nach Anzahl der Isopren-Untereinheiten unterscheidet man Hemi- (C_5), Mono- (C_{10}), Sesqui- (C_{15}), Di- (C_{20}), Sester- (C_{25}), Tri- (C_{30}), Tetraterpene (C_{40}) sowie Polyterpene $(C_5)_n$ mit $n > 8$ [Breitmaier, 2005]. Biogenetische Vorstufe der Terpene ist das Acetyl-Coenzym A, die aktivierte Essigsäure. Der Biosyntheseweg beschreibt die Umsetzung von Acetyl-CoA zur Mevalonsäure. Deren Phosphorylierung mit Adenosintri-phosphat (ATP) führt über Mevalonsäuremono- und -diphosphat unter Decarboxylierung und Dehydratisierung zum Isopentenylpyrophosphat (IPP), das durch eine Isomerase zum Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) isomerisiert (siehe, Abbildung 5) [Lynen, 1965; Porter, 1981; Breitmaier, 2005].

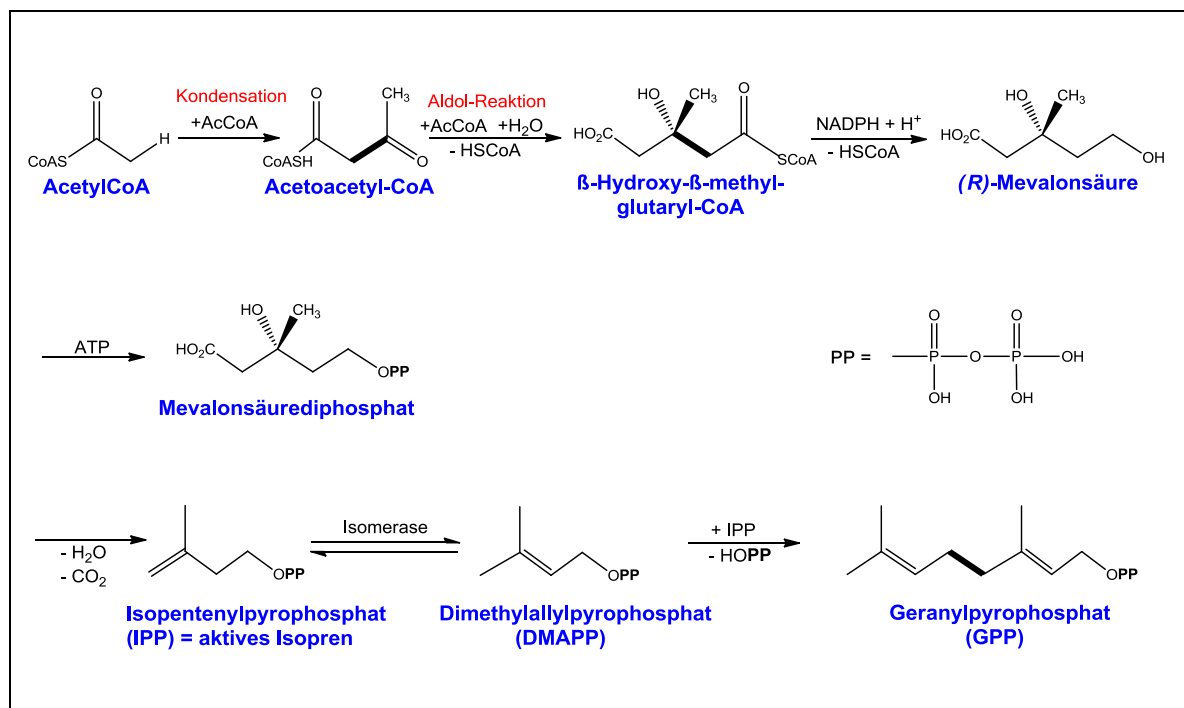


Abbildung 5: Biosynthese von Isopentenylpyrophosphat (IPP) und Geranylpyrophosphat (GPP) [Breitmaier, 2005]

Die Verknüpfung der elektrophilen Allyl-CH₂-Gruppe des Dimethylallylpyrophosphats mit der nucleophilen Methylene-Gruppe des Isopentenylpyrophosphats führt zum Geranylpyrophosphat (siehe, Abbildung 5). Im einfachsten Fall monocyclischer Monoterpene wie des Limonens cyclisiert das nach Abspaltung des Pyrophosphat-Anions gebildete Allyl-Kation zum Cyclohexyl-Kation. Dessen Deprotonierung ergibt (*R*)- oder (*S*)-Limonen (siehe, Abbildung 6) [Breitmaier, 2005].

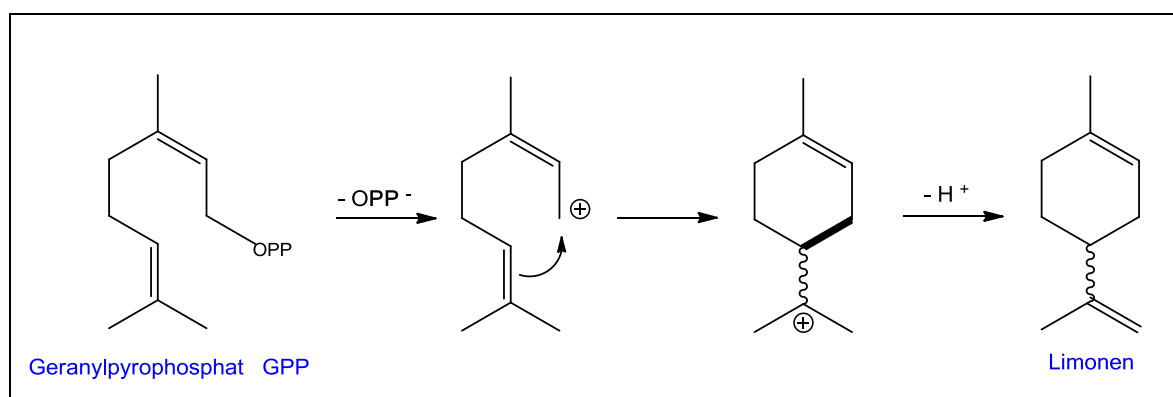


Abbildung 6: Biosynthese von Limonen [Breitmaier, 2005]

Das acyclische Geranylpyrophosphat spielt eine zentrale Rolle bei der Biogenese der Monoterpene. Die Verknüpfung von Geranylpyrophosphat (GPP) mit einem weiteren Äquivalent Isopentenylpyrophosphat (IPP) liefert Farnesylpyrophosphat (FPP), welches die Vorstufe zu den Sesquiterpenen darstellt [Breitmaier, 2005].

Flüchtige Mono-, Sesqui- und Diterpene dienen teilweise wegen ihres angenehmen Geruchs und Geschmacks als Riechstoffe. Sie werden aus den verkleinerten Pflanzenteilen durch Wasserdampfdestillation oder Extraktion in Form der ätherischen Öle gewonnen [Breitmaier, 2005].

2.1.7.1 Monoterpene – C₁₀

Bei den Monoterpenen stellt Myrcen den Hauptbestandteil des ätherischen Hopfenöls dar [Benitez et al., 1997]. Nachfolgende Abbildung 7 zeigt die Struktur wichtiger Monoterpene in Hopfenöl.

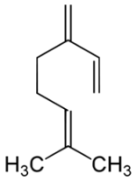
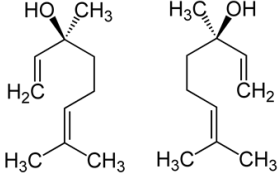
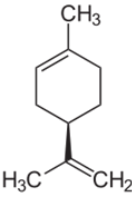
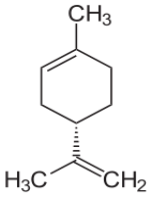
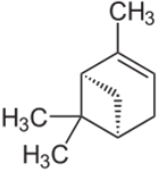
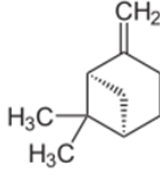
<p>acyclische Monoterpene [*]</p>	 <p>Myrcen</p>	 <p>(S)-Linalool (R)-Linalool</p>
<p>monocyclische Monoterpene [*]</p>	 <p>(R)-Limonen</p>	 <p>(S)-Limonen</p>
<p>bicyclische Monoterpene [*]</p>	 <p>α-Pinen</p>	 <p>β-Pinen</p>

Abbildung 7: Struktur typischer Monoterpene in Hopfenöl [* Breitmaier, 2005].

Myrcen gilt auch als wichtigste und sensorisch dominante Komponente des grünen Aromas der Hopfendolden. Bei allen untersuchten Hopfensorten wurden die Monoterpene Myrcen und Linalool als die aromaaktivsten Komponenten identifiziert [Steinhaus und Wilhelm, 2007]. Bei konventionell gehopften Bieren spielt Myrcen aber als Aromastoff keine Rolle, da es bei der Dosage von Hopfen in

die kochende Würze nahezu vollständig verdampft [Biendl et al., 2012]. Bei kaltgehopften Bieren (Dry Hopping) hingegen wird in Abhängigkeit von der verwendeten Hopfensorte im Bier neben einer Zunahme des α -Säure-Gehaltes auch eine deutliche Zunahme der Hopfenaromastoffe Myrcen und Linalool erreicht. Die absolute Zunahme von Myrcen im fertigen Bier beträgt beispielsweise bei Kalthopfung mit der Hopfensorte „Herkules“ 20,0 $\mu\text{g/l}$, bei „US Apolo“ 28,0 $\mu\text{g/l}$ und bei „NZ Nelson Sauvin“ 29,0 $\mu\text{g/l}$ [Mitter und Cocuzza, 2013]. Zu den acyclischen Monoterpenen in Hopfenöl zählen neben Myrcen auch die stereoisomeren Kohlenwasserstoffe (Z)- und (E)-Ocimen, sowie die Terpenalkohole Linalool, Geraniol und Nerol [Breitmaier, 2005]. Das stereoisomere Limonen zählt zu den monocyclischen Monoterpenen. Zu den bicyclischen Monoterpenen in Hopfenöl gehören neben Sabinen, α -Pinen und β -Pinen [Breitmaier, 2005]. Diese, in geringen Mengen vorhandenen, Komponenten werden beim Würzekochen ebenfalls abgedampft und beeinflussen bei konventioneller Hopfung das Bieraroma nicht [Biendl et al., 2012].

2.1.7.2 Monoterpen – Linalool

Das bedeutendste Monoterpen des Hopfens ist Linalool. Es wird heute als wichtigste Indikatorsubstanz für ein Hopfenaroma im Bier eingestuft [Biendl et al., 2012]. Das blumig riechende Linalool ist eine chirale Verbindung, die in Hopfen unabhängig von der Sorte überwiegend (92 – 94%) in der deutlich geruchsaktiveren (R)-Form vorkommt [Kaltner, 2000; Steinhaus und Schieberle, 2000; Steinhaus et al., 2003]. Es wurde festgestellt, dass diese Enantiomerenverteilung auch während der Hopfenverarbeitung, ausgehend von Rohhopfen bis hin zu sämtlichen konventionellen Hopfenprodukten, annähernd stabil bei 94% (R)-Linalool bleibt. Im Rahmen des Brauprozesses findet jedoch eine mehr oder weniger starke Umlagerung in das geringer geruchsaktive (S)-Enantiomer statt [Kaltner et al., 2003]. Der Linaloolanteil des ätherischen Hopfenöls schwankt sortenbedingt und beträgt maximal 1,5% [Biendl et al., 2012].

2.1.7.3 Sesquiterpene – C₁₅

Die beiden wichtigsten Sesquiterpene des Hopfens sind α -Humulen und β -Caryophyllen. Zusammen kann ihr Gehalt bis zu 50% des Gesamtöls betragen. Das Mengenverhältnis von β -Caryophyllen zu α -Humulen wird als Sortenmerkmal

eingestuft und schwankt üblicherweise zwischen 0,3 und 0,6 [Biendl et al., 2012]. In Hopfenöl findet sich auch das acyclische Sesquiterpen α -Farnesen, das allerdings nur in den Hopfensorten des Saazer Formenkreises vorkommt. Sein Gehalt entspricht in etwa der Größenordnung von β -Caryophyllen. Auch α - und β -Selinen oder Aromadendren sind nur in bestimmten Sorten enthalten. Die Sesquiterpene sind wie auch die Monoterpene für das Bieraroma nicht relevant, da sie bei der Würzekochung ebenfalls größtenteils verdampfen [Biendl et al., 2012].

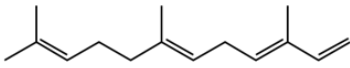
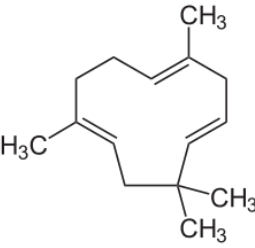
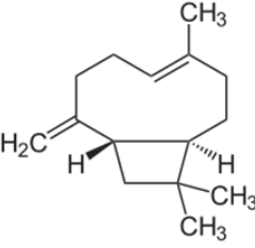
<u>acyclische</u> Sesquiterpene [*]	 α-Farnesen
<u>monocyclische</u> Sesquiterpene [*]	 α-Humulen
<u>bicyclische</u> Sesquiterpene [*]	 β-Caryophyllen

Abbildung 8: Struktur typischer Sesquiterpene in Hopfenöl [* Breitmaier, 2005].

Weitere, in Hopfenöl vorhandene monocyclische Sesquiterpene sind u.a. α -Bisabolen und β -Bisabolen. Als bicyclische Sesquiterpe kommen neben β -Caryophyllen auch Caryophyllenoxid, γ -Cadinen, α -Cadinol und δ -Cadinol vor.

2.1.8 Einflussfaktoren auf die Zusammensetzung des Hopfenöls

Die Zusammensetzung des Hopfenöls wird in erster Linie durch die **Sorte** bestimmt [Maier, 1966; Likens und Nickerson, 1967; Freundorfer et al., 1991]. Kammhuber (2000) konnte in seinen Untersuchungen zur Biogenese der ätherischen Hopfenöle ebenfalls feststellen, dass der Gesamtölgehalt hoch signifikant von der Hopfensorte und auch vom **Erntezeitpunkt** abhängig ist.

Während der Reifung der Dolden steigt der Gesamtölgehalt kontinuierlich an. Dabei verändert sich die Zusammensetzung des Hopfenöls. Relativ zu den anderen Hopfenölkomponenten nimmt vor allem der Myrcengehalt überdurchschnittlich zu. Obwohl sich der Gesamtölgehalt und die Ölzusammensetzung stark ändern, hat dies jedoch keinen großen Einfluss auf die sensorische Aroma-beurteilung [Kammhuber, 2000]. Für jede Hopfensorte gibt es einen empfohlenen Erntezeitbereich [Lutz, 2009].

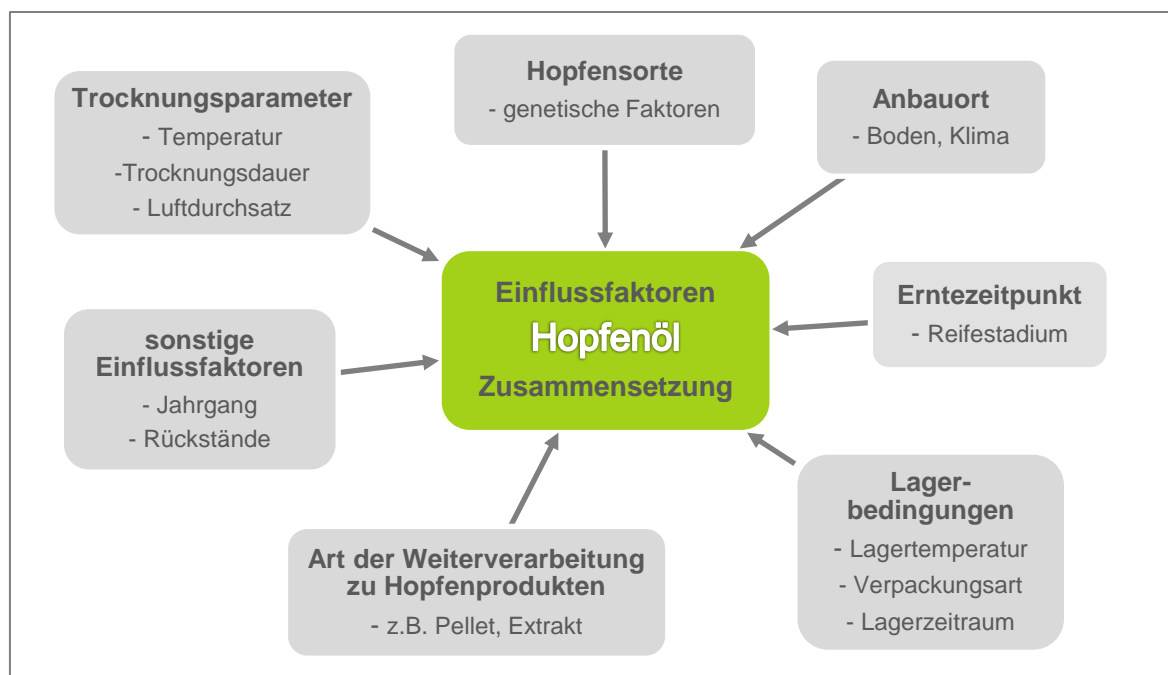


Abbildung 9: Einflussfaktoren auf die Hopfenölzusammensetzung

Frisch geernteter, grüner Hopfen wird unmittelbar nach der Ernte in der Hopfendarre auf 9 bis 11 % Wassergehalt getrocknet [Biendl et al., 2012]. Der Vorgang der **Trocknung** bewirkt einen großen Verlust an Hopfenöl. Abhängig von der Trocknungstemperatur können die Hopfenölverluste bis zu 30 – 40% betragen [Narziß und Forster, 1971]. Die Verluste bei der Hopfentrocknung sind sortenabhängig und treten vor allem bei den leichter flüchtigen Kohlenwasserstoffen und oxidierten Verbindungen auf. Die Abnahme der Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe war generell geringer. Ein Anstieg an Oxidationsverbindungen der Sesquiterpene war beim Trocknungsvorgang nicht zu beobachten, wohl aber ein teilweiser Anstieg der schwefelhaltigen Aromastoffe des Hopfens [Narziß et al., 1985]. Die Trocknungsparameter müssen abhängig von der Sorte, den Witterungsbedingungen, dem Reifezustand und der Ausgangsfeuchte der Hopfendolden individuell angepasst werden [Biendl et al., 2012].

Bei der **Lagerung** von Hopfen nimmt ebenfalls der Gehalt an ätherischem Hopfenöl ab [Friese et al., 1979; Foster und Nickerson, 1985; Lam et al., 1986a]. Generell gilt, dass die sekundären Inhaltsstoffe des Hopfens unter der Einwirkung von Luftsauerstoff reaktionsfreudig sind. Dies trifft besonders auf die Alpha- und Beta-Säuren, aber auch auf Aromakomponenten und die niedermolekularen Polyphenole zu [Biendl et al., 2012]. Bei oxidativer Hopfenalterung ändert sich das Aroma deutlich. Es kann zunehmend eine käsige Note dominieren. Nach einer halbjährigen Lagerung bei ca. 20°C oxidieren etwa 10% der Sesquiterpene (β -Caryophyllen und α -Humulen). Dies macht sich in einer Zunahme ihres Epoxidanteils von 1 bis 2% auf 8 bis 10% bemerkbar [Biendl et al., 2012].

Wie stark sich die Zusammensetzung des Hopfenöls während der **Lagerung** ändert, wird insbesondere durch die **Lagerbedingungen** beeinflusst. Eine Erhöhung der Lagerstabilität kann durch tiefe Lagertemperaturen und durch die Verwendung einer luft- bzw. sauerstofffreien **Verpackung** erreicht werden [Narziß und Forster, 1972a]. Hopfenpellets werden daher in spezifizierter Verbundfolie unter Inertgas (Kohlendioxid / Stickstoff oder Mischung) verpackt [Biendl et al., 2012]. In inerter Atmosphäre bleibt das Hopfenaroma auch sensorisch intakt, solange Temperaturgrenzen von etwa 10 – 15°C nicht überschritten werden. Unter diesen Bedingungen ändert sich die Zusammensetzung der Aromastoffe nur moderat [Biendl et al., 2012]. Die Verarbeitung zu Hopfenextrakten wirkt sich ebenfalls positiv auf die Lagerstabilität aus [Narziß und Forster, 1972b; Tressl et al. 1987]. Reine CO₂-Extrakte bestehen überwiegend aus Weichharzen und Hopfenöl. Sie sind bei niedrigen Temperaturen von 0 bis 5 °C mehr als 10 Jahre stabil. Ethanolextrakte sind bei 0 bis 5 °C etwa 5 Jahre haltbar. Für die Vermeidung von Qualitätseinbußen über 3 bis 5 Jahre wird bei der Lagerung von Pellets eine Lagertemperatur von 0 bis 5 °C vorausgesetzt [Biendl et al., 2012].

Bei der **Verarbeitung zu Hopfenpellets** bleibt die Zusammensetzung der Hopfenölkomponenten in qualitativer und quantitativer Hinsicht gegenüber dem Doldenhopfen praktisch unverändert [Narziß et al., 1985]. Bei der Verarbeitung ist allerdings auf eine gleichmäßige Pressung zu achten, so dass die Lupulindrüsen nicht gequetscht werden. Hopfen mit intakter Lupulin ist lagerstabiler, denn die Lupulinmembran bietet einen begrenzten Sauerstoffschutz [Biendl et al., 2012].

Die Verluste bei der **Verarbeitung zu Hopfenextrakten** sind vom Extraktionsmittel abhängig [Biendl et al., 2012]. Ethanolextrakte weisen aufgrund ihres komplexen Charakters wesentlich deutlichere Veränderungen während der Lagerung auf als Methylenchlorid- oder CO₂-Extrakte [Forster et al., 1987]. Bei der Ethanolextraktion werden leichtflüchtige Hopfenaromastoffe, insbesondere Myrcen, durch den Destillationsvorgang teilweise entfernt. [Biendl et al., 2012]. Die Kohlendioxidextraktion zeichnet sich dadurch aus, dass die Hopfenaromastoffe nahezu vollständig gewonnen werden [Biendl et al., 2012]. Es treten nur geringe Verluste, vor allem von Myrcen, auf [Tressl et al., 1983; Freundorfer et al., 1991]. Der **Anbauort**, d.h. der Boden und das Klima üben ebenfalls einen Einfluss auf die Hopfenölmenge und die -zusammensetzung aus [Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012]. So wurden exemplarisch Hopfensorten, die in mehreren Anbaugebieten verbreitet sind, miteinander verglichen. Dabei wurde festgestellt, dass neben der Gesamtölmenge auch die Konzentrationen der einzelnen Hopfenölkomponenten jede nach Anbaugebiet unterschiedlich ist [Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012]. Ein weiterer Einflussfaktor auf die Hopfenölmenge und dessen Zusammensetzung ist der **Jahrgang** bzw. das Erntejahr des Hopfens. In den Untersuchungen von Hermann et al. (2008) wird deutlich, dass der Gesamtölgehalt einer Hopfensorte in den aufeinander folgenden Erntejahren sehr stark variieren kann. Die Linaloolgehalte zeigten, abhängig vom Erntejahr, Unterschiede bis zu 33%.

2.2 Bier

Bier ist ein Getränk, welches Alkohol, Extrakt und CO₂ enthält und durch Gärung mit ober- oder untergäriger Hefe aus Malz oder Malzersatzstoffen, Hopfen oder Hopfenprodukten und Brauwasser hergestellt wird [Geiger und Back, 2001]. In Deutschland gilt das sogenannte Reinheitsgebot. Darin ist festgelegt, dass zur Bereitung von untergäurigem Bier nur Hopfen, Malz, Wasser und Hefe verwendet werden dürfen. Für obergäriges Bier gelten dieselben Vorschriften, jedoch sind hierbei auch die Verwendung von anderem Malz und die Verwendung von technisch reinem Rohr-, Rüben-, Invert- oder Stärkezucker zulässig. Zudem wurde die Verwendung von Hopfenextrakten erlaubt [BierStG, 1993]. In Deutschland regelt die Bierverordnung von 2008 unter anderem den Schutz der Bezeichnung Bier und die Kenntlichmachung der Biergattungen. Gemäß dem „Reinheitsgebotsurteil“ des Europäischen Gerichtshofs gilt allerdings, dass Biere, die in anderen

Mitgliedsländern der EU rechtmäßig hergestellt oder verkehrsfähig waren, auch auf dem deutschen Markt diese Verkehrsfähigkeit erlangen – unabhängig davon, ob sie entsprechend den strengen Vorschriften des Reinheitsgebotes hergestellt werden oder nicht [EuGH, 1987].

Bier enthält viele verschiedene Komponenten. Einige von ihnen stammen von den Rohmaterialien und durchlaufen unverändert den Herstellungsprozess. Andere wiederum werden erst während des Brauprozesses gebildet [Buiatti, 2009]. Die Hauptkomponenten des Bieres werden in der Tabelle 13 zusammengefasst:

Tabelle 13: Hauptkomponenten des Bieres [Buiatti, 2009]

Substanzen	Konzentration	Anzahl der Verbindungen	Ursprung
Wasser	90 – 94 %	1	-----
Ethanol	3 – 5 % v/v	1	Hefe, Malz
Kohlenhydrate	1 – 6 % w/v	~100	Malz
Kohlendioxid	3,5 – 4,5 g/l	1	Hefe, Malz
Anorganische Salze	500 – 4.000 mg/l	~25	Wasser, Malz
gesamt Stickstoffgehalt	300 – 1.000 mg/l	~100	Hefe, Malz
Organische Säuren	50 – 250 mg/l	~200	Hefe, Malz
höhere Alkohole	100 – 300 mg/l	80	Hefe, Malz
Aldehyde	30 – 40 mg/l	~50	Hefe, Hopfen
Ester	25 – 40 mg/l	~150	Hefe, Malz, Hopfen
Schwefelverbindungen	1 – 10 mg/l	~40	Hefe, Malz, Hopfen
Hopfenderivate	20 – 60 mg/l	> 100	Hopfen
Vitamin B Verbindungen	5,0 – 10 mg/l	13	Hefe, Malz

2.2.1 Einteilung der Biere in Bierarten und Biersorten

Bei den einzelnen Bierarten unterscheidet man obergärige Biere und untergärige Biere (Tabelle 14). Zu den typischen deutschen obergärigen Bieren zählen die **Weizenbiere**, die mindestens zu 50% aus Weizenmalz hergestellt sein müssen. Sie werden naturtrüb mit Hefetrub als helles, mittelfarbiges oder auch als dunkles Hefeweizen angeboten. Weizenbiere sind wegen des hohen Vergärungsgrades sehr spritzig und manchmal leicht säuerlich, aber nur schwach gehopft [Taschan und Uhlig, 2010]. Die **Berliner Weiße** ist ein leicht moussierendes, schwach säuerliches Bier, das nur in Berlin hergestellt werden darf. Gebraut wird es mit obergäriger Hefe und Milchsäurebakterien [Hampson, 2009].

Kölsch ist ein helles, obergäriges Bier, das nur im Stadtgebiet von Köln hergestellt wird [Hampson, 2009]. Bitterbiere, wie Kölsch und Düsseldorfer Altbier sind stark gehopfte Vollbiere [Belitz et al., 2008]. **Ale**, ist ein obergäriges Bier, das vorwiegend in Großbritannien, Irland und USA gebraut wird. Helle, stark gehopfte Biere sind das Pale Ale und das milder gehopfte, dunklere Mild Ale. Zusätze von Ingwerwurzelaustrüngen liefern Ingwerbiere, wie das Ginger Ale [Belitz et al., 2008]. In den USA werden üblicherweise alle obergärigen Biere als Ale bezeichnet. Amerikanisches Ale haben intensive Aromen von Hopfen und karamell- bzw. keksartigem Malz [Hampson, 2009].

Tabelle 14: Einteilung deutscher und ausländischer Biersorten [a: Schwedt, 2005; b: Belitz et al., 2008; c: Kenning, 2005; d: Hampson, 2009]

Bierarten [a, b]	Deutsche Biersorten [a, b, c, d]	Ausländische Biersorten [a, b, c, d]
obergärige Biere	<ul style="list-style-type: none"> • Hefeweizenbier (<i>Hell, Dunkel</i>) • Berliner Weisse • Leipziger Gose • Altbiere • Steinbier • Malzbier • Nährbiere • Haferbier • „Kölsch“ 	<ul style="list-style-type: none"> • Belgisches Abteibier (<i>Double, Triple</i>) • Niederländisches Abteibier (<i>Trippel</i>) • Amber Bier • <u>Ale</u>: <i>Pale Ale, Mild Ale, Ginger Ale, India Pale Ale, Light Ale, Brown Ale, Heather Ale, Irish Red Ale, Strong Ale, Amber Ale, Old Ale, Scotch Ale, Sour Ale, Bitter, Best Bitter, Barley Wine</i> • <u>Stout</u>: <i>Irishes Dry Stout, Oatmeal Stout, Milk, Stout, Tropisches Stout, Imperial Stout</i> • Porter • <u>Lambic</u>: <i>Frucht-Lambic, Gueuze-Lambic, Kriek-Lambic</i> • Faro • Bière de Garde • Weizenbier • Belgisches Saison
untergärige Biere	<ul style="list-style-type: none"> • Pilsner / Pils • Export (<i>Hell, Dunkel</i>) • Lager • Münchner Helles • Festbier (<i>Oktoberfest</i>) • Bockbier, Doppelbock • Märzenbier • Starkbier • Rauchbier • Schwarzbier • Kellerbier • Leichtbiere 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Lager</u>: <i>Strong Lager, Premium Lager, Dunkles Lager, ungefiltertes Lager, Wiener Lager</i> • Rauchbier • Pilsner • Bockbier, Doppelbock • Zwicklbier

Englische Biertypen haben Stammwürzegehalte bis zu 11 – 13%. Ein tief dunkel gefärbtes, stark eingebrautes und alkoholreiches Bier (bis zu 25% Stammwürze, über 6,5% Vol. Alkohol) ist **Stout**, in leichteren Sorten auch als **Porter** bezeichnet.

Obergärige Biere belgischer Herkunft von langer Lagerzeit sind **Lambic** und **Faro**. [Belitz et al., 2008]. Lambic ist eine Bierspezialität, die durch Spontangärung entsteht, d. h. es wird keine Hefe zugegeben. Die Gärung geschieht allein durch Hefepilze in der Umgebungsluft [Hampson, 2009]. Die **Abteibiere** aus Belgien und den Niederlanden gehören ebenfalls zu den obergärigen Bieren. Diese gibt es als Double, mit zweiter Gärung und als Triple, mit viel Malz gebraut und dreifach vergoren [Hampson, 2009]. Untergärige Biere zeigen eine wesentlich höhere Lagerfähigkeit und werden als helle, mittelfarbige oder dunkle Biere hergestellt. **Pilsener Biere** als Prototyp der hellen, untergärigen Vollbiere sind ausgesprochene Hopfenbiere mit 11,8 – 12,7% Stammwürze [Belitz et al., 2008]. Sie sollen mindestens 25 Bittereinheiten (BE) aufweisen. Norddeutsche Pilsbiere sind mit bis zu 35 BE oft besonders herb und bitter [Taschan und Uhlig, 2010]. **Münchner Biere** sind dunkle, schwach gehopfte Biere, die unter Zusatz von 0,5 – 2% Farbmaltz, oft auch von wenig Karamelmaltz hergestellt werden. Sie schmecken süßlich und ausgesprochen malzaromatisch und enthalten 11 – 14% Stammwürze [Belitz et al., 2008].

Exportbiere sind aus Gerstenmalz hergestellte, untergärige Vollbiere mit einem Stammwürzegehalt von mindestens 12,0%. Sie sind meist geringer gehopft als Pilsbiere und haben einen Bitterstoffgehalt von 15 – 20 BE [Taschan und Uhlig, 2010]. **Lager** ist ein aus Gerstenmalz gebrautes, untergäriges Bier mit einem Stammwürzegehalt von mindestens 11,0% [Taschan und Uhlig, 2010]. **Dunkel** ist ein aus Gerstenmalz (davon überwiegender Anteil Dunkelmalz) hergestelltes, untergäriges Bier mit einem Stammwürzegehalt von mindestens 11,0% und einer Farbtiefe von 35 und mehr EBC-Farbeeinheiten [Taschan und Uhlig, 2010]. **Märzenbiere** sind meist mittelfarbig (bernsteinfarben) und schmecken betont malzaromatisch bis leicht karamelig. Sie haben einen Stammwürzegehalt von mindestens 13,0% [Taschan und Uhlig, 2010].

Alkoholfreie Biere weisen einen maximalen Alkoholgehalt von 0,5 Vol-% auf. Zur Herstellung alkoholfreier Biere wird der Alkoholgehalt eines normalen Bieres (unter- oder obergärig, hell oder dunkel) beispielsweise durch Umkehrosmose oder Vakuumdestillation bei ca 40°C weitgehend entfernt. Beide Verfahren können auch kombiniert werden [Belitz et al., 2008]. Es besteht aber auch die Möglichkeit die Gärung abubrechen. Das sogenannte „Kälte-Kontakt-Verfahren“ nutzt die starke Hemmung der Alkoholproduktion von Hefe bei 0°C aus. Durch die langsame Alkoholbildung kann die Gärung bei einem Alkoholgehalt von 0,5 Vol-% relativ gut unterbrochen werden. In anderen Verfahren verbleibt die Hefe ohnehin nur kurz in der Würze [Baltes und Matissek, 2011].

2.2.2 Einteilung der Biere in Biergattungen

Die Einteilung in Biergattungen wird nach dem Stammwürze-, Extrakt- und Alkoholgehalt vorgenommen.

Tabelle 15: Einteilung der Biergattungen [Schwedt, 2005]

Bezeichnung	Stammwürze	Extrakt	Alkohol % vol
Einfachbiere	3 – 6 %	1 – 4 %	1,3 – 2,5 %
Schankbiere	7 – 8 %	2 – 4 %	2,5 – 3,5 %
Vollbiere	11 – 16 %	4,5 – 6%	3,5 – 4,5 %
Starkbiere	> 16 %	6 – 10 %	4,5 – 6,5 %
Obergärige Biere	7 – 8 %		
Untergärige Biere	11,8 – 12,7 %		

Unter Extrakt versteht man den Anteil an gelösten Stoffen im Bier ausgenommen des Alkohols. Der Extrakt besteht zu etwa 80% aus Kohlenhydraten, im Wesentlichen Dextrinen. Aus ihm und dem Alkoholgehalt lässt sich aufgrund der Gärungsgleichung, wonach zwei Gewichtsteile Zucker einen Gewichtsteil Alkohol liefern, der ursprüngliche Extraktgehalt der Würze errechnen, der bei der Bierherstellung zur Vergärung gekommen ist. Man bezeichnet diesen ursprünglichen Extraktgehalt, der gleichzeitig ein Maß für das verarbeitete Malz ist, als Stammwürze [Belitz et al., 2008].

2.2.3 Charakteristische Aromastoffe im Bier

Bier ist ein extrem komplexes Produkt. Sein Aroma ist das Ergebnis eines komplizierten Prozesses aus enzymatisch und nicht-enzymatisch katalysierten Reaktionen sowie Substanzen, die unverändert aus Darrprodukten und Hopfen in das Bier gelangen. Die Mehrzahl der Bieraromastoffe entsteht bei der alkoholischen Gärung mit Hefen [Salzer und Siewek, 2000]. Die Aromastoffkomposition im Bier kann als ein dynamisches System verstanden werden, was sich fortlaufend ändert. Die Konzentration der verschiedenen Aromastoffe in Bier variiert über eine breite Spanne in dem Bereich von g/l bis ng/l [Verhagen, 2010].

2.2.3.1 Aromawert – Flavour Unit (FU)

Fast alle Aromastoffe in Bier haben unterschiedliche Schwellenwerte. Die Schlüsselfrage ist, welche der Komponenten im Bier sensorisch wahrgenommen werden können. Es hat sich als günstig erwiesen, die Menge einer Verbindung im Bier hinsichtlich ihrer Aromakonditionen als Flavour Unit (FU) auszudrücken. Dabei wird die vorhandene Konzentration des Aromastoffes durch den Schwellenwert des Stoffes dividiert [Meilgaard, 1975a].

$$\text{Flavour Unit (FU)} = \frac{\text{Konzentration des Aromastoffes } \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{l}}\right]}{\text{Schwellenwert } \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{l}}\right]}$$

Der Wert für FU ist dimensionslos. Daher müssen die Einheiten für die Konzentration und den Schwellenwert gleich sein. Für die Interpretation der Flavour Units legte Meilgaard (1982) nachfolgende Regel fest.

Tabelle 16: Einteilung der Flavour Units [* Meilgaard, 1982]

FU: > 2,0	Komponente sehr aromaaktiv [*]
FU: 1,0 – 2,0	Komponente aromaaktiv [*]
FU: 0,5 – 1,0	Komponente kann aromaaktiv sein [*] (abhängig von der Empfindlichkeit des Einzelnen oder von der Beeinflussung durch andere ähnliche Aromakomponenten)
FU: 0,2 – 0,5	Komponente eventuell aromaaktiv [*] (meist nicht von Bedeutung)
FU: < 0,2	Komponente hat keine Auswirkung auf das Aroma [*]

2.2.3.2 Hopfenaromastoffe im Bier

Wissenschaftliche Studien befassten sich mit der systematischen Untersuchung und Entschlüsselung des Hopfenaromas in Bier [Fritsch et al., 2004]. Fritsch (2001) konnte beweisen, dass ausschließlich Linalool im Bier eine typische Hopfennote hervorruft und somit als Schlüsselaromastoff für ein blumiges, fruchtiges Hopfenaroma betrachtet werden kann. Biere, mit einem Linaloolgehalt von mehr als 20 µg/l zeigen laut Kaltner (2000), abhängig von der Gesamtmatrix des Bieres, ein sensorisch deutlich wahrnehmbares Hopfenaroma. Der Schwellenwert für Linalool wird in der Literatur unterschiedlich mit 5 µg/l [Harrison und Collins, 1968] bis 80 µg/l [Meilgaard, 1975b] angegeben. Fritsch und Schieberle (2005), verifizierten mit Hilfe der Aroma-Extrakt-Verdünnungsanalyse (R)-Linalool als eine der geruchsaktiven Komponenten in Pilsner-Bier. Kaltner et al., (2001) konnte nachweisen, dass während des Würzekochprozesses Linaloolverluste bis zu 95%, aufgrund von Ausdampfvorgängen, auftreten. Linalool, welches in Hopfen hauptsächlich (zu über 90%) in Form des geruchsaktiveren (R)-Enantiomers vorkommt [Kaltner, 2000], lagert sich während des Kochprozesses in das wesentlich geruchsschwächere (S)-Enantiomer um [Fritsch und Schieberle, 2003].

Während der Gärung kommt es zu keiner weiteren Reduzierung des Linaloolgehaltes. Zum Teil kann während der Gärung sogar eine Zunahme des Linaloolgehaltes festgestellt werden, welche vermutlich durch eine Hefeaktivität bewirkte enzymatische Freisetzung von glykosidisch gebundenem Linalool verursacht wird [Kaltner et al., 2001; Kollmannsberger et al., 2006]. In der Praxis werden die Biere in der Regel einer Kurzzeiterhitzung unterzogen, was zum einen die mikrobiologische Bierqualität sicherstellt und zum anderen eine Inaktivierung von Enzymen mit sich bringt [Back, 2008b].

Tabelle 17: **Hopfenaromastoffe** im Bier [a: Hughes und Baxter, 2001; b: Hardwick, 1995; c: Schieberle, 1995; * in Wasser, ** in alkoholf. Bier; d: Harrison und Collins, 1968; e: Kaltner, 2000; f: Takoi et al., 2010; g: Maarse, 1991; h: NIST MS Search 2.0]

Komponente	CAS- Nummer	Konzentrationsbereich im Bier [$\mu\text{g/l}$]	Schwellenwert im Bier [$\mu\text{g/l}$]
[a, b]	[h]	[a, b]	[a, c, d, e, f, g]
Linalool [a]	126-91-06 [R-(-)]	1 – 470 [a]	5 [d], 20 [e], 27, 80 [a]
Linalooloxid [a]	5989-33-3	n.n. – 49 [a]	k.A.
Citronellol [a]	106-22-9	1 – 90 [a]	5 [f]
Geraniol [a]	106-24-1	1 – 90 [a]	36 [a]
Geranylacetat [a]	16409-44-2	< 35 [a]	k.A.
α -Terpineol [a]	7785-53-7[R-(+)]	1 – 75 [a]	300 [g], 2000 [a]
Humulenepoxid I [a]	19888-33-6	n.n. – 125 [a]	10 [a]
Humulenepoxid II [a]	19888-34-7	1,9 – 270 [a]	450 [a]
α -Eudesmol [a]	473-16-5	1 – 100 [a]	k.A.
α -Cadinol [a]	481-34-5	n.n. – 200 [a]	k.A.
Humulenol [a]	19888-01-8	1 – 1150 [a]	500, 2500 [a]
Humulol [a]	24405-58-1	n.n. – 220 [a]	k.A.
Myrcen [b]	123-35-3	< 1,0 [b]	k.A.
Caryophyllenepoxid [b]	1139-30-6	10 – 20 [b]	k.A.
β -Damascenon [b]	23726-93-4	< 20 [b]	0,004*, 10**[c]
Ethyl-4-decenoat [b]	76649-16-6	10 – 200 [b]	k.A.
Ethyl-2-nonenoat [b]	38112-59-3	10 – 300 [b]	k.A.
Methyldecanoat [b]	110-42-9	10 – 300 [b]	k.A.

Neben Linalool findet man in Hopfen auch den Vorläufer des sehr geruchsaktiven β -Damascenons in glykosidisch gebundener Form [Kollmannsberger et al., 2006; Biendl et al., 2012]. Das stark aromaaktive β -Damascenon kann von Hopfenglycosiden freigesetzt werden, wobei Hopfen nicht die einzige Quelle für dieses Keton zu sein scheint. Im Vergleich zum frischen Bier wird bei dem 8 Wochen gelagertem Bier ebenfalls ein Anstieg des β -Damascenon-Gehalts festgestellt [Kollmannsberger et al., 2006]. Im Gegensatz zu den Monoterpen-Alkoholen, wie Linalool, spricht man den Sesquiterpen-Alkoholen keine entscheidende Bedeutung mehr für das Bieraroma zu [Biendl et al., 2012]. Zusammenfassend kann man sagen, die Intensität des Hopfenaromas im Bier ist abhängig vom Zeitpunkt und der Menge der Hopfengabe sowie von der Hopfensorte [Back, 2008a].

2.2.3.3 Aromastoffe im Bier – Alkohole

Neben Ethanol enthält Bier auch eine Reihe von anderen Alkoholen, allerdings in viel niedrigeren Konzentrationen und häufig unterhalb ihres Schwellenwertes. Die Bildung dieser sogenannten höheren Alkohole, auch Fuselalkohole genannt, ist abhängig vom verwendeten Hefestamm [Verhagen, 2010].

Tabelle 18: Übersicht der **Alkohole** im Bier. [a: Tan und Siebert, 2004; b: Meilgaard, 1975b; c: Yonezawa und Fushiki, 2002; d: Hughes und Baxter, 2001; e: Hardwick, 1995; f: Tressl et al., 1978a; g: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS- Nummer	Schwell- lenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a]	[g]	[a, b]	[c, d, e, f]		[b]
Methanol	67-56-1	10000	0,5 – 3,0 [d]	≤ 0,0003	alkoholisch, lösemittelhaltig
Ethanol	64-17-5	14000	20000 – 80000 [d]	1,4 – 5,7	alkoholisch, stark
1-Propanol	71-23-8	800	3,0 – 16 [d]	0,004 – 0,02	alkoholisch
2-Propanol	67-63-0	1500	2 – 6 [d]	≤ 0,004	alkoholisch
1-Butanol	71-36-3	450	0,3 – 3 [e]	≤ 0,007	alkoholisch
2,3-Butandiol	513-85-9	4500	50 – 150 [e]	0,01 – 0,03	Gummi, süßlich, Diacetyl
2-Butanol	78-92-2	16	k.A.	-----	alkoholisch
2-Methyl-1-propanol (Isobutanol)	78-83-1	200	4,0 – 57 [c]	0,02 – 0,29	alkoholisch
2-Methyl-2-propanol (<i>tert</i> -Butanol)	75-65-0	1600	k.A.	-----	alkoholisch
1-Penten-3-ol	616-25-1	0,35	k.A.	-----	stechend, alkoholisch
2-Furanmethanol (Furfurylalkohol)	98-00-0	> 3000	≤ 1,2 [f]	≤ 0,0004	Zuckerrohr, holzig
1-Pentanol (<i>n</i> -Amylalkohol)	71-41-0	80	2,0 – 10 [e]	0,025 – 0,125	alkoholisch, medizinisch
2-Pentanol (<i>sec</i> -Amylalkohol)	6032-29-7	45	k.A.	-----	alkoholisch, fruchtig, Himbeer, nussig, Ether
3-Pentanol	584-02-1	50	k.A.	-----	alkoholisch, medizinisch, Ether, nussig, fruchtig
2-Methyl-1-butanol (aktiver Amylalkohol)	137-32-6	65	7,0 – 34 [c]	0,11 – 0,52	alkoholisch, Banane, medizinisch, lösemittelhaltig
3-Methyl-1-butanol (Isoamylalkohol)	123-51-3	70	25 – 123 [c]	0,36 – 1,76	alkoholisch, Banane, süßl., aromatisch
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	928-96-1	13	≤ 0,025 [e]	≤ 0,002	gr. Blätter, Banane, süßl.
<i>trans</i> -2-Hexen-1-ol	928-95-0	15	≤ 0,02 [e]	≤ 0,001	bitter, gr. Blätter
1-Hexanol	111-27-3	4,0	0,05 – 0,33 [e]	0,01 – 0,08	Kokos, gr. Blätter
2-Hexanol	626-93-7	4,0	k.A.	-----	Kokos
Benzylalkohol	100-51-6	900	k.A.	-----	Mandeln, bitter
1-Hepten-3-ol	4938-52-7	0,15	k.A.	-----	gr. Blätter
1-Heptanol	111-70-6	1,0	k.A.	-----	Kokos, unangenehm, ketonisches Lösungsmittel
2-Heptanol	543-49-7	0,25	≤ 0,015 [e]	≤ 0,06	Kokos
2-Phenylethanol	60-12-8	125	5,0 – 102 [c]	0,04 – 0,82	Rosen, süßl., parfümiert
4-Hydroxy-benzenethanol (Tyrosol)	501-94-0	200	3,0 – 40 [d]	0,015 – 0,2	bitter, chemisch
1,2,3-Propantriol (Glycerol)	56-81-5	-----	1200 – 2000 [d]	-----	süßlich, viskos
1-Octen-3-ol	3391-86-4	0,2	0,01 – 0,02 [e]	0,05 – 0,1	gr. Blätter, süßl., parfümiert
1-Octanol	111-87-5	0,9	≤ 0,005 [e]	≤ 0,0056	Kokos, Walnuss, ölig
2-Octanol	123-96-6	0,04	≤ 0,03 [e]	≤ 0,75	Kokos, Walnuss, ölig, ranzig
1-Nonanol	143-08-8	0,08	k.A.	-----	Kokos, Walnuss, ölig
2-Nonanol	628-99-9	0,075	0,01 [f]	-----	Kokos
Nerol	106-25-2	0,5	k.A.	-----	Limette, blumig
1-Decanol	112-30-1	0,18	k.A.	-----	Kokos, Walnuss, ölig, ranzig
2-Decanol	1120-06-5	0,015	≤ 0,005 [d]	≤ 0,33	Kokos, anisartig
1-Undecanol	112-42-5	0,5	k.A.	-----	Fettsäure, Kokos
2-Undecanol	1653-30-1	0,07	k.A.	-----	parfümiert, süßl., Kokos
1-Dodecanol	112-53-8	0,4	k.A.	-----	Fettsäure, Kokos, Banane
2-Methoxy-4-vinylphenol (4-Vinylguajacol)	7786-61-0	0,30	0,05 – 0,55 [e]	0,17 – 1,8	phenolisch, bitter

Die methylverzweigten aliphatischen Alkohole resultieren aus dem Stoffwechsel der Aminosäuren Leucin, Isoleucin, Valin und Threonin. Die Alkohole 2-Methylpropanol, 2-Methylbutanol und 3-Methylbutanol sind neben Ethanol die konzentrationsstärksten Alkohole in Bier [Tressl, 1976]. Ferner kann 2-Phenylethanol in normalen Konzentrationen positiv zum charakteristischen Bieraroma

beitragen [Meilgaard, 1982]. Höhere Alkohole sind die direkten Vorläufer der im Bier vorkommenden Ester. Sie beeinflussen das Bieraroma positiv [Verhagen, 2010]. Fritsch und Schieberle (2005), verifizierten mit Hilfe der Aroma-Extrakt-Verdünnungsanalyse die Alkohole 2- und 3-Methylbutanol, 2-Phenylethanol, 4-Vinyl-2-Methoxyphenol als besonders geruchsaktive alkoholische Komponenten in Pilsner-Bier.

2.2.3.4 Aromastoffe im Bier – Ester

Flüchtige Ester stellen eine wichtige Gruppe der aromatischen Verbindungen im Bier dar. Sie sind für das fruchtige Aroma im Bier verantwortlich [Verstrepen et al., 2003; Verhagen, 2010]. Hohe Estergehalte können aber in einem unerwünschten lösungsmittelartigen Aroma resultieren [Herrmann, 2005]. Ester werden durch die Hefe gebildet und ihre Konzentration ist unter anderem von der Dichte der Würze und der Menge des vorhandenen Sauerstoffes abhängig [Verhagen, 2010].

Tabelle 19a: Übersicht der **Ester** im Bier [a: Tan und Siebert, 2004; b: Meilgaard, 1975b; c: Hughes und Baxter, 2001; d: Hardwick, 1995; e: Tressl et al., 1978a; f: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a, b]	[f]	[a, b]	[c, d, e]		[b]
Ameisensäuremethylester (Methylformiat)	107-31-3	5000	0,37 – 0,8 [d]	< 0,0002	ätherisch, mild, blumig, angenehm
Essigsäuremethylester (Methylacetat)	79-20-9	550	0,6 – 12 [d]	0,001 – 0,02	leicht lösemittelartig, fruchtig, angenehm
Ameisensäureethylester (Ethylformiat)	109-94-4	150	0,4 – 2,2 [d]	0,003 – 0,015	leicht estrig, fruchtig, lösemittelartig
Essigsäureethylester (Ethylacetat)	141-78-6	30	10 – 60 [c]	0,33 – 2	lösemittelartig, nach Ethylacetat
Brenztraubensäureethylester (Ethylpyruvat)	617-35-6	85	k.A.	-----	grasig, Ölfarbe, Futtermittel
Milchsäureethylester (Ethyllactat)	97-64-3	250	0,01 – 1,3 [d]	≤ 0,005	künstliche Erdbeere, Himbeere, parfümiert
Essigsäurepropylester (n-Propylacetat)	109-60-4	30	k.A.	-----	lösemittelartig, süßlich, parfümiert
Ameisensäureisobutylester (Isobutylformiat)	542-55-2	30	≤ 0,75 [d]	≤ 0,025	fruchtig, lösemittelartig
Buttersäureethylester (Ethylbutyrat)	105-54-4	0,4	0,12 – 0,24 [d]	0,3 – 0,6	Papaya, Butter, süßlich, Apfel
Isobuttersäureethylester (Ethylisobutyryl)	97-62-1	5,0	k.A.	-----	Apfel, süßlich
Essigsäure-sec-butylester (sec-Butylacetat)	105-46-4	12	≤ 0,02 [d]	≤ 0,002	Farbverdünner, Kunststoffkleber
Essigsäureisobutylester (Isobutylacetat)	110-19-0	1,6	0,01 – 0,2 [d]	0,006 – 0,125	Banane, süß, fruchtig
Essigsäure-n-butylester (n-Butylacetat)	123-86-4	7,5	≤ 2 [d]	≤ 0,27	lösemittelartig, Banane, Aceton

Tabelle 19b: Übersicht der **Ester** im Bier - Fortsetzung [a: Tan und Siebert, 2004; b: Meilgaard, 1975b; c: Hughes und Baxter, 2001; d: Hardwick, 1995; e: Tressl et al., 1978a; f: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a, b]	[f]	[a, b]	[c, d, e]		[b]
Essigsäure- <i>tert</i> -butylester (tert-Butylacetat)	540-88-5	24	k.A.	-----	Farbverdünner, medizinisch, Menthol
Ameisensäureisopentylester (Isoamylformiat)	110-45-2	5,0	k.A.	-----	Pflaume, lösemittelartig
4-Oxopentansäureethylester (Ethyllevulinat)	539-88-8	300	k.A.	-----	k.A.
3-Methyl-Butansäureethylester (Ethylisovaleriat)	108-64-5	1,3	< 0,04 [d]	< 0,03	Obst, Apfel, süßlich, valerisch
Pentansäureethylester (Ethylvaleriat)	539-82-2	0,9	k.A.	-----	Papaya, fruchtig, Apfel, süßlich
Essigsäure-3-methylbutylester (Isoamylacetat)	123-92-2	1,6	0,5 – 5,0 [c]	0,4 – 4, 2	Banane, Ester
Hexansäureethylester (Ethylhexanoat, -caproat)	123-66-0	0,23	0,1 – 0,5 [c]	0,48 – 2,38	Apfel, Ester, Anis
Propionsäureisopentylester (Isoamylpropionat)	105-68-0	0,7	< 0,015 [d]	< 0,02	k.A.
Essigsäurehexylester (<i>n</i> -Hexylacetat)	142-92-7	3,5	< 0,08 [d], 0,12 [e]	< 0,02, 0,03	süßlich, aromatisch, parfümiert
Heptansäureethylester (Ethylheptanoat)	106-30-9	0,4	k.A.	-----	fruchtig, wohlriechend, fetthaltig
Butansäurepentylester (<i>n</i> -Amylbutyrat)	540-18-1	0,6	1,0 – 4,0 [d]	1,67 – 6,7	Apfelwein, Apfel, Süßwaren, Papaya
Essigsäureheptylester (Heptylacetat)	112-06-1	1,4	0,013 [d], 0,025 [e]	< 0,02	Birne, fruchtig, aromatisch, süßlich
Essigsäure-2-Phenylethylester (2-Phenylethylacetat)	103-45-7	3,8	0,05 – 2,0 [c], 1,6 [e]	0,01 – 0,53	Rosen, Honig, Apfel, süßlich
Octansäureethylester (Ethyl octanoat)	106-32-1	0,9	0,1 – 1,5 [c]	0,11 – 1,67	Apfel, süßlich, fruchtig
Essigsäureoctylester (<i>n</i> -Octylacetat)	112-14-1	0,5	< 0,015 [d], 0,03 [e]	< 0,06	Kokosnuss, Gemüse, Öl, aromatisch
Decansäuremethylester (Methylcaprinat)	110-42-9	1,0	k.A.	-----	Kokosnuss, Fettsäuren, fruchtig
Nonansäureethylester (Ethylnonanoat)	123-29-5	1,2	k.A.	-----	fruchtig, Fettsäuren, parfümiert, süßlich
Hexansäureisopentylester (Isoamylhexanoat)	2198-61-0	0,9	k.A.	-----	Fettsäuren, fruchtig, Lösemittel
Decansäureethylester (Ethyldecanoat)	110-38-3	1,5	< 0,19 [e]	< 0,13	Fettsäuren, fruchtig, Apfel, Lösungsmittel
Buttersäureoctylester (Octylbutyrat)	110-39-4	1,2	k.A.	-----	Fettsäuren, Kokos, tropische Früchte
Undecansäureethylester (Ethylundecanoat)	627-90-7	1,0	k.A.	-----	Fettsäuren, Birnen, grasig
Dodecansäureethylester (Ethylaurat)	106-33-2	3,5	< 0,03 [e]	< 0,008	seifig, esterig
Nonansäureisopentylester (Isoamylnonanoat)	7779-70-6	2	k.A.	-----	fruchtig (Pflirsich), Kokos, süß
Hexansäureoctylester (Octylhexanoat)	4887-30-3	5	k.A.	-----	k.A.
Palmitinsäureethylester, Hexadecansäureethylester (Ethylpalmitat)	628-97-7	1,5	k.A.	-----	Fettsäuren, fruchtig, süßlich, ranzig
Linolsäureethylester (Ethyllinoleat)	544-35-4	4	< 5 [d]	< 1,25	Fettsäuren, Gemüseöl, ranzig
Ölsäureethylester (Ethyloleate)	111-62-6	3,5	k.A.	-----	Fettsäuren, Gemüseöl, ranzig
Nicotinsäureethylester [b] (Ethylnicotinate)	614-18-6	6,0 [b]	1,0 – 1,5 [c], 1,4 [e]	0,17 – 0,25	medizinisch, Tinktur [b]

Ethylacetat, Isoamylacetat, Hexansäureethylester und Octansäureethylester werden als besonders aromaaktive Ester bezeichnet [Meilgaard, 1982]. Dies wird durch ihre Flavour Units deutlich, die weit über 1 bzw. 2 liegen können. In der

Studie von Fritsch und Schieberle (2005) wurde in der Gruppe der neutral-basischen flüchtigen Komponenten mit einem besonders hohen Aroma-Verdünnungs-Faktor Octansäureethylester identifiziert. Ferner wurden die Ester Ethylisobutyrat, Butansäureethylester und Hexansäureethylester als geruchsaktive Komponenten in Pilsner-Bier nachgewiesen [Fritsch und Schieberle, 2005].

2.2.3.5 Aromastoffe im Bier – Organische Säuren

Bier hat üblicherweise einen pH-Wert von ca. 4,3 [Weidenböcker, 2000]. Dieser pH-Wert wird unter anderem durch die organischen Säuren im Bier verursacht, welche von der Hefe gebildet werden. Ihre Konzentration im fertigen Bier ist abhängig von den Fermentationsbedingungen [Verhagen, 2010].

Tabelle 20: Übersicht der **organischer Säuren** im Bier [a: Hughes und Baxter, 2001; b: Yonezawa und Fushiki, 2002; c: Meilgaard, 1975b; d: Hardwick, 1995; e: NIST MS Search]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a, b, c]	[e]	[a, b, c]	[a, b, d]		[a, b, c]
Kohlensäure [b]	124-38-9	1000 [b]	3000 – 5500 [b]	3,0 – 5,5	Karbonatisierung [b]
Ameisensäure	64-18-6	k.A.	20 – 35 [d]	-----	k.A.
Essigsäure [a]	64-19-7	175 [a]	30 – 200 [a]	0,17 – 1,14	Säure, Essig [a]
Propansäure [a]	79-09-4	150 [a]	1,0 – 5,0 [a]	≤ 0,03	Säure, Essig [a]
Butansäure [a] (Buttersäure)	107-92-6	2,2 [a]	0,5 – 1,5 [a]	0,23 – 0,68	Butter, Käse, Schweiß [a]
2-Methylpropansäure [a] (Isobuttersäure)	79-31-2	30 [a]	0,1 – 2,0 [a]	≤ 0,07	süß, bitter, sauer [a]
Pentansäure [a] (Valeriansäure)	109-52-4	8,0 [a]	0,03 – 0,1 [a]	≤ 0,01	Schweiß, Körpergeruch [a]
2-Methylbutansäure [a] (aktive Valeriansäure)	116-53-0	2,0 [a]	0,1 – 0,5 [a]	0,05 – 0,25	Käse, alter Hopfen, Schweiß [a]
3-Methylbutansäure [a] (Isovaleriansäure)	503-74-2	1,5 [a]	0,1 – 2,0 [a]	0,07 – 1,3	k.A.
Hexansäure [b] (Capronsäure)	142-62-1	8,0 [b]	1,0 – 6,0 [b]	0,1 – 0,8	Ziege, Fettsäure, Gemüseöl, Schweiß [b]
Octansäure [a] (n-Caprylsäure)	124-07-2	15[a]	2,0 – 12 [a]	0,13 – 0,8	Caprylic, Ziege [a]
Decansäure [b] (n-Caprinsäure)	334-48-5	10 [b]	0,1 – 4,0 [b]	0,01 – 0,4	talig, caprylic [b]
2-Hydroxypropansäure [a] (Milchsäure)	50-21-5	400 [a]	20 – 80 [a]	0,05 – 0,2	Säure [a]
2-Oxo-propansäure [a] (Brenztraubensäure)	127-17-3	300 [a]	15 – 150 [a]	0,05 – 0,5	Säure, Salz, Futtermittel [a]
Butandisäure [a] (Bernsteinsäure)	110-15-6	-----	16 – 140 [a]	-----	k.A.
Oxalessigsäure [c]	328-42-7	500 [c]	1,0 – 5,0 [d]	≤ 0,01	Säure, salzig, oxidiert [c]
Fumarsäure [c]	110-17-8	400 [c]	8,0 – 12 [d]	0,02 – 0,03	Säure [c]
Phenyllessigsäure [c]	103-82-2	2,5 [c]	≤ 0,93 [d]	≤ 0,37	Honig, süß [c]
Mandelsäure [c]	611-72-3	> 200 [c]	k.A.	-----	ätzend, beißend [c]
Dodecansäure [c] (Laurinsäure)	143-07-7	6,1 [c]	0,05 – 0,7 [d]	0,01 – 0,11	Seifenlauge, wachsartig [c]
Vanillinsäure [c]	121-34-6	80 [c]	1,0 – 10 [d]	0,01 – 0,13	Vanille, süß, ätzend [c]
Gallussäure [c]	149-91-7	360 [c]	1,0 – 5,0 [d]	≤ 0,003	ätzend, beißend [c]
Kaffeesäure [c]	331-39-5	690 [c]	1,0 – 10 [d]	≤ 0,01	bitter [c]
<i>para</i> -Cumarsäure [c]	7400-08-0	520 [c]	0,1 – 0,2 [d]	≤ 0,0004	ätzend, phenolisch [c]
Ferulasäure [c]	537-98-4	660 [c]	1,1 – 6,0 [d]	≤ 0,01	ätzend, beißend [c]
DL-Weinsäure [c]	133-37-9	600 [c]	≤ 1 [d]	≤ 0,002	Säure, salzig [c]

Einige der Säuren haben in ihrer undissoziierten Form eine Auswirkung auf die sensorischen Eigenschaften des Bieres [Verhagen, 2010]. Meilgaard (1982) benennt die Isovaleriansäure, die Hexansäure, die Octansäure und möglicherweise die Phenyllessigsäure als die wichtigsten Säuren für das Bieraroma.

Mittelkettige Fettsäuren, wie die Octansäure, entstehen bei der Gärung. Sie werden bei zu langer Reifung oder Überlagerung des Bieres aus den Hefezellen exkretiert und sind besonders in alkoholfreien Bieren wahrzunehmen [Back, 2008a]. Bei den Weizenbieren der hefigen Note zählen unter anderem mittelkettige und kurzkettige Fettsäuren zu den Hauptaromakomponenten [Back, 2008a]. In den Untersuchungen von Fritsch und Schieberle (2005) wird die Isovaleriansäure als eine der geruchsaktivsten sauren Komponenten in Pilsner-Bier identifiziert.

2.2.3.6 Aromastoffe im Bier – Aldehyde und Ketone

Bier enthält viele aromaaktive Aldehyde, die während der verschiedenen Prozessschritte gebildet werden. Sie entstehen durch Oxidation der korrespondierenden Alkohole oder leiten sich von den Fettsäuren und Lipiden des Malzes ab [Verhagen, 2010]. Der dominierende Aldehyd im Bier ist Acetaldehyd. In einer Konzentration oberhalb seines Schwellenwertes kann Acetaldehyd dem Bier ein typisches Aroma nach „grünem Apfel“ verleihen [Verhagen, 2010].

Aufgrund ihrer sehr geringen Geruchs- und Geschmacksschwellenwerte tragen insbesondere die Carbonyle zum Fehl aroma bei der Bieralterung bei [Meilgaard et al., 1970]. Ihre Aromaschwellenwerte sinken mit steigender Zahl der Kohlenwasserstoffatome und Doppelbindungen im Molekül schnell. Die meisten aliphatischen Aldehyde zeigen im Gegensatz zu den entsprechenden Alkoholen und Ketonen einem um 2 bis 3 Zehnerpotenzen niedrigeren Schwellenwert [Tressl et al., 1974; Meilgaard und Moya, 1970; Meilgaard et al., 1970; Engan, 1975]. Als besonders geruchsaktive flüchtige Verbindungen wurden bei der Untersuchung von Pilsner Bier die Verbindungen β -Damascenon und 4-Hydroxy-2,5-Dimethyl-3(2H)-furanon (Furaneol) identifiziert [Fritsch und Schieberle, 2005].

Tabelle 21: Übersicht der **Aldehyde** im Bier [a: Tan und Siebert, 2004; b: Meilgaard, 1975b; c: Hughes und Baxter, 2001; d: Hardwick, 1995; e: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a]	[e]	[a, b]	[c, d]		[b]
Methanal (Formaldehyd)	50-00-0	400	< 0,009 [d]	< 0,000023	ätzend, fruchtig, später brennend
Ethandial (Glyoxal)	107-22-2	7000	0,2 – 1 [d]	≤ 0,00014	brennend, ätzend
Ethanal (Acetaldehyd)	75-07-0	25,0	2 – 20 [c]	0,08 – 0,8	Apfelschale, gr. Blätter
2-Propenal (Akkrolein)	107-02-8	15,0	< 0,002 [d]	0,00013	süßer Honig, Sherry
Furfural	98-01-1	150	0,01 – 1,0 [c]	≤ 0,007	Papier, Schale
Propanal (Propionaldehyd)	123-38-6	30,0	0,01 – 0,3 [c]	≤ 0,01	grünes Gras, fruchtig
2,3-Dihydroxypropanal (Glycerinaldehyd)	367-47-5	125	< 0,02 [d]	< 0,00016	Walnuss, Sherry
2-Butenal (Crotonal)	4170-30-3	8,0	0,003 – 0,02 [c]	≤ 0,003	Apfel, gr. Blätter, Mandeln
5-Hydroxymethylfurfural	67-47-0	1000	0,1 – 20 [c]	≤ 0,02	Aldehyd, fad, Gemüseöl
5-Methylfurfural	620-02-0	20,0	< 0,01 [c]	< 0,0005	Mandeln, brennend
Benzaldehyd	100-52-7	2,0	< 0,05 [d]	< 0,025	Mandeln, Kirschkern
Butanal (Butyraldehyd)	123-72-8	1,0	0,03 – 0,2 [c]	0,03 – 0,2	Melone, gr. Blätter, Lack
3-Methylthiopropional (Methional)	3268-49-3	0,25	k.A.	-----	Kartoffelbrei, warm
3-Hydroxybutanal (Aldol)	107-89-1	8,0	k.A.	-----	Lack, Banane
2-Methylpropanal (Isobutanal)	78-84-2	1,0	0,02 – 0,5 [c]	0,02 – 0,5	Banane, Melone, Lack, gr. Blätter, bitter
<i>trans</i> -2, <i>cis</i> -4-Hexadienal	k.A.	0,8	< 0,042 [d]	< 0,05	Zimt, süßlich, gr. Blätter
Phenylacetaldehyd	122-78-1	1,6	k.A.	-----	Hyazinthe, Flieder
3-Phenyl-2-propenal (Zimtaldehyd)	104-55-2	6,0	k.A.	-----	Zimt
n-Pentanal	110-62-3	0,5	0,01 – 0,3 [c]	0,02 – 0,6	Gras, Banane, Aldehyde
2-Methylbutanal	96-17-3	1,25	0,01 – 0,3 [c]	0,008 – 0,24	gr. Gras, fruchtig, sauer / medizinisch
3-Methylbutanal (Isopentanal)	590-86-3	0,6	k.A.	-----	unreife Banane, Apfel, Sherry, Käse
<i>trans</i> -2-Hexenal	6728-26-3	0,6	0,005 – 0,01 [c]	≤ 0,02	bitter, ätzend, gr. Blätter
Hexanal (Capronaldehyde)	66-25-1	0,35	0,003 – 0,07 [c]	0,009 – 0,2	bitter, weinartig, Aldehyd
2-Ethylbutanal	97-96-1	6,0	k.A.	-----	fruchtig, Lack, Aldehyd
<i>cis</i> -4-Heptenal	6728-31-0	0,0004	k.A.	-----	Aldehyd, bitter
p-Isopropylbenzaldehyd (Cuminaldehyd)	122-03-2	0,4	k.A.	-----	Kreuzkümmel, Mandeln, Zimt, Lack
n-Heptanal	111-71-7	0,08	< 0,002 [c]	< 0,025	Aldehyd, weinartig
2-Ethyl-2-hexenal	645-62-5	0,2	< 0,2 [d]	< 1,0	Aldehyd, bitter
<i>trans</i> -2, <i>cis</i> -6-Nonadienal	557-48-2	0,00005	< 0,001 [d]	< 20	Gurke, grüne Blätter
<i>trans</i> -2, <i>trans</i> -4-Nonadienal	k.A.	0,0005	k.A.	-----	Ölig, ranzig, Aldehyd
n-Octanal	124-13-0	0,04	0,001 – 0,02 [c]	0,025 – 0,5	Aldehyd, weinartig
2-Ethylhexanal	123-05-7	1,0	k.A.	-----	Orange, Gras, Aldehyd, ätzend
<i>trans</i>-2-Nonenal	18829-56-6	0,00011	0,00001 – 0,002 [c]	0,09 – 18,2	papierartig (Karton),
<i>trans</i> -2, <i>trans</i> -4-Decadienal	25152-84-5	0,0003	k.A.	-----	ölig, Aldehyd, frittiert
3,7-Dimethyl-2,6-octadienal (Citral)	5392-40-5	0,15	k.A.	-----	Zitrone, bitter
n-Nonanal	124-19-6	0,02	0,001 – 0,011 [c]	0,05 – 0,55	ätzend, bitter, Aldehyd
<i>trans</i> -2-Decenal	3913-81-3	0,001	k.A.	-----	bitter, ranzig, fad
3,7-Dimethyl-6-octenal (Zitronellal)	106-23-0	4,0	k.A.	-----	Orangenschale, bitter, brennend
n-Decanal	112-31-2	0,006	0,0 – 0,003 [c]	≤ 0,5	bitter, Orangenschale
7-Hydroxy-3,7-dimethyl-octanal (Hydroxy-Zitronellal)	107-75-5	1,5	k.A.	-----	ätzend, blumig, Aldehyd
10-Undecenal	112-45-8	0,0035	k.A.	-----	Aldehyd, bitter, Orangenschale
n-Undecanal	112-44-7	0,0035	k.A.	-----	bitter, Orange, Aldehyd, weinartig
n-Dodecanal (Laurylaldehyd)	112-54-9	0,004	< 0,003 [d]	< 0,75	Fettsäuren, Aldehyd

Tabelle 22: Übersicht der **Ketone** im Bier [a: Tan und Siebert, 2004; b: Meilgaard, 1975b; c: Hughes und Baxter, 2001; d: Hardwick, 1995; e: Tressl et al., 1978a; f: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [mg/l]	Typische Konzentration im Bier [mg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a, b]	[f]	[a, b]	[c, d, e]		[b]
2-Propanone (Aceton)	67-64-1	200	0,01 – 0,02 [d]	≤ 0,0001	Aceton, fruchtig
2-Butanon	78-93-3	80	0,01 – 0,06 [d]	≤ 0,0008	Aceton, Lack
3-Hydroxy-2-butanon (Acetoin)	513-86-0	50	1 – 10 [c]	0,02 – 0,2	fruchtig, muffig, holzig
2,3-Butandion (Diacetyl)	431-03-8	0,15	0,01 – 0,4 [c]	0,07 – 2,7	Diacetyl, Karamell
2-Pentanon	107-87-9	30	< 0,02 [e]	≤ 0,0007	Jasmin, Geranie
3-Hydroxy-3-methyl-2-butanon (3-Methylacetoin)	115-22-0	400	k.A.	-----	süßlich, Keton, bitter, Karamel, unangenehm
3-Methyl-2-butanon	563-80-4	60	< 0,05 [c]	< 0,0008	Keton, süßlich, Minze
3-Pentanon	96-22-0	30	k.A.	-----	Ethylether, Keton, süßl.
1-Penten-3-on (Ethylvinylketon)	1629-58-9	0,03	k.A.	-----	tranige Butter
2,3-Pentandion	600-14-6	0,9	0,01 – 0,15 [c]	0,01 – 0,17	Diacetyl, fruchtig
Cyclopentanon	120-92-3	200	k.A.	-----	Mandel, süßl, Ethylether
2-Hexanon	591-78-6	4	k.A.	-----	Keton, Roquefort-Käse
3,3-Dimethyl-2-butanon	75-97-8	25	-----	-----	Lack, Ethylether
4-Methyl-2-pentanon (Isopropylacetoin)	108-10-1	5	< 0,013 [c]	< 0,0026	Lack, Keton, Melone
2,3-Hexandion (Acetylbutyryl)	3848-24-6	15	< 0,01 [d]	< 0,0007	Erdbeere, Diacetyl
Cyclohexanon	108-94-1	40	k.A.	-----	Mandel, Keton, bitter
4-Methyl-3-penten-2-on (Mesityloxid)	141-79-7	4	k.A.	-----	süß, Pfirsich, Erdbeere
Methyl-2-furylketon (2-Acetylfuran)	1192-62-7	80	k.A.	-----	Karamel, Mandel
2,4-Dimethyl-3-pentanon (Isopropylketon)	565-80-0	8	k.A.	-----	Ethylether, Lack, süßlich
2-Heptanon	110-43-0	2	0,04 – 0,11 [c]	0,02 – 0,06	Lack, Keton, Walnuss
3-Heptanon	106-35-4	3	k.A.	-----	Keton, Lack, süßlich
4-Heptanon	123-19-3	4	k.A.	-----	Keton, Lack, Minze
5-Methyl-2-hexanon	110-12-3	7	k.A.	-----	Keton, süßlich
4-Methylcyclohexanon	589-92-4	25	k.A.	-----	Minze, Kokosnuss
2-Octanon	111-13-7	0,25	< 0,01 [c]	< 0,04	Lack, Keton, Walnuss, Octylalkohol
3-Octanon	106-68-3	0,5	k.A.	-----	Keton, Lack, würzig
6-Methyl-3-heptanon	624-42-0	1,2	k.A.	-----	Keton, Lack
1-Octen-3-on (Vinylamylketon)	4312-99-6	0,000025	-----	-----	Pilz, metallisch, bitter
o-Aminoacetophenon	k.A.	0,005	k.A.	-----	Traubenkern, süß, beißend
Acetophenon	98-86-2	3	k.A.	-----	Mandel, Marzipan
2,6-Dimethyl-4-heptanon (Isobutylketon)	108-83-8	8	k.A.	-----	Keton, Banane
2-Nonanon	821-55-6	0,2	< 0,03 [c]	< 0,15	Keton, Lack
2-Decanon	693-54-9	0,25	-----	-----	Keton, blumig, süßlich
3-Decanon	1534-27-6	0,3	k.A.	-----	Keton, süßlich, Lack
D-(+)-Carvon	2244-16-8	0,4	k.A.	-----	Kümmel, Minze
2-Phenyl-2-butanon (Benzylacetoin)	2550-26-7	2,5	k.A.	-----	Banane, Mango, süßlich
trans-4-Phenyl-3-buten-2-on (Benzalacetoin)	122-57-6	1	k.A.	-----	Keton, Kuchen, Gummi-Aerosol, Lack
2-Undecanon	112-12-9	0,4	< 0,001 [e]	0,0025	Keton, Lack, bitter, grüne Pflanze
2-Dodecanon	6175-49-1	0,25	k.A.	-----	Keton, Lack, grüne Pflanze, Geranie
α-Ionon	6901-97-9	0,0026	< 0,003 [d]	< 1,15	Künstliche Himbeere, Zedernholz
β-Ionon	14901-07-6	0,0013	< 0,003 [d]	< 2,3	Künstliche Himbeere, Erdbeere

2.2.3.7 Aromastoffe im Bier – Vinylaromaten

Die Vinylaromaten entstehen im Verlauf des Brauprozesses und spielen insbesondere bei der Herstellung von Weizenbier eine Rolle. Styrol (4-Vinylbenzol) gehört neben den natürlichen Aromastoffen 4-Vinylguajakol und 4-Vinylphenol zu den charakteristischen Inhaltsstoffen in Weizenbier [Krämer, 1982; Hecht, 1983; Hermann, 2005].

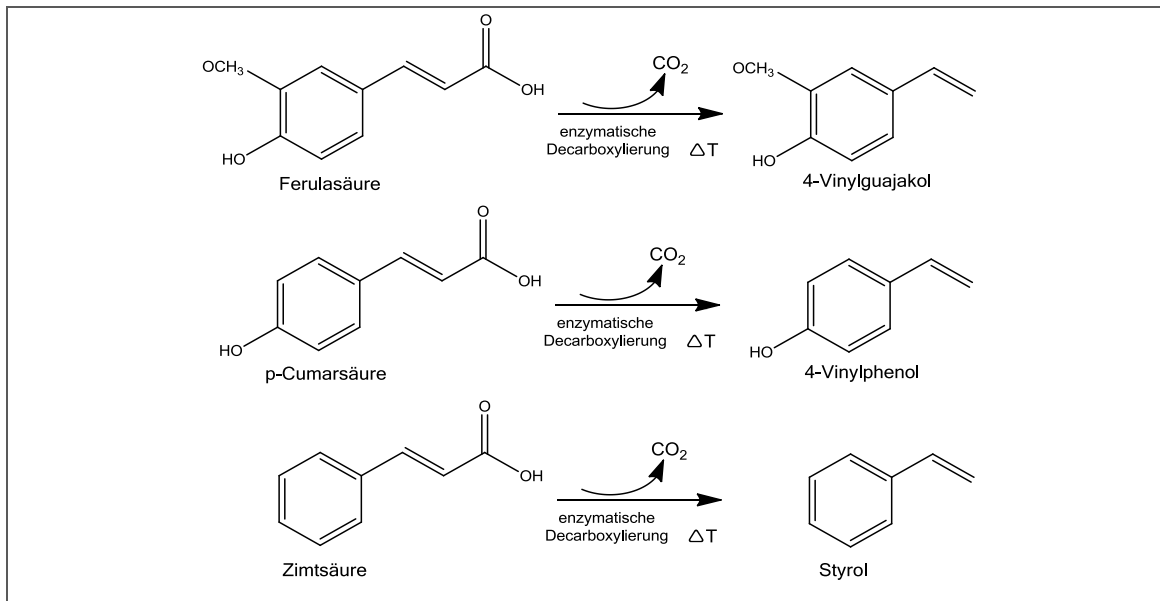


Abbildung 10: Bildung von 4-Vinyl-Aromaten [Schwarz und Methner, 2011a]

Die beiden wichtigsten Aromastoffe in Weizenbier sind 4-Vinylguajakol und 4-Vinylphenol. Sie werden durch thermische und biochemische Decarboxylierung aus Ferulasäure und p-Cumarsäure gebildet [Wackerbauer et al., 1978]. Um Aufschluss über eine biochemische Decarboxylierung zu erhalten, führte er Gärversuche mit dem Zusatz von p-Cumarsäure, Ferulasäure und Sinapinsäure durch. Ferner untersuchte er verschiedene Hefestämme auf ihre Fähigkeit hin, aus Ferulasäure 4-Vinylguajakol zu bilden. Es zeigte sich, dass dies nur bei zwei der obergärigen Hefekulturstämme möglich war. Ein Stamm zur Herstellung von Berliner Weißbier sowie ein Stamm zur Herstellung vom bayerischen Weizenbier. Unter den untergärigen Kulturhefen konnte kein Stamm Ferulasäure decarboxylieren und 4-Vinylguajakol bilden [Wackerbauer, 1978]. Während Styrol zu Beginn der Fermentation gebildet wird, werden die übrigen 4-Vinyl-Derivate nicht in größeren Mengen erzeugt bis die Zimtsäure vollständig umgewandelt ist. Styrol erreicht ihren Höhepunkt nach 24 Stunden, während die Konzentrationen

von 4-Vinylguajakol und 4-Vinylphenol während des gesamten Fermentationsprozesses zunehmen. Die Zimtsäure hat eine höhere Enzymaffinität als die Ferulasäure und die p-Cumarsäure [Schwarz, 2011b].

2.2.3.8 Aromastoffe im Bier – Schwefelhaltige Komponenten

Im Bier sind mehrere flüchtige Schwefelkomponenten vorhanden, welche sehr aromaintensiv sein können. Mit der höchsten Konzentration von bis zu 20 mg/l kommt Schwefeldioxid vor [Hughes und Baxter, 2001]. SO₂ wird während der Fermentation gebildet. Wenn schwefelhaltige Komponenten über ihrem Schwellenwertlevel liegen, werden sie als sehr negativ für die Aromaqualität des Bieres angesehen [Verhagen, 2010]. Als besonders aromaaktive Komponenten können Schwefelwasserstoff, Methanthiol, Ethanthiol, Dimethylsulfid, Dimethyltrisulfid und 3-Methyl-2-buten-1-thiol eingestuft werden. Nachfolgende Tabelle 23 zeigt die Schwefelverbindungen in Bier. Wie daraus hervorgeht, sind bei den Schwefelverbindungen Flavor Units von deutlich über zwei möglich.

Tabelle 23: Übersicht der **Schwefelverbindungen** im Bier [a: Hughes und Baxter, 2001; b: Yonezawa und Fushiki, 2002; c: NIST MS Search 2.0]

Komponenten	CAS	Schwellenwert im Bier [µg/l]	Typische Konzentration im Bier [µg/l]	FU	Aromabeschreibung im Bier
[a, b]	[c]	[a, b]	[a]		[a, b]
Schwefelwasserstoff (H ₂ S)	7783-06-4	5	1 – 20	0,2 – 4	sulfidisch, faule Eier
Schwefeldioxid (SO ₂) gesamt	7446-09-5	> 25000	200 - 20000	0,008 – 0,8	sulfidisch, angebranntes Zündholz
Schwefelkohlenstoff (CS ₂)	75-15-0	> 50	0,01 – 0,3	≤ 0,006	k.A.
Methanthiol (Methylmercaptan)	74-93-1	2,0	0,2 – 15	0,1 – 7,5	Fäulnis, Gully
Ethylsulfid	420-12-2	> 50	0,3 – 2	≤ 0,04	-----
Ethanthiol (Ethylmercaptan)	75-08-1	1,7	≤ 20	≤ 11,8	Fäulnis
1-Propanthiol (n-Propylmercaptan)	107-03-9	0,15	0,1 – 0,2	0,7 – 1,3	Fäulnis, Gummi
1-Butanthiol (n-Butylmercaptan) [b]	109-79-5	0,8 [b]	≤ 1 [b]	≤ 1,25	Fäulnis [b]
Dimethylsulfid (DMS)	75-18-3	30	10 – 100	0,33 – 3,3	Zuckermais, Dosentomaten
Diethylsulfid	352-93-2	1,2	0,1 – 1	0,08 – 0,8	gekochtes Gemüse
Dimethyldisulfid	624-92-0	7,5	0,1 – 3	0,01 – 0,4	verfaultes Gemüse
Diethyldisulfid	110-81-6	0,4	≤ 0,01	≤ 0,025	Knoblauch, verbrannter Gummi
Dimethyltrisulfid	3658-80-8	0,1	0,01 – 0,8	0,1 – 8	verfaultes Gemüse, Zwiebel
Methylthioacetat	1534-08-3	50	5 – 20	0,1 – 0,4	Kohl
Ethylthioacetat	625-60-5	10	≤ 2	≤ 0,2	Kohl
Methionol	505-10-2	2000	50 – 1300	0,025 – 0,65	rohe Kartoffeln
3-Methylthiopropional (Methional)	3268-49-3	250	20 – 50	0,08 – 0,2	Kartoffelbrei
3-Methyl-2-buten-1-thiol	5287-45-6	0,01	0,001 – 0,1	0,1 – 10	Stinktief

Insbesondere Schwefelwasserstoff sollte aufgrund seines unangenehmen Geruchs nach faulen Eiern vermieden werden. Hydrogensulfid kann durch den Abbau von schwefelhaltigen Aminosäuren gebildet werden. Aufgrund seiner hohen Flüchtigkeit wird H_2S , zusammen mit CO_2 , während des Fermentationsprozesses größtenteils ausgetrieben. Dimethylsulfid (DMS) ist eine weitere wichtige Schwefelverbindung, welche für die schwefelige Note des Bieres verantwortlich ist. In niedrigen Konzentrationen ist es eine erwünschte Komponente. Oberhalb seines Schwellenwertes wird es aber als Off-Flavor angesehen. Während des Mälzens wird DMS gebildet, aus dem Abbau des Vorläufers S-Methylmethionin (SMM), welches während des Malzdarrens gebildet wird. Ein Großteil des DMS verdampft im Brauprozess während der Würzekochung [Verhagen, 2010].

2.2.4 Veränderungen der Bieraromastoffe bei Bialterung

Nach der Abfüllung unterliegt das Bier einem natürlichen Alterungsprozess. Es handelt sich hierbei um einen dynamischen Prozess, der durch Bildung und Abbau von Bierinhaltsstoffen zu einer fortwährenden Veränderung des Aromaprofils führt [Back, 2008a]. Im Gegensatz zu vielen Weinen wird die Bialterung für die Aromaqualität im Allgemeinen als negativ betrachtet. Sie ist unter anderem abhängig von der Biersorte und den Lagerbedingungen [Vanderhaegen et al., 2006].

In Dunklen Bieren und Bieren mit hohem Alkoholgehalt stellen die Maillardreaktionen die Hauptalterungsprozesse dar. In stark gehopften Bieren nehmen die Abbauprodukte der Hopfen-Bittersäuren während der Lagerung stark zu [Vanderhaegen et al., 2007]. Die Ausbildung der Alterungsaromen wird vor allem auf Oxidationsreaktionen zurückgeführt. Ihre Bildung kann durch einen geringen Sauerstoffgehalt und einen hohen Gehalt an reduzierend wirkenden Substanzen verzögert werden [Lustig, 1994]. Viele der Alterungscarbonyle stammen vor allem aus Maillardreaktionen, speziell aus dem Streckerabbau von Aminosäuren. Die Streckeraldehyde dienen als Indikatorsubstanzen, da ihre Konzentrationen mit zunehmender Alterung des Bieres signifikant ansteigen [Lustig, 1994].

Für die Entstehung der beteiligten Substanzen können mehrere Reaktionsmechanismen verantwortlich gemacht werden [Saison et al., 2008].

Tabelle 24: Alterungsreaktionen im Bier [Saison et al., 2008]

Alterungsreaktion	Indikator	Indikator	Indikator	Indikator	Indikator
Alterungsreaktion		→			
Maillardreaktion		→	Furfural, 5-Methylfurfural, Acetylfuran,		
Bildung von Furanether		→	2-Furfurylethylether		
Streckerabbau		→	Phenylacetaldehyd, Methional, 3-Methylbutanal, 2-Methylbutanal, 2-Methylpropanal, Benzaldehyd		
Abbau von Hopfenbittersäuren		→	Methylisobutylketon, Ethyl-3-methylbutyrat, Ethyl-2-methylbutyrat		
Freisetzung von Aldehyden durch Lipidoxidation, Freisetzung von Addukten und Adolkondensation		→	(E)-2-Nonenal, (E,E)-2,4-Decadienal, (E)-2-Hexenal, (E)-2-Heptenal, Propanal, Butanal, Pentanal, Hexanal, Octanal, Nonanal, Decanal		
Ethylesterbildung		→	Nicotinsäureethylester, Phenyllessigsäureethylester		
Dimethyltrisulfidbildung		→	Dimethyltrisulfid		
Lactonbildung		→	γ-Nonalacton		
Terpenoidoxidation und Glykosidhydrolyse		→	β-Damascenon		
Abbau von Essigsäureestern		→	Isoamylacetat, Phenylethylacetat		

Weitere alterungsrelevante Substanzen entstehen beim Abbau langkettiger Fettsäuren. Der Lipidabbau kann enzymatisch, aut- oder photooxidativ erfolgen und führt beispielsweise zu Alterungskomponenten wie Hexanal und (E)-2-Nonenal [Lustig, 1994].

In Alterungsstudien mit obergärigen Bier wurde nach 6 Monaten ein sehr starker Anstieg von Furfural, 2-Furanmethanol und insbesondere von 2-Furfurylethylether festgestellt [Vanderhaegen et al., 2003]. Um die Aromastabilität zu verbessern werden von Vanderhaegen et al. (2007), abhängig von der Bierart praktische Verbesserungsstrategien vorgeschlagen. So kann durch eine Verringerung der thermischen Belastung der Würze während des Brauprozesses eine Reduzierung der reaktiven Maillard-Zwischenprodukten erreicht werden. Eine Hydrolyse der Ester kann durch die Pasteurization des frischen Bieres vermieden werden.

Dies ist insbesondere für obergärige Biere von Bedeutung, welche häufig hohe Konzentrationen an, durch Hefe produzierten, angenehm fruchtigen Estern enthalten [Vanderhaegen et al., 2007].


Ein Hauptaugenmerk der Alterungsforschung von Bier liegt unter anderem auf der Untersuchung der Komponente (E)-2-Nonenal, mit seinem Aroma nach Pappe bzw. Karton [Vanderhaegen et al., 2006]. Zudem leisten die Komponenten Methional, 3-Methylbutanal, 2-Furfurylethylether, β -Damascenon und Acetaldehyd einen Schlüsselbeitrag zum Alterungsaroma. Dies wurde anhand von Alterungsstudien mit belgischem Lagerbier belegt [Saison et al., 2009]. In einer weiteren Studie wurde die Stabilität von aromaaktiven Estern in Ale und Lagerbier während einer Lagerung von 3 Monaten untersucht. Dabei wurde generell beobachtet, dass bei einer Lagertemperatur von 4°C im Vergleich zu einer Lagerung bei Raumtemperatur die Konzentration der flüchtigen Ester stabiler war. Zudem wurde eine Reduktion einzelner Ester von über 30% festgestellt [Hiralal et al., 2013].

Carbonyle können auch durch Lichteinfluss und in Anwesenheit von Photosensibilisatoren, wie z.B. Riboflavin, gebildet werden. Das bekannteste Reaktionsprodukt ist das 3-Methyl-2-buten-1-thiol, welches für den Lichtgeschmack im Bier verantwortlich ist. Es hat im Bier einen sehr geringen Geruchsschwellenwert. Die Angaben zum Schwellenwert von 3-Methyl-2-buten-1-thiol sind in der Literatur unterschiedlich und reichen von 7 ng/l bis 30 ng/l [Burns et al., 2001; Komarek, 2001; Hill et al., 2001].

2.3 Analysenmethoden zur Bestimmung der Aromastoffe in Hopfen und Bier

Zahlreiche verschiedene analytische Methoden wurden für die Untersuchung der Aromastoffzusammensetzung von Lebensmitteln entwickelt. Für die quantitative Bestimmung von Aromastoffen in Hopfen und Bier kommen die in der nachfolgenden Tabelle 25 aufgeführten Verfahren in Betracht. Diese lassen sich in der Praxis in unterschiedlichen Kombinationen anwenden.

Tabelle 25: Verfahren zur Bestimmung der Aromastoffen in Hopfen und Bier

Arbeitsschritte	Abk.	Verfahren
Proben- vorbereitung / Extraktion	SD SFE MAE MA-HD LLE HS HS-Trap SPE SPME SBSE SDE DSX SAFE	Wasserdampfdestillation (Steam Distillation) [a] Supercritical Fluid Extraction (mit CO ₂) [b] Microwave Assisted Extraction [c] Microwave Assisted Extraction and Hydrodistillation [d] Flüssig-Flüssig-Extraktion (Liquid Liquid Extraction) [e] Headspace (statisch, dynamisch, Purge and Trap) Headspace – Trap Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction) Festphasenmikroextraktion (Solid Phase Micro Extraction) Stir Bar Sorptive Extraction Simultaneous Distillation Extraction Direct Solvent Extraction Hochvakuumdestillation (Solvent Assisted Flavor Evaporation)
Auftrennung der Aromastoffe/ Detektion	DTD GC GC-GC MS TOFMS APCIMS FID FTIR O	Direct Thermal Desorption Gaschromatography Multidimensionale Gaschromatography Massenspektrometer Time of Flight Massenspektrometer Atmospheric Pressure Chemical Ionisation MS Flammenionisationsdetektor (Flame Ionisation Detection) Fourier Transformed Infrared Spectroscopy Olfactometry
 Kopplungs- möglichkeiten		GC-FID [f] GC-MS; GC-GC-MS; GC-GC-TOF-MS [g] GC-APCI-MS; GC-FTIR-MS [h] HS-GC-MS; HS-Trap-GC-MS [i] SDE-GC-MS; SDE-GC-FID [j] DTD-GC-MS; DTD-GC-FID [k] SBSE-GC-MS [l] HS-SPME-GC-MS; HS-SPME-GC-FID; SPME-GC-MS [m] HS-SPME-GC-O/-MS [m] GC-O [n]

- [a]: [Rubiolo et al., 2010; Anitescu et al., 1997]
- [b]: [Rubiolo et al., 2010; Anitescu et al., 1997]
- [c]: [Rubiolo et al., 2010]
- [d]: [Rubiolo et al., 2010]
- [e]: [Wei et al., 2001]
- [f]: [Eri et al., 2000; Charry-Parra et al., 2011]
- [g]: [Roberts et al., 2004; Eyres et al., 2007; Tressl und Friese, 1978; Hübschmann, 2009; Inui et al., 2013]
- [h]: [Ashraf et al., 2010]
- [i]: [Snow und Bullock, 2010; Tian, 2010a; Tian, 2010b]
- [j]: [Anitescu et al., 1997]
- [k]: [Eri et al., 2000]
- [l]: [Kishimoto et al., 2005; Horák et al., 2007; Horák et al., 2010]
- [m]: [Pinho et al., 2006; Dong et al.; 2013; Silva et al., 2008; Jiao et al., 2011; Charry-Parra et al., 2011; Liu et al., 2005; Field et al., 1996; Horák et al., 2010; Van Opstaele et al., 2012]
- [n]: [Lermusieau et al., 2001; Eyres et al., 2007]

Von den verschiedenen Extraktionsmethoden hat jede seine speziellen Vorteile und Nachteile. Die Methode der Wahl hängt stark von der Art und Komplexität der Matrix sowie von den beabsichtigten analytischen Untersuchungen ab [Werkhoff et al., 2002]. Zahlreiche Studien belegen, dass die Zusammensetzung der Aromaeextrakte sehr stark von der angewendeten Trenntechnik abhängig ist. Eine geeignete Technik für die Extraktion von flüchtigen Verbindungen aus Lebensmitteln sollte folgende Anforderungen erfüllen: a.) Extraktion der Schlüsselaromakomponenten, b.) keine Zerstörung oder Modifizierung der Struktur relevanter Aromakomponenten, c.) keine Bildung neuer Aromakomponenten oder Artefakte und d.) Abtrennung nichtflüchtiger Komponenten, welche die gaschromatographische Trennung stören [Engel et al., 1999].

2.3.1 Wasserdampfdestillation

2.3.1.1 Prinzip der Wasserdampfdestillation

Generell versteht man unter Destillation ein Verfahren zur Trennung von Mischphasen durch die thermischen Arbeitsgänge Verdampfen und Kondensieren. Die Wasserdampfdestillation ist eine Trägerdampfdestillation, mit Wasserdampf als Träger [Bock, 1974; Krell, 1975]. Das Wasser benetzt dabei das Pflanzenmaterial. Das ätherische Öl diffundiert aus den Ölzellen heraus. Es entsteht eine Öl-Wassermischung, die wieder verdampft wird. Entscheidend für viele

hitzeempfindliche Bestandteile des ätherischen Öles ist nun die Tatsache, dass sich die partiellen Dampfdrücke der Öl-Wassermischung addieren und dadurch eine Verdampfung bereits knapp unter 100°C erreicht wird [Rinder und Bomme, 1998]. Das Sieden beginnt, wenn die Summe der Partialdampfdrücke der Komponenten größer als der Atmosphärendruck der Umgebung ist. Daher destilliert bei der Wasserdampfdestillation der Dampf des ätherischen Öls zusammen mit dem Wasserdampf bei einer Temperatur nahe am Siedepunkt des Wassers [Attokaran, 2011]. Die einzelnen Ölkomponenten würden erst bei Temperaturen weit über 100°C verdampfen mit negativen Folgen für das Aroma. Die Mischung verdampft und kondensiert wieder an einem Kühler. Das Kondensat wird aufgefangen. Das leichtere ätherische Öl trennt sich von dem schwereren Wasser. Es schwimmt in einer dünneren oder dickeren, meist gelblichen Schicht auf dem Wasser und kann abgetrennt werden [Rinder und Bomme, 1998]. Dieser Trennvorgang hängt sehr von der destillierten Pflanzenmenge und dem Ölgehalt der Pflanzenart ab. Das ätherische Öl sollte möglichst kühl, unter Lichtabschluss und luftdicht verschlossen aufbewahrt werden [Rinder und Bomme, 1998].

2.3.1.2 Applikation der Wasserdampfdestillation

Die Wasserdampfdestillation ist die am häufigsten verwendete Methode zur Gewinnung von ätherischem Öl aus Pflanzen. Sie wird ohne Anwendung von Vakuum durchgeführt [Attokaran, 2011]. Ferner findet sie Anwendung in der Probenvorbereitung zur Analyse von flüchtigen Verbindungen in Getränken und Lebensmitteln mit einem hohen Wassergehalt. Dabei ist es erforderlich die großen Mengen an wässrigem Destillat einer weiteren Extraktion mit org. Lösungsmittel zu unterziehen, um die flüchtigen Verbindungen vom Wasser abzutrennen. Ein Aufkonzentrieren des Extraktes ist dann erforderlich. Die Wasserdampfdestillation ist wenig geeignet für Fette und Öle [Elmore, 2010].

2.3.1.3 Beurteilung der Wasserdampfdestillation

Der Hauptvorteil der Wasserdampfdestillation liegt darin, dass der Destillations-schritt die flüchtigen Bestandteile von den Nichtflüchtigen trennt. Die Wasserdampfdestillation funktioniert am besten für Verbindungen, die leicht flüchtig und in Wasser nicht löslich sind [Parliment, 1997]. So liefert diese Methode gute Ergebnisse bei ölreichen Pflanzenteilen und –ausscheidungen, deren ätherische

Öle sich in Wasser wenig lösen. Sie ist nicht gut geeignet bei Pflanzen mit geringem Ölgehalt und hoher Wasserlöslichkeit des Öles oder einzelner Inhaltsstoffe [Bock, 1974; Krell, 1975]. Die Wasserdampfdestillation sichert eine relativ verlustarme Gewinnung an ätherischen Ölen. Im Gegensatz zur Vakuumdestillation ist bei der Destillation unter atmosphärischen Bedingungen der apparative Aufwand geringer und die Bedienung einfach [Pfannkuche, 2000]. Die gewonnenen Extrakte enthalten keine hochsiedenden oder nicht-flüchtigen Substanzen. Daher besteht keine Kontaminationsgefahr der GC-Liner und Säulen [Da Costa und Eri, 2005]. **Nachteile** der Wasserdampfdestillation ergeben sich durch die Destillationstemperatur von ca. 100°C, wodurch eine eventuelle Veränderung in der Zusammensetzung des ätherischen Öles eintritt [Pfannkuche, 2000]. Die verwendeten hohen Temperaturen können in der Probe zur Bildung von Artefakten führen [Sides et al., 2000]. Weiter treten Probleme bei Stoffen mit hoher Wasserlöslichkeit auf. Wenn diese zudem beträchtlich schwerer als Wasser flüchtig sind, lassen sie sich nicht auf die übliche Weise mit Wasserdampf destillieren [Pfannkuche, 2000]. Die Wasserdampfdestillation ist nicht gut geeignet für frische Materialien, wie Obst und Gemüse, die zuvor nicht thermisch bearbeitet wurden. Nachteilig ist auch die relativ lange Extraktionszeit. Sie beträgt in Abhängigkeit von der Matrix etwa 2 – 4 Stunden [Da Costa und Eri, 2005].

2.3.2 Hochvakuumdestillation – SAFE

SAFE (Solvent Assisted Flavor Evaporation) ist eine verbesserte und spezialisierte Variante der Hochvakuumdestillation [Engel et al., 1999]. Die SAFE-Technik ermöglicht eine schnelle Abtrennung flüchtiger Komponenten von Lebensmittel-Suspensionen, Matrices mit einem hohen Fettgehalt und wasserhaltigen Lebensmitteln [Engel et al., 1999].

2.3.2.1 Prinzip der Hochvakuumdestillation

Die SAFE-Technik beinhaltet eine kompakte Destillationseinheit in Verbindung mit einer Hochvakuumpumpe [Engel et al., 1999]. Als Destillationsparameter wird beispielsweise eine Thermostatisiertemperatur von 55°C und ein Hochvakuumdruck von 10^{-5} bis 10^{-4} Pa gewählt. Der zu destillierende Extrakt wird langsam und kontinuierlich in den temperierten Rundkolben eingeleitet. Dabei verdampfen die flüchtigen Bestandteile explosionsartig. Sie werden in einen mit flüssigem

Stickstoff gekühlten Rundkolben überführt und frieren dort aus, während die nicht-flüchtigen Verbindungen im Ausgangskolben zurückbleiben [Teutsch, 2004]. Durch die moderaten Extraktionstemperaturen werden labile Moleküle von Duftstoffen nicht zersetzt und während der Destillation keine Artefakte gebildet [Werkhoff et al., 2002].

2.3.2.2 Applikation der Hochvakuumdestillation

Die Hochvakuumdestillation (SAFE) wird in großem Umfang in der chemischen Erforschung der Aromastoffe eingesetzt, wie zum Beispiel der in Analyse flüchtiger Schlüsselkomponenten in Milch [Bendall, 2001; Havemose et al. 2007], Süßrahmbutter [Lozano et al., 2007], Kaffeebohnen [Scheidig et al., 2007], Erdnüssen [Didzbalis et al., 2004; Schirack et al., 2006; Chetschik et al., 2010], Käse [Whetstine et al., 2005] und der Charakterisierung von Schlüsselaromastoffen in Pils-Bier [Fritsch und Schieberle, 2005], Honig [Ruisinger und Schieberle, 2012] und Champignons [Grosshauser und Schieberle, 2013]. Darüber hinaus gibt es eine Vielzahl weiterer, in der Literatur beschriebenen, Anwendungsbeispiele für die Erforschung von Aromastoffen in diversen Lebensmitteln.

2.3.2.3 Beurteilung der Hochvakuumdestillation

Der grundsätzliche **Vorteil** der Vakuumdestillation gegenüber der Destillation bei Normaldruck ist die Erniedrigung des Siedepunktes. Durch die Siedepunktserniedrigung können die Substanzen unter der Zersetzungstemperatur getrennt werden, was insbesondere bei temperaturempfindlichen Stoffen vorteilhaft ist [Pfannkuche, 2000]. Die SAFE-Technik ermöglicht somit eine schonende und direkte Abtrennung von Aromastoffen aus komplexen Lebensmittelmatrizes [Engel et al., 1999]. Sie führt zu höheren Ausbeuten an stärker polaren Aromastoffen und an Aromastoffen aus fetthaltigen Matrizes. Generell ist die Ausbeute an flüchtigen Komponenten im Vergleich zu früher angewendeten Hochvakuumtechniken höher [Sides et al., 2000]. Die direkte Destillation von wässrigen Proben, wie z. B. Milch, Bier, Orangensaft, Fruchtfleisch ist möglich. Durch die SAFE-Extraktion werden authentische Aromaextrakte gewonnen, mit organoleptischen Eigenschaften möglichst nahe dem natürlichen Produkt. Polare und instabile flüchtige Verbindungen in komplexen Matrizes (auch im Spurenbereich) können zuverlässig quantifiziert werden [Sides et al., 2000]. **Nachteilig** an der SAFE Technik sind der

komplexe Aufbau und die zeitaufwendige Reinigung. Um eine Verunreinigung der Säule und Liner zu vermeiden ist dies auch sehr wichtig. Außerdem kann ein hoher Fettgehalt das Aromaprofil verzerren [Da Costa und Eri, 2005].

2.3.3 Direkte Thermodesorption – DTD

Die Direkte Thermodesorption bietet eine schnelle Technik für die qualitative Analyse fester Proben. Sie erfordert keine oder nur geringe Probenvorbereitung [Werkhoff et al., 2002].

2.3.3.1 Prinzip der Direkten Thermodesorption

Das Verfahren der „Direkten Thermodesorption“ beruht auf der thermischen Extraktion von flüchtigen Verbindungen aus nichtflüchtigen Matrices. Die Analyten werden dabei direkt auf die Chromatographiesäule übertragen, ohne Verdünnung und Kontamination. Die Thermodesorption erfolgt durch Erhitzen der Probe im Injektorliner, Thermodesorberröhrchen oder Pyrolysator auf 150 – 400°C im Trägergasstrom und nachfolgender GC- bzw. GC-/MS-Analyse der desorbierten Verbindungen [Grimm et al., 1997; Poole, 2012].

2.3.3.2 Applikation der Direkten Thermodesorption

Die Methode der Direkten Thermodesorption kann für nachfolgend aufgeführte Analysen angewendet werden: [Grimm et al., 1997; Engewald und Efer, 2009].

Tabelle 26: Applikation der Direkten Thermodesorption

Direkte Thermodesorption – Anwendung	
-	Simulation der thermischen Belastung von Materialien und Werkstoffen: z.B. die Emission von geruchsintensiven oder toxischen Verbindungen beim Erwärmen polymerer Materialien (Automobilindustrie)
-	Bestimmung von PAHs, PCBs, Organohalogenverbindungen in Boden-, Sediment- und Gesteinsproben
-	Analyse von Aromastoffen in Lebensmitteln (z.B. Käse, Kaffee, Rindfleisch, Erdnüssen, Kiefernadeln, Gewürze u.a.)
-	Analyse flüchtiger Verbindungen (z.B. Staub, Filter, Medikamenten, Harze, Folien, Teppiche, (Sperr)holz)
-	Bestimmung von aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen in Boden und Gesteinsproben

Im Rahmen der Erforschung von Aromastoffen in Lebensmitteln wurde die DTD-GC Methode z.B. für die Analyse von Vanilleschoten [Zhang und Müller, 2012], Hopfen [Eri et al., 2000] und Sesam [Cadwallader und Heo, 2001] angewandt.

2.3.3.3 Beurteilung der Direkten Thermodesorption

Die „Direkte Thermodesorption“ ist eine schnelle Technik für die qualitative Analyse fester Proben. Die **Vorteile** liegen in der einfachen, lösungsmittelfreien, schnellen und automatisierbaren Kombination von Extraktion und Probenaufgabe [Grimm et al., 1997; Engewald und Efer, 2009; Werkhoff et al., 2002].

Tabelle 27: Beurteilung der Direkten Thermodesorption

Direkte Thermodesorption – Beurteilung	
-	Vorteile: Integrierte Analyt-Matrix-Trennung
-	Keine bzw. einfache Probenvorbereitung: nur Zerkleinern, Homogenisieren, Einfüllen, Einwiegen / geringe Probemenge: 0,1 – 1 g
-	Hohe Empfindlichkeit: Direkter Transfer der Analyten auf die GC-Säule
-	Weniger Fehlerquellen und Vorteile besonders bei schwierig zu handhabenden Proben und bei höhersiedenden thermisch stabilen Analyten (unpolare Substanzen mit einem Siedepunkt bis 600°C sind erfassbar)
-	Lebensmittelproben mit einem moderaten Feuchtigkeitsgehalt können noch analysiert werden (zusätzliche Arbeitsschritte sind erforderlich)
-	Quantitative Analyse ist, in Abhängigkeit von den spezifischen Analyten und der Matrix, möglich
-	Nachteilig ist, dass die Probe bei jeder Messung vollständig verbraucht wird – Wiederholungsmessungen sind nicht möglich
-	Flüssige Proben können nicht analysiert werden

2.3.4 Headspace Analyse – HS

Die Headspace Probenahme ist eine spezifische Methode der Probenvorbereitung und eine Aufreinigungstechnik welche parallel zur Gaschromatographie gewachsen ist. Die Technik wird auf dem Gebiet der Aroma- und Duftstoffe seit Ende der 1950er Jahre angewandt. Die erste Beschreibung dieser Sampling-Methode erfolgte 1939 durch Harger. Er wandte diese Methode zur schnellen Bestimmung von Alkohol in Wasser und Körperflüssigkeiten an. Im Jahr 1958 wurde erstmals in einer Studie die HS-Technik mit der GC Analyse kombiniert [Bicchi et al., 2012].

2.3.4.1 Prinzip der Headspace-Analyse

Die Headspace-Dosierung ist eine Probenahmetechnik für die GC-Analyse von leichtflüchtigen Verbindungen in flüssigen oder festen Proben, d.h. in einer nicht oder wenig flüchtigen bzw. heterogen zusammengesetzten Matrix [Kolb, 2006]. Dazu wird eine flüssige oder feste Probe in einem dicht verschlossenen HS-Probengefäß einige Zeit bei höherer, konstanter Temperatur thermostatisiert. Die Thermostatisierung erfolgt, bis sich ein Gleichgewicht der flüchtigen Probenanteile zwischen Matrix und Gasvolumen über der Probe (Dampf Kopfraum) eingestellt hat. Der Verteilungskoeffizient wird u.a. durch die Temperatur und die Zugabe von Salzen beeinflusst. Nach Einstellung des Phasengleichgewichts wird dem Kopfraum ein Gasvolumen entnommen und auf die GC-Säule überführt [Kolb, 2006]. Die Probenaufgabe erfolgt mit Hilfe eines pneumatischen Dosiersystems entweder nach dem Prinzip der Gleichdruckdosierung oder der Konstantdruckdosierung. Dazu wird ein aliquotes Volumen aus der Gasphase (Kopf- oder Dampfraum) entnommen und in die GC-Säule überführt. Die erhaltene Peakfläche A_i ist der Analytmenge in der Gasphase proportional [Kolb, 2006].

2.3.4.2 Applikation der Headspace-Analyse

Nachfolgend sind einige typische Applikationen für die Headspace-Analyse zusammengestellt.

Tabelle 28: Einsatzmöglichkeiten der Headspace-Analyse [Kolb, 2003]

Headspace-Analyse – Anwendung	
-	Restlösemittel in Lebensmitteln, Pharmaka, Verpackungsmaterialien
-	Monomere in Polymeren
-	Wasserbestimmung als Alternative zur Karl-Fischer-Titration
-	Aromaanalyse von Lebensmitteln und Getränken
-	Flüchtige Schadstoffe (LHKW und BETX) in Luft, Wasser und Boden
-	Arbeitsplatzüberwachung (MAK-Werte)
-	Fungizide in Lebensmitteln
-	Forensische Bestimmungen von Carboxyhämoglobin
-	Blutalkoholanalyse
-	Bestimmung von physikochemischen Daten: Dampfdrücke, Verteilungskoeffizienten, Aktivitätskoeffizienten, Mischungsenergien, Reaktionskinetik

2.3.4.3 Beurteilung der Headspace-Analyse

Im Allgemeinen bietet die Headspace-Analyse viele **Vorteile** für den Anwender. Die Probenvorbereitung gestaltet sich einfach, schnell und ohne Risiko undefinierte Mengen der Zielkomponenten zu verlieren. Die HS-Analyse ermöglicht eine lösungsmittelfreie Extraktion flüchtiger Komponenten aus flüssigen und festen Proben. Es werden nur die flüchtigen Komponenten extrahiert, ohne Matrixbestandteile wie z.B. Salze. Die Proben sind variabel bis 210°C thermostatisierbar, was den Einsatzbereich auf mittelflüchtige Stoffe erweitert hat [Helms und Felix, 2004]. Für die HS-Analyse ist nur eine geringe Probenmenge erforderlich. Es werden keine Artefakte gebildet und bei richtiger Anwendung keine Verunreinigungen eingeführt. **Nachteilig** ist, dass die relative Konzentration der Komponenten im Kopfraum nicht die Konzentration in der Probe widerspiegelt, aufgrund der unterschiedlichen Flüchtigkeit der Aromakomponenten. Das Aromaprofil ist zudem abhängig von der Temperatur der Probe [Da Costa und Eri, 2005].

2.3.5 Festphasenmikroextraktion – SPME

2.3.5.1 Prinzip der Festphasenmikroextraktion

Die Festphasenmikroextraktion (SPME) ist eine lösungsmittelfreie Extraktion für Verbindungen aus gasförmigen, flüssigen und festen Proben. In der SPME-Technik wird eine Kieselglas-Faser (1 – 2 cm Länge) verwendet, die außen mit einem Polymerfilm beschichtet ist, um die flüchtigen Komponenten aus der Probe anzureichern. Dafür steht eine Auswahl an polaren, unpolaren und gemischten Fasern zur Verfügung [Da Costa und Eri, 2005].

Im ersten Schritt erfolgt die Adsorption der Analyten aus der wässrigen Phase oder Gasphase an der beschichteten Adsorbens-Faser geeigneter Polarität. Im Unterschied zur Festphasenextraktion werden die Analyten nicht vollständig aus der Probe extrahiert. Es stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht zwischen den in der Probe bzw. im Gasraum über der Probe befindlichen und an der stationären Polymerphase adsorbierten Analytmolekülen ein. Für eine Analyse wird die SPME-Faser entweder direkt der Probe („Direct Immersion“) oder dem Gasraum über der Probe (Headspace) ausgesetzt. Es findet eine der Konzentration der

Analyten proportionale Beladung statt, die wiederum temperatur- und zeitabhängig ist [Meisch et al., 2003].

2.3.5.2 Applikation der Festphasenmikroextraktion

Die Anwendungsmöglichkeiten der SPME sind sehr vielfältig. Folgende Einsatzmöglichkeiten werden beschrieben:

Tabelle 29: Einsatzmöglichkeiten der SPME-Analyse [Pawliszyn, 1999]

SPME-Analyse – Anwendung	
-	Umweltanalytik z.B. Luftproben, Rückstandsanalytik von Wasserproben, Abwasserproben
-	Toxikologische Analysen z.B. Nachweis von Umweltschadstoffen, Industrieschadstoffen
-	Medizinische Analysen z.B. Nachweis von Drogen, Medikamenten in biologischen Matrices
-	Lebensmittelanalytik z.B. Bestimmung flüchtiger Aromastoffe und Kontaminanten

2.3.5.3 Beurteilung der Festphasenmikroextraktion

Die **Vorteile** der Festphasenmikroextraktion liegen neben der Einfachheit der Methodik, in dem lösungsmittelfreien Arbeiten und in der Zeiteffizienz. Die SPME benötigt nur wenige Arbeitsschritte und einen geringen Zeitbedarf pro Analyse. Für die Analyse werden geringe Probenvolumina benötigt. Die Matrixeinflüsse sind geringer als bei anderen Extraktionsverfahren und das Verfahren ist automatisierbar [Meisch et al., 2003]. Die Festphasenmikroextraktion ist eine gute Technik für den schnellen Probenvergleich oder die Identifizierung von Fehlgerüchen in einer Probe. **Nachteilig** ist, dass das Aromaprofil der angereicherten flüchtigen Verbindungen abhängig ist vom Typ, der Dicke und Länge der verwendeten Faser sowie von der Adsorptionszeit und der Temperatur [Da Costa und Eri, 2005].

2.3.6 Stir Bar Sortive Extraction – SBSE

2.3.6.1 Prinzip der Stir Bar Sorptive Extraction

Das Verfahren der „Stir Bar Sorptive Extraction“ basiert auf der Verwendung eines mit Sorbens beschichteten Magnetrührstäbchens (Twister), welches die wässrige Probe durchmischt und gleichzeitig die hydrophoben Inhaltsstoffe extrahiert. Diese reichern sich an der Sorbensschicht aus Polydimethylsiloxan (PDMS) an. Für den Anreicherungsschritt verbleibt der Twister für einen Zeitraum von 30 bis 240 Minuten in der Probenlösung. Die Desorption der organischen Komponenten vom Twister kann entweder durch ein organisches Lösungsmittel oder mit Hilfe eines Thermodesorbers in Verbindung mit einem GC erfolgen [Dean, 2009].

2.3.6.2 Applikation der Stir Bar Sorptive Extraction

Die Technik der SBSE eignet sich für die Extraktion und Analyse von organischen Bestandteilen in wässrigen Matrices [Hoffman und Bremer, 2000].

Tabelle 30: Einsatzmöglichkeiten der Stir Bar Sortive Extraction [Hoffman und Bremer, 2000]

SBSE-Analyse - Anwendung	
-	Qualitätskontrolle von Lebensmitteln und Geschmacksstoffen
-	Spurenanalyse von Umwelt-, Lebensmittel- und biomedizinischen Proben

In der Lebensmittelanalytik kommt die SBSE beispielsweise bei der Analyse von flüchtigen Verbindungen in Wein [Weldegergis und Crouch, 2008], bei der Analyse von Terpenen in Bier [Kishimoto et al., 2005] und bei der Bestimmung von Östrogenen in Schweine- und Hühnerfleisch [Hu et al., 2012] zum Einsatz.

2.3.6.3 Beurteilung der Stir Bar Sorptive Extraction

Vorteile: Im Vergleich zur SPME kommen bei der Stir Bar Sorptive Extraction größere Volumina an Extraktionsmittel (50 – 200 µl) zum Einsatz. Diese höheren Volumen führen zu einem günstigeren Phasenverhältnis und einer größeren Extraktionsausbeute. Die Analyten werden im PDMS Material stärker angereichert, was zu einer 200 – 2000 x besseren Empfindlichkeit führt. Eine Split-Injektion ist möglich [Engewald und Efer, 2009]. Generell erleichtert dieses Verfahren die Spurenanalyse von wässrigen Proben und ist einfach zu hand-

haben, robust, präzise und empfindlich **Nachteil:** Die SBSE benötigt mit bis zu 240 Minuten eine relativ lange Extraktionszeit [Hoffmann et al., 2000].

2.4 Headspace-Trap-Analyse – HS-Trap

2.4.1 Funktionsprinzip der Headspace Trap Technik

Die Headspace-Technik wird in der Headspace-Trap-Technik durch einen optionalen Anreicherungsschritt ergänzt. Das Prinzip des Headspace-Trap-Dosierverfahrens ist in den nachfolgenden Abbildungen 11 – 13 dargestellt. Nach der Thermostatisierung der Probe erfolgt der Druckaufbau im Probenvial. Dann wird durch Entspannung des Überdrucks aus dem Vial der Trap beladen. Dabei werden die Komponenten im Dampfraum über der Probe auf einem Adsorbens – der Trap – bei einer vorgewählten Temperatur angereichert. Durch mehrmalige Wiederholung des Anreicherungsschrittes kann eine deutliche Empfindlichkeitssteigerung erreicht werden. Wird eine weitere Anreicherung durchgeführt, erfolgt ein erneuter Druckaufbau und eine wiederholte Beladung der Trap [Helms und Felix 2004; Trinkl, 2007]. Die mögliche Anzahl der optionalen Anreicherungsschritte ist vom Gerätehersteller abhängig.

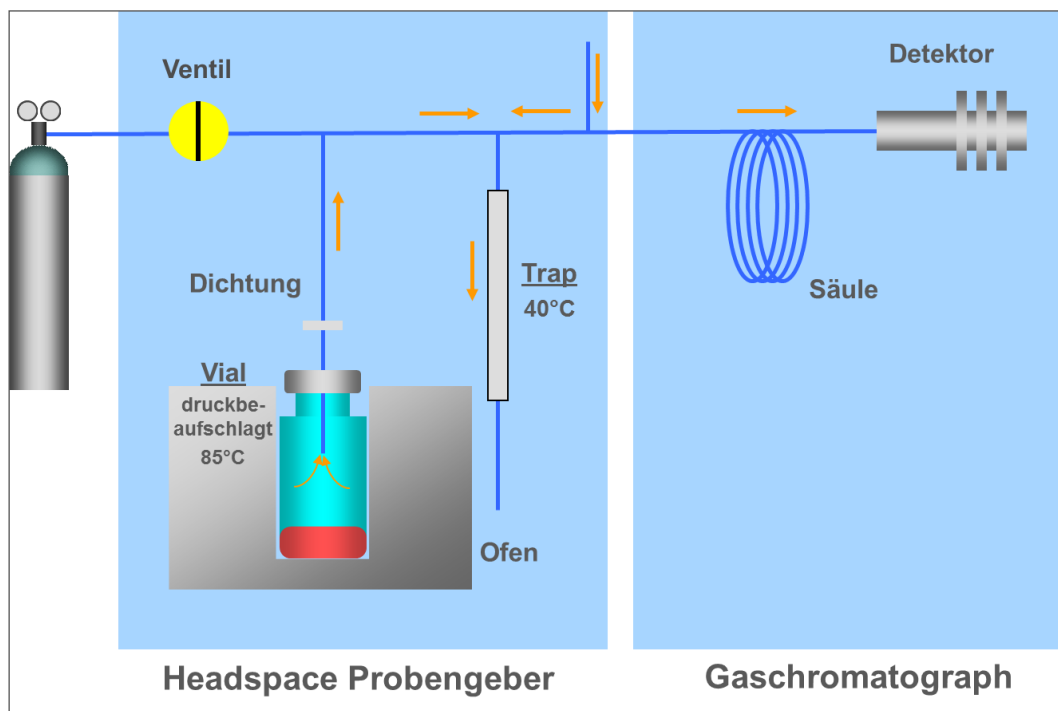


Abbildung 11: Beladung der Trap durch Entspannung des Überdruckes aus dem Probenvial [Trinkl, 2007]

Die Analyse störendes Wasser wird durch einen optionalen Trockenschritt abgetrennt. Das Trocknen der Trap erfolgt mit Trägergas (Abbildung 12).

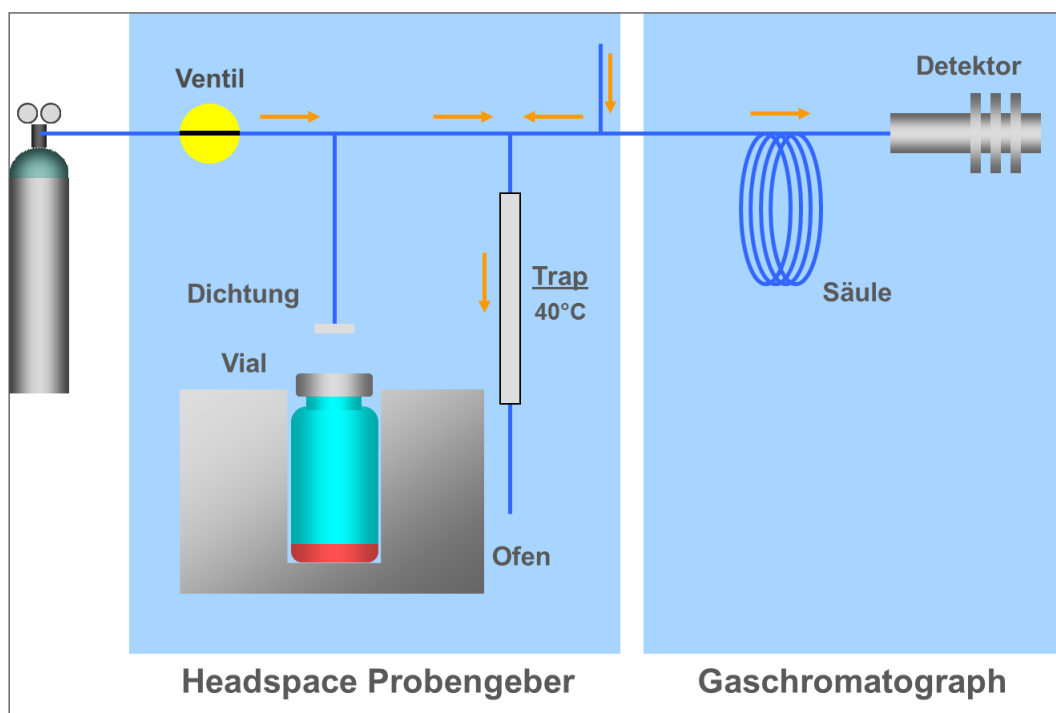


Abbildung 12: Trocknen der Trap mit Trägergas - DryPurge [Trinkl, 2007]

Die aufkonzentrierten Komponenten werden thermisch von der Trap desorbiert und in den GC injiziert.

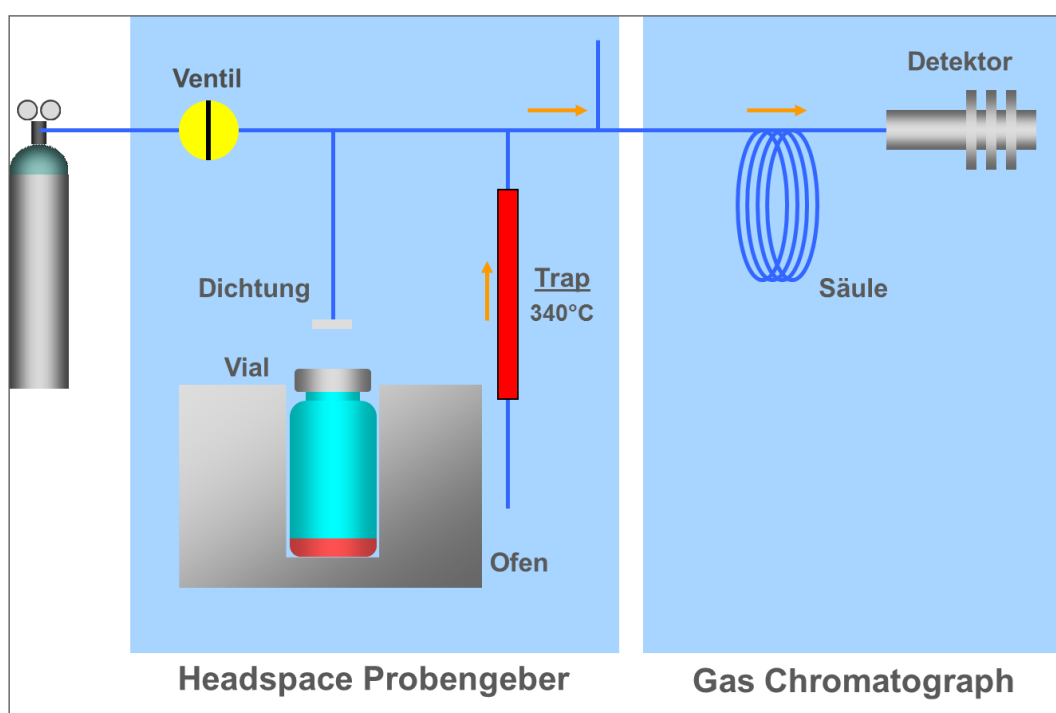


Abbildung 13: Thermodesorption der Analyten von der Trap und Injektion in den GC [Trinkl, 2007]

Durch mehrfachen Druckaufbau und Beladung der Trap kann praktisch eine vollständige Extraktion der Komponenten aus dem Dampfraum durchgeführt werden [Helms und Felix, 2004].

Die ersten Anwendungen der Headspace-Trap-Technik umfassten die Analyse von Luftschadstoffen [Griffith et al., 2004] und die Bestimmung von umweltrelevanten flüchtigen organischen Komponenten [Grecsek, 2005]. Eine weitere Anwendung der Headspace-Trap-Technik entwickelte Barani et al. (2006) mit der Bestimmung von halogenierten und aromatischen flüchtigen organischen Verbindungen in Grundwasser, Mineralwasser und Trinkwasser in einem Konzentrationsbereich von 1 – 10000 ng/l. Von Schulz et al. (2007a) wurde die Bestimmung flüchtiger Begleitstoffe in alkoholischen Getränken mittels HS-Trap-Technik durchgeführt. Des Weiteren führte Schulz et al. (2007b) die Bestimmung von Aromastoffen aus alkoholischen Getränken in gespikten Blutproben mit Hilfe der HS-Trap-GC-MS Analyse durch. Ferner wurde mit Hilfe der Headspace-Trap GC-/MS Analyse Schwefellost in verschiedenen natürlichen Wässern und in Bodenproben nachgewiesen [Røen et al., 2010a, 2010b]. Nikfardjam und Maier (2011) entwickelten eine HS-Trap-GC-MS Methode zur Analyse von Aromastoffen in Apfelsaft. Analysiert wurden 26 Aromastoffe in 85 Apfelsaftproben.

2.4.2 Eigenschaften und Vorteile der Headspace Trap Analyse

Die HS-Trap Analyse erweitert den Anwendungsbereich der statischen HS-Analyse mit zusätzlichen Vorteilen. Die Auswahl des Trap-Adsorbensmaterials erlaubt eine optimale Anreicherung bestimmter Substanzen oder Substanzklassen. Mit Trap-Anreicherung können signifikant größere Extraktionsausbeuten erzielt werden. Die optionalen Anreicherungsschritte bewirken eine Absenkung der Bestimmungsgrenzen, so dass Analyten die in sehr geringen Konzentrationen vorkommen auch noch nachgewiesen werden können [Schulz et al., 2007a]. Ein großer Vorteil dieser Methode gegenüber der SPME besteht darin, dass das Headspace-System mit und ohne Trap-Anreicherung benutzt werden kann, was zu einem großen linearen Arbeitsbereich führt [Schulz et al., 2007a]. Die Bestimmung von flüchtigen organischen Komponenten mittels Headspace Trap Analyse zeichnet sich durch eine gute Wiederholpräzision und im Gegensatz zur

klassischen HS-Technik durch eine Verbesserung der Nachweisgrenzen aus [Barani et al., 2006; Marotta und Tipler, 2011].

2.5 GC-/MS Kopplung

Die Kombination Gaschromatograph mit Massenspektrometer geht bis ins Jahr 1957 zurück und wurde zuerst mit einfachfokussierenden Magnetsektorfeld-Geräten durchgeführt. Die GC-/MS Kopplung wird mittlerweile routinemäßig sowohl für Stoffidentifizierungen als auch für die quantitative Analyse eingesetzt. Die Massenspektrometrie passt wegen ihrer hohen Empfindlichkeit und der schnellen Registriergeschwindigkeit besonders gut zu den schnellen Abläufen der Gaschromatographie [Kolb, 2003].

2.5.1 Funktionsweise eines GC-/MS-Systems

Das Eluat wird von der GC-Säule über eine beheizte Transferleitung direkt in die Ionenquelle geleitet. Die Ionisierung erfolgt meist durch Elektronenstoß bei 70 eV. Dabei treten in der Ionisierungskammer im Hochvakuum aus einem Glühdraht Elektronen (Primärelektronen e_p^-) aus, die im Spannungsfeld (meist 70 eV) der Ionenquelle beschleunigt werden. Durch Kollision mit den Stoffmolekülen wird ein Elektron herausgeschlagen und es entsteht ein Radikalkation $(M\cdot)^+$, auch kurz als Molekülion bezeichnet. Dieses angeschlagene Molekülion zerfällt meist in mehrere neutrale und ionisierte Bruchstücke [Kolb, 2003].

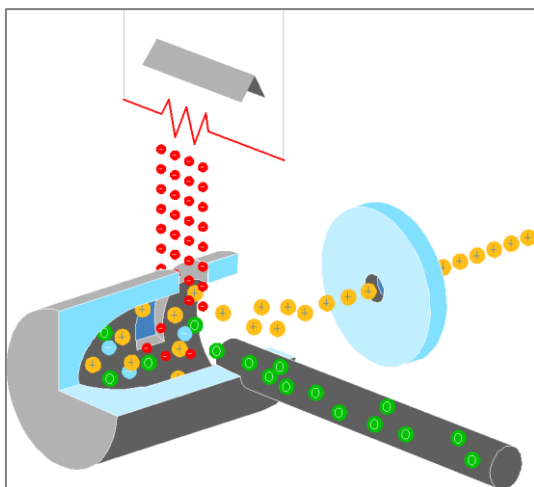


Abbildung 14: Schematische Darstellung der Ionisierung [Trinkl, 2010]

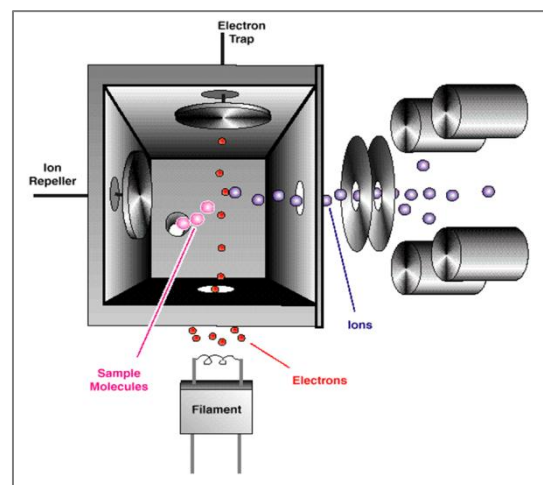


Abbildung 15: Ionisierungskammer [Trinkl, 2010]

Möglich ist auch eine chemische Ionisierung. Dazu wird ein Reaktandgas (Methan, Isobutan, Ammoniak etc.) in die Reaktionskammer im Überschuss eingeführt und ebenfalls durch Elektronenstossionisierung kontinuierlich ionisiert. Der Glühdraht ist außerhalb der Reaktionskammer angeordnet und die Elektronen werden mit 100 – 200 eV beschleunigt [Kolb, 2003]. Die Trennung der Ionen erfolgt nach ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z) in der Gasphase. Als Trennsystem kommen meist Quadrupol (Massenfilter) oder Ion Trap (Ionenfalle) zum Einsatz [Budzikiewicz und Schäfer, 2005].

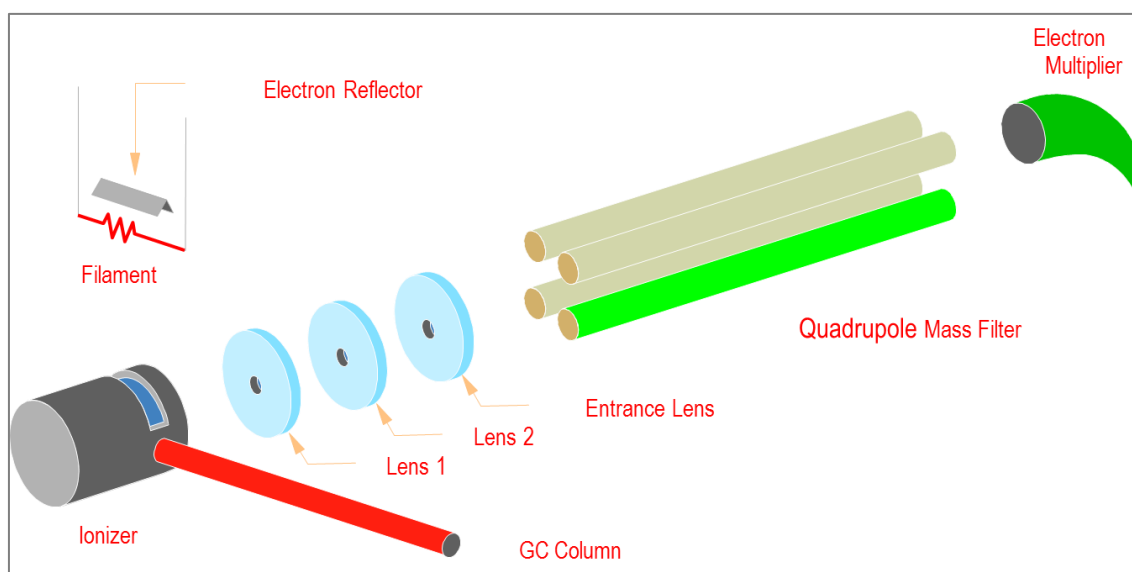


Abbildung 16: Schematischer Aufbau des Quadrupols [Trinkl, 2010]

Durch die hochfrequenten elektrischen Felder gelangen nur Ionen mit bestimmtem m/z -Verhältnis auf stabile Bahnen zum Detektor. Die Aufnahme der Massenspektren erfolgt mit dem Detektor. Durch Änderung der elektrischen Felder werden nacheinander für alle gebildeten Ionen mit unterschiedlichem m/z -Verhältnis stabile Bahnen erhalten. Mögliche Betriebsarten sind der Scan-Modus oder der Selected Ion Monitoring (SIM) – Modus [Budzikiewicz und Schäfer, 2005].

2.5.2 Massenspektrometer als Detektor

2.5.2.1 Massenscan und Totalionenstrom-Chromatogramm

Die Fragmentationen werden in einem vorgegebenen Massenbereich registriert (Massenscan), d. h. aufgetrennt und ergeben das Massenspektrum, das meist in Form eines Strichspektrums aufgezeichnet wird, indem die Intensitäten gegen die

Massenzahl aufgetragen wird. Dabei wird der gewählte Massenbereich mit einer Integrationszeit von ca. 50 – 200 μs pro Messpunkt abgetastet. Durch die Addition der Intensitäten erhält man das sogenannte Totalionenstrom-Chromatogramm (TIC), das alle Verbindungen registriert die ionisiert werden. Die gespeicherten Massenspektren stehen zur Interpretation oder zum Vergleich mit Spektrenbibliotheken zur Verfügung. Vollständige Massenspektren im Massenscan-Modus werden daher hauptsächlich für die Identifizierung, auch unbekannter Stoffe, eingesetzt [Kolb, 2003].

2.5.2.2 Selektive Ionenregistrierung

Anstelle der Registrierung eines vollständigen Massenspektrums, bei dem ein großer, aber oft weitgehend leerer Massenbereich durchlaufen wird, werden nur einzelne, für den Stoff signifikante, Ionen ausgewählt, d.h. das Massenspektrometer springt von Masse zu Masse. Diese Vorgehensweise erlaubt eine längere Messzeit pro Ion und ergibt dadurch eine Verbesserung der Nachweisgrenze um den Faktor 10 – 100. Im Chromatogramm werden nur die Verbindungen registriert, deren Massenspektren die eingestellten m/z -Werte aufweisen. Die Hauptanwendung der SIM-Technik ist daher der empfindliche Nachweis und die quantitative Messung ausgewählter Stoffe in der Probe [Kolb, 2003].

2.5.3 Anwendungsmöglichkeiten der GC-MS Kopplung

Eine mittlerweile häufige Anwendungsform ist die multidimensionale Gaschromatographie in Kombination mit der „Time-of-Flight Mass Spectrometry“ (GCxGC-TOFMS). Die Flugzeitmassenspektrometer zeichnen sich durch einen theoretisch unbegrenzten Massenbereich aus [Budzikiewicz und Schäfer, 2005]. Sie erweist sich als effizient für die Trennung komplexer Stoffgemische. Als Anwendungsbeispiele für TOFMS können die Analysen flüchtiger Aromastoffe in Hopfen, Würze und Bier aufgeführt werden [Van Opstaele et al., 2012; Eyres et al., 2007; Inui et al., 2013; Baert et al., 2012; De Schutter et al., 2008].

3 Material und Methoden

3.1 Geräte

Die nachfolgenden Instrumente wurden für die Probenvorbereitung und für die Analyse der Aromastoffe in Hopfen und Bier verwendet:

Tabelle 31: Übersicht der verwendeten Geräte

Gerät	Herstellerfirma
Waage	Fa. Satorius AG
Analysenwaage	Fa. Denver Instrument
Ultraschallbad, temperierbar (Sonorex digitec)	Fa. Bandelin
Mixer (Speedy pro, Typ 720)	Fa. Krups
Gefrierschrank	Fa. Liebherr
Destillationsapparatur	Fa. Merck und Fa. Büchi
Magnetrührer (MR 2002)	Fa. Heidolph
Heizmantel	Fa. Heraeus-Wittmann
Split-/Splitless-Injektor	Fa. Thermo
Headspace Sampler (PE Turbo Matrix HS-40 Trap sampler)	Fa. Perkin Elmar
Säule: DB 5ms (60m x 0,25mm x 0,25 µm)	Fa. Thermo
Gaschromatograph (Thermo Trace GC Ultra)	Fa. Thermo
Massenspektrometer (DSQ II)	Fa. Thermo

3.2 Hopfen und Hopfenprodukte

Für die Versuche wurden 38 verschiedene Sorten kommerzieller Hopfenproben verwendet. Die Hopfenproben entstammen alle dem Erntejahr 2008 und wurden von zwei deutschen hopfenverarbeitenden Firmen zur Verfügung gestellt. Die siebenzig Proben, davon 36 Hopfenpellets und 34 Doldenhopfen, wurden bis zur Analyse luftdicht, dunkel und bei -24°C tiefgekühlt gelagert.

3.2.1 Analyisierte Aromahopfensorten

Nachfolgend aufgeführte Aromahopfensorten wurden für die Analysen verwendet:

Tabelle 32: Übersicht der analysierten Aromahopfensorten [Aberl und Coelhan, 2012]

Sorte	Abk.	Herkunft	N
			Proben
Aurora	SI-AU	Slowenien	1
Bobek	SI-BO	Slowenien	2
Golding	SI-GO	Slowenien	1
Hallertauer Mittelfrüher	HHA	Hallertau / Deutschland	2
	THA	Tettnang / Deutschland	1
Hallertauer Tradition	FR-HT	Frankreich	1
	THT	Tettnang / Deutschland	1
	EHT	Elbe-Saale / Deutschland	1
	HHT	Hallertau / Deutschland	3
Lublin	PL-LU	Polen	2
Opal	HOL	Hallertau / Deutschland	1
Perle	HPE	Hallertau / Deutschland	7
	TPE	Tettnang / Deutschland	1
	EPE	Elbe-Saale / Deutschland	2
Saazer	CZ-SA	Tschechien	2
	SK-SA	Slowakei	1
Saphir	HSR	Hallertau / Deutschland	2
Smaragd	HSC	Hallertau / Deutschland	1
Spalter	SSP	Spalt / Deutschland	1
	FR-ST	Frankreich	1
Spalter Select	HSE	Hallertau / Deutschland	2
	SSE	Spalt / Deutschland	3
Tettnanger	TTE	Tettnang / Deutschland	5

3.2.2 Analyisierte Bitterhopfensorten

Nachfolgend aufgeführte Bitterhopfensorten wurden für die Analysen verwendet:

Tabelle 33: Übersicht der analysierten Bitterhopfensorten [Aberl und Coelhan, 2012]

Sorte	Abk.	Herkunft	N
			Proben
Columbus	US-CO	United States of America	1
Hallertauer Magnum	HHM	Hallertau / Deutschland	8
	EHM	Elbe-Saale / Deutschland	2
Hallertauer Merkur	HMR	Hallertau / Deutschland	2
	EMR	Elbe-Saale / Deutschland	1
Hallertauer Herkules	HHS	Hallertau / Deutschland	2
	EHS	Elbe-Saale / Deutschland	1
Hallertauer Taurus	HTU	Hallertau / Deutschland	1
	ETU	Elbe-Saale / Deutschland	1
Marco Polo	CMP	China	1
Northern Brewer	HNB	Hallertau / Deutschland	1
	ENB	Elbe-Saale / Deutschland	1
Nugget	HNU	Hallertau / Deutschland	1
	ENU	Elbe-Saale / Deutschland	1
Target	ETA	Elbe-Saale / Deutschland	1
Zeus	US-ZS	United States of America	1

3.3 Bierproben

Im Rahmen der Bieranalyse mittels HS-Trap-GC-MS wurden insgesamt 161 verschiedene Proben untergäriger und obergäriger Biere hinsichtlich ihrer Aromastoffzusammensetzung untersucht. Bei den Proben handelte es sich um 108 unterschiedliche Biere, die in nachfolgenden Tabellen 34 – 37 aufgelistet werden. Die Biere sind größtenteils Analysenproben des Forschungszentrums Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität. Ein Teil der Bierproben wurde im Getränkemarkt erworben. Die Analysen wurden jeweils in einer Doppelbestimmung ausgeführt und die Ergebnisse gemittelt.

3.3.1 Analyisierte Pilsener Biere

Bei den Pilsener Bieren wurden 47 verschiedene Proben hinsichtlich ihrer Aromastoffzusammensetzung untersucht. Bei den Bieren „Beck’s“, „Bitburger“, „Holsten“, „Jever“, „Pilsner Urquell“, „Radeberger“ und „Warsteiner“ wurde zudem ein Chargenvergleich durchgeführt. Dazu wurden jeweils drei aufeinander folgende Chargen miteinander verglichen.

Tabelle 34 : Übersicht der analysierten untergärigen Biere der Sorte „Pilsener“

Nr.	Sorte / Bezeichnung	Anzahl verschiedene Chargen
1.	Alpirsbacher Klosterbräu, Pils	1
2.	Auerhahn Pils	1
3.	Bayerisch Zunfttherrn Pils	1
4.	Beck’s Pils	3
5.	Bergadler Premium Pils	1
6.	Bitburger Premium Pils	3
7.	Ecco Pils (Schlossbrauerei Au-Hallertau)	1
8.	Flensburger Pilsener	1
9.	Friedenfelser Pils	1
10.	Goldstadt Pils (Brauhaus Pforzheim)	1
11.	Graf Ignaz Premium Pilsner	1
12.	Grieskirchner Pils	1
13.	Hasseröder Premium Pils	1
14.	Heidelberger Premium Pils	1
15.	Holsten Pilsener Premium	3
16.	Jever Pilsener	3
17.	Kirner Pils	1
18.	König Pilsner	1
19.	Krombacher Pils	1
20.	Kulmbacher Edelherb Pils	1
21.	Lauterbacher Pils	1
22.	Memminger Premium Pils	1
23.	Öttinger Pils	1
24.	Paulaner Premium Pils	1
25.	Pilsner Urquell	3
26.	Radeberger Premium Pils	3
27.	Sternburg Pilsener	1
28.	Sternquell Pils	1
29.	Tannen Zäpfle Pils (Brauerei Rothaus)	1
30.	Tegernseer Pils (Herzogliches Brauhaus)	1
31.	Veltins Pilsner	1
32.	Warsteiner Premium Verum	3
33.	Weihenstephan Pilsner	1

3.3.2 Analysierte Helle Biere

In der nachfolgenden Tabelle 35 sind alle untersuchten Hellen-Biere aufgelistet. Insgesamt wurden 51 Helle-Biere analysiert, davon stammen 35 von verschiedenen Brauereien. Zum Chargenvergleich wurden von den Hellen-Bieren „Augustiner Lager Hell“, „Hacker Pschorr“, „Öttinger“, „Paulaner“, „Spaten“, „Tyskie“ und „Weihenstephan Original“ jeweils mindestens drei aufeinander folgende Chargen hinsichtlich ihrer Aromastoffzusammensetzung untersucht.

Tabelle 35: Übersicht der analysierten untergärigen Biere der Sorten „Hell“ und „Hell- Export“

Nr.	Sorte / Bezeichnung	Anzahl verschiedene Chargen
1.	Aktien Landbier, Hell	1
2.	Aktien Zwick, Kellerbier	1
3.	Altenmünster Brauerbier	1
4.	Augustiner Edelstoff	1
5.	Augustiner Lager Hell	3
6.	Budvar, Budweiser	1
7.	Falkenfelser Premium Hell	1
8.	Forst Kronen Spezial	2
9.	Friedenfelser Urtyp Hell	1
10.	Grafensteiner Hell	1
11.	Hacker Pschorr, Hell	3
12.	Haller Löwenbräu, Meistergold Spezial	1
13.	Herrnbräu, Helles Vollbier	1
14.	Herzogliches Brauhaus, Tegernseer Hell	1
15.	Hey Lands	1
16.	Hofbräuhaus Freising, Urhell	1
17.	Irseer Klosterbräu, Kloster Urtrunk	1
18.	Kaltenberg, Hell	1
19.	Kapplerbräu Altomünster, Export Hell	1
20.	Klosterbrauerei Andechs, Hell	1
21.	König Ludwig, Hell	1
22.	Löwenbräu Urtyp	1
23.	Memminger Gold, Export	1
24.	Öttinger	3
25.	Paulaner,	3
26.	Riegeler, Landbier	1
27.	Rother Bräu,	1
28.	Schinner Urstoff	1
29.	Schützengarten, Lager Hell	1
30.	Sonnenbräu, Lager Hell	1
31.	Spaten,	3
32.	Tyskie, Premium Lager	3
33.	Ustersbacher, Urhell	1
34.	Weihenstephan Original	4
35.	Wildbräu Meistersud Spezialbier	1

3.3.3 Analysierte Hefeweizenbiere

Insgesamt wurden 47 Proben von Hefeweizenbieren mittels HS-Trap-GC-MS-Analyse untersucht. Davon stammen 29 Proben von verschiedenen Brauereien. Für die Weizenbiere der Sorten „Erdinger Urweisse“, „Erdinger Weissbier“, „Franziskaner Weissbier, Hell“, „Franziskaner Weissbier, Dunkel“, „Hopf, Helle Weisse“, „Huber Weisses Original“, „Kapuziner Weissbier“ und „Paulaner Weissbier“ wurden zum Chargenvergleich jeweils mindestens drei aufeinander folgende Produktionschargen untersucht.

Tabelle 36 : Übersicht der analysierten obergärigen Biere der Sorte „Hefeweizenbier“

Nr.	Sorte / Bezeichnung	Anzahl verschiedene Chargen
1.	Aldersbacher Kloster Weissbier	1
2.	Edelweiss Weissbier	1
3.	Erdinger Urweisse	3
4.	Erdinger Weissbier	3
5.	Franziskaner Weissbier, Hell	4
6.	Franziskaner Weissbier, Dunkel	3
7.	Fürstenberg Weizen	1
8.	Hacker Pschorr, Sternweisse	1
9.	Holledauer, Weisses	1
10.	Hopf, Helle Weisse	3
11.	Hopf, Dunkle Weisse	1
12.	Hopfenkönig, Hefe Weizen	1
13.	Huber Weisses Fresh, (Hofbräuhaus Freising)	1
14.	Huber Weisses Original (Hofbräuhaus Freising)	4
15.	Kapuziner Weissbier	3
16.	Kirner Weizen	1
17.	Klosterbrauerei Andechs, Weissbier	1
18.	Löwenbräu Hefe-Weissbier	1
19.	Maisel Hefe-Weissbier	1
20.	Müllerbräu Weisse	1
21.	Öttinger, Dunkles Hefeweizen	1
22.	Paulaner Weissbier	3
23.	Riedenburger Brauhaus, Hefeweissbier Dunkel	1
24.	Rother Bräu Öko Urweizen	1
25.	Rotochsen Brauerei, Hefe Weizen	1
26.	Schinner, Edel Weisse	1
27.	Schlossbrauerei Grünbach, Weissbier	1
28.	Unertl Weissbier	1
29.	Weihenstephan, Hefe-Weissbier	1

3.3.4 Analysierte Dunkle Biere

Bei den Dunklen Bieren und Märzenbieren wurden insgesamt 16 verschiedene Proben hinsichtlich ihrer Aromastoffzusammensetzung untersucht. Davon stammen 11 Proben aus verschiedenen Brauereien. Für die Biere „König Ludwig, Dunkel“ und „Weltenburger Kloster, Dunkel“ wurde jeweils ein Chargenvergleich durchgeführt.

Tabelle 37: Übersicht analysierter untergäriger Biere der Sorte „Dunkel“ und „Märzen“

Nr.	Sorte / Bezeichnung	Anzahl verschiedene Chargen
1.	Augustiner Bräu, Dunkel	1
2.	Aktien Landbier, Dunkel	1
3.	Brauerei Maisach, Export Dunkel	1
4.	Egger, Märzen	1
5.	Friedenfelser, Edel Märzen	1
6.	Klosterbrauerei Andechs, Dunkel	1
7.	König Ludwig, Dunkel	4
8.	Paulaner, Dunkel	1
9.	Paulaner Salvator, Märzen	1
10.	Riegeler Neun Linden, Märzen	1
11.	Weltenburger Kloster, Dunkel	3

3.4 Chemikalien und Gase

3.4.1 Chemikalien und Lösemittel

Soweit erhältlich wurden alle Reagenzien und Lösungsmittel im Reinheitsgrad „zur Analyse“ verwendet. Die folgenden Substanzen (Tabelle 38) für die Hopfen- und Bieranalyse wurden von der Firma Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Deutschland) bezogen. Alle Standards wurden aus den angegebenen Reinsubstanzen hergestellt. Die Standards wurden tiefgekühlt bei -24°C aufbewahrt.

Die Lösemittel Tetrahydrofuran (THF) und Ethanol wurden von der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) bezogen. Myrcen wurde in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Ethanol im Verhältnis 2:1 (Vol.) gelöst. Alle anderen Substanzen wurden in Ethanol gelöst.

Tabelle 38: Reinsubstanzen für die Hopfen- und Bieranalyse

α -Pinen (98%)	β -Pinen (99%)
Myrcen ($\geq 95\%$)	Limonen (97%)
β -Caryophyllen ($\geq 98,5\%$)	α -Humulen ($\geq 96\%$)
R-(-)-Linalool (97%)	Isobutylisobutyrat ($\geq 97\%$)
Hexansäuremethylester (99%)	Heptansäuremethylester ($\geq 99\%$)
Octansäuremethylester ($\geq 99\%$)	Nonansäuremethylester ($\geq 97\%$)
Decansäuremethylester (99%)	2-Nonanon ($\geq 99\%$)
2-Decanon ($\geq 98\%$)	2-Undecanon ($\geq 98\%$)
2-Dodecanon ($\geq 97\%$)	2-Tridecanon ($\geq 97\%$)
Damascenon ($\geq 90\%$)	Caryophyllenoxid ($\geq 99\%$)
2-Methyl-propanol-1 ($\geq 99,5\%$)	3-Methyl-butanol-1 ($\geq 99\%$)
1-Hexanol ($\geq 99\%$)	1-Heptanol ($\geq 98\%$)
1-Octanol ($\geq 99\%$)	2-Phenylethanol ($\geq 99\%$)
Furfurylalkohol (98%)	Essigsäure-Isopentylester ($\geq 97\%$)
Essigsäure-Hexylester ($\geq 98\%$)	Essigsäure-Heptylester ($\geq 98\%$)
Essigsäure-Octylester ($\geq 98\%$)	Essigsäure-Furfurylester ($\geq 98\%$)
Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester ($\geq 98\%$)	Buttersäure-Ethylester ($\geq 98\%$)
Hexansäure-Ethylester ($\geq 98\%$)	Heptansäure-Ethylester ($\geq 96\%$)
Octansäure-Ethylester ($\geq 98\%$)	Nonansäure-Ethylester (97%)
Decansäure-Ethylester ($\geq 98\%$)	Dodecansäure-Ethylester ($\geq 98\%$)
Nicotinsäure-Ethylester (99%)	Phenyllessigsäure-Ethylester ($\geq 98\%$)
Hexansäure (99%)	Octansäure ($\geq 98\%$)
4-Vinylguajakol ($\geq 98\%$)	4-Vinylbenzol ($\geq 99\%$)
γ -Nonalacton ($\geq 98\%$)	

3.4.2 Interne Standards für die Bieranalyse

Bei der Bieranalyse wurde Linalool-D3 als interner Standards für die Quantifizierung von Linalool verwendet. Für alle weiteren Komponenten diente Heptansäuremethylester als interner Standard. Linalool-D3 p.a. wurde von der Fa. Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Deutschland) und Heptansäuremethylester ($\geq 99\%$) von der Firma Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Deutschland) geliefert.

Der interne Standard entspricht dem der offiziellen brautechnischen Analysenmethode der MEBAK zur Bestimmung der wasserdampf-flüchtigen Aromastoffe in Bier (2.23.6). Hierbei wird ebenfalls Heptansäuremethylester als interner Standard verwendet [Jacob, 2012]. Die Verbindung eignet sich als interner Standard, da sie im Bier nicht in nennenswerten Konzentrationen vorkommt und es aufgrund seiner Retentionszeit zu keiner Überlagerung mit anderen Zielanalyten kommt.

3.4.3 Interne Standards für die Hopfenanalyse

Linalool-D3 wurde ebenfalls als interner Standard für die Quantifizierung von Linalool verwendet. Für alle weiteren Komponenten diente n-Nonan als interner Standard. Linalool-D3 p.a. wurde von der Fa. Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Deutschland) und n-Nonan p.a. von der Fa. Merck (Darmstadt, Deutschland) bezogen.

Die Auswahl des internen Standards orientierte sich an der offiziellen brautechnischen Analysenmethode der MEBAK zur Analyse der Hopfenöl-komponenten (1.4) mittels Kapillargaschromatographie [Pfenninger, 1996]. Die hierbei verwendeten internen Standards wurden im Rahmen der Methodenentwicklung getestet. Als interner Standard erwies sich die Verbindung n-Nonan als geeignet. Sie ist üblicherweise im Hopfen nicht vorhanden, so dass ein zufälliges Aufstocken unwahrscheinlich ist. Andererseits kann aufgrund des Siedepunktes das Signal von n-Nonan nicht mit den Analysensignalen der anderen Hopfenaromastoffe interferieren.

Generell ist anzumerken, dass möglicherweise eine weitere Verbesserung der Quantifizierungsergebnisse durch die Anwendung von isoto-penmarkierten internen Standards erreichbar gewesen wäre. Wegen ihrer nahezu gleichen physikalisch-chemischen Eigenschaften erweisen sich die isoto-penmarkierten bzw. deuterierten Substanzen grundsätzlich als optimale interne Standards für die entsprechenden Zielanalyten. Aufgrund mangelnder Verfügbarkeit konnte ein deuterierter Standard nur für den Schlüsselaromastoff Linalool angewendet werden.

3.4.4 Reinstwasser

Reinstwasser wurde aus deionisiertem Wasser mit Hilfe einer TKA Wasser- aufbereitungsanlage hergestellt und in allen Fällen verwendet, wo Wasser höchster Reinheit erforderlich war (TKA water preparation system GmbH, Niederelbert, Deutschland).

3.4.5 Reinstgas

Als Chromatographiegas wurde Helium der Reinheit 5.0 verwendet (Firma Linde AG, Deutschland).

3.5 Methodenentwicklung und –validierung

3.5.1 Entwicklung der HS-Trap-Methode

Als HS Sampler wurde ein Turbo Matrix HS-40 Trap von der Firma PerkinElmer eingesetzt. Für den HS-Trap Probengeber wurden die für die Matrix Hopfenextrakt und Bier optimalen Methodenparameter experimentell ermittelt. Die programmierbaren Bereiche der HS-Trap-Parameter sind in der Tabelle 39 aufgeführt.

Tabelle 39: HS-Trap Sampling Parameter [Grenzwerte: PerkinElmer, 2008]

HS-Trap-Parameter	Erläuterung	Range
Temperaturen		
Ofentemperatur	<i>Temperatur für die Gleichgewichtseinstellung im Vial</i>	35 – 210 °C
Nadel-Temperatur	<i>Temperatur der Edelstahl-Nadel</i>	35 – 210 °C
Transferline-Temperatur	<i>Temperatur der Übertragungsleitung</i>	35 – 210 °C
Trap-Low-Temperatur	<i>Adsorptions-Temperatur</i>	40 – 100 °C
Trap-High-Temperatur	<i>Desorption-Temperatur</i>	280 – 400 °C
Drücke		
Säulendruck	<i>Trägergasdruck des HS-Systems</i>	max. 600 kPa
Vial-Druck	<i>Finaler Zieldruck des Probenfläschchens</i>	max. 600 kPa
Desorptionsdruck	<i>Druck auf die Trap, während der Desorption</i>	max. 600 kPa
Zeiten		
Thermostatisierzeit	<i>Zeit für die Gleichgewichtseinstellung im Vial</i>	mind. 12 min
Druckaufbauzeit	<i>Zeit für die Druckstabilisierung im Vial nach der ersten Druckbeaufschlagung</i>	mind. 1 min
Dosierzeit	<i>Abklingzeit</i>	mind. 0,04 min
Desorptionszeit	<i>Zeit der Analytablösung von der Trap</i>	
GC Zyklus	<i>GC Analysezeit für eine Sequenz</i>	mind. 5 min
Trap-hold-Zeit	<i>Haltezeit für die maximale Trap-Temperatur</i>	mind. 5 min
Dry-purge-Zeit	<i>Trocknungszeit</i>	0,1 – 99 min
Sonstige Parameter		
Trapzyklen	<i>Anzahl der Extraktionen</i>	1 - 4
Split	<i>Injektion ohne Split oder mit Split 10 ml/min</i>	ja / nein
Dry Purge	<i>Trocknung der Trap mit Trägergas</i>	ja / nein
Trap Material	<i>Standard: Tenax GA oder Air Toxics – Material: Quarz</i>	

Durch die HS-Trap-Methode wurden die Temperaturen, Drücke und Zeiten des Probengebers gesteuert. Ferner wurden die Anzahl der Trapzyklen und der Split-Modus festgelegt. Generelle Empfehlungen des Herstellers wurden bei der Entwicklung der HS-Trap-Methode berücksichtigt.

Bei der Auswahl der **Ofen-Thermostatisier-Temperatur** wurde insbesondere auf die thermische Stabilität der Probe achtgegeben. Die Temperatur wurde so gewählt, dass in möglichst kurzer Zeit die Gleichgewichtseinstellung der Probe erreicht wird. Um Kondensation zu vermeiden wurde bei der Methodenentwicklung darauf geachtet, dass die **Nadel-Temperatur** um mindestens 5 – 10°C höher als die Thermostatisier-Temperatur der Probe eingestellt ist. Die Nadel-Temperatur wurde so gewählt, dass das Septum nicht beschädigt wird. Die **Trap-Low-Temperatur** ist die Adsorptions-Temperatur bei der die Beladung der Trap mit den Analyten stattfindet. Aus Gründen der Produktschonung wurde eine relativ niedrige Adsorptions-Temperatur von 40°C gewählt. Die **Trap-High-Temperatur** ist die Desorptions-Temperatur bei der die Komponenten auf der Trap verdampfen und der nachfolgenden Einspritzung auf die Säule zugeführt werden. Um eine möglichst schnelle und vollständige Desorption zu erreichen, sollte die Desorptionstemperatur mindestens einige Grade über dem Siedepunkt der höchstsiedenden Komponente liegen. Die maximale Temperaturbelastbarkeit des Trap-Materials von 400°C darf dabei nicht überschritten werden [PerkinElmer, 2008]. Als Trap-Material wurde „Air toxic“ verwendet. Dieses setzt sich zusammen aus graphitisiertem Kohlenstoff und Kohlenstoffmolekularsieb [PerkinElmer, 2008].

Der **Säulendruck** ist abhängig von der Beschaffenheit der Säule, dem Temperaturprogramm des GC Ofens und den generellen Anforderungen an die Analyse. Der **Vialdruck** wurde so gewählt, dass ein maximales Dampfvolument aus dem Kopfraum auf die Trap übertragen wird mit einer minimalen Anzahl an Trapzyklen. Ein zu hoher Druck würde das System ziemlich extremen Bedingungen aussetzen, welche zu Gaslecks führen könnten. Der **Desorbtdruck** ist der Druck, der auf die Trap während der Desorption der Analyten einwirkt [PerkinElmer, 2008].

Die **Thermostatisier-Zeit** sollte die kürzeste Zeit sein, welche die Probe für die Gleichgewichtseinstellung benötigt. Eine zu lange Thermostatisierung soll vermieden werden, da manche Substanzen empfindlich auf eine ausgedehnte Temperatureinwirkung reagieren. Es wurde festgestellt, dass verlängerte Thermostatisier-Zeiten sich nicht positiv auf die Ausbeute auswirken. Nach der Gleichgewichtseinstellung wird das Vial mit Trägergas druckbeaufschlagt. Die **Druckaufbauzeit** ist die Zeit, bis im Vial ein Druck erreicht ist, der dem Kopfdruck der Probe entspricht. Nach Beendigung der Druckbeaufschlagung wird die Trägergaszufuhr unterbrochen. Die **Dosierzeit**, ist die Zeit in der die Beladung der Trap stattfindet. Nach der Adsorption erfolgt die Desorption der angereicherten Analyten. Die **Desorbtiionszeit** ist die Zeit, während die Analyten von der Trap in die Transferline freigesetzt werden. Sie ist abhängig von der Desorptionstemperatur. Die Desorption der Analyten erfolgte erwartungsgemäß sehr schnell. In Hinblick auf die nachfolgende Analyse wurde bei der Festlegung der Desorptionszeit dennoch darauf geachtet, dass eine gründliche Reinigung der Trap gewährleistet ist. Die **GC-Zyklus-Zeit** ist die minimale Zeit zwischen einer Probeninjektion und der Zeit, bis der GC bereit ist für die nächste Injektion [PerkinElmer, 2008].

Die **Trap-Halte-Zeit** bezeichnet die Zeit solange die Trap auf maximaler Temperatur gehalten wird. Um die Analyten von der Trap zu lösen muss die maximale Temperatur für eine ausreichende Zeit gehalten werden. Die empfohlene Trap-Halte-Zeit ist 5 Minuten. **Dry Purge** bedeutet, dass das überflüssige Wasser auf der Trap mit Hilfe von Helium getrocknet wird. Die benötigte **Dry-Purge-Zeit** hängt von der Thermostatisiertemperatur, dem Probenotyp und der HS-Trap-Zykluszeit ab. Die Anzahl der **Trap-Zyklen** kann zwischen 1 und 4 eingestellt werden. Die Anzahl gibt an wie häufig der Zyklus der Druckbeaufschlagung und Trap Beladung pro Vial durchgeführt wird [PerkinElmer, 2008]. Die Versuche haben gezeigt, dass es bei dieser Methode empfehlenswert ist den Split während des gesamten Desorptionsvorgangs geschlossen zu halten. Dadurch kann die gesamte Menge an Analyten, die auf der Trap adsorbiert wurde, auf die Kapillarsäule gelangen. Dies führt zu einer höheren Empfindlichkeit. Die ermittelten HS-Trap Parameter werden im Ergebnisteil Kapitel 4.1.2 dargestellt.

3.5.2 Entwicklung der GC-Methode

Die Analysen wurden mit einem Thermo Trace Ultra Gaschromatograph, welcher an ein Quadrupol-Massenspektrometer gekoppelt war, durchgeführt.

3.5.2.1 Auswahl der GC-Trennsäule

Für die gaschromatographische Analyse (leicht)flüchtiger organischer Verbindungen können verschiedene GC-Kapillarsäulen verwendet werden. Für die Trennung der Aromastoffe in Hopfen und Bier wurde eine relativ unpolare DB-5MS Kapillarsäule (60 m Länge x 0,25 mm Durchmesser; Filmdicke 0,25 μm) verwendet. Die Säule ist gut geeignet für die Trennung komplexer Gemische, wie sie in den untersuchten Probenmatrizen Bier und Hopfenöl bzw. –extrakt vorkommen. Sie eignet sich für einen hohen Temperaturbereich von -60°C – $325/350^{\circ}\text{C}$ und setzt sich zusammen aus 5% Phenyl- und 95% Dimethyl-Arylsiloxan. Für die chromatographische Trennung wäre auch eine polare HP-InnoWax Säule denkbar gewesen, deren Applikation sich auf Alkohole, freie organische Säuren, Lösungsmittel, essentielle Öle sowie Aromen und Duftstoffe bezieht. Gemäß den Herstellerangaben besitzt die Säule, mit einer Polyethylenglykol-Zusammensetzung, eine breite chemische Kompatibilität und eine hohe Innertheit. Sie ist aber weniger gut geeignet für den MS-Einsatz. Aufgrund der hohen Innertheit und dem geringeren Säulenbluten wurde für diese Hopfen- und Bieranalysen aber die DB-5MS Säule ausgewählt.

3.5.2.2 Vorgehensweise bei der GC-Methodenentwicklung

Als Trägergas wurde Helium verwendet, mit einem konstanten Trägergasfluss von 1,0 ml/min und einem „Säulenkopfdruck“ von 150 Kpa. Die MS-Transferline-Temperatur wurde auf 250°C eingestellt.

Da es sich bei den Aromastoffen in Hopfen und Bier jeweils um ein komplexes Gemisch an Substanzen mit einem großen Siedebereich ($\Delta K_p > 100^{\circ}\text{C}$) handelt, ist es nicht möglich eine einzige optimale Säulentemperatur zu finden. Eine isotherme GC ist damit nicht zur Trennung aller Komponenten geeignet. Die Siedepunkte der untersuchten Hopfenölkompnenten liegen in einem Bereich von 147°C (Isobutylisobutyrat) bis 280°C (Caryophyllenoxid). Bei den untersuchten

Bieraromastoffen weist 2-Methyl-propanol-1 mit 108°C den niedrigsten und Dodecansäure-Ethylester mit 272°C den höchsten Siedepunkt auf [Siedepunkte: www.merck-chemicals.com und www.eusdb.de]. Nachfolgende Tabelle 40 zeigt die angewendete Vorgehensweise bei der Entwicklung der GC-Methode für die Analyse der Aromastoffe in Hopfen und Bier.

Tabelle 40: Vorgehensweise bei der GC-Methodenentwicklung

Schritt		Ablauf der GC-Methodenentwicklung
1	↓	<ul style="list-style-type: none"> • Trägergasgeschwindigkeit / Trägergasfluss festlegen
2	↓	<ul style="list-style-type: none"> • Injektoreinstellungen festlegen <ul style="list-style-type: none"> - Injektor-Temperatur - Injektor-Volumen - Injektion mit Split (Splitverhältnis) oder - Injektion Splitless (Spüldauer)
3	↓	<ul style="list-style-type: none"> • Art der Ofentemperatur festlegen <ul style="list-style-type: none"> - Isotherm - Temperaturprogramm
4	↓	<ul style="list-style-type: none"> • Entwicklung des Temperaturprogramms <ul style="list-style-type: none"> - Einfaches, lineares Temperaturprogramm erstellen - Anfangstemperatur und Haltezeit anpassen - Aufheizrate anpassen - Endtemperatur und Zeit ermitteln

Um eine optimale Auftrennung über den gesamten Bereich zu erreichen, empfiehlt sich hier eine temperaturprogrammierte Arbeitsweise. Mit dem Temperaturprogramm wird die Säulentemperatur während der Trennung stetig erhöht. Dadurch kann für jede Komponente einer homologen Reihe die optimale Trenntemperatur gewährleistet werden. Die Trennung der einzelnen Substanzen erfolgt nach ihren Dampfdruckunterschieden [Kolb, 2003].

Die günstigen Bedingungen wurden experimentell in Testläufen ermittelt. Zunächst erfolgten die Aufstellung eines vorläufigen Temperaturprogramms und die Identifizierung der Zielanalyten, mit Hilfe von Referenzsubstanzen. Nachdem die Retentionsreihenfolge der einzelnen Komponenten bekannt war, konnte das Temperaturprogramm weiter angepasst werden. Die Proben wurden dann mit nachfolgendem GC-Temperaturprogramm analysiert.

Tabelle 41: Temperaturprogramm zur Aromastoffanalyse in Hopfen und Bier

Parameter	Stufe 1	Stufe 2	Stufe 3
Temperatur	45 °C	200 °C	300 °C
Haltezeit	2,0 min	0,0 min	3,0 min
Aufheizrate	5 °C/min	40 °C/min	

Die Dosierung der Probe erfolgt bei einer niedrigen Säulentemperatur von $T_0 = 45^\circ\text{C}$. Dies bewirkt eine gute Auflösung der niedrigsiedenden Komponenten und eine Abtrennung vom Lösungsmittelpeak. Eine isotherme Vorlaufzeit von 2,0 min hat sich als günstig erwiesen. Anschließend erfolgt eine lineare Erhöhung der Säulentemperatur während der chromatographischen Analyse. Es wurde mit einem zweistufigen Temperaturprogramm gearbeitet. Bei einer Säulenlänge von 60 m hat sich in der ersten Stufe eine Aufheizrate von $5^\circ\text{C}/\text{min}$ als optimal erwiesen. In der Stufe 2 wurde eine Aufheizrate von $40^\circ\text{C}/\text{min}$ gewählt. Um eine akzeptable Elution und Auflösung der hochsiedenden Komponenten zu erreichen wurde die Endtemperatur bei 300°C festgelegt. Die isotherme Nachlaufzeit beträgt 3 min.

3.5.2.3 GC-Parameter für die Hopfenölanalyse

Für die Hopfenölanalyse gelten dieselben GC-/MS-Bedingungen wie in Kapitel 3.5.2 und 3.5.3 beschrieben. Das Injektionsvolumen beträgt $1\ \mu\text{l}$, als Aliquot der Hopfenöllösung. Die Injektion erfolgt splitlos mit einer Spüldauer von 0,5 min und einer Injektor-Temperatur von 220°C . Der Trägergasfluss wird konstant auf $1\ \text{ml}/\text{min}$ gehalten.

3.5.3 Entwicklung der MS-Methode – Selected Ion Monitoring

Als GC-Detektor wurde ein DSQ II Quadrupol Massenspektrometer (Fa. Thermo Scientific) verwendet. Für die Detektion der Hopfen- und Bierproben wurde das Massenspektrometer im „Selected Ion Monitoring“ (SIM) Modus betrieben. Die Vorgehensweise zur SIM-Methodenentwicklung ist in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 42: Vorgehensweise bei der Entwicklung der SIM-Methoden zur Aromastoffanalysen von Hopfen und Bier

Schritt	Ablauf zur SIM-Methodenentwicklung
1	<p>Analysenlauf im Full Scan Modus (bei höherer Analytkonzentration) Gewählter Massenbereich: 40 - 300</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ Ermittlung der nachweisbaren Substanzen (über die Xcalibur-Datenbank und durch den Vergleich mit Reinsubstanzen) ➔ Ermittlung der Retentionszeitfenster ➔ Massenspektren zur Auswahl der charakteristischen Ionen: <ul style="list-style-type: none"> • 2-3 Massen pro Komponente (z.B. 1 Quantifier, 1-2 Qualifier)
2	<p>Auswahl der charakteristischen Ionen – siehe Tabelle 50 und 51</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ Auswahl molekülspezifischer Ionen mit hoher Intensität <ul style="list-style-type: none"> • z.B. Fragmentionen mit hoher Massenzahl ➔ Keine Fragmentionen von Störsubstanzen <ul style="list-style-type: none"> • z.B. Weichmacher von Septum
3	<p>Festlegung der SIM-Bedingungen – siehe Tabelle 43 und 44</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ Festlegung der Retentionszeitfenster ➔ Festlegung der Messzeit pro Ion (dwell time) <ul style="list-style-type: none"> • Empfindlichkeit (Detektorspannung)
4	<p>Überprüfung der Methode</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ Analysenlauf mit Realprobe und Blindprobe bei den ausgewählten SIM-Parametern

Mit der selektiven Ionenregistrierung können die Nachweisgrenzen verbessert und insgesamt eine höhere Genauigkeit der quantitativen Bestimmung erreicht werden. Für jeden einzelnen Aromastoff wurden dazu signifikante Ionen ausgewählt. Dadurch wird eine längere Messzeit pro Ion ermöglicht. Für die Analyse der Aromastoffe in Hopfen und Bier wurden jeweils spezifische SIM-Methoden entwickelt.

Die Temperatur der Ionenquelle wurde auf 230°C eingestellt. Als Ionisierungsmethode wurde die Elektronenstoßionisierung mit 70 eV angewendet. Die Analyten wurden in Zeitfenstern detektiert und aufgrund ihrer Retentionszeit und ihrer Fragment-Ionen durch den Vergleich mit ihren entsprechenden Standardkomponenten identifiziert. Die Retentionszeitfenster und die ausgewählten spezifischen Massen für die Analyse der Aromastoffe in Hopfen mittels HS-Trap-GC-MS sind in der nachfolgenden Tabellen 43 und 44 dargestellt.

Tabelle 43: Retentionszeitfenster für die HS-Trap-GC-MS Methode zur Hopfenanalyse

Segment	Start (min)	Detektor-Spannung	SIM-Ionen (m/z)	Dwell-Time pro Ion (msec)
1	7.00	2,00 x 10E5	84, 85, 99, 128	50,0
2	11.60	0,10 x 10E5	99, 128	50,0
3	12.70	2,00 x 10E5	71, 99, 101, 105, 107, 121, 136, 144	50,0
4	15.22	0,10 x 10E5	93, 107, 121, 136	50,0
5	16.10	2,00 x 10E5	107, 113, 115, 121, 136, 144	50,0
6	18.15	3,00 x 10E5	87, 101, 127	50,0
7	19.05	3,00 x 10E5	85, 121, 124, 127, 136, 139, 142	50,0
8	20.00	3,00 x 10E5	87, 98, 127, 156, 158	50,0
9	22.95	3,00 x 10E5	98, 129, 142, 172	50,0
10	24.95	1,20 x 10E5	110, 143, 155, 170, 186	50,0
11	26.90	3,00 x 10E5	121, 126, 169, 175, 184, 190	50,0
12	29.70	0,70 x 10E5	133, 147, 161, 204	50,0
13	31.35	1,80 x 10E5	140, 183, 189, 198	50,0
14	33.15	3,00 x 10E5	177, 187, 205, 220	50,0

Für die Analyse der Aromastoffe in Bier mittels HS-Trap-GC-MS wurden folgende Retentionszeitfenster und spezifischen Massen festgelegt.

Tabelle 44: Retentionszeitfenster für die HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse

Segment	Start (min)	Detektor-Spannung	SIM-Ionen (m/z)	Dwell-Time pro Ion (msec)
1	7.00	3,00 x 10E4	55, 70, 74, 88	50,0
2	10.25	2,00 x 10E5	88, 101, 116	50,0
3	11.45	2,00 x 10E5	69, 81, 84, 97, 98, 102	50,0
4	12.40	3,00 x 10E4	70, 87, 130	50,0
5	13.10	2,00 x 10E5	102, 103, 104	50,0
6	14.10	2,50 x 10E5	70, 98, 116	50,0
7	15.30	1,10 x 10E5	81, 87, 98, 99, 116, 140	50,0
8	16.20	3,00 x 10E4	84, 97, 99, 101, 111, 112, 113, 115, 130, 144	50,0
9	19.20	2,00 x 10E5	98, 101, 113, 116, 121, 124, 129, 131, 136, 139	50,0
10	20.30	2,00 x 10E4	87, 88, 91, 92, 101, 103, 122, 127, 144, 172	50,0
11	23.05	1,00 x 10E5	84, 91, 105, 106, 112, 116, 119, 123, 151, 164	50,0
12	24,65	1,30 x 10E5	104, 105, 164	50,0
13	25.50	2,50 x 10E5	88, 101, 107, 135, 141, 150, 157	50,0
14	28.00	1,00 x 10E5	85, 88, 99, 101, 155, 156, 200	50,0
15	29.75	1,50 x 10E5	121, 133, 147, 161, 204	50,0
16	32.50	2,00 x 10E5	88, 101, 157, 228	50,0

Die Daten wurden jeweils mit der Xcalibur Software (Thermo Scientific) ausgewertet. Alle Proben wurden als Doppelbestimmung analysiert und die Ergebnisse gemittelt.

3.5.4 Vorgehensweise und Umfang der Methodvalidierung

Um für die entwickelten HS-Trap-GC-MS-Methoden stabile und wiederholbare Analysenergebnisse zu gewährleisten, wurden die Methoden in folgendem Umfang überprüft.

3.5.4.1 Überprüfung der Robustheit

Es wurde geprüft, ob die Analyse durch Verunreinigung oder andere Störeinflüsse beeinflusst wird. Folgende Tests wurden dazu durchgeführt:

- Septum Test: getestet wurden 2 verschiedene Typen von Septa aus dem Material PTFE/Butyl-Gummi und PTFE-Silikon-Gummi
- Säure-/Base-Test: Variation des pH-Wertes eines Referenz-Bieres zwischen pH = 2 (mit Oxalsäure) und pH = 10 (mit NaOH)
- Blindproben mit H₂O: getestet wurde, ob die Analyten der vorausgehenden Probe vollständig von der Trap desorbiert wurden
- Zusatz von Trocknungsmittel: Test mit je 1g Natriumsulfat, Kieselgel 60, Aluminiumoxid 90 aktiv neutral und Aluminiumoxid für Trocknungszwecke
- Zusatz von NaCl: 0,5g, 1,0g, 2,0g, 3,0g

Beurteilt wurden die Chromatogramme hinsichtlich ihrer Qualität (Peaktrennung und Peakgröße) und der auftretenden Nebenprodukte.

3.5.4.2 Überprüfung der Präzision der Messergebnisse – Wiederholbarkeit

Die Präzision ist das Maß für die Streuung der Analysenergebnisse [Kromidas, 2011]. Um die Präzision zu ermitteln, wurde geprüft in welchem Maß eine Übereinstimmung der Ergebnisse bei gleicher Probe und wiederholter Probenaufbereitung vorhanden ist. Zur Beurteilung der Ergebnisse wurden jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient ermittelt.

- 10-fach Bestimmung einer Hopfenextrakt-Probe der Sorte „Hallertauer Magnum“ – *Ergebnis siehe Kapitel 4.4.1 (Tabelle 53)*
- 10-fach Bestimmung einer Bier-Probe der Sorte „Weihenstephan Original“ – *Ergebnis siehe Kapitel 4.4.2 (Tabelle 54)*

Generell ist die noch zu akzeptierende Methodenpräzision abhängig von der Komplexität der Methode, der Matrix und der Konzentration [Kromidas, 2011].

3.5.4.3 Überprüfung der Richtigkeit der Analysenergebnisse

Richtigkeit ist das Maß der Übereinstimmung zwischen dem ermittelten Wert und einem als richtig angesehenen Wert [Kromidas, 2011]. Es wurde geprüft ob die ermittelten Werte der HS-Trap Methoden mit den Referenzwerten übereinstimmen. Hierzu wurde eine Gegenüberstellung der Analysenergebnisse von der HS-Trap- und Hopfenöl-Analyse (EBC-Methode) vorgenommen. Die Ergebnisse sind im Kapitel 4.5.2 aufgeführt.

3.5.4.4 Überprüfung der Selektivität der Methode

Unter Selektivität versteht man die Fähigkeit einer Methode, verschiedene, nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren [Kromidas, 2011]. Die Selektivität der Methode wird belegt, durch Überprüfung der Messergebnisse nach Aufstockung. Es wurde eine 3-Punkt-Aufstockung bei der HS-Trap Analyse eines Referenzbieres durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Kapitel 4.4.3 beschrieben.

3.5.4.5 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse

Es wurde geprüft in wie weit die Ergebnisse bei geänderten Bedingungen übereinstimmen. Um die Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse zu belegen wurden Analysen beispielsweise an unterschiedlichen Tagen und nach neuer Kalibrierung (z.B. nach Filament-Wechsel) durchgeführt.

3.5.4.6 Überprüfung der Linearität der Analysenmethode

Unter Linearität versteht man die Fähigkeit einer Methode innerhalb eines gegebenen Konzentrationsbereichs Ergebnisse zu liefern, die der Konzentration des Analyten direkt proportional sind [Kromidas, 2011]. Für alle Analyten wurde eine 5-Punkt-Standardkalibrierung durchgeführt und die Kalibrierfunktion mittels Regressionsanalyse ermittelt. Die Ergebnisse finden sich im Kapitel 4.2.1 und 4.2.2.

3.5.4.7 Überprüfung der Stabilität der Probelösungen

Die Stabilität der Probelösungen wurde für nach 24 Stunden und nach 48 Stunden überprüft und gewährleistet. Die Kontrollproben wurden bis zur Analyse gekühlt bzw. tiefgekühlt aufbewahrt.

3.5.4.8 Überprüfung der Wiederfindung

Die Wiederfindung oder Wiederfindungsrate ist das Verhältnis des unter Wiederholbedingungen gemessenen Mittelwertes zum richtigen Wert des Analyten in der Probe [Kromidas, 2011]. Die Wiederfindungsfaktoren wurden ermittelt und bei der Berechnung der Kalibrierergebnisse und der Analyseergebnisse berücksichtigt.

3.6 Kalibrierung

3.6.1 Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Hopfenanalyse

Um eine quantitative Auswertung zu ermöglichen wurde eine Kalibrierung mittels internen Standards durchgeführt. Insgesamt wurde für 20 flüchtige Hopfenkomponenten eine 5-Punkt-Standardkalibrierkurve generiert. Eine 3-fach-Bestimmung wurde für jedes Kalibrierniveau durchgeführt.

Zur Ermittlung der Kalibriergeraden wurden Standardkalibrierlösungen angesetzt. Zunächst wurde jeweils für das höchste Kalibrierniveau einer jeden Substanz eine wässrige Lösung aus deren Stammlösung hergestellt, gemäß der korrespondierenden Kalibrierkonzentration. Die weiteren Kalibrierlösungen wurden durch Verdünnung gewonnen. Für die Kalibrierlösung des vierten Niveaus wurde ein Teil der Kalibrierlösung des fünften Niveaus 1:1 mit Reinstwasser verdünnt. Für die nachfolgenden Kalibrierniveaus eins bis drei gilt eine analoge Vorgehensweise. Für alle Kalibrierniveaus wird der Ethanolgehalt auf den gleichen Level eingestellt. Die Ethanolkonzentration in der Kalibrierlösung und in der Probenlösung beträgt jeweils 20 mg pro 5 ml. Für die Analyse wurden je 5 ml der Kalibrierlösung in ein 20 ml Headspace Vial pipettiert und mit 6 µl der internen Standardlösung aus n-Nonan und (-)-Linalool-D3 versetzt. Die Vials wurden umgehend mit einem PTFE-Silikon-Septum versiegelt. Zunächst wird für die einzelnen Analyten aller

Kalibrier-proben die relative Peakhöhe bzw. relative Peakfläche errechnet, mittels Division der Peakhöhe bzw. Peakfläche durch die Peakhöhe bzw. Peakfläche des internen Standards. Für die Erstellung der Kalibrierkurven werden dann die relativen Peakflächen oder die relativen Peak-höhen über der zugegebenen Konzentration aufgetragen. Die Evaluierung erfolgt durch lineare Regressions-analyse. Die Kalibrierung und Auswertung erfolgt mit Hilfe der Software Xcalibur. In der nachfolgenden Tabelle werden die einzelnen Konzentrationen [$\mu\text{g/g}$] der Kalibrierniveaus und der Wiederfindung angegeben.

Tabelle 45: Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Hopfenanalyse

	Kalibrierniveau [$\mu\text{g/g}$]					Wiederfindung [$\mu\text{g/g}$]	
	Niv. 1	Niv. 2	Niv. 3	Niv. 4	Niv. 5	Wf ₁	Wf ₂
Monoterpene							
α -Pinen	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
β -Pinen	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	12,0	48,0
Myrcen	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000	3.000	12.000
Limonen	5,0	10,0	20,0	40,0	80,0	15,0	60,0
Sesquiterpene							
β -Caryophyllen	120	240	480	960	1.920	360	1.440
α -Humulen	400	800	1.600	3.200	6.400	1.200	4.800
Terpenalkohol							
Linalool	12,0	24,0	48,0	96,0	192	36,0	144
Ester							
Isobutylisobutyrat	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
Hexansäuremethylester	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	3,0	12,0
Heptansäuremethylester	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
Octansäuremethylester	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	12,0	48,0
Nonansäuremethylester	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
Decansäuremethylester	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
Ketone							
2-Nonanon	1,5	3,0	6,0	12,0	24,0	4,5	18,0
2-Decanon	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	6,0	24,0
2-Undecanon	10,0	20,0	40,0	80,0	160	30,0	120
2-Dodecanon	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	12,0	48,0
2-Tridecanon	15,0	30,0	60,0	120	240	45,0	180
Damascenon	1,25	2,5	5,0	10,0	20,0	3,75	15,0
Epoxid							
Caryophyllenoxid	40,0	80,0	160	320	640	120	480

3.6.2 Kalibrierung der Hopfenöl-Methode (EBC)

Für die Hopfenölanalyse wurde die Kalibrierung im Prinzip gleich durchgeführt. Im Gegensatz zur Headspace-Trap-Analyse wurden keine wässrigen sondern ethan-olische Kalibrierlösungen verwendet. Myrcen wurde in einem Gemisch aus THF und Ethanol im Verhältnis 2:1 (Vol) gelöst.

3.6.3 Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse

Für 30 flüchtige Aromakomponenten im Bier wurde jeweils eine 4-Punkt Standardkalibrierkurve generiert. Für jedes Kalibrierniveau wurde eine 3-fach-Bestimmung durchgeführt. In der nachfolgenden Tabelle 46 werden jeweils für die Kalibrierniveaus und Wiederfindungen die Konzentrationen [$\mu\text{g/g}$] angegeben.

Tabelle 46: Kalibrierung der HS-Trap-GC-MS-Methode zur Bieranalyse

	Kalibrierniveau [$\mu\text{g/l}$]				Wiederfindung [$\mu\text{g/l}$]	
	Niv. 1	Niv. 2	Niv. 3	Niv. 4	Wf ₁	Wf ₂
Alkohole						
2-Methyl-propanol-1	10.000	20.000	40.000	80.000	15.000	60.000
2-Methyl-butanol-1	20.000	40.000	80.000	160.000	30.000	120.000
3-Methyl-butanol-1						
1-Hexanol	30,0	60,0	120	240	45,0	180
1-Heptanol	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
1-Octanol	3,0	6,0	12,0	24,0	4,5	18,0
2-Phenylethanol	5.500	11.000	22.000	44.000	8.250	33.000
Furfurylalkohol	375	750	1500	3.000	562,5	2.250
Ester						
Essigsäure-Isopentylester	800	1.600	3.200	6.400	1.200	4.800
Essigsäure-Hexylester	2,0	4,0	8,0	16,0	3,0	12,0
Essigsäure-Heptylester	0,5	1,0	2,0	4,0	0,75	3,0
Essigsäure-Octylester	0,75	1,5	3,0	6,0	1,13	4,5
Essigsäure-Furfurylester	6,5	13,0	26,0	52,0	9,75	39,0
Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester	200	400	800	1.600	300	1.200
Buttersäure-Ethylester	25,0	50,0	100	200	37,5	150
Hexansäure-Ethylester	30,0	60,0	120	240	45,0	180
Heptansäure-Ethylester	1,0	2,0	4,0	8,0	1,5	6,0
Octansäure-Ethylester	60,0	120	240	480	90,0	360
Nonansäure-Ethylester	0,5	1,0	2,0	4,0	0,75	3,0
Decansäure-Ethylester	15,0	30,0	60,0	120	22,5	90,0
Dodecansäure-Ethylester	1,25	2,5	5,0	10,0	1,88	7,5
Nicotinsäure-Ethylester	12,0	24,0	48,0	96,0	18,0	72,0
Phenyllessigsäure-Ethylester	0,5	1,0	2,0	4,0	0,75	3,0
Org. Säuren						
Hexansäure	750	1.500	3.000	6.000	1.125	4.500
Octansäure	1.000	2.000	4.000	8.000	1.500	6.000
Terpene						
Linalool	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
α -Humulen	0,5	1,0	2,0	4,0	0,75	3,0
β -Caryophyllen	0,25	0,5	1,0	2,0	0,38	1,5
Vinylaromaten						
4-Vinylbenzol (Styrol)	5,0	10,0	20,0	40,0	7,5	30,0
4-Vinylguajakol	300	600	1.200	2.400	450	1.800
Lacton						
γ -Nonalacton	10,0	20,0	40,0	80,0	15,0	60,0

Die grundsätzliche Vorgehensweise bei der Herstellung der Kalibrierlösungen ist analog der Kalibrierung für die HS-Trap-GC-MS Hopfenanalyse. Zunächst wurde wieder für das höchste Kalibrierniveau einer jeden Substanz eine wässrige Lösung aus deren ethanolischer Stammlösung hergestellt. Die Kalibrierlösungen der nachfolgenden Niveaus wurden jeweils durch eine 1:1 Verdünnung mit Reinst-

wasser erzeugt. Für alle Kalibrierniveaus wird der Ethanolgehalt auf das gleiche Level eingestellt. Für die Analyse wurden je 5,0 ml der Kalibrierlösung in ein 20 ml Headspace Vial pipettiert und mit 10 µl der internen Standardlösung aus Heptansäuremethylester und (-)-Linalool-D3 versetzt. Die Vials wurden umgehend mit einem PTFE-Silikon-Septum versiegelt. Die Generierung der Kalibrierkurven erfolgt analog der HS-Trap-GC-MS Methode zur Hopfenanalyse mit Hilfe der Software Xcalibur. (Kalibrierergebnisse siehe Kapitel 4.2)

3.7 Analytische Methoden bzw. Probenvorbereitung zur Aromastoffanalyse von Hopfen und Bier

3.7.1 Hopfenextraktion für die HS-Trap-GC-MS Analyse

Für diese Analyse werden die Hopfenaromastoffe mittels Ultraschallextraktion gewonnen. Die Aromastoffzusammensetzung des Hopfenextraktes wird anschließend mittels HS-Trap-GC-MS Analyse bestimmt.

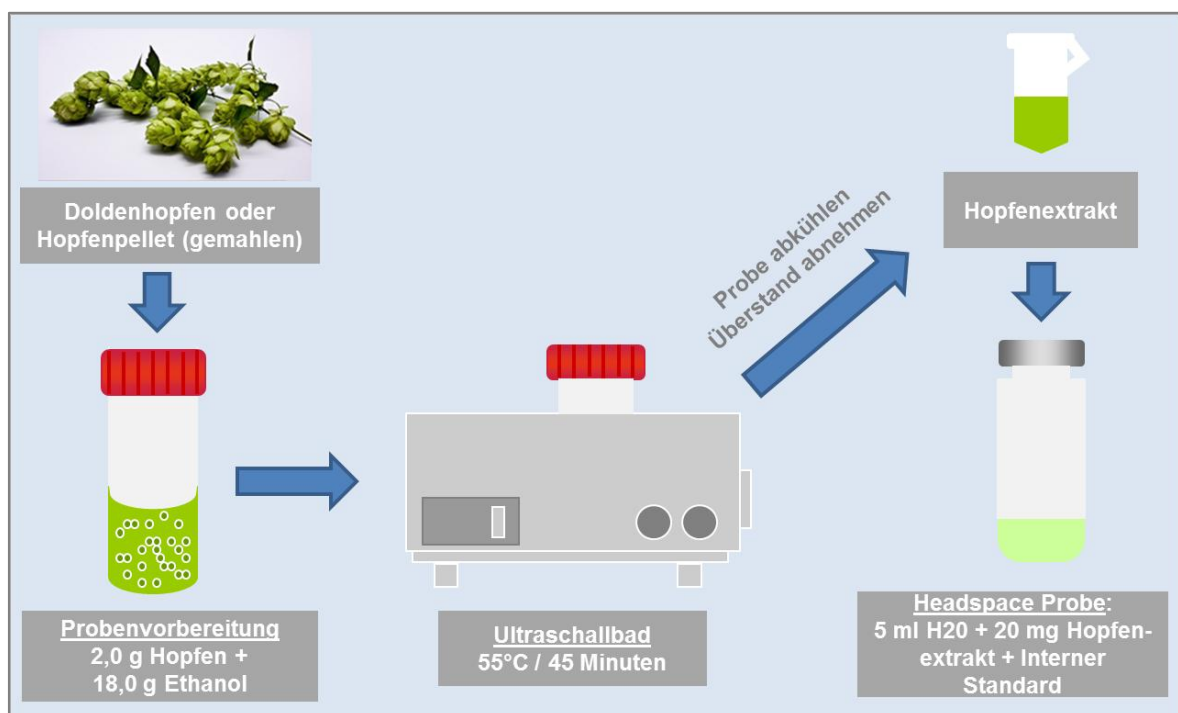


Abbildung 17: Schematische Darstellung zur Probenvorbereitung der HS-Trap-GC-MS Hopfenanalyse

Die Hopfenpellets beziehungsweise der Doldenhopfen werden zunächst in einem Zerkleinerer oder Mixer vermahlen. Von dem gemahlene Hopfen werden 2,0 g in ein 50 ml Zentrifugengefäß oder in eine Schott Duran Flasche eingewogen und

nach Zugabe von 18,0 g Ethanol mit einem Teflon beschichteten Schraubdeckel verschlossen. Die Extraktion wird in einem temperierbaren Ultraschallbad bei 55°C für 45 Minuten durchgeführt. Danach werden die Proben für 30 Minuten in einem Eisbad heruntergekühlt. Der Hopfenrückstand setzt sich ab und der überstehende ethanolische Hopfenextrakt kann abpipettiert werden. Gegebenenfalls kann durch vorhergehendes Zentrifugieren der Probe die Abtrennung des Hopfenextraktes erleichtert werden. Die Zentrifuge sollte hierfür gekühlt sein. In ein Headspace Vial (20 ml) werden 5,0 ml Reinstwasser vorgelegt und dann 20 mg des Hopfenextraktes hinzugegeben. Der Probelösung werden noch 6 µl interne Standardlösung zugesetzt. Die Proben-Vials werden umgehend mit einem PTFE-Siliconseptum verschlossen und gebördelt. Die Proben werden mit Hilfe der HS-Trap-GC-MS Methode noch am selben Tag analysiert. Für jede Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde sowohl die Probenmenge als auch die Parameter Extraktionstemperatur und –zeit variiert. Die oben aufgeführten Werte erwiesen sich dabei als ideal. Versuche wurden mit einer Probenmenge von 1 – 5 g Hopfen durchgeführt. Die optimale Extraktionstemperatur wurde in dem Bereich von 40°C – 70°C und die optimale Extraktionszeit in dem Bereich von 30 – 60 min ermittelt. Das Augenmerk lag darauf eine möglich hohe Ausbeute zu erreichen und die Probe einer möglichst geringen thermischen Belastung auszusetzen. Bei der HS-Trap Analyse wurden Headspace-Vials mit 20ml verwendet. Für ein optimales Verteilungsgleichgewicht zwischen Probe und Dampfraum sollte das Probenvolumen 2 – 3ml nicht unterschreiten und 10ml nicht überschreiten. In dieser Arbeit wurde mit einem Probenvolumen von 5ml gearbeitet. Um reproduzierbare Ergebnisse zu gewährleisten wurde dieses Probenvolumen sowohl bei der Kalibrierung als auch bei den Probenanalysen konstant gehalten.

3.7.2 Gewinnung von Hopfenöl durch Wasserdampfdestillation für die GC-/MS-Analyse (EBC-Methode)

Mit Hilfe der Wasserdampfdestillation wurde der Gehalt an ätherischem Öl in Hopfen und in den Hopfenpellets bestimmt. Die Aromastoffzusammensetzung des Hopfenöls wurde anschließend mittels GC-/MS-Analyse ermittelt. Diese Analyse basiert auf der EBC- und ASBC-Methode [EBC, 2006; ASBC, 1992].

In einen 2,0 l Rundkolben wurden 25,0 g gemahlener Hopfen oder Hopfenpellets eingewogen und 1250 ml Reinstwasser hinzugegeben. Die Destillation wurde etwa 3 bis 4 Stunden fortgesetzt, solange bis die gewonnene Menge Hopfenöl konstant blieb. Das Volumen des Hopfenöls im „Receiver“ wurde anhand der Skala abgelesen. Für die Umrechnung des Hopfenölvolumens in Gewicht wurde eine mittlere Dichte von 0,8215 g/ml angewendet. Dieser Wert ist der Mittelwert einer experimentellen Dichtebestimmung von sieben verschiedenen Hopfenölen. Von jedem Hopfenöl wurde jeweils ein Aliquot in einem Gemisch aus Ethanol und THF (2:1) gelöst, so dass die Probelösung eine Konzentration von 700 ng/µl aufwies. Den Probelösungen wurde ebenfalls der interne Standard n-Nonan und Linalool-D3 zugesetzt. Die Hopfenproben wurden mittels GC-/MS analysiert. Für jede Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

3.7.3 Re-Destillationsversuch von Hopfenöl

Mit Hilfe der Doppeldestillation des Hopfenöls wird untersucht, welche Auswirkung die Destillation auf die einzelnen Analyten hat. Der Versuch zeigt, welche Hopfenaromastoffe durch die thermische Belastung der Destillation in welchem Umfang abgebaut werden. Dazu wird ein Großteil des gewonnenen Hopfenöls dem Hopfenrückstand aus der ersten Destillation wieder zugesetzt und noch einmal unter den gleichen Bedingungen destilliert. Beide gewonnenen Hopfenöle werden dann mittels GC-/MS analysiert. Für jede Hopfenölkomponente wird jeweils die relative Fläche der 1. Destillation und die relative Fläche der 2. Destillation ermittelt und dann miteinander verglichen. Das Experiment wurde jeweils in Doppelbestimmung für drei verschiedene Hopfensorten ausgeführt.

3.7.4 Probenvorbereitung für die HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier

Die Zusammensetzung flüchtiger Aromastoffe in Bier kann mittels HS-Trap-GC-MS Analyse direkt aus der Bierprobe ermittelt werden. Eine aufwendige Proben-
vorbereitung ist nicht erforderlich. In ein Headspace Vial (20 ml) werden 2,0 g NaCl eingewogen und dann 5,0 ml der gekühlten Bierprobe hinzugegeben. Die Bierproben werden bei ca. 4°C gekühlt und erst unmittelbar vor Zugabe geöffnet. In jede HS-Probe werden noch 10 µl interne Standardlösung zugegeben. Die

Proben-Vials werden umgehend mit einem PTFE-Siliconseptum verschlossen und gebördelt. Die Proben werden mit der HS-Trap-GC-MS Methode noch am selben Tag analysiert. Für jede Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Im Rahmen der Methodenentwicklung wurden unterschiedliche Mengen an NaCl getestet.

3.8 „Forcierte“ Alterung der Biere

Das Verfahren der forcierten Bieralterung wurde angewendet um längere Transport- und Lagerungsbedingungen zu simulieren. Dazu wurden die Biere, in der verschlossenen Flasche, bei Raumtemperatur 24 h mit 70 Bewegungen/ min horizontal mit Hilfe eines Schüttlers geschüttelt. Im Anschluss daran wurden die Bierproben vier Tage bei 40 °C gelagert. Dies entspricht einer natürlichen Alterung von drei bis vier Monaten bei 20 °C [Eichhorn, 1991]. Von einigen Sorten wurden die Analysen der frischen und forciert gealterten Biere gegenübergestellt.

3.9 Statistische Methoden für die Auswertung der Messergebnisse

3.9.1 Arithmetisches Mittel bzw. Mittelwert

Für die statistische Auswertung einer Datenreihe mit dem Umfang n wurde der Mittelwert \bar{x} berechnet. Den Mittelwert \bar{x} erhält man, indem alle Werte x_i aufsummiert und diese Summe durch die Anzahl n dividiert wird [Fahrmeir et al., 2010].

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

3.9.2 Standardabweichung

Für die Beurteilung der Streuung einer Verteilung wird die Standardabweichung s bzw. ihr Quadrat, die Varianz s^2 berechnet. Die Standardabweichung s misst die Streuung der Daten um ihren Mittelwert \bar{x} [Fahrmeir et al., 2010].

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$
$$s = +\sqrt{s^2}$$

3.9.3 Variationskoeffizient

Durch den Variationskoeffizienten lässt sich ein maßstabsunabhängiges Streuungsmaß bilden, welches zum Vergleich unterschiedlicher Streuungen geeignet ist. Der Variationskoeffizient (rel. Standardabweichung) wird zur Bewertung der Genauigkeit und Aussagekraft einer Analyse herangezogen. Für die Berechnung des Variationskoeffizienten werden Merkmale mit nichtnegativen Ausprägungen und einem arithmetischem Mittel von $\bar{x} > 0$ vorausgesetzt [Fahrmeir et al., 2010].

$$Vk (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

$$\bar{x} > 0$$

3.9.4 t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte

Mit Hilfe des t-Tests wird geprüft, ob der Unterschied zweier Mittelwerte \bar{x}_1 und \bar{x}_2 aus zwei voneinander unabhängigen Meßserien mit n_1 bzw. n_2 Messungen alleine auf Zufallsfehler zurückzuführen ist. Den berechneten t-Wert vergleicht man mit einem Tabellenwert, welcher die Integralgrenzen der t-Verteilung $t(P, f)$ – mit der Wahrscheinlichkeit P und den Freiheitsgraden f , angibt. Zwischen den beiden Mittelwerten \bar{x}_1 und \bar{x}_2 besteht ein signifikanter Unterschied, wenn $t > t(P, f)$. Die Differenz zwischen den beiden Mittelwerten gilt als nicht beweiskräftig, falls $t < t(P, f)$ ausfällt [Dörffel, 1984].

$$f = n_1 + n_2 - 2$$

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

3.9.5 Korrelationsanalyse

Das statistische Verfahren der Korrelationsanalyse dient der Untersuchung von Zusammenhängen zwischen verschiedenen Variablen anhand einer Stichprobe.

Tabelle 47: Interpretation des Korrelationskoeffizienten [Fahrmeir et al., 2010]

$R \approx 0$ $R = 0$	<ul style="list-style-type: none"> Kein linearer Zusammenhang – keine Korrelation. R-Werte um Null weisen auf eine große Streuung der Daten hin.
$R > 0$	<ul style="list-style-type: none"> Positive Korrelation Gleichgerichteter (linearer) Zusammenhang. Die Datenpunkte sind aufsteigend angeordnet. Die Werte einer Variablen steigen mit steigenden Werten der anderen Variablen.
$R < 0$	<ul style="list-style-type: none"> Negative Korrelation Gegengerichteter (linearer) Zusammenhang. Die Datenpunkte sind absteigend angeordnet. Die Werte einer Variablen steigen mit sinkenden Werten der anderen Variablen.
$R < 0,5$	<ul style="list-style-type: none"> Schwache Korrelation
$0,5 \leq R < 0,8$	<ul style="list-style-type: none"> Mittlere Korrelation
$R \geq 0,8$	<ul style="list-style-type: none"> Starke Korrelation Nähert sich R -1 oder 1 an, wird die lineare Abhängigkeit immer wahrscheinlicher.
$R = 1$	<ul style="list-style-type: none"> Gleichgerichteter linearer Zusammenhang. Alle Punkte liegen auf einer Geraden mit positiver Steigung. Zunehmende x-Werte führen zu linear wachsenden y-Werten.
$R = -1$	<ul style="list-style-type: none"> Gegengerichteter linearer Zusammenhang. Alle Punkte liegen auf einer Geraden mit negativer Steigung. Zunehmende x-Werte führen zu linear fallenden y-Werten.

Mit Hilfe von Streudiagrammen wird die Anordnung der Variablen veranschaulicht. Eine Maß für die Stärke des linearen Zusammenhangs zweier statistischer Variablen ist der empirische Korrelationskoeffizient R, der auch als Bravais-Person-Korrelationskoeffizient bezeichnet wird [Fahrmeir et al., 2010]. Der Wert des Korrelationskoeffizienten R kann, wie in Tabelle 47 dargestellt, interpretiert werden. Er kann nur Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Je näher die Messwerte an einer Gerade liegen, desto näher liegt R bei 1 bzw. -1 [Fahrmeir et al., 2010].

$$R(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

$$-1 \leq R \leq 1$$

In der vorliegenden Arbeit wird mit Hilfe der Streudiagramme graphisch dargestellt, wie die Hopfenölmenge mit den einzelnen Hopfenölkomponenten korreliert ist. Dazu wurden die Hopfenölmenge ($\mu\text{g/g}$) und die Konzentration einzelnen Hopfenölkomponenten ($\mu\text{g/g}$) jeweils gegeneinander aufgetragen. Der

Korrelationskoeffizient wurde für jedes Streudiagramm ermittelt. Anstelle von R kann auch das sogenannte Bestimmtheitsmaß bzw. der Determinationskoeffizient R^2 angegeben werden. Das Bestimmtheitsmaß R^2 beschreibt die Größe der Korrelation in Prozent und stellt eine Maßzahl für die Güte der Anpassung dar [Fahrmeir et al., 2010].

3.9.6 Regressionsanalyse

Für die Generierung der Kalibrierkurven wird das Verfahren der Regressionsanalyse angewandt. Die Regressionsanalyse wird mit Hilfe der Software Xcalibur durchgeführt. Durch die Regressionsanalyse wird die Abhängigkeit zwischen zwei Merkmalen eines Objektes einer Regressionsgleichung angepasst [Hudec und Neumann, 2002]. Für die meisten, der im Rahmen dieser Arbeit generierten Kalibrierkurven gilt ein linearer funktionaler Zusammenhang, d.h. dass alle Datenpunkte annähernd durch eine Gerade beschrieben werden können. Die einzelnen Datenpunkte müssen zwar nicht genau auf der Geraden liegen, die Streuung der Punkte um die Gerade sollte aber zufällig sein [Hudec und Neumann, 2002].

$$Y = f(X) + e$$

$$Y = a + bX + e$$

Als optimale Gerade gilt die Regressionsgerade. Für diese Gerade gilt, dass die Summe der quadrierten Abstände aller Punkte zur Geraden möglichst gering sein soll. Es gibt genau eine Gerade, die dieses Kriterium erfüllt. Eine weitere Eigenschaft ist, dass die Summe der Abstände aller Punkte von der Regressionsgeraden Null ist. Die Regressionsgerade wird deshalb auch als fehlerausgleichende Gerade bezeichnet. Die Regressionsgerade läuft stets durch ihren Schwerpunkt [Hudec und Neumann, 2002]. Für jeden einzelnen Datenpunkt (y_i) existiert auch eine zugehörige Schätzung des Datenpunktes auf der Regressionsgeraden (\hat{y}_i). Es streuen auch diese Schätzungen um den Mittelwert des Merkmals Y, d.h. die Regressionsgerade verläuft durch \bar{y} . Der Abstand eines Datenpunktes von seiner Schätzung auf der Regressionsgeraden wird auch als „Residuum“ (e_i) bezeichnet [Hudec und Neumann, 2002].

Die Güte einer Regression berechnet sich aus dem Verhältnis der Streuung der Schätzungen zur Streuung der Datenpunkte selbst. Als Maß für die Streuung wird jeweils die Varianz berechnet [Hudec und Neumann, 2002].

$$R^2 = \frac{s_{\hat{y}}^2}{s_y^2}$$

$$s_{\hat{y}}^2 = \frac{(\hat{y}_1 - \bar{y})^2 + (\hat{y}_2 - \bar{y})^2 + \dots + (\hat{y}_n - \bar{y})^2}{n}$$

$$s_y^2 = \frac{(y_1 - \bar{y})^2 + (y_2 - \bar{y})^2 + \dots + (y_n - \bar{y})^2}{n}$$

Die Güte der Regression kann maximal 1 sein. Dies ist der Fall, wenn die Streuung der Schätzungen gleich der Streuung der Datenpunkte ist. Die Datenpunkte liegen dann genau auf einer Geraden. Dann stimmen Datenpunkte und Schätzungen genau überein und die Streuungen sind ebenfalls gleich groß. Je weiter die Datenpunkte von der Geraden entfernt sind, desto größer wird die Streuung der Datenpunkte im Verhältnis zur Streuung der Schätzungen sein [Hudec und Neumann, 2002].

3.10 Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Als Nachweisgrenze (NWG) wird gemäß DIN 32645 die kleinste nachweisbare Menge definiert. Die Bestimmungsgrenze (BSG) ist gemäß DIN 32645 die kleinste quantifizierbare Menge. Das ist die Menge, die mit einer vorgegebenen Richtigkeit und Präzision quantitativ erfasst werden kann. Die Bestimmungsgrenze sollte höchstens 50 % der unteren Spezifikationsgrenze betragen [Kromidas, 2011].

$$NWG = Y_{\text{Blind}} + 3,3 \cdot s_{\text{Blind}}$$

$$BSG = 1,5 \cdot NWG$$

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung

4.1.1 Vorgehensweise bei der HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung

Für die quantitative Analyse flüchtiger Verbindungen in den komplexen Matrices Hopfen und Bier wurde für die Entwicklung der HS-Trap-Methode nachfolgend aufgeführte strukturelle Vorgehensweise herangezogen. Die zu analysierenden Medien zeichneten sich vor allem dadurch aus, dass relativ viele Komponenten mit sehr unterschiedlichen Konzentrationsbereichen und Siedepunkten erfasst werden sollten. Die analytische Zielsetzung eine schnelle und zuverlässige Methode mit moderater Analysezeit und der Fähigkeit zur Serienanalyse zu entwickeln konnte erfolgreich umgesetzt werden. Die Methode ist gut kalibrierbar.

Tabelle 48: Ablaufschema zur HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung

	Ergebnisse
1. Analyse der <u>Probenmatrix</u> Hopfen und Bier: <ul style="list-style-type: none"> • Welche und wie viele Komponenten sollen analysiert werden? • Welche Siedepunkte? Sind alle Komponenten verdampfbar? • Welche funktionellen Gruppen liegen vor? • Konzentrationsbereiche der Komponenten? • Sind die Analyten thermisch labil? 	Tab. 50 u. 51 Tab. 60
2. Auswahlkriterien der <u>GC-Trennsäule</u>: <ul style="list-style-type: none"> • Polarität und Selektivität der stationären Phase • Temperaturbereich der Säule • Säulenlänge, Filmdicke, Innendurchmesser 	Kap. 3.5.2.1
3. Entwicklung der <u>GC-Methode</u>: <ul style="list-style-type: none"> • Trägergasparameter (Geschwindigkeit, Fluss) • Injektoreinstellungen (Temperatur, Volumen, Split) • Ofentemperatur bzw. Temperaturprogramm 	Kap. 3.5.2.2 Tab. 40 Tab. 41
4. Entwicklung der <u>HS-Methode</u>: (sampling parameter) <ul style="list-style-type: none"> • <u>Temperaturen</u> (Ofen, Nadel, Transferline, Adsorption, Desorption) • <u>Drücke</u> (Säule, Vial, Desorption) • <u>Zeiten</u> (Thermostatisierung, Druckaufbau, Dosierung, Desorption) • Trap-Zyklen, Split usw. 	Tab. 49
5. Entwicklung der <u>MS-Methode</u>: (SIM parameter) <ul style="list-style-type: none"> • Charakteristischen Ionen der einzelnen Komponenten festlegen • Retentionszeitfenster, Detektorspannung • Dwell-Time pro Ion 	Tab. 50 u. 51 Tab. 42 Tab. 43 u. 44
6. Optimierung der <u>Probenvorbereitung</u>: <ul style="list-style-type: none"> • Probenmenge • Extraktionsparameter (Zeit, Temperatur) • HS-Probe (Konzentration, Volumen, Zusätze) 	Kap. 3.7.1 Kap. 3.7.2 Kap. 3.7.4

4.1.2 Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS Methodenentwicklung

Die HS-Trap-Methode wurde anfangs in Modelllösungen etabliert und dann auf die Matrix Hopfen und Bier übertragen. Mit Hilfe von Standardlösungen wurden zunächst die Retentionszeiten der einzelnen Komponenten in Hopfen und Bier bestimmt und ihre ungefähre Konzentration abgeschätzt. Die Auswahl der quantifizierten Analyten in den Hopfenproben orientierte sich an der MEBAK-Methode zur Bestimmung von Hopfenölkomponenten.

Die HS-Trap Parameter wurden stufenweise ermittelt. In zahlreichen Testläufen wurde nacheinander jeweils immer ein Parameter variiert. Nachfolgende Tabelle 49 zeigt für jeden Sampling-Parameter die getesteten Werte auf. Die markierten Werte lieferten die besten Ergebnisse und bilden somit die endgültige Methode. Für die Beurteilung und Auswahl der geeigneten Werte wurde jeweils die relative Fläche bzw. relative Höhe der einzelnen Komponenten berechnet und miteinander verglichen. Ferner wurden die Chromatogramme hinsichtlich ihrer Qualität, der Peakauflösung und der Nachweisgrenze der einzelnen Substanzen beurteilt.

Tabelle 49: Übersicht zur Methodenentwicklung der HS-Trap Parameter [Aberl und Coelhan, 2012]

HS-Trap Parameter	Testwert 1	Testwert 2	Testwert 3	Testwert 4
Temperaturen				
Oventemperatur	60°C	80°C	85°C	90°C
Nadeltemperatur	80°C	90°C	120°C	
Transferline-Temperatur	110°C	130°C	140°C	
Trap-low-Temperatur	40°C	50°C	60°C	
Trap-high-Temperatur	300°C	320°C	330°C	340°C
Drücke				
Säulendruck	150 kPa	160 kPa	170 kPa	
Vial-Druck	150 kPa	175 kPa	200 kPa	240 kPa
Desorptionsdruck	70 kPa	100 kPa	150 kPa	250 kPa
Zeiten				
Thermostatisierzeit	30 min	40 min	45 min	50 min
Druckaufbauzeit	1 min	2 min	3 min	
Dosierzeit (Abklingzeit)	0,6 min	1,7 min	2 min	2,3 min
Desorptionszeit	0,1 min	0,2 min	0,6 min	1,0 min
GC Zyklus	45 min	52 min	60 min	73 min
Haltezeit (Trap)	5 min	8 min	10 min	
Dry-purge-Zeit	4 min	6 min	8 min	10 min
Sonstige Parameter				
Trapzyklen	1	2	3	4
Split	ja	nein		
Dry Purge	ja	nein		

Nachfolgende Chromatogramme wurden beispielsweise im Rahmen der HS-Trap-Methodenentwicklung generiert. Sie zeigen jeweils die Testläufe mit 2 und 4 Trap-

Zyklen und Desorptionszeiten von 0,1 min, 0,2 min und 0,6 min. Aus den Chromatogrammen ist ersichtlich, dass 4 Trap-Zyklen für diese Proben überdimensioniert sind. Bei 3 Trap-Zyklen zeigt sich ein ähnliches Bild.

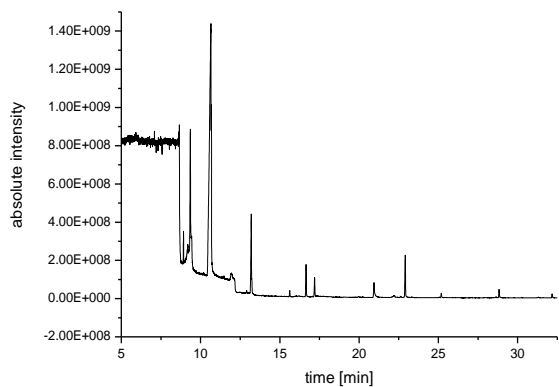


Abbildung 18a: Testlauf mit 2 Trapzyklen und 0,1 min Desorptionszeit

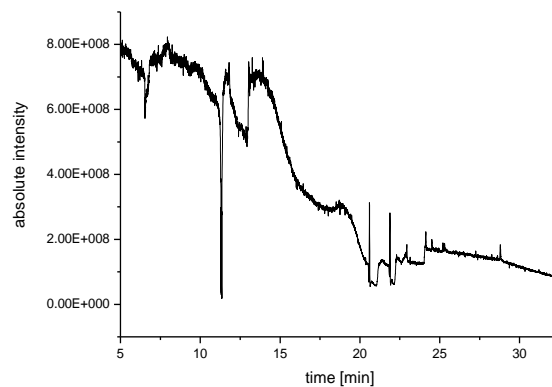


Abbildung 18b: Testlauf mit 4 Trapzyklen und 0,1 min Desorptionszeit

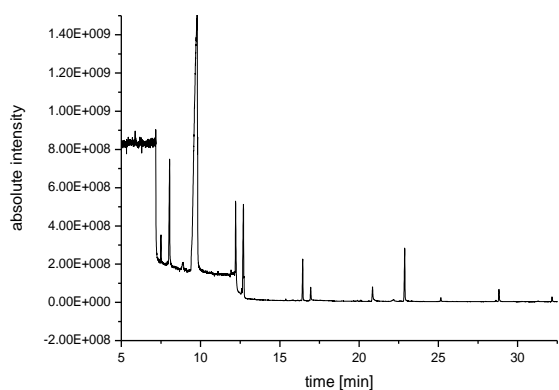


Abbildung 18c: Testlauf mit 2 Trapzyklen und 0,2 min Desorptionszeit

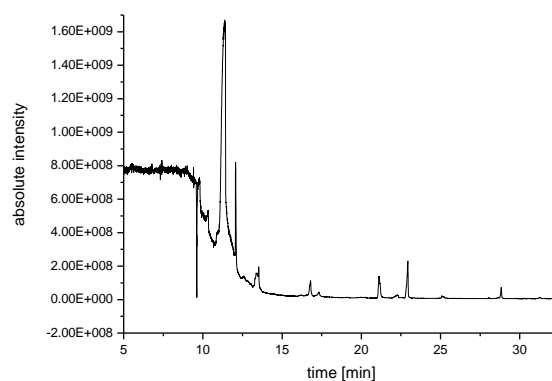


Abbildung 18d: Testlauf mit 4 Trapzyklen und 0,2 min Desorptionszeit

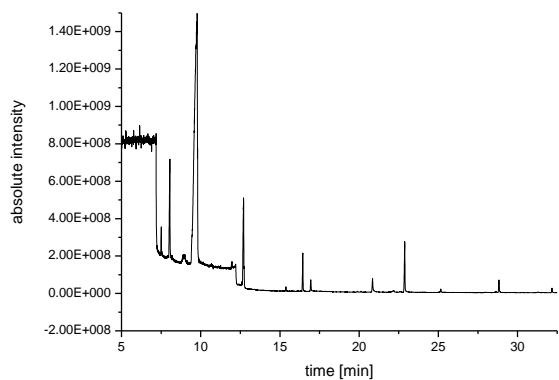


Abbildung 18e: Testlauf mit 2 Trapzyklen und 0,6 min Desorptionszeit

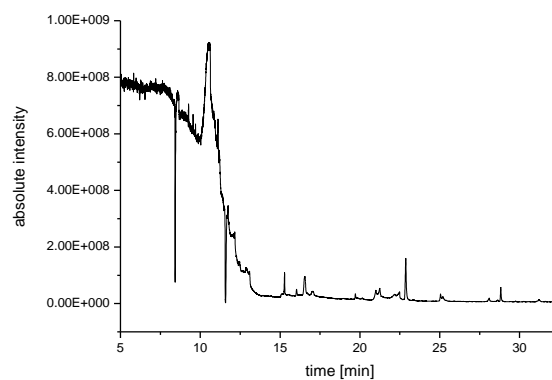


Abbildung 18f: Testlauf mit 4 Trapzyklen und 0,6 min Desorptionszeit

4.2 Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS Kalibrierung

4.2.1 Kalibrierung der HS-Trap-Methode zur Hopfenanalyse

In der nachfolgenden Tabelle werden die Kalibrierparameter für die HS-Trap-GC-MS Methode zur Analyse der Hopfenaromastoffe angegeben.

Tabelle 50: Parameter der HS-Trap-GC-MS Kalibrierung für die Analyse von Hopfenaroma-stoffen (Quantifizierungs-Ionen fett; Qualifizierungs-Ionen kursiv) [Aberl und Coelhan, 2012]

Analyten	t _R (min)	Qualifizierungs- und Quantifizierungs-Ionen (m/z)	Kalibrier-Bereich (µg/g Hopfen)	RSD (%)	Kalibrier-kurve	R ²
Monoterpene						
α-Pinen	13.70	<i>105, 107, 121, 136</i>	2,5 – 40	6,3	linear	0,9974
β-Pinen	15.13	<i>105, 107, 121, 136</i>	4,0 – 64	5,3	linear	0,9978
Myrcen	15.63	93, 107, 121, 136	1000 – 16000	5,6	linear	0,9944
Limonen	17.16	107, 115, 121, 136	5,0 – 80	5,4	linear	0,9965
Sesquiterpene						
β-Caryophyllen	30.06	133, 147, 161, 204	120 – 1920	2,7	linear	0,9980
α-Humulen	31.22	<i>133, 147, 161, 204</i>	400 – 6400	3,0	linear	0,9975
Terpenalkohol						
Linalool	19.49	121, 136	12,0 – 192	3,7	linear	0,9980
Ester						
Isobutylisobutyrat	12.83	71, 101, 144	2,5 – 40	3,3	linear	0,9993
Hexansäuremethylester	13.25	99, 101, 105	1,0 – 16	2,1	linear	0,9953
Heptansäuremethylester	16.74	<i>113, 115, 144</i>	2,5 – 40	7,6	linear	0,9948
Octansäuremethylester	20.17	87, 127, 158	4,0 – 64	4,8	linear	0,9949
Nonansäuremethylester	23.42	98, 129, 142, 172	2,5 – 40	3,5	linear	0,9975
Decansäuremethylester	26.45	143, 155, 170, 186	2,5 – 40	3,9	(log(x)) ²	0,9989
Ketone						
2-Nonanon	19.17	<i>85, 127, 142</i>	1,5 – 24	2,4	linear	0,9983
2-Decanon	22.51	<i>98, 127, 156</i>	2,0 – 32	2,4	linear	0,9969
2-Undecanon	25.70	<i>110, 155, 170</i>	10,0 – 160	2,6	linear	0,9968
2-Dodecanon	28.70	<i>126, 169, 184</i>	4,0 – 64	5,1	log(x)	0,9948
2-Tridecanon	31.46	<i>140, 183, 198</i>	15,0 – 240	5,2	(log(x)) ²	0,9989
Damascenon	28.50	<i>121, 175, 190</i>	1,25 – 20	4,7	linear	0,9960
Epoxid						
Caryophyllenoxid	34.50	<i>177, 187, 205, 220</i>	40,0 – 640	5,6	(log(x)) ²	0,9991
Interner Standard						
n-Nonan	12.30	99, 128	1500			
Linalool-D3	19.43	124, 139	150			

Für alle Substanzen werden die Retentionszeit t_R, die Qualifizierungs- und Quantifizierungs-Ionen (m/z) und der Kalibrierbereich (µg/g) angegeben. Ferner wird die Art der Kalibrierkurve sowie deren Bestimmtheitsmaß R² und die Relative Standard Deviation RSD (%) aufgeführt.

In den nachfolgenden Abbildungen werden beispielhaft die Kalibriergeraden für die Bestimmung von Linalool und α-Humulen in Hopfen dargestellt. Die weiteren Kalibriergeraden befinden sich im Anhang.

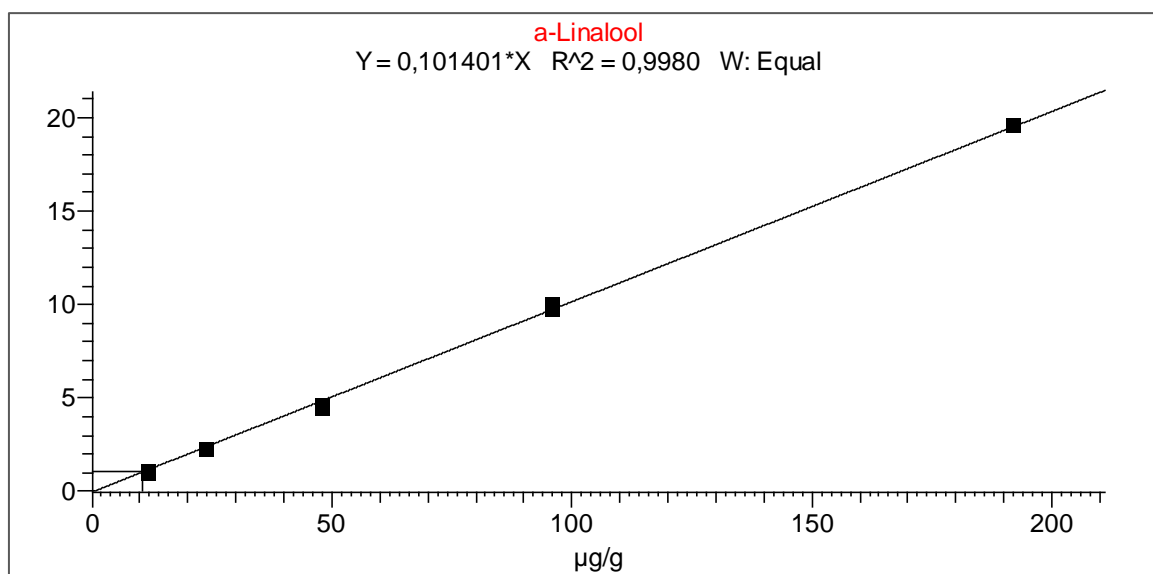


Abbildung 19: Kalibriergerade für Linalool (HS-Trap-GC-MS Methode Hopfenanalyse)

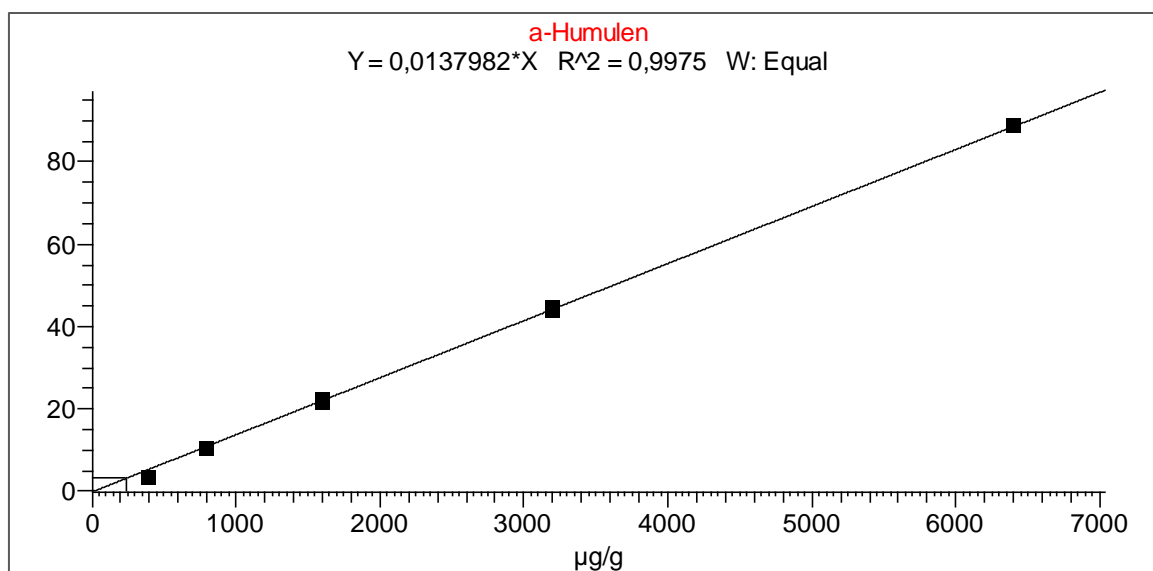


Abbildung 20: Kalibriergerade für α-Humulon (HS-Trap-GC-MS Methode Hopfenanalyse)

4.2.2 Kalibrierung der HS-Trap Methode zur Bieranalyse

In der nachfolgenden Tabelle 51 werden für alle quantifizierten Bieraromastoffe die Retentionszeit t_R , die Qualifizierungs- und Quantifizierungs-Ionen (m/z) und der Kalibrierbereich ($\mu\text{g/g}$) angegeben. Ferner wird die Art der Kalibrierkurve sowie deren Bestimmtheitsmaß R^2 und die Relative Standard Deviation RSC (%) aufgeführt.

Tabelle 51: Parameter der HS-Trap-GC-MS Kalibrierung für die Analyse von Bieraromastoffen (Quantifizierungs-Ionen fett; Qualifizierungs-Ionen kursiv)

Analyten	t _R (min)	Qualifizierungs- und Quantifizierungs-Ionen (m/z)	Kalibrier- Bereich (µg/l)	RSD (%)	Kalibrier- kurve	R ²
Alkohole						
2-Methyl-propanol-1	7.76	55, 74	10000 – 80000	5,0	linear	0,9963
2-Methyl-butanol-1	9.60	70, 88	20000 – 160000	4,5	linear	0,9937
3-Methyl-butanol-1						
1-Hexanol	11.76	<i>69, 84, 102</i>	30,0 – 240	3,1	linear	0,9968
1-Heptanol	14.96	<i>70, 98, 116</i>	5,0 – 40,0	3,7	linear	0,9961
1-Octanol	18.62	<i>84, 97, 112, 130</i>	3,0 – 24,0	5,1	linear	0,9957
2-Phenylethanol	20.59	<i>91, 92, 103, 122</i>	5500 – 44000	4,0	linear	0,9985
Furfurylalkohol	12.32	<i>81, 97, 98</i>	375 – 3000	3,1	linear	0,9953
Ester						
Essigsäure-Isopentylester	12.51	70, 87, 130	800 – 6.400	5,5	linear	0,9986
Essigsäure-Hexylester	16.60	84, 101, 111, 115	2,0 – 16,0	7,2	linear	0,9966
Essigsäure-Heptylester	19.82	98, 101, 116, 129	0,5 – 4,0	6,4	linear	0,9926
Essigsäure-Octylester	23.15	<i>84, 112, 116</i>	0,75 – 6,0	5,6	linear	0,9983
Essigsäure-Furfurylester	15.89	<i>81, 98, 99, 140</i>	6,5 – 52,0	6,5	linear	0,9948
Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester	24.88	104, 105, 164	200 – 1.600	2,9	linear	0,9991
Buttersäure-Ethylester	10.37	88, 101, 116	25 – 200	4,7	linear	0,9988
Hexansäure-Ethylester	16.25	99, 101, 115, 144	30,0 – 240	5,8	linear	0,9925
Heptansäure-Ethylester	19.36	101, 113, 131	1,0 – 8,0	5,7	linear	0,9959
Octansäure-Ethylester	22.62	<i>88, 101, 127, 172</i>	60,0 – 480	3,6	(log(x)) ²	0,9990
Nonansäure-Ethylester	25.61	<i>88, 101, 141, 157</i>	0,5 – 4,0	3,3	(log(x)) ²	0,9993
Decansäure-Ethylester	28.56	<i>88, 101, 155, 200</i>	15,0 – 120	3,5	linear	0,9950
Dodecansäure-Ethylester	33.71	<i>88, 101, 157, 228</i>	1,25 – 10	5,2	(log(x)) ²	0,9990
Nicotinsäure-Ethylester	23.79	106, 123, 151	12,0 – 96,0	3,9	(log(x)) ²	0,9991
Phenyllessigsäure-Ethylester	24.47	91, 105, 119, 164	0,5 – 4,0	2,8	linear	0,9960
Organische Säuren						
Hexansäure	16.04	<i>87, 99, 116</i>	750 - 6000	2,7	linear	0,9991
Octansäure	22.15	<i>87, 101, 144</i>	1000 - 8000	4,4	linear	0,9986
Terpene						
Linalool	19.56	121, 136	5,0 – 40,0	3,2	linear	0,9977
α-Humulon	30.98	<i>121, 147, 161, 204</i>	0,5 – 4,0	4,3	linear	0,9922
β-Caryophyllen	29.98	133, 147, 161, 204	0,25 – 2,0	7,1	linear	0,9855
Vinylaromaten						
4-Vinylbenzol (Styrol)	13.15	<i>102, 103, 104</i>	5,0 – 40,0	4,1	linear	0,9985
4-Vinylguajakol	26.75	<i>107, 135, 150</i>	300 – 2400	2,3	linear	0,9951
Lacton						
γ-Nonalacton	28.34	85, 99, 156	10,0 – 80,0	2,7	linear	0,9995
Interner Standard						
Heptansäuremethylester	17.07	<i>101, 113, 115</i>	500	----	----	----
Linalool-D3	19.56	124, 139	60,0	----	----	----

In den Abbildungen 21 – 22 werden die Kalibriergeraden für die Bestimmung von Essigsäure-Isopentylester und 2-Methyl-propanol in Bier dargestellt. Die weiteren Kalibriergeraden für die Analyse der Aromastoffe in Bier befinden sich im Anhang.

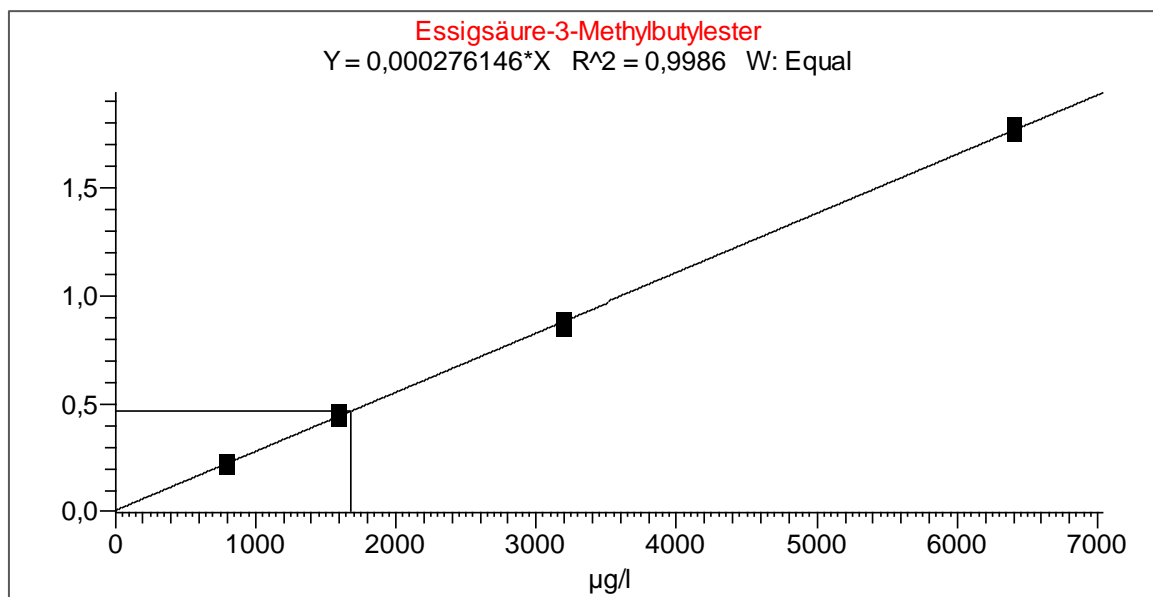


Abbildung 21: Kalibriergerade für Essigsäure-Isopentylester (HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse)

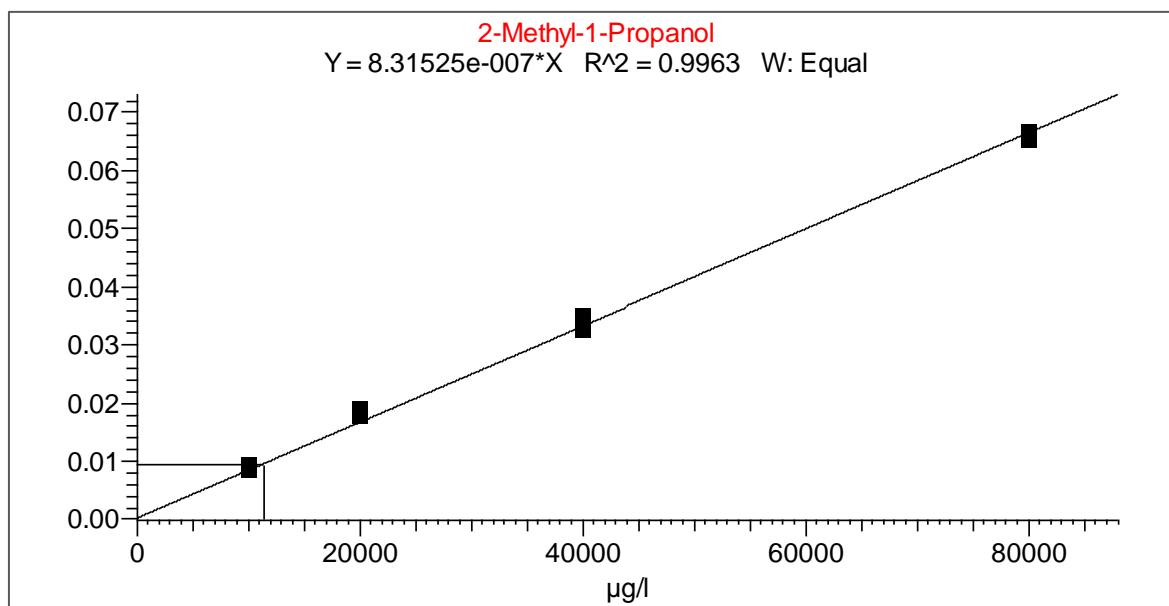


Abbildung 22: Kalibriergerade für 2-Methyl-propanol (HS-Trap-GC-MS Methode zur Bieranalyse)

4.3 Auswertung der HS-Trap-GC-MS Analysen

4.3.1 Hopfenproben – Chromatographische Auswertung der HS-Trap-GC-MS Analysen

Durch die HS-Trap-GC-MS Analyse und die konventionelle Hopfenölanalyse (EBC) wurden in den Hopfenproben 65 flüchtige Komponenten identifiziert (Abbildung 23). Zur Peak-Identifizierung wurden Referenzverbindungen und die Retentionsindices nach Kovats herangezogen (Tabelle 52). Der Retentionsindex ist charakteristisch für eine Probensubstanz und hängt von der Temperatur und der stationären Phase ab [Hübschmann, 2009]. Die Identifizierung der Substanzen wurde ferner durch die NIST MS Search 2.0 Datenbank unterstützt.

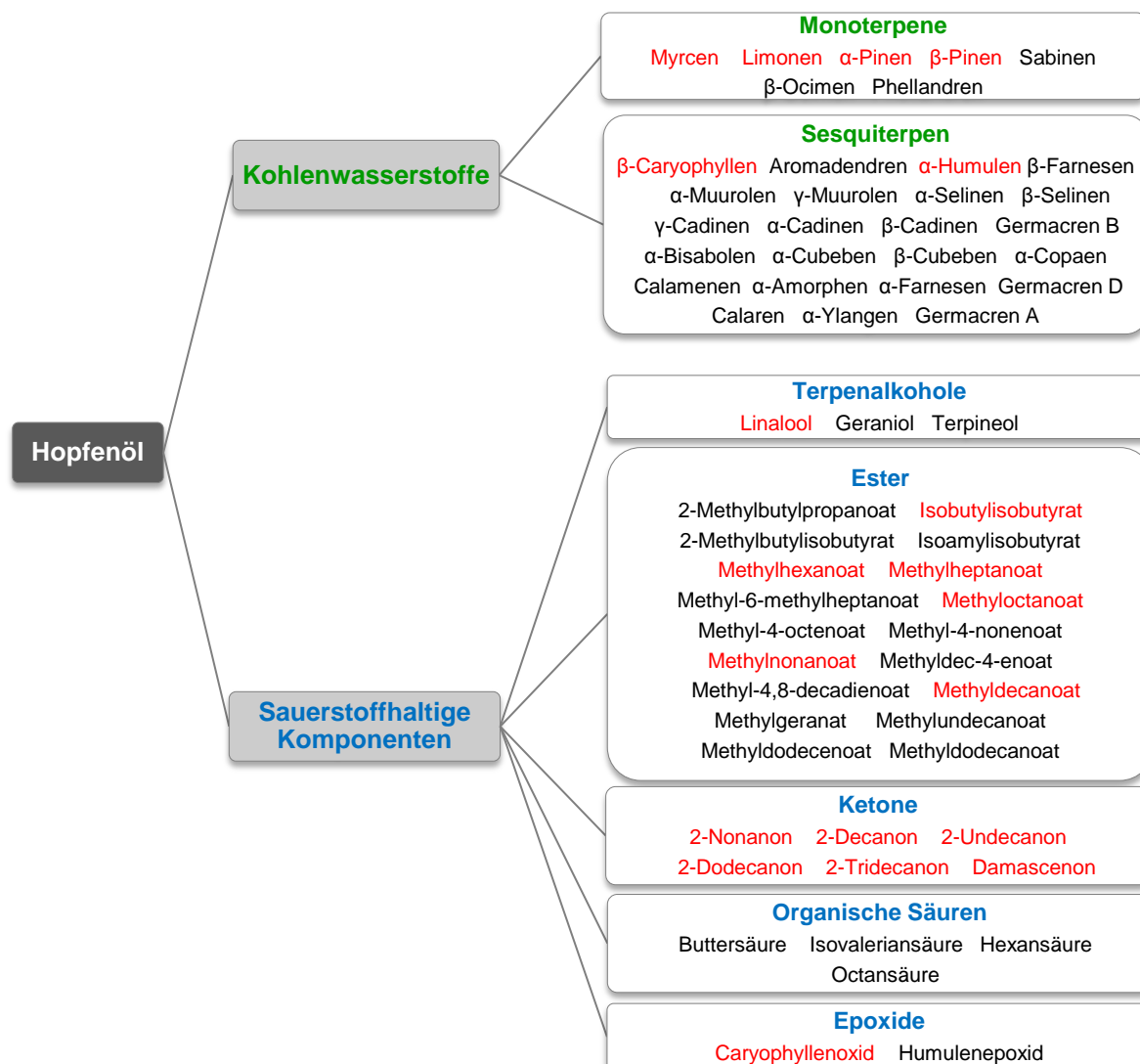


Abbildung 23: Übersicht der analysierte Komponenten in Hopfen mittels HS-Trap-GC-MS Methode

Zwanzig der Verbindungen wurden mittels analytischer Kalibrierkurven quantitativ ausgewertet. Diese sind in der Abbildung 23 rot markiert. Farnesen wurde nicht quantifiziert, da für diese Substanz kein Standard zur Verfügung stand. Ein Beispielchromatogramm der HS-Trap-GC-MS Methode ist für die Hopfensorte „Hallertauer Magnum“ nachfolgend dargestellt. Die Peaks der analysierten Komponenten sind in dem Chromatogramm gekennzeichnet.

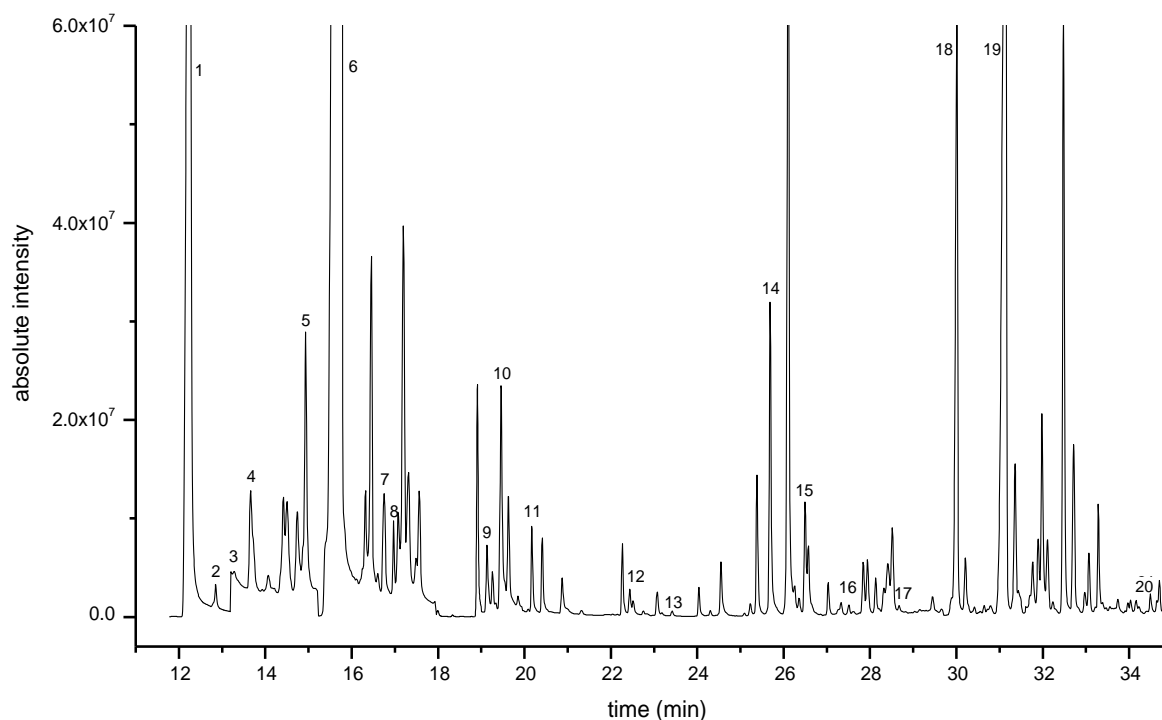


Abbildung 24: HS-Trap-GC-MS Analyse einer Hopfenprobe der Sorte „Hall. Magnum“ [Aberl und Coelhan, 2012]

1	IS: n-Nonan	11	Octansäuremethylester
2	Isobutylisobutyrat	12	2-Decanon
3	Hexansäuremethylester	13	Nonansäuremethylester
4	α -Pinen	14	2-Undecanon
5	β -Pinen	15	Decansäuremethylester
6	Myrcen	16	Damascenon
7	Heptansäuremethylester	17	2-Dodecanon
8	Limonen	18	β -Caryophyllen
9	2-Nonanon	19	α -Humulen
10	Linalool	20	Caryophyllenoxid
10a	IS: Linalool-D3		

Die einzelnen Substanzen wurden im SIM-Modus mit Hilfe ihrer spezifischen Massen quantitativ ausgewertet. In den nachfolgenden Abbildungen 25a – 25f werden beispielhaft einzelne SIM-Chromatogramme der oben genannten HS-Trap-GC-MS Analyse der Hopfenprobe „Hallertauer Magnum“ dargestellt.

Tabelle 52: Detektierbare Verbindungen in Hopfen mittel HS-Trap-GC-MS Analyse

RT (min)	RI (DB 5)	M (g/mol)	Verbindung
9.37	789	88	Buttersäure
11.32	843	102	Isovaleriansäure
12.83	879	144	Isobutyrylisobutyrat
13.25	920	130	Methylhexanoat
13.70	936	136	α -Pinen
14.59	968	136	Sabinen
15.13	978	136	β -Pinen
15.23	983	144	2-Methylbutylpropanoat
15.63	993	136	Myrcen
15.82	998	116	Hexansäure
16.59	1002	158	Isoamylisobutyrat
16.74	1008	144	Methylheptanoat
16.92	1014	158	2-Methylbutylisobutyrat
17.16	1026	136	Limonen
17.45	1033	136	β -Phellandren
17.67	1041	136	β -Ocimen
18.86	1068	158	Methyl-6-Methylheptanoat
19.17	1090	142	2-Nonanon
19.49	1102	154	Linalool
20.17	1114	158	Methyloctanoat
20.30	1120	154	α -Terpineol
22.13	1177	144	Octansäure
22.28	1183	156	Methyl-4-octenoat
22.47	1192	170	Methyl-4-nonenoat
22.51	1193	156	2-Decanon
23.42	1208	172	Methylnonanoat
24.84	1236	154	Geraniol
25.55	1286	184	Methyldec-4-enoat
25.65	1291	182	Methyl-4,8-decadienoat
25.70	1294	170	2-Undecanon
26.45	1306	186	Methyldecanoat
26.80	1322	182	Methylgeranat
27.20	1345	204	α -Cubeben
27.55	1367	204	α -Ylangen
27.73	1373	172	Decansäure
27.90	1376	204	α -Copaen
28.50	1391	190	Damascenon
28.70	1396	184	2-Dodecanon
29.06	1410	200	Methylundecanoat
29.96	1432	204	Calaren
30.06	1438	204	β -Caryophyllen
30.28	1454	204	β -Farnesen
30.76	1459	204	β -Cubeben
30.78	1460	204	Aromadendren
31.22	1467	204	α -Humulen
31.28	1469	212	Methyldodecenoat
31.34	1471	204	Germacren D
31.46	1475	198	2-Tridecanon
31.49	1477	204	α -Amorphen
31.53	1479	204	α -Muurolen
31.69	1482	204	α -Selinen
31.75	1483	204	γ -Muurolen
31.85	1488	204	β -Selinen
31.92	1491	204	α -Farnesen
32.05	1500	202	Calamenen
32.17	1509	214	Methyldodecanoat
32.33	1511	204	γ -Cadinen
32.65	1518	204	α -Bisabolen
33.21	1533	204	β -Cadinen
33.70	1555	204	Germacren B
34.27	1579	220	Humulenepoxide
34.50	1609	220	Caryophyllenoxid
36.81	1836	204	Germacren A

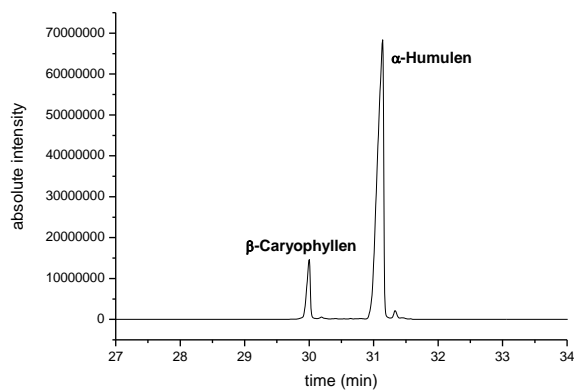


Abbildung 25a: SIM-Chromatogramm für β -Caryophyllen und α -Humulen in Hopfen mit $m/z = 147, 161$ (HS-Trap-GC-MS)

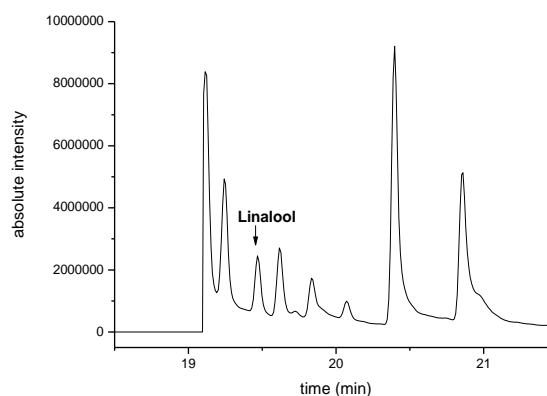


Abbildung 25b: SIM-Chromatogramm für Linalool in Hopfen mit $m/z = 121, 136$ (HS-Trap-GC-MS)

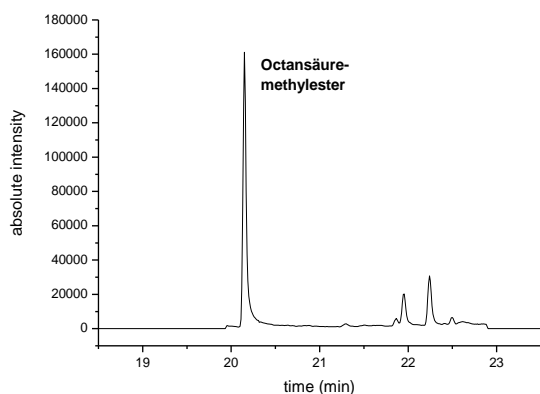


Abbildung 25c: SIM-Chromatogramm für Octansäuremethylester in Hopfen mit $m/z = 158$ (HS-Trap-GC-MS)

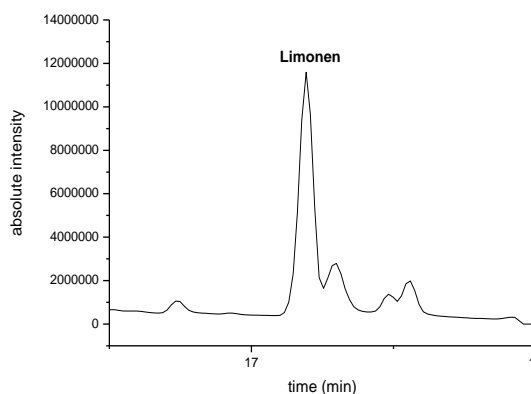


Abbildung 25d: SIM-Chromatogramm für Limonen in Hopfen mit $m/z = 107, 136$ (HS-Trap-GC-MS)

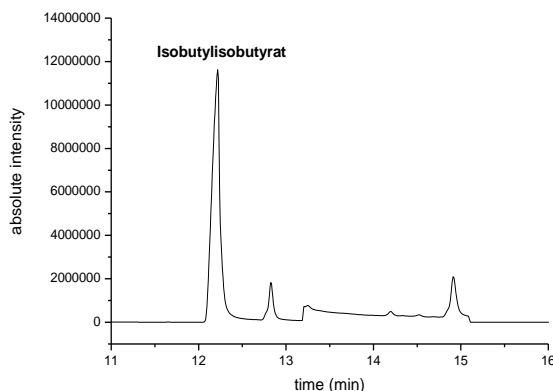


Abbildung 25e: SIM-Chromatogramm für Isobutylisobutyrat in Hopfen mit $m/z = 71, 101$ (HS-Trap-GC-MS)

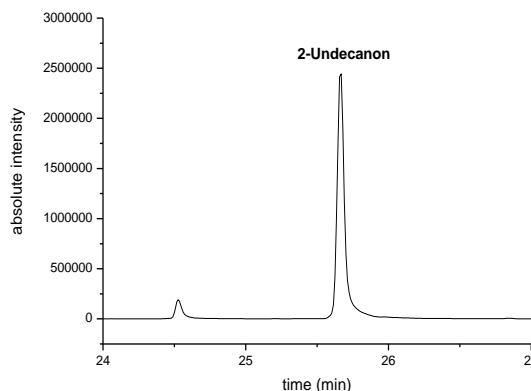


Abbildung 25f: SIM-Chromatogramm für 2-Undecanon in Hopfen mit $m/z = 170$ (HS-Trap-GC-MS)

4.3.2 Bierproben – Chromatographische Auswertung der HS-Trap-GC-MS Analysen

Bei der HS-Trap-GC-MS Analyse der Bierproben konnten 97 verschiedene Verbindungen erkannt werden. Mit analytischspezifischen Kalibrierkurven wurden insgesamt 30 Komponenten quantitativ ausgewertet. Darunter sind: 7 Alkohole, 15 Ester, 2 Organische Säuren, 3 Terpene, 2 Vinylaromaten und 1 Lacton. Nachfolgende Abbildung 26 zeigt ein typisches Chromatogramm einer Bierprobe.

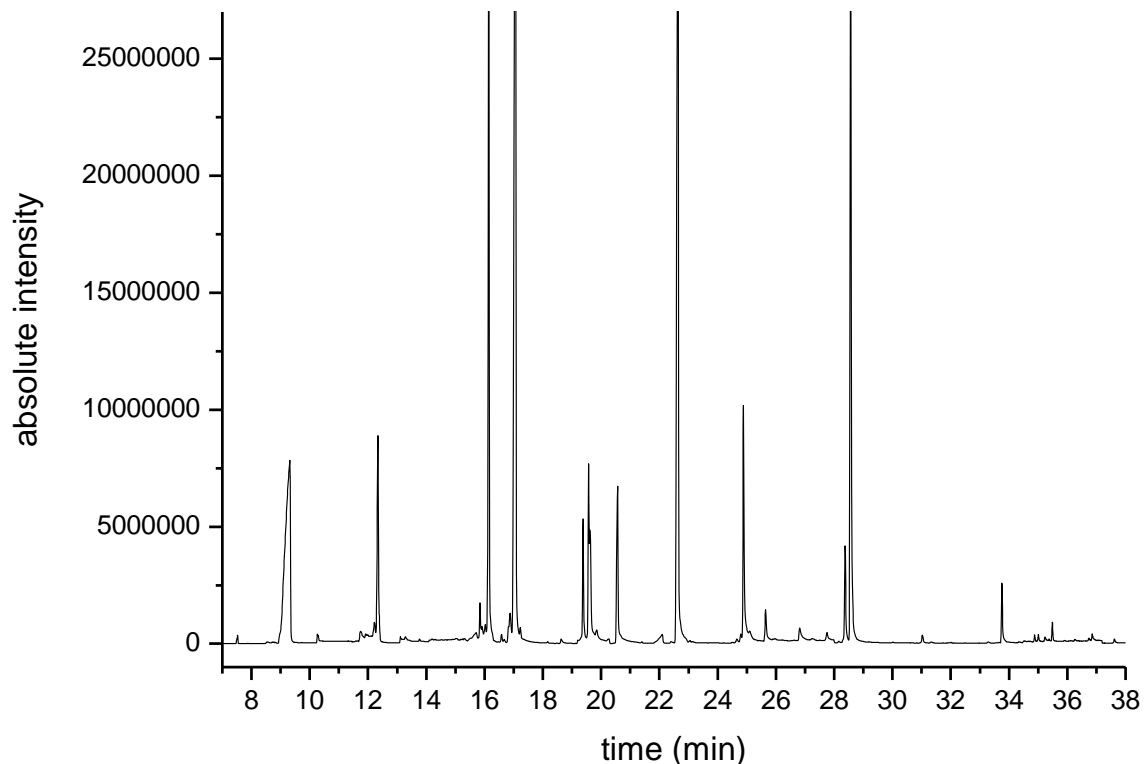


Abbildung 26: HS-Trap-GC-MS Analyse der Bierprobe „Kirner Pils“

RTs	Verbindung	RTs	Verbindung
7.76	2-Methyl-propanol-1	19.56	Linalool
9.60	2-Methyl-butanol-1; 3-Methyl-butanol-1	19.82	Essigsäure-Heptylester
10.37	Buttersäure-Ethylester	20.59	2-Phenylethanol
11.76	1-Hexanol	22.15	Octansäure
12.32	Furfurylalkohol	22.62	Octansäureethylester
12.51	Essigsäure-Isopentylester	23.15	Essigsäure-Octylester
13.15	Styrol	23.79	Nicotinsäureethylester
14.96	1-Heptanol	24.47	Phenyllessigsäureethylester
15.89	Essigsäure-Furfurylester	24.88	2-Phenylethylacetat
16.04	Hexansäure	25.61	Nonansäureethylester
16.25	Hexansäureethylester	26.75	4-Vinylguajakol
16.60	Essigsäure-Hexylester	28.34	Gamma-Nonalacton
17.07	IS: Heptansäuremethylester	28.56	Decansäureethylester
18.62	1-Octanol	29.98	β -Caryophyllen
19.36	Heptansäureethylester	30.98	α -Humulen
19.56	IS: Linalool-D3	33.71	Dodecansäureethylester

Die einzelnen Substanzen wurden im SIM-Modus mit Hilfe ihrer spezifischen Massen quantitativ ausgewertet. Nachfolgend werden beispielhaft einzelne SIM-Chromatogramme der oben genannten HS-Trap-GC-MS Analyse der Bierprobe „Hollедauer Weisses“ dargestellt.

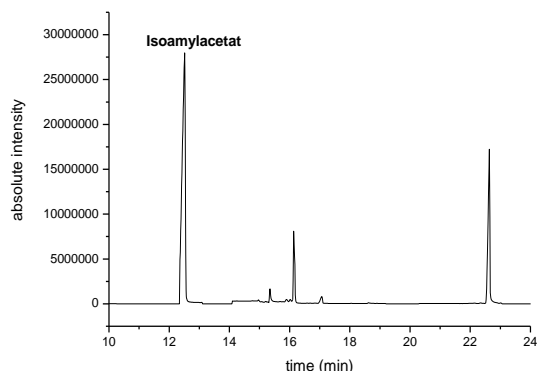


Abbildung 27a: SIM-Chromatogramm für Essigsäure-Isopentylester (Isoamylacetat) in Bier mit $m/z = 70, 130$ (HS-Trap-GC-MS)

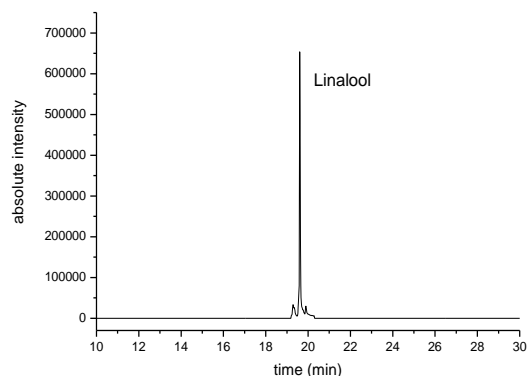


Abbildung 27b: SIM-Chromatogramm für Linalool in Bier mit $m/z = 121, 136$ (HS-Trap-GC-MS)

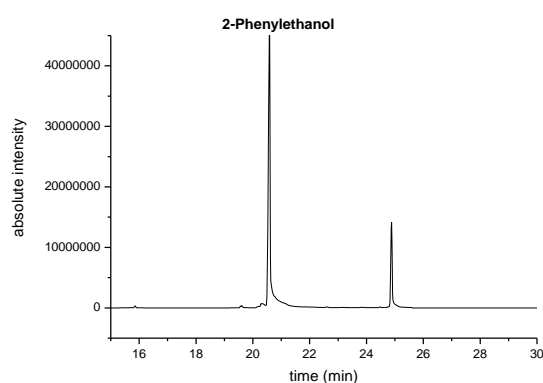


Abbildung 27c: SIM-Chromatogramm für Phenylethanol in Bier mit $m/z = 91, 92, 122$ (HS-Trap-GC-MS)

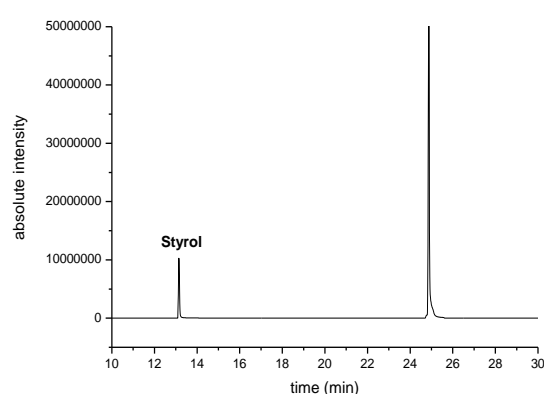


Abbildung 27d: SIM-Chromatogramm für Styrol in Bier mit $m/z = 103, 104$ (HS-Trap-GC-MS)

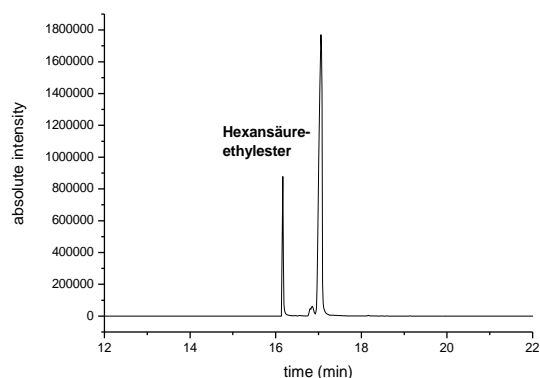


Abbildung 27e: SIM-Chromatogramm für Hexansäureethylester in Bier mit $m/z = 115, 144$ (HS-Trap-GC-MS)

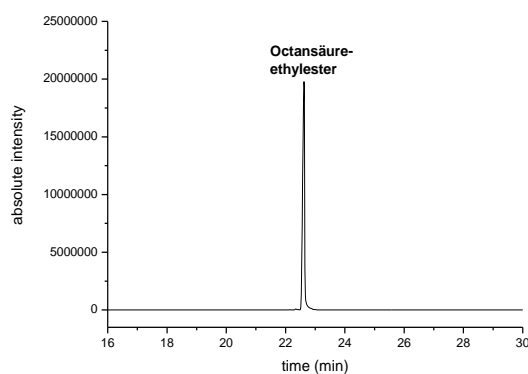


Abbildung 27f: SIM-Chromatogramm für Octansäureethylester in Bier mit $m/z = 127, 172$ (HS-Trap-GC-MS)

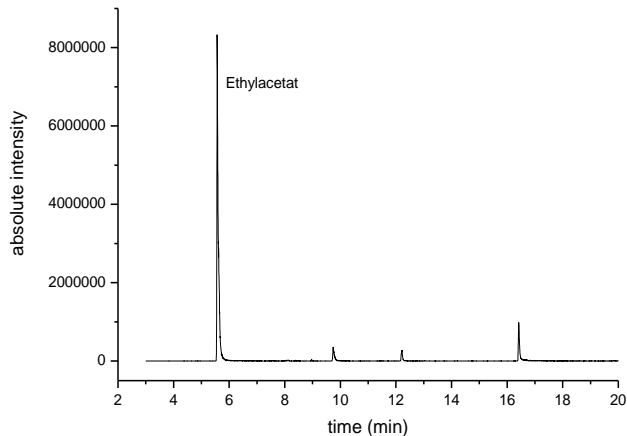


Abbildung 27g: SIM-Chromatogramm für Ethylacetat in Bier mit $m/z = 73, 88$ (HS-Trap-GC-MS)

Die Ester Ethylacetat und Isoamylacetat sind insbesondere für fruchtig-estrigen Weizenbiertypen typisch. Sie können einen leicht lösungsmittelartigen bis bananigen Geschmack hervorrufen [Back, 2008a]. Das charakteristische Ethylacetat mit einem Siedepunkt von $77,1^{\circ}\text{C}$ und einer Retentionszeit von 5,58 min kann mit der HS-Trap-GC-MS Methode eindeutig bestimmt werden. Für die durchgeführten Bieranalysen wurde Ethylacetat nicht detektiert. Um Analysenzeit einzusparen wurde mit der Detektion erst ab einer Retentionszeit von 7,00 min begonnen.

4.4 Validierung der HS-Trap-GC-MS Methode

4.4.1 Präzision der Messergebnisse – Hopfenanalyse

Um die Präzision der HS-Trap-Daten zu beweisen wurde für alle analysierten Komponenten der Variationskoeffizient berechnet. Zu diesem Zweck wurde eine 10-fach-Bestimmung des Hopfens der Sorte „Hallertauer Magnum“ durchgeführt. Wie nachfolgende Tabelle 53 zeigt, bestätigt sich eine gute Wiederholbarkeit der Analysenergebnisse. Die errechneten Werte für die Variationskoeffizienten liegen bei allen Komponenten zwischen 1,3 % und 5,1 %.

Angenommen dass bei der EBC Hopfenöl-Methode, die Wiederfindung für die Summe der analysierten Komponenten bei 100% liegt, variieren die Werte aus der

HS-Trap Methode zwischen 83,4% und 119,4%. Der durchschnittliche Wert für diese relative Wiederfindung liegt dann bei 97,0%.

Tabelle 53: Präzision der HS-Trap Daten am Beispiel der Hopfenanalyse von „Hallertauer Magnum“

	Mittelwert	Standard- abweichung	Variationskoeffizient
	\bar{x} (µg/g)	s (µg/g)	VK (%)
Monoterpene			
α-Pinen	32,4	0,73	2,2
β-Pinen	45,1	0,60	1,3
Myrcen	9525,8	323,0	3,4
Limonen	40,9	0,84	2,1
Sesquiterpene			
β-Caryophyllen	561,2	17,2	3,1
α-Humulen	2462,6	92,5	3,8
Terpenalkohol			
Linalool	32,8	0,85	2,6
Ester			
Isobutylisobutyrat	9,5	0,27	2,8
Hexansäuremethylester	0,8	0,04	4,8
Heptansäuremethylester	31,0	1,07	3,5
Octansäuremethylester	22,0	0,78	3,5
Nonansäuremethylester	16,7	0,63	3,8
Decansäuremethylester	8,9	0,39	4,4
Ketone			
2-Nonanon	6,5	0,33	5,1
2-Decanon	10,9	0,53	4,9
2-Undecanon	44,7	0,79	1,8
2-Dodecanon	25,0	0,67	2,7
2-Tridecanon	136,5	3,40	2,5
Damascenon	9,3	0,36	3,9
Epoxide			
Caryophyllenoxid	436,2	21,4	4,9

4.4.2 Präzision der Messergebnisse – Bieranalyse

Bei der Bieranalyse wurde ebenfalls geprüft, inwieweit eine Übereinstimmung der Messergebnisse bei gleicher Probe und wiederholter Probenaufbereitung vorhanden ist. Hierzu wurde eine 10-fach-Bestimmung der Biersorte „Weihenstephan Original“ mittels HS-Trap-GC-MS Methode durchgeführt.

In der Tabelle 54 sind der Mittelwert, die Standardabweichung sowie der Variationskoeffizient ermittelt worden, welche generell eine gute Wiederholbarkeit der Analyseergebnisse zum Ausdruck bringen. Lediglich bei einzelnen Minor-komponenten, die in geringen Konzentrationen (< 1,0 µg/l) vorliegen, zeigt sich

eine etwas geringere Präzision der Messergebnisse. Dies wird durch den höheren Variationskoeffizienten ($VK \geq 5,5\%$) deutlich.

Tabelle 54: Reproduzierbarkeit der HS-Trap Daten am Beispiel des Bieres „Weihenstephan Original“

	Mittelwert x ($\mu\text{g/l}$)	Standard- abweichung s ($\mu\text{g/l}$)	Variations- koeffizient VK (%)
Alkohole			
2-Methyl-propanol-1	8.494	281	3,3
3-Methyl-butanol-1	41.344	1.684	4,1
1-Hexanol	61,9	2,8	4,5
1-Heptanol	7,2	0,32	4,4
1-Octanol	8,1	0,40	4,9
2-Phenylethanol	21.991	814	3,7
Furfurylalkohol	700	18,1	2,6
Ester			
Essigsäure-Isopentylester	1.788	76,4	4,3
Essigsäure-Hexylester	6,1	0,33	5,3
Essigsäure-Heptylester	0,8	0,05	5,5
Essigsäure-Octylester	1,3	0,07	5,2
Essigsäure-Furfurylester	11,6	0,5	4,7
Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester	571	16,5	2,9
Buttersäure-Ethylester	46,3	1,7	3,7
Hexansäure-Ethylester	83,8	2,5	3,0
Heptansäure-Ethylester	1,89	0,10	5,2
Octansäure-Ethylester	167	5,7	3,4
Nonansäure-Ethylester	0,1	0,01	7,5
Decansäure-Ethylester	22,4	0,8	3,6
Dodecansäure-Ethylester	2,8	0,16	5,8
Nicotinsäure-Ethylester	25,7	1,1	4,4
Phenyllessigsäure-Ethylester	0,9	0,05	5,5
Organische Säuren			
Hexansäure	2.086	76,8	3,7
Octansäure	4.753	209	4,4
Terpene			
Linalool	13,5	0,42	3,1
α -Humulen	0,8	0,05	6,3
β -Caryophyllen	0,3	0,02	7,4
Vinylaromaten			
4-Vinylbenzol (Styrol)	0,1	0,01	9,7
4-Vinylguajakol	281	11,9	4,2
Lacton			
γ -Nonalacton	19,9	0,8	4,1

4.4.3 Überprüfung der Messergebnisse durch Aufstockung

Das Verfahren der Aufstockung wurde angewandt, um die Richtigkeit der gewonnenen Messergebnisse zu überprüfen. Dafür wurde eine 3-Punkt-Aufstockung für alle analysierten Komponenten durchgeführt. Als Basis für die Aufstockung diente ein Referenzbier der Sorte „Weihenstephan Original“. In Abbildung 28 ist ein Aufstockungsdiagramm dargestellt.

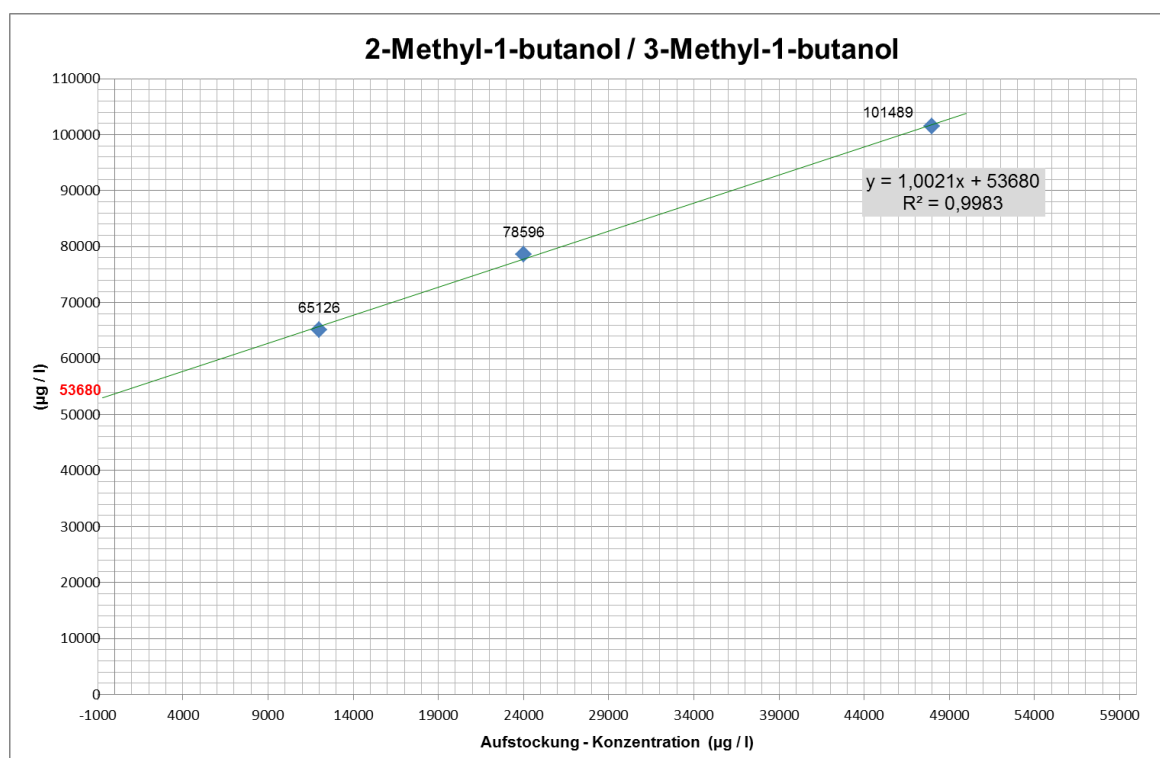


Abbildung 28: Aufstockungsdiagramm für 2-Methyl-1-butanol und 3-Methyl-1-butanol in „Weihenstephan Original“ (Referenzbier)

Aus dem Schnittpunkt der Aufstockungsgerade mit der y-Achse des Diagramms ergibt sich die eigentlich vorhandene Konzentration der untersuchten Komponente. In der nachfolgenden Tabelle 55 werden jeweils die analysierte Konzentration und die Konzentration aus dem Aufstockungsdiagramm gegenübergestellt. Ferner sind die Konzentrationen der drei Aufstockungsniveaus angegeben.

Generell kann eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse aus der Aufstockung und aus der direkten Analyse des Referenzbieres „Weihenstephan Original“ festgestellt werden. Daraus kann geschlossen werden, dass die gewonnenen Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS Analyse annähernd dem wahren Wert im Bier entsprechen.

Tabelle 55: Aufstockung zur Überprüfung der Richtigkeit der Analysenergebnisse am Beispiel des Referenzbieres „Weihenstephan Original“

	Analysierte Konzentration	Konzentration Aufstockungs- diagramm	Aufstock- ung 1	Aufstock- ung 2	Aufstock- ung 3
	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
Alkohole					
2-Methyl-propanol-1	12.031	12.221	6.400	12.800	25.600
2-Methyl-butanol-1	53.158	53.680	12.000	24.000	48.000
3-Methyl-butanol-1					
1-Hexanol	71,2	69,5	40,0	80,0	160,0
1-Heptanol	8,6	8,4	4,0	8,0	16,0
1-Octanol	5,9	6,0	3,0	6,0	12,0
2-Phenylethanol	15.838	15.589	6.000	12.000	24.000
Furfurylalkohol	746	752	250	500	1000
Ester					
Essigsäure-Isopentylester	2.173	2.153	600	1.200	2.400
Essigsäure-Hexylester	3,2	3,0	1,6	3,2	6,4
Essigsäure-Heptylester	1,0	0,9	1,2	2,4	4,8
Essigsäure-Octylester	1,0	1,1	0,6	1,2	2,4
Essigsäure-Furfurylester	14,2	13,9	8,0	16,0	32,0
Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester	548	531	320	640	1.280
Buttersäure-Ethylester	48,6	49,1	24,0	48,0	96,0
Hexansäure-Ethylester	81,6	80,3	40,0	80,0	160,0
Heptansäure-Ethylester	1,7	1,7	0,8	1,6	3,2
Octansäure-Ethylester	129	119	60,0	120,0	240,0
Nonansäure-Ethylester	0,2	0,1	0,2	0,4	0,8
Decansäure-Ethylester	22,1	21,6	20,0	40,0	80,0
Dodecansäure-Ethylester	2,0	1,9	4,0	8,0	16,0
Nicotinsäure-Ethylester	23,2	24,4	16,0	32,0	64,0
Phenyllessigsäure-Ethylester	0,7	0,6	0,8	1,6	3,2
Organische Säuren					
Hexansäure	1.832	1.794	800	1.600	3.200
Octansäure	3.839	3.825	800	1.600	3.200
Terpene					
Linalool	5,1	5,4	2,0	4,0	8,0
α-Humulen	0,6	0,5	0,4	0,8	1,6
β-Caryophyllen	0,2	0,2	0,4	0,8	1,6
Vinylaromaten					
4-Vinylbenzol (Styrol)	0,2	0,1	0,6	1,2	2,4
4-Vinylguajakol	339	344	300	600	1200
Lacton					
γ-Nonalacton	23,2	22,7	24,0	48,0	96,0

4.4.4 Empfindlichkeit bzw. Messgenauigkeit der HS-Trap-GC-MS Analysemethode

Für die Aromastoffe, welche in niedrigen Konzentrationen in Hopfen vorkommen, wurden folgende quantifizierbare Bestimmungsgrenzen (BSG) ermittelt: α -Pinen (BSG: 1,4 $\mu\text{g/g}$); β -Pinen (BSG: 1,8 $\mu\text{g/g}$); Isobutylisobutrat (BSG: 0,8 $\mu\text{g/g}$); Hexansäuremethylester (BSG: 0,4 $\mu\text{g/g}$); Decansäuremethylester (BSG: 1,0 $\mu\text{g/g}$); 2-Nonanon (BSG: 0,5 $\mu\text{g/g}$); 2-Decanon (BSG: 0,8 $\mu\text{g/g}$) und Damascenon (BSG: 1,2 $\mu\text{g/g}$). Die mittels der HS-Trap-Technik gewonnenen Analyseergebnisse für die Hopfenaromastoffe lagen jeweils über den angegebenen Bestimmungsgrenzen. Die zur Analyse verwendete Menge von 20 mg Hopfenextrakt ist ausreichend um auch die Bestandteile mit niedrigen Konzentrationen nachzuweisen. Es ist zu berücksichtigen, dass 20 mg des Hopfenextraktes, welche vor der HS-Trap-Messung mit 5 ml Reinstwasser verdünnt wurden, einer Hopfenmenge von 2 mg pro 5 ml entsprechen. Dies spricht für die hohe Empfindlichkeit dieser Methode. Die Empfindlichkeit der HS-Trap-Methode könnte gegebenenfalls durch die Zugabe von NaCl in das HS-Vial und durch eine Erhöhung der Hopfenextraktmenge noch weiter erhöht werden. Dies hätte zur Folge, dass andere bisher nicht detektierbare Komponenten, die in sehr niedrigen Konzentrationen vorliegen, unter Umständen auch nachgewiesen werden können. Eine Erhöhung der Anzahl der Trap-Zyklen auf 3 oder 4 bringt erwiesenermaßen keinen positiven Effekt.

Für die Bieraromastoffe, welche in sehr niedrigen Konzentrationen in den analysierten Bieren vorkommen, wurden folgende Bestimmungsgrenzen ermittelt: Essigsäureheptylester (BSG: 0,3 $\mu\text{g/l}$), Essigsäureoctylester (BSG: 0,4 $\mu\text{g/l}$), Phenylessigsäureethylester (BSG: 0,2 $\mu\text{g/l}$), Nonansäureethylester (BSG: 0,1 $\mu\text{g/l}$), β -Caryophyllen (BSG: 0,1 $\mu\text{g/l}$), α -Humulen (0,2 $\mu\text{g/l}$) und Styrol (BSG: 0,1 $\mu\text{g/l}$). Bei einem Probenvolumen von 5,0 ml Bier wurden jeweils 2,0 g NaCl zugesetzt um die Empfindlichkeit weiter zu erhöhen und die Substanzen mit niedrigen Konzentrationen von weniger als 0,5 $\mu\text{g/l}$ zuverlässig analysieren zu können. Eine Erhöhung der Anzahl der Trap-Zyklen auf 3 oder 4 brachte nachweisbar nicht den gewünschten Effekt. Die Qualität des Chromatogramms verschlechterte sich dadurch.

4.5 Vergleich der Analyseergebnisse von HS-Trap- und Hopfenölanalyse

4.5.1 Dichtebestimmung von Hopfenöl

Da bei der Destillation des Hopfens die gewonnene Hopfenölmenge in ml abgemessen wird und das Ergebnis aber in $\mu\text{g/g}$ anzugeben ist, wird eine Umrechnung über die Dichte erforderlich. Zu diesem Zweck wurde die Dichte für sieben verschiedene Hopfensorten mittels Pyknometer, bei 20°C , bestimmt. Aus den 17 verschiedenen Werten ergibt sich ein Mittelwert für die Dichte des Hopfenöls von $0,8215 \text{ g/ml}$. Alle gewonnenen Hopfenölmengen (ml) wurden mit diesem Wert in die Einheit $\mu\text{g/g}$ umgerechnet.

Tabelle 56: Dichtebestimmung von Hopfenöl verschiedener Sorten, mittels Pyknometer (bei 20°C)

Hopfensorte	Dichte 1 g/ml	Dichte 2 g/ml	Dichte 3 g/ml
A	0,8231	0,8232	
B	0,8525	0,8524	
C	0,8159	0,8164	0,8172
D	0,8239	0,8243	
E	0,8027	0,8022	
F	0,8132	0,8144	0,8148
G	0,8236	0,8226	0,8224
Mittelwert	0,8215		

Wie aus der Tabelle 56 ersichtlich ist, gibt es große Unterschiede bei den Dichten der verschiedenen Hopfenöle. Die Werte für die Dichte bewegen sich bei den gemessenen Hopfenölen zwischen $0,8022 \text{ g/ml}$ und $0,8525 \text{ g/ml}$. Die Dichte ist abhängig von der Zusammensetzung des Hopfens und wird maßgeblich durch die Anteile der konzentrationsstarken Komponenten bestimmt. Die Tabelle 57 zeigt für drei verschiedenen Hopfensorten „Slovenia Bobek“, „Slovenia Aurora“ und „Hallertau Hallertauer Magnum“ wie sich die Konzentrationsunterschiede von Myrcen, β -Caryophyllen, α -Humulen und Caryophyllenoxid jeweils auf die Dichte des Hopfenöls auswirken. Die anderen Hopfenölkomponenten werden aufgrund ihrer niedrigeren Konzentrationen weniger stark ins Gewicht fallen. Die Sorte „Hallertau Hallertauer Magnum“ hat bei höheren Konzentrationen der aufgeführten Einzelkomponenten eine höhere Dichte als die Sorten „Bobek“ oder „Aurora“. Diese beiden wiederum haben aufgrund ähnlicher Konzentrationen der Hauptkomponenten auch eine ähnliche Dichte aufzuweisen.

Tabelle 57: Vergleich der Dichte von Hopfenölen verschiedener Sorten, bezugnehmend auf die Konzentrationen ihrer Hauptkomponenten im Hopfen

Aroma- komponenten	Molare Masse g/mol	SL-BO (2)	SL-AU (1)	HHM (3)
		<u>Dichte Hopfenöl</u> 0,8203 g/ml	<u>Dichte Hopfenöl</u> 0,8211 g/ml	<u>Dichte Hopfenöl</u> 0,8452 g/ml
		Konzentration µg/g Hopfen	Konzentration µg/g Hopfen	Konzentration µg/g Hopfen
Myrcen	136	5119	4158	9265
β-Caryophyllen	204	489	513	1115
α-Humulen	204	1513	1635	3769
Caryophyllenoxid	220	127	89,4	213

Durch die individuelle Zusammensetzung hat jedes Hopfenöl eine andere Dichte. Um einen absolut korrekten Umrechnungswert von ml/g auf µg/g zu erhalten, müsste jeweils mit der sortenspezifischen Dichte gerechnet werden. In der vorliegenden Arbeit konnte nicht für jede Hopfensorte eine Dichtebestimmung durchgeführt werden, da in den meisten Fällen die dafür erforderliche Hopfenölmenge nicht vorhanden war. Sortenunabhängig wurden mit dem aus Tabelle 56 ermittelten Mittelwert von 0,8215 g/ml die Ergebnisse umgerechnet. Aus den zugrunde liegenden Werten ergibt sich eine Standardabweichung $s = 0,0131$ g/ml und ein Variationskoeffizient von 1,59%. Der sich aus dieser Vorgehensweise ergebende Fehler liegt somit in einem akzeptablen Rahmen. In der Literatur gibt es bisher keine umfassenden Angaben zu den unterschiedlichen Dichten der verschiedenen Hopfenöle.

4.5.2 Gegenüberstellung der Analysenergebnisse

In den nachfolgenden Tabellen 58 und 59 werden für eine Auswahl an verschiedenen Aroma- und Bitterhopfen die Analysenergebnisse der HS-Trap- und der destillativen Hopfenölmethode (EBC) miteinander verglichen. Aufgeführt sind die Konzentrationen an Hopfenaromastoffen (µg/g luftgetrockneten Hopfen) sowie die korrespondierende Menge an Hopfenöl. Der Ergebnisvergleich von den weiteren Hopfenproben findet sich im Anhang.

Tabelle 58: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für ausgewählte **Bitterhopfen** – die Konzentrationen (\pm Abweichung) werden als Mittelwert einer Doppelbestimmung angegeben [Aberl und Coelhan, 2012]

	HHS (1)		HHM (1)		HMR (1)		ENU (1)	
	Öl: 13365 $\mu\text{g/g}$		Öl: 17408 $\mu\text{g/g}$		Öl: 20378 $\mu\text{g/g}$		Öl: 17820 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	17,0 \pm 0,2	12,6 \pm 0,3	20,2 \pm 0,2	15,7 \pm 0,2	18,0 \pm 0,2	14,3 \pm 0,1	14,5 \pm 0,1	10,2 \pm 0,1
β -Pinen	27,6 \pm 0,2	17,7 \pm 0,1	31,4 \pm 0,2	24,6 \pm 0,3	37,0 \pm 0,3	31,8 \pm 0,4	29,1 \pm 0,2	22,8 \pm 0,1
Myrcen	7269 \pm 64	6429 \pm 88	9644 \pm 71	10494 \pm 75	7802 \pm 69	8431 \pm 62	8648 \pm 82	8596 \pm 75
Limonen	31,7 \pm 0,3	28,2 \pm 0,2	42,6 \pm 0,5	37,3 \pm 0,1	35,2 \pm 0,3	34,1 \pm 0,4	38,2 \pm 0,3	29,6 \pm 0,4
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	570 \pm 9	760 \pm 18	966 \pm 11	1518 \pm 16	972 \pm 10	2311 \pm 31	1253 \pm 12	1428 \pm 21
α -Humulen	2098 \pm 13	2714 \pm 21	3562 \pm 24	4465 \pm 29	3258 \pm 21	4339 \pm 31	2881 \pm 19	3103 \pm 22
Terpenalkohol								
Linalool	30,9 \pm 0,3	25,9 \pm 0,1	40,3 \pm 0,5	38,6 \pm 0,5	124 \pm 0,8	103 \pm 0,8	87,6 \pm 0,5	72,5 \pm 0,7
Ester								
Isobutylisobutyrat	63,5 \pm 0,5	56,1 \pm 0,3	7,3 \pm 0,1	5,3 \pm 0,0	27,8 \pm 0,2	33,5 \pm 0,2	55,2 \pm 0,4	61,7 \pm 0,5
Hexansäuremethylester	1,7 \pm 0,1	0,9 \pm 0,0	2,9 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	9,2 \pm 0,1	7,0 \pm 0,0	19,5 \pm 0,1	15,4 \pm 0,2
Heptansäuremethylester	34,2 \pm 0,3	30,8 \pm 0,2	27,4 \pm 0,3	24,5 \pm 0,2	35,7 \pm 0,4	32,4 \pm 0,3	56,4 \pm 0,4	49,1 \pm 0,5
Octansäuremethylester	41,8 \pm 0,5	37,3 \pm 0,2	33,3 \pm 0,4	28,9 \pm 0,3	30,4 \pm 0,2	23,0 \pm 0,2	70,9 \pm 0,7	64,5 \pm 0,8
Nonansäuremethylester	40,8 \pm 0,4	30,3 \pm 0,6	32,4 \pm 0,4	26,5 \pm 0,5	19,8 \pm 0,2	12,8 \pm 0,1	40,8 \pm 0,3	35,2 \pm 0,1
Decansäuremethylester	9,6 \pm 0,2	10,9 \pm 0,1	21,6 \pm 0,3	25,3 \pm 0,2	19,3 \pm 0,1	21,5 \pm 0,1	29,0 \pm 0,2	30,6 \pm 0,4
Ketone								
2-Nonanon	23,4 \pm 0,2	20,7 \pm 0,2	10,2 \pm 0,1	9,3 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	5,7 \pm 0,2	0,7 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0
2-Decanon	29,5 \pm 0,1	27,8 \pm 0,1	13,0 \pm 0,1	10,8 \pm 0,1	13,7 \pm 0,2	11,5 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	2,2 \pm 0,0
2-Undecanon	64,6 \pm 0,2	58,2 \pm 0,1	48,9 \pm 0,4	50,4 \pm 0,1	84,8 \pm 0,6	76,9 \pm 0,4	49,6 \pm 0,3	48,3 \pm 0,2
2-Dodecanon	25,4 \pm 0,1	26,5 \pm 0,3	34,1 \pm 0,1	35,2 \pm 0,2	35,5 \pm 0,4	42,6 \pm 0,1	30,3 \pm 0,2	33,4 \pm 0,3
2-Tridecanon	66,3 \pm 0,7	73,9 \pm 0,5	138 \pm 1,4	146 \pm 1,3	157 \pm 1,6	180 \pm 1,9	165 \pm 1,7	187 \pm 2,2
Damascenon	6,9 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	9,8 \pm 0,1	10,8 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2	15,3 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	194 \pm 2,5	47,6 \pm 0,5	359 \pm 4,2	96,7 \pm 1,1	529 \pm 4,4	120 \pm 1,5	211 \pm 2,4	59,8 \pm 0,7

Tabelle 59: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für ausgewählte **Aromahopfen** – die Konzentrationen (\pm Abweichung) werden als Mittelwert einer Doppelbestimmung angegeben [Aberl und Coelhan, 2012]

	HSE (1)		HPE (1)		HHA (1)		HSR (1)	
	Öl: 9735 $\mu\text{g/g}$		Öl: 12210 $\mu\text{g/g}$		Öl: 9240 $\mu\text{g/g}$		Öl: 7755 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	10,1 \pm 0,1	6,3 \pm 0,2	10,2 \pm 0,2	7,3 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	8,1 \pm 0,2	5,2 \pm 0,1
β -Pinen	19,4 \pm 0,2	14,5 \pm 0,3	28,3 \pm 0,3	20,2 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	11,0 \pm 0,1	14,3 \pm 0,2	11,7 \pm 0,2
Myrcen	4947 \pm 34	4743 \pm 43	5081 \pm 39	4123 \pm 33	3935 \pm 29	3215 \pm 23	3083 \pm 32	2783 \pm 29
Limonen	24,5 \pm 0,3	17,7 \pm 0,2	23,3 \pm 0,2	18,8 \pm 0,2	16,6 \pm 0,1	10,9 \pm 0,0	18,8 \pm 0,1	15,3 \pm 0,2
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	342 \pm 8	521 \pm 10	1339 \pm 13	1674 \pm 15	483 \pm 9	886 \pm 12	204 \pm 5	520 \pm 11
α -Humulen	783 \pm 11	985 \pm 12	4464 \pm 39	4512 \pm 31	1855 \pm 17	2537 \pm 24	853 \pm 15	1208 \pm 16
Terpenalkohol								
Linalool	77,7 \pm 1,2	74,2 \pm 0,5	23,3 \pm 0,4	22,1 \pm 0,2	54,8 \pm 0,7	41,6 \pm 0,3	57,6 \pm 0,5	42,7 \pm 0,3
Ester								
Isobutylisobutyrat	3,5 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	21,8 \pm 0,3	27,9 \pm 0,3	9,3 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	8,5 \pm 0,2	7,1 \pm 0,1
Hexansäuremethylester	1,6 \pm 0,0	1,3 \pm 0,0	3,4 \pm 0,0	2,8 \pm 0,0	2,1 \pm 0,0	1,8 \pm 0,0	3,1 \pm 0,1	2,5 \pm 0,0
Heptansäuremethylester	13,4 \pm 0,3	12,5 \pm 0,2	13,5 \pm 0,2	10,5 \pm 0,3	7,3 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	12,9 \pm 0,1	10,5 \pm 0,1
Octansäuremethylester	6,5 \pm 0,0	6,1 \pm 0,1	15,1 \pm 0,2	13,5 \pm 0,1	9,7 \pm 0,2	6,1 \pm 0,1	22,8 \pm 0,2	15,7 \pm 0,5
Nonansäuremethylester	7,8 \pm 0,1	6,6 \pm 0,0	15,6 \pm 0,1	13,1 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	5,9 \pm 0,0	22,2 \pm 0,2	16,0 \pm 0,3
Decansäuremethylester	2,3 \pm 0,1	1,7 \pm 0,0	3,4 \pm 0,0	3,7 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	10,7 \pm 0,1	12,4 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	11,3 \pm 0,1	10,3 \pm 0,1	10,0 \pm 0,0	9,2 \pm 0,0	8,8 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	21,6 \pm 0,4	18,5 \pm 0,3
2-Decanon	14,3 \pm 0,2	13,5 \pm 0,1	15,8 \pm 0,1	13,2 \pm 0,1	14,4 \pm 0,1	12,7 \pm 0,0	29,6 \pm 0,3	26,1 \pm 0,1
2-Undecanon	50,9 \pm 0,5	49,7 \pm 0,5	49,2 \pm 0,2	48,1 \pm 0,3	51,3 \pm 0,4	49,1 \pm 0,3	111 \pm 0,7	91,0 \pm 0,4
2-Dodecanon	18,7 \pm 0,1	21,6 \pm 0,1	24,9 \pm 0,1	27,5 \pm 0,2	17,5 \pm 0,1	15,4 \pm 0,1	35,8 \pm 0,1	36,6 \pm 0,2
2-Tridecanon	86,7 \pm 0,7	105 \pm 0,8	91,4 \pm 0,8	99,6 \pm 0,9	54,8 \pm 0,5	57,3 \pm 0,6	123 \pm 1,2	132 \pm 2,0
Damascenon	4,1 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1	9,0 \pm 0,2	9,6 \pm 0,1	5,8 \pm 0,0	6,3 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	103 \pm 1,1	93,4 \pm 0,9	238 \pm 4,5	84,0 \pm 0,8	294 \pm 4,8	174 \pm 2,0	246 \pm 3,2	182 \pm 1,6

4.5.3 Interpretation der Analysenergebnisse anhand der Korrelationskoeffizienten und Siedepunkte

Für die Mehrheit der Komponenten wurde eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der HS-Trap-Methode und der Hopfenölanalysen-Methode gefunden, wie in nachfolgender Tabelle 60 durch die Korrelationskoeffizienten R aufgezeigt wird.

Für Linalool korrelieren die HS-Trap-Ergebnisse und Hopfenöl-Ergebnisse mit $R = 0,9886$. In dem Fall des Monoterpens Myrcen, welches ein Hauptbestandteil des Hopfenöls ist [Sharpe und Laws, 1981], ergibt sich beispielsweise ein Korrelationskoeffizient von $R = 0,9843$.

Tabelle 60: Korrelationskoeffizienten (R) für die Korrelation der Ergebnisse aus HS-Trap- und Hopfenölanalysen-Methode [Aberl und Coelhan, 2012]

	Siedepunkt * (743 mmHg)	R
Monoterpene		
α-Pinen	155-156°C	0,9828
β-Pinen	164-165°C	0,9799
Myrcen	167°C	0,9843
Limonen	177-178°C	0,9803
Sesquiterpene		
β-Caryophyllen	262-264°C **	0,9075
α-Humulen	276°C	0,9577
Terpenalkohol		
Linalool	198-200°C	0,9886
Ester		
Isobutylisobutyrat	147-149°C	0,9833
Hexansäuremethylester	151°C	0,9879
Heptansäuremethylester	173°C	0,9858
Octansäuremethylester	193°C	0,9885
Nonansäuremethylester	213-214°C	0,9818
Decansäuremethylester	224°C **	0,9748
Ketone		
2-Nonanon	192°C **	0,9897
2-Decanon	209-212°C	0,9876
2-Undecanon	228°C	0,9648
2-Dodecanon	247°C **	0,9698
2-Tridecanon	263°C	0,9597
Damascenon	274-275°C	0,9657
Epoxid		
Caryophyllenoxid	280°C	0,6036

* www.merck-chemicals.com; ** www.eusdb.de

Eine Ausnahme stellt das Epoxid Caryophyllenoxid dar, bei dem die Ergebnisse aus HS-Trap- und Hopfenöl-Analyse nur mit $R = 0,6036$ korrelieren. Im Allgemeinen kann man ableiten, dass die Korrelation der Analysenergebnisse vom

Siedepunkt beziehungsweise vom Partialdruck der einzelnen Substanzen abhängt. Generell wurde festgestellt, dass Substanzen mit einem Siedepunkt $< 215^{\circ}\text{C}$ eine bessere Korrelation zwischen den HS-Trap- und den Hopfenöl-Daten aufweisen. Des Weiteren kann man erkennen, dass in den meisten Fällen die Substanzen mit einem relativ niedrigen Siedepunkt mit der HS-Trap-Methode höhere Konzentrationen erzielen als mit der EBC Hopfenöl-Methode (Tabelle 58 und 59). Dies gilt für alle Monoterpene, den Terpenalkohol Linalool, die Ester Isobutylisobutyrate, Hexansäuremethylester, Heptansäuremethylester, Octansäuremethylester, Nonansäuremethylester und die Ketone 2-Nonanon, 2-Decanon sowie 2-Undecanon.

Für Linalool, die Schlüsselkomponente für Hopfenaroma in Bier [Fritsch, 2001], sind die Ergebnisse der HS-Trap-Methode beispielsweise im Durchschnitt um den Faktor 1,2 höher als bei der Hopfenöl-Methode. Linalool hat mit $198 - 200^{\circ}\text{C}$ einen vergleichsweise niedrigen Siedepunkt, was die Einstellung des Verteilungsgleichgewichts zwischen der HS-Probe und der Gasphase begünstigt. Durch den Anreicherungsschritt im Trap-Verfahren kann vermutlich eine nahezu vollständige Extraktion dieser Komponente aus dem Dampfraum über der Probe erreicht werden.

Im Gegensatz dazu, werden für Substanzen mit einem Siedepunkt höher als 224°C bei der Hopfenöl-Methode höhere Analyseergebnisse erzielt. Dies ist zutreffend für alle Sesquiterpene sowie für Decansäuremethylester und für die Ketone 2-Dodecanon, 2-Tridecanon und Damascenon (Abbildung 29).

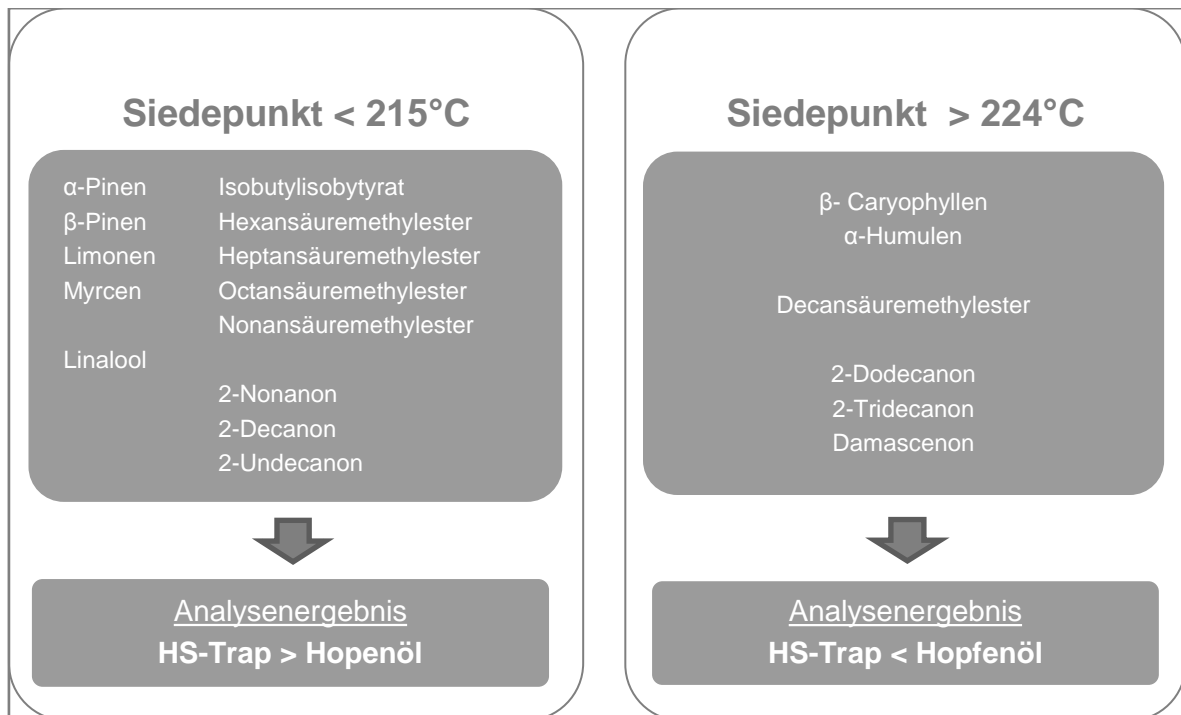


Abbildung 29: Einfluss des Siedepunktes auf das Ergebnis von HS-Trap- und Hopfenöl-Analyse

Ferner ist festzustellen, dass vor allem die α -Humulenkonzentrationen aus der Hopfenölanalyse im Durchschnitt um 30% höher sind, als die Ergebnisse welche mit der HS-Trap-Methode erzielt wurden. Die Abweichungen der Ergebnisse dieser höher siedenden Komponenten könnten verringert werden, wenn für diese Substanzen auch isotopenmarkierte interne Standards zur Verfügung stünden. Wie bereits erwähnt, verhält sich das Epoxid Caryophyllenoxid, welches einen hohen Siedepunkt von 280°C hat, entgegengesetzt zu den übrigen Ergebnissen. In diesem Fall, sind die Ergebnisse der HS-Trap-Analyse um durchschnittlich 2,9-mal höher als die Ergebnisse mit der Hopfenöl-Methode. Aufgrund der geringen Flüchtigkeit dieser Komponente wären eigentlich mit der Hopfenöl-Methode höhere Analysenergebnisse zu erwarten gewesen. Zunächst wurde angenommen, dass während der Herstellung des ethanolischen Hopfenextraktes oder direkt während der Analyse eine Oxidation von Caryophyllen zu Caryophyllenoxid stattfindet. Die HS-Trap-Analyse wird bei einer hohen Desorptionstemperatur von 340°C durchgeführt um eine vollständige Desorption der an dem Trap-Material adsorbierten Komponenten sicherzustellen. Das HS-Trap-Modul befindet sich jedoch in einem inerten Zustand, so dass in dem Adsorbent-Trap die Gegenwart von Sauerstoff ausgeschlossen werden kann. Ein Temperaturtest mit einer Caryophyllen- und Caryophyllenoxidlösung zeigte, dass

weder bei der Hopfenextraktherstellung im temperierten Ultraschallbad noch während der Analyse selbst eine Oxidation zu Caryophyllenoxid stattgefunden hat (Tabelle 61). Die Veränderung der relativen Flächen liegt hierbei jeweils unter 5%.

Tabelle 61: Temperaturversuch für Caryophyllen und Caryophyllenoxid im GC-Ofen (100°C)

	Zeit (Temperierung)	Relative Fläche
Caryophyllen Probe 1	0 h	0,151
Caryophyllen Probe 2	0 h	0,155
Caryophyllenoxid Probe 1	0 h	0,223
Caryophyllenoxid Probe 2	0 h	0,225
Caryophyllen Probe 1	4 h	0,148
Caryophyllen Probe 2	4 h	0,153
Caryophyllenoxid Probe 1	4 h	0,218
Caryophyllenoxid Probe 2	4 h	0,232

4.6 Auswirkungen der Wasserdampfdestillation auf die Zusammensetzung des Hopfenöls

4.6.1 Resultate aus dem Re-Destillationsversuch von Hopfenöl

Um die Auswirkungen der Wasserdampfdestillation auf die Zusammensetzung des Hopfenöls zu untersuchen, wurden drei verschiedene Hopfenproben der Sorten „Slovenia Bobek“ und „Hallertauer Magnum“ einem Re-Destillationsversuch unterzogen. Dieser wurde jeweils in Doppelbestimmung ausgeführt. Dabei wurde ermittelt inwieweit die Konzentration einzelner Hopfenölkomponenten bei der Destillation abnimmt. Um die Veränderung der Konzentrationen zu berechnen wurden jeweils die relativen Flächen aus der Analyse des einmal-destillierten und des re-destillierten Hopfenöls miteinander verglichen (Tabelle 62). Bei der Sorte „Slovenia Bobek“ wurde bei der 1. Destillation eine Hopfölmenge von 0,440 ml gewonnen. Ein Großteil davon wurde für die 2. Destillation eingesetzt. Der Rest wurde analysiert. Aus der Re-Destillation wurde eine Hopfenölmenge von 0,340 ml erhalten. Um die Analyseergebnisse der 2. Destillation mit denen aus der 1. Destillation vergleichen zu können wurden die Ergebnisse auf eine Hopfenölmenge von 0,440 ml umgerechnet, so als wäre bei der Re-Destillation das gesamte Hopfenöl aus der 1. Destillation eingesetzt worden. Die Ergebnisse belegen, dass die Wiederfindung des Epoxides Caryophyllenoxid durch die Wasserdampfdestillation stark beeinträchtigt wird.

Tabelle 62: Re-Destillationversuch mit der Hopfensorte „Slovenia Bobek“ P45, 2008 (Veränderung der Peakfläche: - Abnahme / + Zunahme)

	Relative Peakfläche 1. Destillation bzgl. 0,440 ml Hopfenölmenge	Relative Peakfläche 2. Destillation bzgl. 0,340 ml Hopfenölmenge	Relative Peakfläche 2. Destillation <u>korrigiert</u> bzgl. 0,440 ml Hopfenölmenge	Veränderung der relative Peakfläche (%)
Monoterpene				
α-Pinen	0,2047	0,1027	0,1329	- 35,1
β-Pinen	0,0387	0,0272	0,0352	- 9,1
Myrcen	4,9346	3,0802	3,9861	- 19,2
Limonen	0,8534	0,5908	0,7645	- 10,4
Sesquiterpene				
β-Caryophyllen	0,8713	0,7322	0,9476	+ 8,8
α-Humulon	2,4018	2,1504	2,7116	+ 12,9
Terpenalkohol				
Linalool	1,0494	0,7616	0,9856	- 6,1
Ester				
Isobutylisobutyrat	0,2898	0,1489	0,1927	- 33,5
Heptansäuremethylester	0,5587	0,3853	0,4986	- 10,8
Octansäuremethylester	1,4505	1,0450	1,3524	- 6,8
Nonansäuremethylester	0,2736	0,1996	0,2583	- 5,6
Decansäuremethylester	0,1292	0,0964	0,1248	- 3,4
Ketone				
2-Nonanon	0,1003	0,0712	0,0921	- 8,2
2-Decanon	0,1546	0,1146	0,1483	- 4,1
2-Undecanon	2,1475	1,6053	2,0775	- 3,3
2-Dodecanon	0,0345	0,0281	0,0364	+ 5,5
2-Tridecanon	0,0122	0,0989	0,0128	+ 4,9
Damascenon	0,8545	0,6910	0,8942	+ 4,6
Epoxide				
Caryophyllenoxid	0,3057	0,1956	0,2531	- 17,2

Nachfolgende Chromatogramme zeigen die Veränderung der Hopfenölzusammensetzung durch die Wasserdampfdestillation am Beispiel der Hopfenölprobe SL-BO nach der ersten und der zweiten Destillation. Analysiert wurde jeweils eine Hopfenöllösung mit einer Konzentration von 800 ng/μl. Anhand der Chromatogramme ist nach der Re-Destillation eine deutliche Verringerung des Myrcen-Peaks und des Caryophyllenoxid-Peaks zu erkennen. Dagegen kann bei dem α-Humulon-Peak und bei dem β-Caryophyllen-Peak eine Zunahme festgestellt werden. Durchschnittlich nimmt die zugegebene Hopfenölmenge nach der 2. Destillation insgesamt um ca. 6 – 7 % ab.

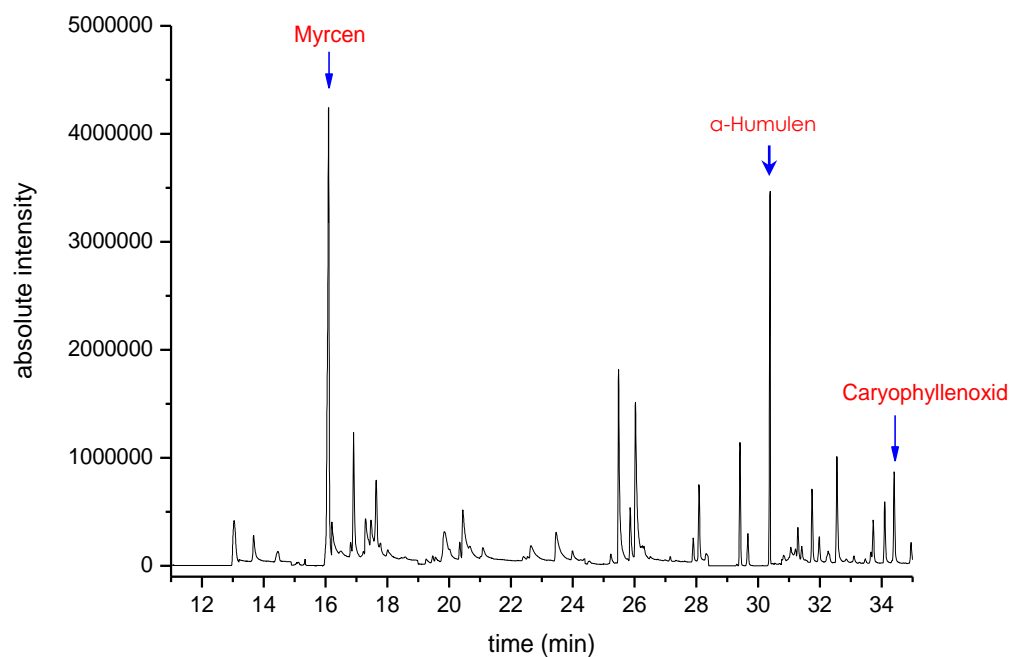


Abbildung 30: Hopfenprobe SL-BO nach der **1. Destillation** (c = 800 ng/ μ l)

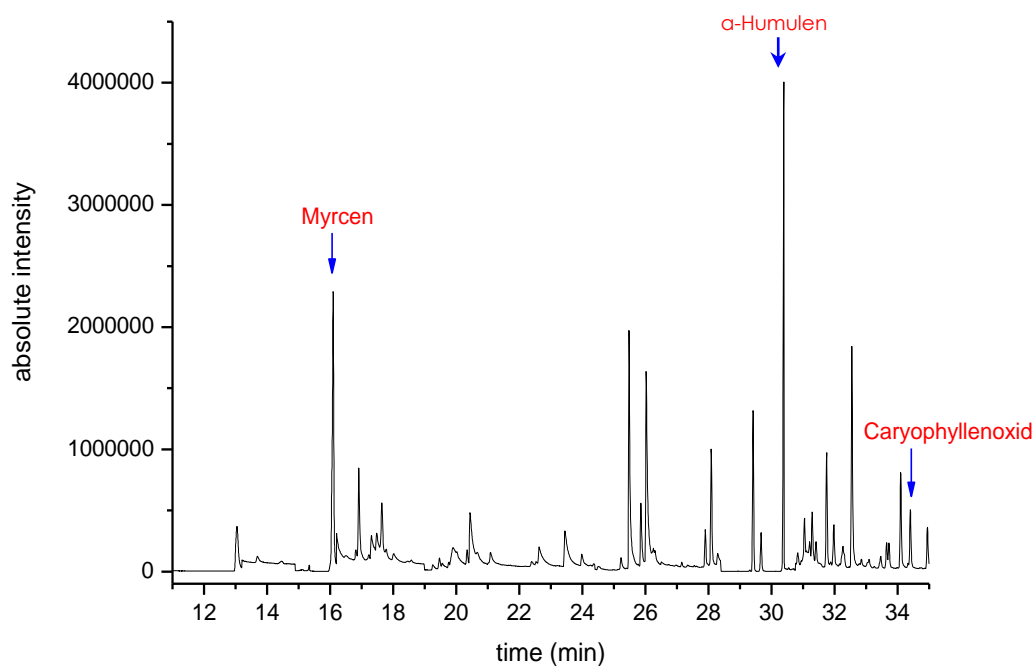


Abbildung 31: Hopfenprobe SL-BO nach der **Re-Destillation** (c = 800 ng/ μ l)

4.6.2 Interpretation der Re-Destillations-Ergebnisse

Der Versuch bestätigt, dass sich Caryophyllenoxid während der Wasserdampfdestillation z.T. zersetzt und sich dessen Gehalt dadurch verringert. Aus diesem Grund werden für Caryophyllenoxid mit der HS-Trap-Methode höhere Konzentrationen gemessen. Analoge Vorgänge sind auch bei anderen Epoxiden anzunehmen. Bei dem Re-Destillationstest wurde ebenfalls festgestellt, dass insbesondere die Konzentrationen der hoch flüchtigen Monoterpene und Ester reduziert werden, in einigen Fällen sogar sehr stark (siehe Tabelle 62). Die größten Verluste traten bei den relativ niedrig siedenden Substanzen α -Pinen, Isobutylisobutyrat und Myrcen auf. Das erklärt auch die höheren HS-Trap-Ergebnisse für diese Substanzen. Die Ergebnisse zeigen, dass im Vergleich zur konventionellen Destillationsmethode die HS-Trap-Methode insbesondere für leichter flüchtige Komponenten, wie Monoterpene und Ester, sowie für Epoxide vorteilhaft ist.

Lam et al. (1986b) entwickelte für Hopfenöl eine schnelle Festphasenlösungsmittelextraktion. Die Zusammensetzung des Hopfenöls aus der „Rapid Solvent Extraction“ (RSE) hat er mit dem Hopfenöl aus der Wasserdampfdestillation verglichen (Tabelle 63). Dabei ist festzustellen, dass die Mengen an Aromakomponenten aus dem RSE-Extrakt zum Teil deutlich höher sind als die des Hopfenöls, welche mittels Wasserdampfdestillation (SD) gewonnen wurden. Bei der Wasserdampfdestillation können nur Verbindungen mit ausreichender Flüchtigkeit aus der Hopfenmischung verdampft und gesammelt werden. Sowohl Hydrophilie als auch eine thermische Zersetzung können die chemische Zusammensetzung des gewonnenen Hopfenöls wesentlich beeinflussen. In der RSE-Methode hängt die Isolierung der Hopfeninhaltsstoffe vor allem von den Verteilungskoeffizienten der Komponenten zwischen dem Elutionslösungsmittel und der Hopfenmatix ab. Die Extraktion bei Raumtemperatur verhindert auch den thermischen Abbau [Lam et al., 1986b].

Tabelle 63: Vergleich der Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) von „Rapid Solvent Extraction“-Methode (RSE) und Wasserdampfdestillation (SD) für verschiedene Hopfensorten [Lam et al., 1986b]

Hopfenöl-komponenten	Cascade		Galena		Styrian		Willamette	
	[$\mu\text{g/g}$]		[$\mu\text{g/g}$]		[$\mu\text{g/g}$]		[$\mu\text{g/g}$]	
	RSE Analyse	SD Analyse	RSE Analyse	SD Analyse	RSE Analyse	SD Analyse	RSE Analyse	SD Analyse
Myrcen	3911	3882	2739	2283	1598	916	2427	2406
Linalool	37,9	40,7	29,7	21,8	39,7	13,7	62,2	46,9
β -Caryophyllen	462	321	902	391	759	329	661	411
Farnesen	800	455	9,8	5,7	632	240	691	352
α -Humulen	1142	870	1775	843	2308	1067	1787	1232
α -Terpineol	40,6	30,7	76,8	41,6	79,9	40,8	54,5	16,7
Citral	91,0	65,2	127	56,0	55,2	27,2	48,4	32,9
Geranylisobutyrat	179	120	198	97,4	53,3	23,3	39,2	23,3
Geraniol	9,1	9,2	10,0	4,4	6,5	7,8	8,1	2,5
Caryophyllenoxid	29,0	5,1	54,1	4,5	17,8	11,4	9,1	1,4
Humulenepoxid I	11,7	2,6	15,1	1,3	10,0	4,3	4,1	0,9
Humulenepoxid II	116	24,6	156,1	11,7	82,2	49,9	37,5	5,6
Humulenepoxid III	3,6	4,1	5,5	3,3	13,1	8,8	7,3	5,1

Die Analysenergebnisse von Lam et al., (1986b) zeigen auf, dass, abhängig von der Hopfensorte, mit der RSE-Methode gegenüber der Wasserdampfdestillation zum Beispiel für Caryophyllenoxid um bis zu 12,0 mal höhere Werte erzielt werden. Ähnlich stellen sich die Ergebnisse für Humulenepoxid I und Humulenepoxid II dar.

Eri et al., (2000), ermittelte für Caryophyllenoxid mit der Wasserdampfdestillation ebenfalls niedrigere Werte im Vergleich zu seiner „Direct Thermal Desorptions“ (DTD) Methode. Abhängig von der Hopfensorte waren die Ergebnisse aus der DTD-Methode um den Faktor 3,9 bis 6,7 höher. Es wurden drei verschiedene Hopfensorten untersucht. Oxidationsprozesse während der Analyse wurden dabei nicht betrachtet. Es wurde angenommen, dass mit der DTD-Methode eine bessere Extraktionsausbeute erreicht werden kann und deshalb eine bessere Wiederfindung von sauerstoffhaltigen Komponenten ermöglicht wird [Eri, 2000]. Eine Zersetzung der Epoxide während der Wasserdampfdestillation wurde weder diskutiert noch durch die Ergebnisse bewiesen.

Rettberg et al. (2012) untersuchte anhand einer Modellösung aus Linalool, Geraniol und Nerol die Veränderung der Zusammensetzung bei der Wasserdampfdestillation in Abhängigkeit von der Zeit (Abbildung 33). Die Terpenalkohole Nerol, Geraniol, Linalool und α -Terpineol sind Strukturisomere, welche ineinander umgewandelt werden können (Abbildung 32). Die Reaktionswege sind in Form der

blauen Pfeile dargestellt. Linalool und α -Terpineol besitzen jeweils ein chirales Zentrum [Rettberg et al., 2012].

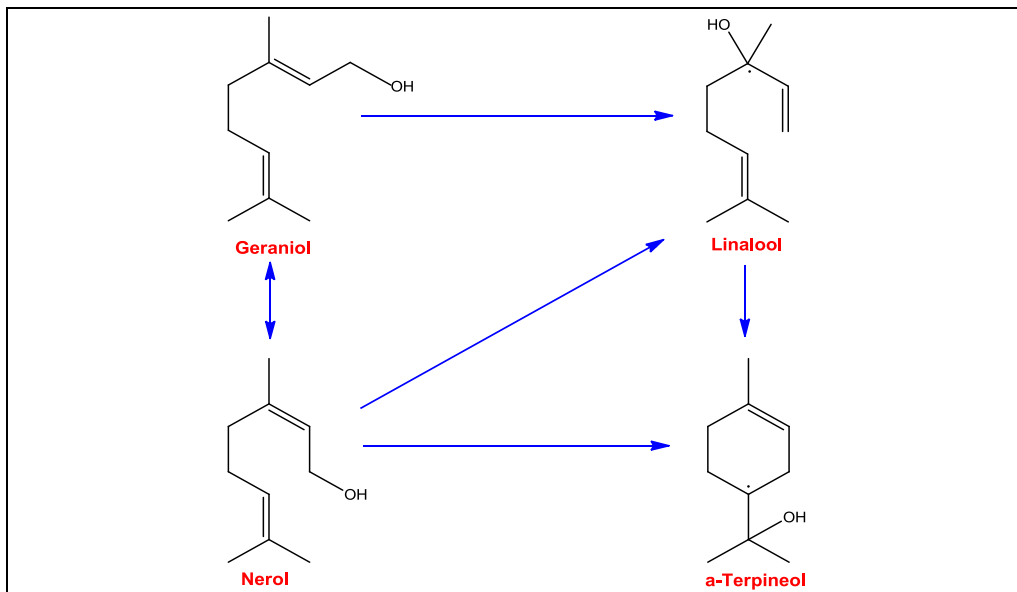


Abbildung 32: Darstellung der Umwandlungswege der strukturisomeren Terpenalkohole Nerol, Geraniol, Linalool und α -Terpineol [Rettberg et al. 2012]

Die Monoterpenalkohole des Hopfenöls unterliegen während der Wasserdampfdestillation Isomerisations- und Oxidationsreaktionen. Damit werden die Komponenten Linalool, Nerol und Geraniol verschiedenen strukturellen Veränderungen ausgesetzt [Rettberg et al. 2012].

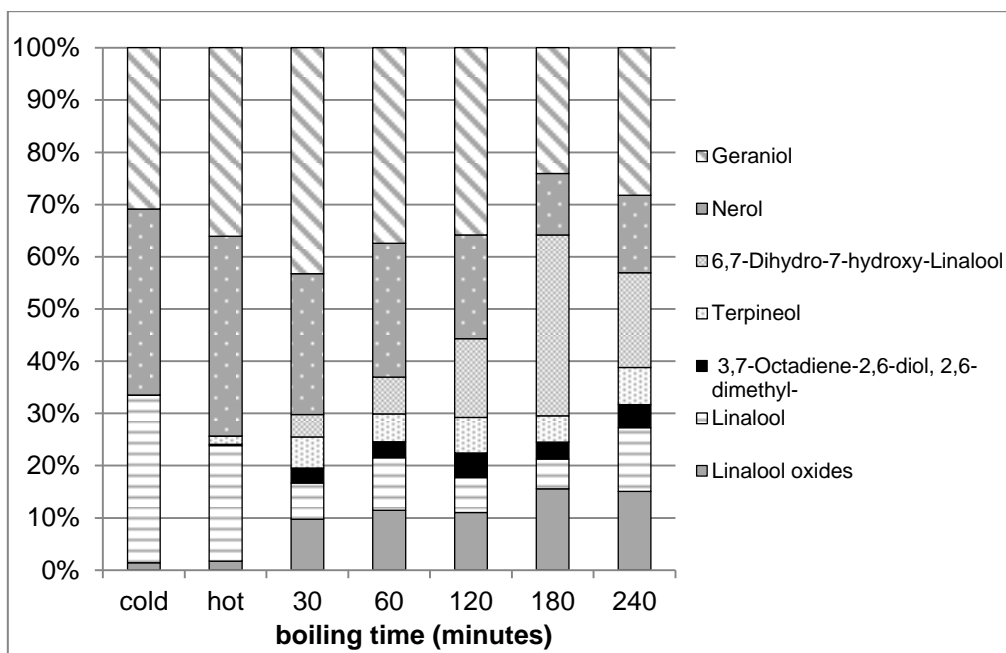


Abbildung 33: Veränderung der Zusammensetzung der flüchtigen Bestandteile einer äquimolaren Mischung aus Linalool, Geraniol und Nerol in Wasser (pH 5,5) bei der Wasserdampfdestillation in Abhängigkeit von der Zeit [Rettberg et al. 2012]

Nerol und Geraniol werden vorwiegend isomerisiert. Ihre Umwandlung führt zu einem Anstieg von Linalool und α -Terpineol. Linalool wird in Linalooloxid und Hydroxyl-Linaloolderivate umgewandelt. Die Diagramme zeigen die Umwandlung von Linalool, Geraniol und Nerol. Ihre Konzentration nimmt ab, während die Menge an oxidierten Produkten mit der Kochzeit zunimmt. Die chemische Umwandlung der Zielanalyten während der Wasserdampfdestillation wird als nachteilig gewertet. Sie beeinträchtigt eine genaue Hopfenölanalyse [Rettberg et al. 2012].

Im Allgemeinen ist die Wasserdampfdestillation eine der am häufigsten verwendeten Methoden der Probenaufbereitung. Quantitative Studien haben jedoch gezeigt, dass zum Beispiel bei der Wasserdampfdestillation von Erdbeeren nur 33% der Aromabestandteile wiedergefunden wurden [Takeoka und Full, 1997]. Bei der Extraktion von „Parmesan“ Käse mittels SDE-Technik und SAFE-Technik ergaben sich im Vergleich sowohl Unterschiede in der qualitativen als auch in der quantitativen Zusammensetzung. In der SDE-Probe wurden viele hitzeinduzierte Veränderungen des Aromaprofils identifiziert. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass die SAFE-Proben das authentischere und representative Aroma des Ausgangsproduktes zeigten [Werkhoff et al., 2002]. Die SDE-Methode liefert gute Wiederfindungen für viele wasserdampfdestillierbare flüchtige Verbindungen. Jedoch haben polare und stark wasserlösliche Komponenten eine schlechte Wiederfindung. Hitzeinduzierte Artefaktbildung und Zersetzung von labilen Komponenten sind weitere Nachteile dieser Technik [Werkhoff et al., 2002]. Wenn die Wasserdampfdestillation im Hochvakuum durchgeführt wird, tritt weniger Probenabbau auf bzw. die Bildung von Artefakten wird vermieden [Elmore, 2010]. Im Gegensatz zur SDE-Methode hat die Substanzklasse der Ester bei der SAFE-Technik eine gute Ausbeute in der Wiederfindung. Wahrscheinlich tritt während der Destillation bei erhöhter Temperatur eine Hydrolyse der Ester auf [Werkhoff et al., 2002].

Generell wird festgestellt, dass es keine universellen Extraktionsverfahren in der Aromastoffanalyse von Lebensmitteln gibt und die verwendeten Extraktionsmethoden immer eine Auswirkung auf das Aromaprofil haben. Im Gegensatz zur klassischen Wasserdampfdestillation verwendet die SAFE-Technik moderate Extraktionstemperaturen, so dass keine Aromastoffmoleküle abgebaut oder Artefakte produziert werden [Werkhoff et al., 2002].

Die SAFE-Technik ist eine hocheffiziente Extraktionsmethode von Aromakomponenten aus festen oder wässrigen Lebensmittelproben [Werkhoff et al., 2002].

4.7 Sortendifferenzierung von Hopfen

4.7.1 Hopfenölgehalt verschiedener Sorten

Bei den Hopfenproben hängt der Gehalt an ätherischen Hopfenöl sehr stark von der Sorte ab. In den analysierten Proben variieren die Werte von 3878 µg/g bis 23760 µg/g. Eine grobe Klassifizierung der Hopfensorten bezüglich des Hopfenöl- und des Linaloolgehalts (µg/g) ist in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 64: Einteilung der Hopfensorten nach Hopfenöl- und Linaloolgehalt, ermittelt durch Hopfenölanalyse (EBC) – AH: Aromahopfen, BH: Bitterhopfen

Hopfensorten		Hopfenöl				Linalool					
		Gesamtbereich: 3878 – 23760 µg/g				Gehalt [µg/g]	Gesamtbereich: 9,6 – 161 µg/g				Gehalt [µg/g]
		a	b	c	d		a	b	c	d	
Aurora	AH				8498					62,6	
Bobek	AH				11880 – 14190					150 – 161	
Golding	AH				12128					71,7	
Hallertauer Mittelfrüher	AH				5610 – 9240					26,6 – 41,6	
Hallertauer Tradition	AH				3878 – 6105					18,6 – 65,5	
Lublin	AH				5280					26,2	
Opal	AH				8910					59,3	
Perle	AH				7590 – 15510					9,6 – 23,4	
Saazer	AH				3960 – 6518					10,9 – 22,1	
Saphir	AH				7755 – 9240					42,7 – 46,0	
Spalter	AH				6765 – 14850					36,2 – 62,1	
Spalter Select	AH				8003 – 9735					58,4 – 77,5	
Tettnanger	AH				4290 – 6600					17,9 – 27,3	
Hallertauer Magnum	BH				11550 – 23760					22,0 – 44,9	
Merkur	BH				20378 – 22523					91,9 – 103	
Herkules	BH				13365 – 14850					25,9 – 28,5	
Hallertauer Taurus	BH				16995					95,9	
Marco Polo	BH				6600					31,4	
Northern Brewer	BH				8745					13,2	
Nugget	BH				16830 – 17820					72,5 – 86,3	
Target	BH				14355					68,6	
Zeus	BH				12705					34,3	

Die Tabelle 64 zeigt, dass hohe Hopfenölgehalte nicht zwingend einen hohen Linaloolgehalt im Hopfen bedingen. Im Gegensatz zu Aromahopfen enthalten Bitterhopfen normalerweise höhere Konzentrationen an ätherischem Öl. Laut früheren Studien ist die Zusammensetzung des Hopfenöls genetisch bestimmt und kann zur Differenzierung der Hopfensorten herangezogen werden [Green, 1997; Kammhuber und Hagl, 2001; Peacock, 1992]. Aus dieser Studie werden sortenbezogen die Prozentanteile wichtiger Hopfenölkomponenten nachfolgend aufgeführt.

Tabelle 65: Hopfensorten mit den Anteil der wichtigsten Hopfenölkomponenten in % – AH: Aromahopfen, BH: Bitterhopfen

Hopfensorten		Anteil der Hopfenölkomponenten				
		Myrcen [%]	α -Humulen [%]	Linalool [%]	β -Caryophyllen [%]	β -Caryophyllenoxid [%]
Aurora	AH	48,9	19,2	0,7	6,0	1,1
Bobek	AH	43,1 – 47,2	10,3 – 12,7	1,1 – 1,3	3,6 – 4,1	1,1 – 1,2
Golding	AH	37,7	15,5	0,6	6,8	2,0
Hall. Mittelfrüher	AH	30,8 – 34,7	27,5 – 39,1	0,4 – 0,6	9,6 – 12,1	0,9 – 2,4
Hall. Tradition	AH	23,9 – 39,0	19,6 – 40,0	0,5 – 1,5	5,9 – 12,8	0,6 – 4,2
Lublin	AH	51,1	20,1	0,5	6,0	1,9
Opal	AH	53,7	19,0	0,7	7,5	0,8
Perle	AH	27,0 – 40,0	26,6 – 42,9	0,1 – 0,3	8,5 – 14,3	0,5 – 2,3
Saazer	AH	39,8 – 48,2	15,3 – 16,8	0,3	4,8 – 5,5	0,8 – 1,1
Saphir	AH	35,9 – 49,8	15,6 – 17,5	0,5 – 0,6	6,7 – 9,4	1,4 – 2,3
Spalter	AH	42,7 – 46,4	11,8 – 13,9	0,4 – 0,5	4,9 – 5,1	1,0 – 2,8
Spalter Select	AH	42,3 – 48,8	7,6 – 11,7	0,7 – 1,0	2,9 – 5,9	0,3 – 1,0
Tettnanger	AH	39,4 – 51,4	14,6 – 20,4	0,4 – 0,6	4,5 – 6,9	1,6 – 2,5
Hall. Magnum	BH	47,2 – 65,6	17,4 – 32,3	0,2 – 0,3	5,5 – 8,7	0,5 – 1,2
Merkur	BH	41,4 – 48,3	21,3 – 25,2	0,4 – 0,5	6,7 – 11,3	0,3 – 0,6
Herkules	BH	48,1 – 58,8	18,1 – 20,3	0,2	5,7 – 6,3	0,3 – 0,4
Hall. Taurus	BH	62,4	12,5	0,6	4,0	0,3
Northern Brewer	BH	55,6	29,7	0,2	10,7	0,6
Nugget	BH	48,2 – 56,9	17,4 – 22,1	0,4 – 0,5	8,0 – 11,4	0,3 – 0,5
Target	BH	50,6	14,3	0,5	6,3	0,6
Zeus	BH	40,5	20,0	0,3	7,6	0,7

Nur vereinzelt können Hopfensorten aufgrund ihres Hopfenölgehaltes eindeutig voneinander unterschieden werden. In den meisten Fällen kann für den Hopfenölgehalt einer Sorte ein Konzentrationsbereich angegeben werden, der sich dann mit dem Konzentrationsbereich anderer Sorten überschneidet, so dass eine eindeutige Sortenidentifizierung nur aufgrund des Hopfenölgehaltes nicht zuver-

lässig möglich ist. Man sollte sich auch der Tatsache bewusst sein, dass der Gehalt an ätherischen Öl sowie dessen Zusammensetzung in Abhängigkeit von den Klima- und Bodenbedingungen variiert [Joh. Barth & Sohn GmbH, 2012]. In Hinblick auf die Sortendifferenzierung sollten die Daten in Tabelle 64 auch mit Vorsicht betrachtet werden, da insgesamt eine begrenzte Anzahl an Proben und für jede Sorte unterschiedlich viele Proben analysiert wurden.

4.7.2 Darstellung von Hopfenölaromadiagrammen

Wie bereits in Tabelle 64 ersichtlich haben einige Hopfensorten einen ähnlichen Hopfenölgehalt. Von den untersuchten Proben liegen beispielsweise die Hopfensorten „Hallertauer Tradition“, „Tettnanger“, „Saazer“, „Lublin“ und „Marco Polo“ mit ihrem Hopfenölgehalt in demselben Konzentrationsbereich. Eine eindeutige Identifizierung der Hopfensorte aufgrund des Hopfenölgehaltes alleine ist daher nicht möglich. Nachfolgend wurden Korrelationsdiagramme, die sogenannten Hopfenölaromadiagramme erstellt. Sie zeigen den linearen Zusammenhang zwischen dem Hopfenölgehalt ($\mu\text{g/g}$) und der Konzentration einzelner Hopfenaromastoffe ($\mu\text{g/g}$) auf, ohne Berücksichtigung des Wassergehaltes. Aus den Diagrammen ist ersichtlich, dass für die einzelnen Hopfensorten charakteristische Konzentrationsbereiche definiert werden können. Voraussetzung dafür ist, dass für jede einzelne Sorte mehrere verschiedene Hopfenproben analysiert wurden. Um aussagekräftige Konzentrationsbereiche zu erhalten, sollten idealerweise mindestens fünf verschiedene Proben einer Sorte analysiert worden sein. In dieser Studie ist dies nicht für alle Hopfensorten gegeben. Die abgeleiteten Konzentrationscluster können daher für diese Sorten nur als Anhaltspunkt dienen.

Für die Erstellung der Hopfenölaromadiagramme wird bei jedem Datenpunkt als y-Wert der Hopfenölgehalt ($\mu\text{g/g}$) und als x-Wert die jeweilige Aromastoffkonzentration ($\mu\text{g/g}$) aufgetragen. Die Datenpunkte einer Hopfensorte konzentrieren sich meist auf einen eingrenzbaeren Bereich. So können bestimmte Flächen für die sortenspezifischen Konzentrationsbereiche festgelegt werden. In dieser zweidimensionalen Darstellung wird deutlich, dass es meist für jede Hopfensorte definierte Konzentrationsflächen gibt. Die weiteren Hopfenölaromadiagramme finden sich im Anhang. Unterschiedliche Hopfensorten können somit auch bei gleichen Hopfenölgehalt unterschieden werden. In den Hopfenölaromadiagram-

men werden die Bitterhopfen mit einem roten Symbol und die Aromahopfen mit einem blauen Symbol dargestellt. Die verschiedenen Sorten unterscheiden sich jeweils in ihrer charakteristischen Musterung. Der besseren Übersicht wegen, sind in den Abbildungen die definierten Konzentrationscluster nur beispielhaft für einzelne Sorten eingezeichnet.

Durch die Darstellung im Hopfenölaromadiagramm wird auch noch einmal deutlich, dass die Hopfenölgehalte für Bitterhopfen in der Regel über 11000 µg/g liegen. Mit einem wesentlich niedrigeren Hopfenölgehalt stellen die beiden Bitterhopfensorten „China Marco Polo“ und „Northern Brewer“ eine Ausnahme dar. Von jeder Sorte wurde allerdings nur eine Probe analysiert. Die Bitterhopfensorte „China Marco Polo“ weist einen Ölgehalt von 6600 µg/g und die Sorte „Elbe-Saale Northern Brewer“ einen Ölgehalt von 8745 µg/g auf. Höchste Hopfenölgehalte hat die Bitterhopfensorte „Merkur“. Alle drei gewonnenen Hopfenöle liegen hier über 20000 µg pro g Hopfen. Die meisten Aromahopfen liegen mit ihrem Ölgehalt unterhalb von 11000 µg/g. Einzelne Hopfensorten weisen aber auch hier einen höheren Ölgehalt auf, wie zum Beispiel „Bobek“ mit 11880 µg/g und 14190 µg/g Hopfenöl, sowie die Sorte „Golding“ mit 12128 µg/g Hopfenöl. Für Aromahopfen wurden die höchsten Hopfenölwerte für drei Proben der Sorte „Perle“ mit 12210 – 15510 µg/g und für die Sorte „Französischer Strisselspalt“ mit 14850 µg/g ermittelt. Die niedrigsten Ölgehalte unter 5000 µg/g wurden bei den Aromahopfensorten „Hallertauer Tradition“, „Saazer“ und „Tettnanger“ analysiert.

4.7.2.1 Hopfenölaromadiagramme der Monoterpene

Generell gilt, dass alle Monoterpene α -Pinen, β -Pinen, Myrcen und Limonen eine sehr gute Korrelation mit dem Hopfenöl aufweisen. Bei allen analysierten Monoterpenen ist der Korrelationskoeffizient größer als 0,90. Die Konzentration der Monoterpene steht somit in linearer Abhängigkeit von der Hopfenölkonzentration. Die Datenpunkte sind weitestgehend linear entlang der Regressionsgeraden angeordnet. Durch die geringe Streuung der Datenpunkte liegen die Konzentrationscluster der einzelnen Sorten zum Teil sehr eng zusammen bzw. überlappen. Bei den Monoterpenen gibt es eine Überlappung der Konzentrationscluster für die Sorten „Spalter Select“ und „Saphir“. Bei Myrcen und β -Pinen überschneiden sich auch die Konzentrationscluster der Sorten „Haller-

tauer Magnum“ und „Nugget“. Eine eindeutige Sortendifferenzierung wäre somit auf Basis der Monoterpene-Konzentrationscluster alleine nicht möglich.

4.7.2.1.1 Myrcen

Myrcen korreliert mit Hopfenöl mit $R = 0,9422$. Die Myrcen-Konzentration von allen untersuchten Hopfenölproben liegt in einem Bereich von 1023 – 15142 $\mu\text{g/g}$. Die Aromahopfen liegen dabei im unteren Konzentrationsbereich von ca. 1000 – 7000 $\mu\text{g/g}$. Der Großteil der Bitterhopfen (76,2%) hat eine Myrcen-Konzentration zwischen 6000 – 12000 $\mu\text{g/g}$. Zu den Bitterhopfen, die weniger Myrcen enthalten gehören „China Marco Polo“ (1332 $\mu\text{g/g}$), „Elbe-Saale Northern Brewer“ (4865 $\mu\text{g/g}$) und „US Zeus“ (5145 $\mu\text{g/g}$).

Nachfolgende Abbildung 34 zeigt in dem Hopfenölaromadiagramm den linearen Zusammenhang zwischen der Hopfenölmenge ($\mu\text{g/g}$) und der Myrcen-Konzentration ($\mu\text{g/g}$) auf.

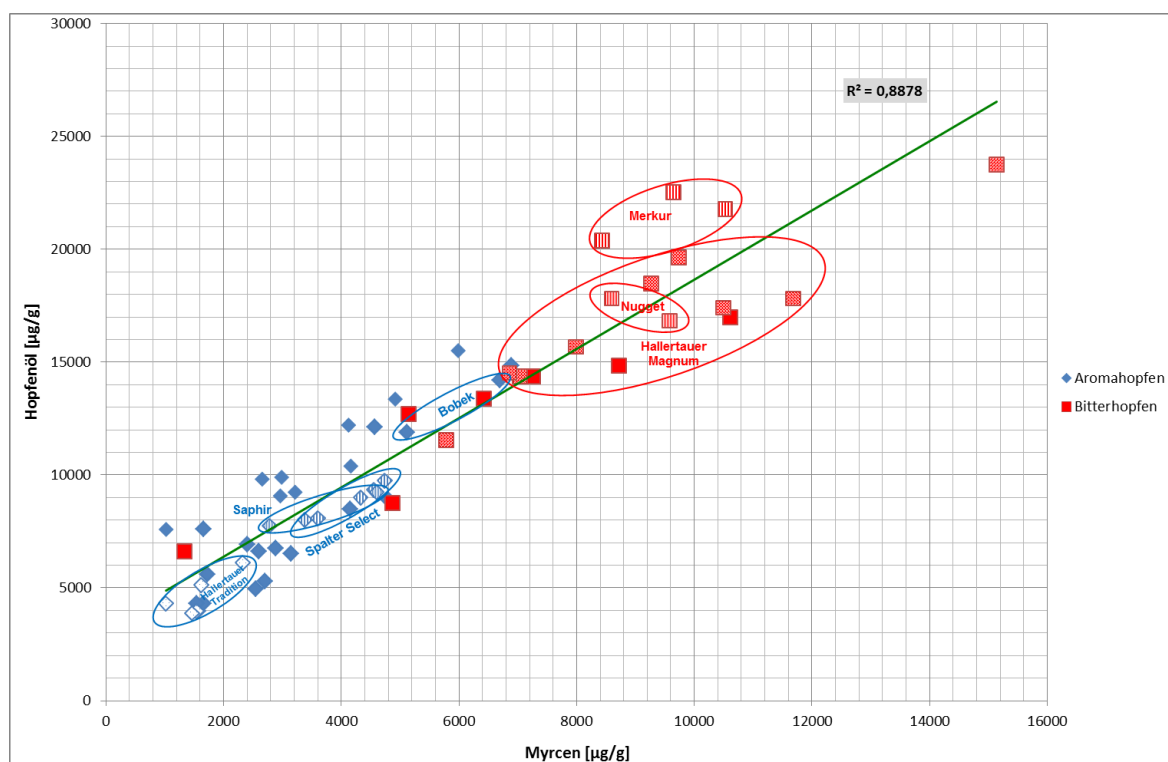


Abbildung 34: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Myrcen

Mit Hilfe der Aromaextraktverdünnungsanalyse konnte Myrcen in getrockneten Doldenhopfen der Sorte „Spalter Select“ als eine der geruchsaktivsten flüchtigen Verbindungen in Hopfen nachgewiesen werden [Steinhaus und Schieberle, 2000].

4.7.2.1.2 Limonen

Limonen und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,9039$. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Insgesamt lassen sich für alle analysierten Hopfenöle Limonen-Konzentrationen in einem Bereich von 4,4 – 47,1 $\mu\text{g/g}$ nachweisen. Niedrige Konzentrationen im Bereich von 4,4 – 20,0 $\mu\text{g/g}$ weisen dabei die Aromahopfsorten (95%) auf. Der Aromahopfen „Bobek“ stellt mit Limonen-Konzentrationen von 31,2 $\mu\text{g/g}$ und 36,5 $\mu\text{g/g}$ eine Ausnahme dar. Die meisten Bitterhopfen (81%) haben einen Limonengehalt zwischen 24,0 – 42,0 $\mu\text{g/g}$. Unterhalb diesen Bereichs liegen nur die Bitterhopfsorten „China Marco Polo“ mit 13,9 $\mu\text{g/g}$ und „Elbe-Saale Northern Brewer“ mit 15,7 $\mu\text{g/g}$ Limonen.

4.7.2.1.3 α -Pinen

Mit $R = 0,9204$ korrelieren α -Pinen und Hopfenöl. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Die α -Pinen-Konzentration liegt für alle analysierten Hopfenölproben in einem Bereich von 2,1 – 21,0 $\mu\text{g/g}$. Die meisten Aromahopfen (94,7%) liegen mit ihrer α -Pinen-Konzentration unter 10,0 $\mu\text{g/g}$. Der Aromahopfen „Bobek“ liegt mit 11,9 $\mu\text{g/g}$ und 12,6 $\mu\text{g/g}$ α -Pinen oberhalb dieses Wertes. Die Mehrheit der Bitterhopfen (81%) haben einen α -Pinengehalt zwischen 10,0–17,0 $\mu\text{g/g}$. Unterhalb von diesem Bereich liegen die Sorten „China Marco Polo“ und „Elbe-Saale Northern Brewer“ mit jeweils 7,2 $\mu\text{g/g}$ α -Pinen.

4.7.2.1.4 β -Pinen

Mit einem Korrelationskoeffizienten von $R = 0,9405$ korrelieren β -Pinen und Hopfenöl miteinander. Im Anhang wird die graphische Darstellung dazu abgebildet. Für alle analysierten Hopfenöle liegt die β -Pinen-Konzentration in einem Bereich von 5,2 – 36,4 $\mu\text{g/g}$. Die meisten Aromahopfen (92,1%) liegen mit ihrer β -Pinen-Konzentration unter 17,0 $\mu\text{g/g}$. Die Sorte „Slowenie Bobek“ und zwei Proben der „Sorte Perle“ liegen mit ca. 20 $\mu\text{g/g}$ über diesen Wert. Die meisten Bitterhopfen (85,7%) haben einen β -Pinen-Gehalt größer als 17,0 $\mu\text{g/g}$. Unterhalb von diesem Wert liegen die Bitterhopfsorten „China Marco Polo“ (10,6 $\mu\text{g/g}$) und „Elbe-Saale Northern Brewer“ (12,4 $\mu\text{g/g}$).

4.7.2.2 Hopfenölaromadiagramme der Sesquiterpene

Die Sesquiterpene α -Humulen und β -Caryophyllen zeigen annähernd die gleiche Korrelation mit Hopfenöl. Für β -Caryophyllen beträgt der Korrelationskoeffizient $R = 0,7653$ und für α -Humulen beträgt $R = 0,7689$. In den Korrelationsdiagrammen findet man daher auch eine ähnliche Anordnung der Datenpunkte für die einzelnen Hopfensorten. Aufgrund der größeren Streuung der Datenpunkte um die Regressionsgerade ergibt sich eine zum Teil recht eindeutige Clusterbildung der verschiedenen Sorten. Im Gegensatz zu den Monoterpenen können hier die Sorten „Spalter Select“ und „Saphir“ besser abgegrenzt werden.

4.7.2.2.1 α -Humulen

Die nachfolgende Abbildung 35 zeigt, dass die α -Humulen-Konzentration von allen analysierten Hopfenölen in einem Bereich zwischen $664 \mu\text{g/g}$ – $5672 \mu\text{g/g}$ liegt. Bitterhopfen weisen im Allgemeinen höhere α -Humulen-Konzentrationen auf.

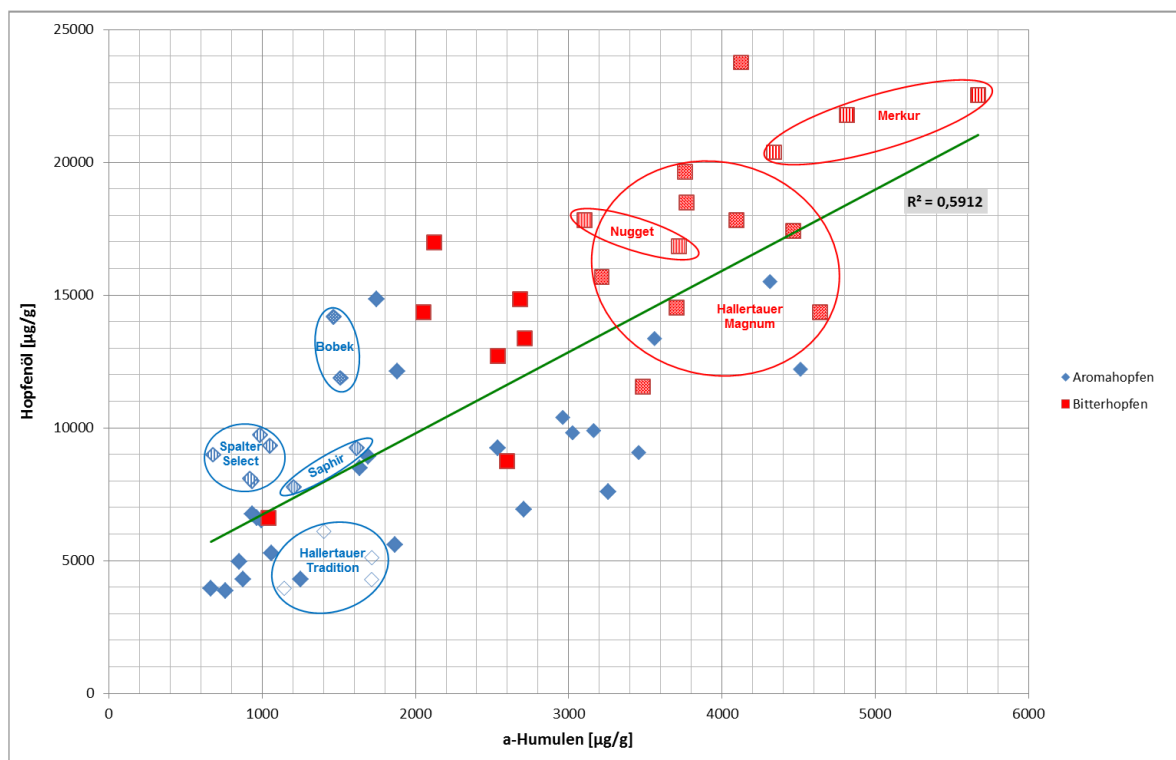


Abbildung 35: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und α -Humulen

Bei 95,2% der analysierten Bitterhopfen liegt der Wert über $2000 \mu\text{g/g}$ α -Humulen. Eine Ausnahme stellt die Sorte „Marco Polo“ dar, mit einem sehr niedrigen α -Humulengehalt von nur $1042 \mu\text{g/g}$. Bei einer Hopfenprobe der Sorte „Merkur“

wurden mit 5672 µg/g die höchsten α-Humulon-Konzentrationen ermittelt. Die meisten Aromahopfsorten (73,7%) haben einen α-Humulengehalt von unter 2000 µg/g. Einen höheren α-Humulengehalt weisen die Sorten „Perle“ (ca. 3000 – 4500 µg/g) und Sorte „Hallertauer Mittelfrüher“ (2537 µg/g und 2710 µg/g) auf.

4.7.2.2.2 β-Caryophyllen

Bei allen untersuchten Hopfenölproben liegen die Werte für β-Caryophyllen zwischen 219 µg/g – 2311 µg/g. Die Abbildung des entsprechenden Hopfenöl-aromadiagramms befindet sich im Anhang. Die meisten Bitterhopfen (85,7%) weisen eine β-Caryophyllen-Konzentration von mehr als 800 µg/g auf. Niedrigere Konzentration findet man bei den Bitterhopfsorten „Hallertauer Herkules“ (760 µg/g), „Hallertauer Taurus“ (672 µg/g) und „Marco-Polo“ (629 µg/g). Die höchsten Konzentrationen (> 1400 µg/g) werden bei den Sorten „Mercur“ und „Nugget“ gemessen. Bei den Aromahopfen hat nur die Sorte „Perle“ eine β-Caryophyllen-Konzentration größer als 900 µg/g. Alle anderen Aromahopfen haben einen niedrigeren β-Caryophyllengehalt.

4.7.2.3 Hopfenöl-aromadiagramm des Terpenalkohols Linalool

Linalool zeigt keine nennenswerte Korrelation mit dem Hopfenöl. Der Korrelationskoeffizient R beträgt 0,3839. Die Daten zeigen eine starke Streuung um die Regressionsgerade. Dadurch bilden die einzelnen Sorten relativ eindeutige Konzentrationscluster.

Insgesamt wurden Linalool-Konzentration von 9,6 – 161 µg/g nachgewiesen. Der Großteil (76,3%) aller analysierter Hopfenöle weist einen Linaloolgehalt zwischen 20 und 80 µg/g auf. Linalool-Konzentrationen unter 20 µg/g wurden bei einzelnen Proben der Sorten „Hallertauer Tradition“, „Perle“, „Saazer“ und „Tettninger“ ermittelt. Bei den Bitterhopfen lag nur bei der Sorte „Northern Brewer“ die Linalool-Konzentration unter 20 µg/g. Die mit Abstand höchsten Linaloolwerte wurden bei dem Aromahopfen „Bobek“ mit 150 µg/g und 161 µg/g festgestellt. Für die Bitterhopfen der Sorte „Hallertauer Taurus“ (96 µg/g) und der Sorte „Mercur“ (92 – 103 µg/g) wurden ebenfalls sehr hohe Linalool-Konzentrationen analysiert.

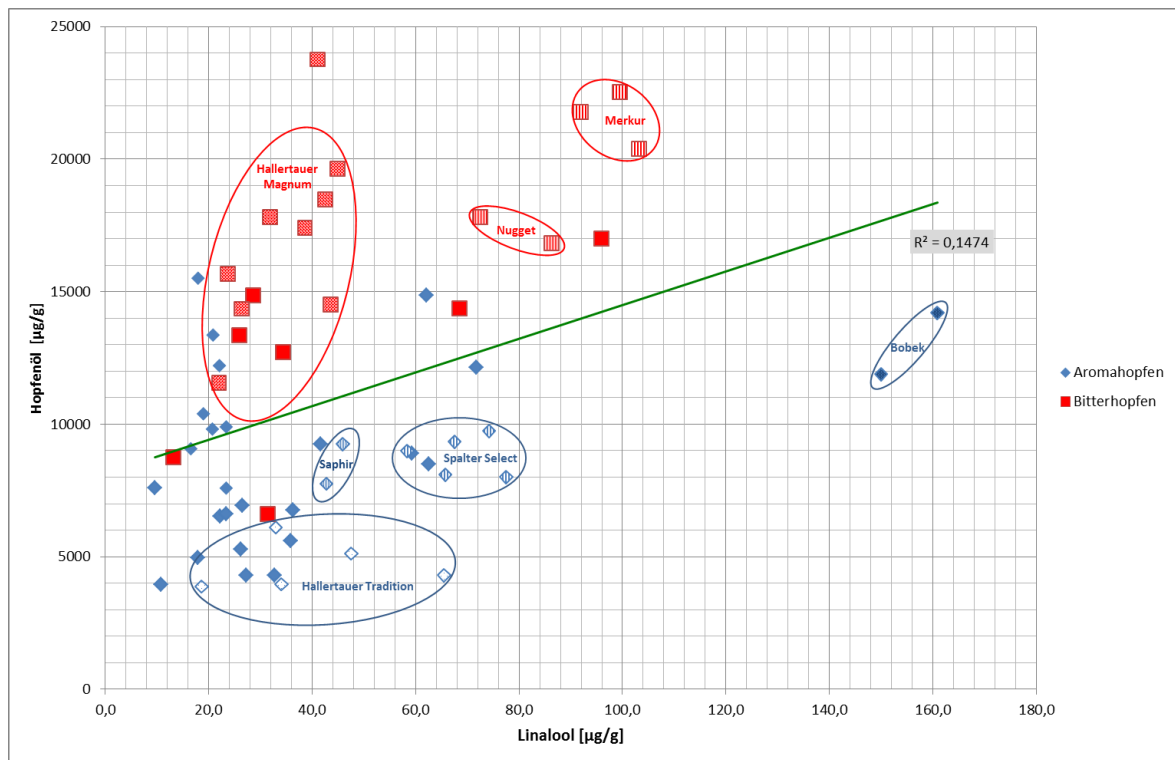


Abbildung 36: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Linalool

Linalool gehört aufgrund der relativ niedrigen Konzentration nicht zu den mengenmäßigen Hauptkomponenten des Hopfens, dafür aber zu den aromaktivsten Verbindungen. Mit Hilfe der Aromaextraktverdünnungsanalyse konnte Linalool in getrockneten Doldenhopfen der Sorte Spalter Select als eine der geruchsaktivsten flüchtigen Verbindungen in Hopfen nachgewiesen werden [Steinhaus und Schieberle, 2000].

4.7.2.4 Hopfenölaromadiagramme der Ester

4.7.2.4.1 Isobutylisobutyrat

Für Isobutylisobutyrat und Hopfenöl liegt der Korrelationskoeffizient bei $R = 0,4599$. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Insgesamt wurden Konzentrationen in einem Bereich von 0,1 – 80,6 µg/g nachgewiesen. Die meisten der analysierten Bitter- und Aromahopfen (84,7%) haben eine Isobutylisobutyrat-Konzentration von 0,1 – 28 µg/g. Höhere Werte findet man bis auf zwei einzelne Proben der Sorte „Perle“ bei den Bitterhopfen „Merkur“ (33,5 µg/g, 43,0 µg/g); „Nugget“ (31,8 µg/g, 61,7 µg/g), „Hallertauer Herkules“ (56,5 µg/g, 58,4 µg/g) und „Elbe-Saale Target“ (59,5 µg/g).

4.7.2.4.2 Hexansäuremethylester

Hexansäuremethylester und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,3687$. Aufgrund der geringen Korrelation ist die Streuung der Daten sehr groß. Die analysierten Hopfenölproben weisen Konzentrationen von Hexansäuremethylester in einem Bereich von $0,4 - 16,3 \mu\text{g/g}$ auf. Die meisten der analysierten Bitter- und Aromahopfen (86,4 %) haben eine Konzentration von $0,4 - 4,0 \mu\text{g/g}$. Nur die Bitterhopfensorten „Merkur“ und „Nugget“ sowie einzelne Aromahopfenproben weisen höhere Werte auf.

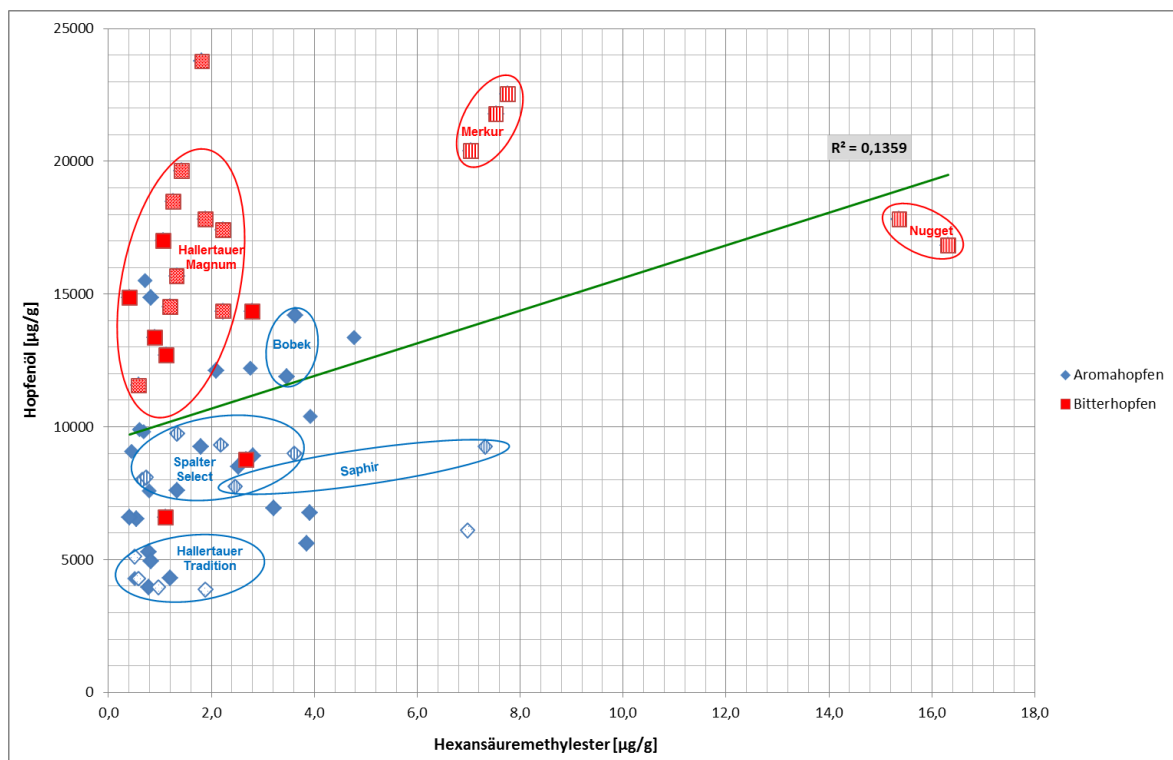


Abbildung 37: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Hexansäuremethylester

4.7.2.4.3 Heptansäuremethylester

Für Heptansäuremethylester liegt der Korrelationskoeffizient mit Hopfenöl bei $R = 0,6522$. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Insgesamt wurden Konzentrationen in dem Bereich von $1,4 - 49,1 \mu\text{g/g}$ nachgewiesen. Bei den Aromahopfen liegt der Großteil der Proben (81,6%) in einem Konzentrationsbereich von $1,4 - 22 \mu\text{g/g}$. Zwei Drittel der Bitterhopfen (66,7%) haben eine Heptansäuremethylester-Konzentration zwischen $12,0 - 32,0 \mu\text{g/g}$. Außerhalb dieses Bereichs liegen die Bitterhopfen „China Marco Polo“

(4,3 µg/g); „Merkur“ (32,4 µg/g, 40,4 µg/g, 41,3 µg/g) und „Nugget“ (44,9 µg/g, 49,1 µg/g).

4.7.2.4.4 Octansäuremethylester

Octansäuremethylester und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,7506$. Der gesamte Konzentrationsbereich reicht von 1,9 – 75,7 µg/g. Die Mehrzahl der Aromahopfen (89,5%) hat einen Octansäuremethylestergehalt von 1,9 – 22,0 µg/g. Darüber liegen nur die Aromahopfen „Opal“ (27,8 µg/g), „Saphir“ (39,3 µg/g) und „Bobek“ (39,8 µg/g, 42,2 µg/g). Die Werte der Bitterhopfen sind dagegen über den gesamten Konzentrationsbereich verteilt. Die höchsten Konzentrationen an Octansäuremethylester weisen die Sorten „Merkur“ und „Nugget“ auf. Die niedrigsten Werte findet man bei den Sorten „US Zeus“ (4,5 µg/g) und „China Marco Polo“ (5,5 µg/g).

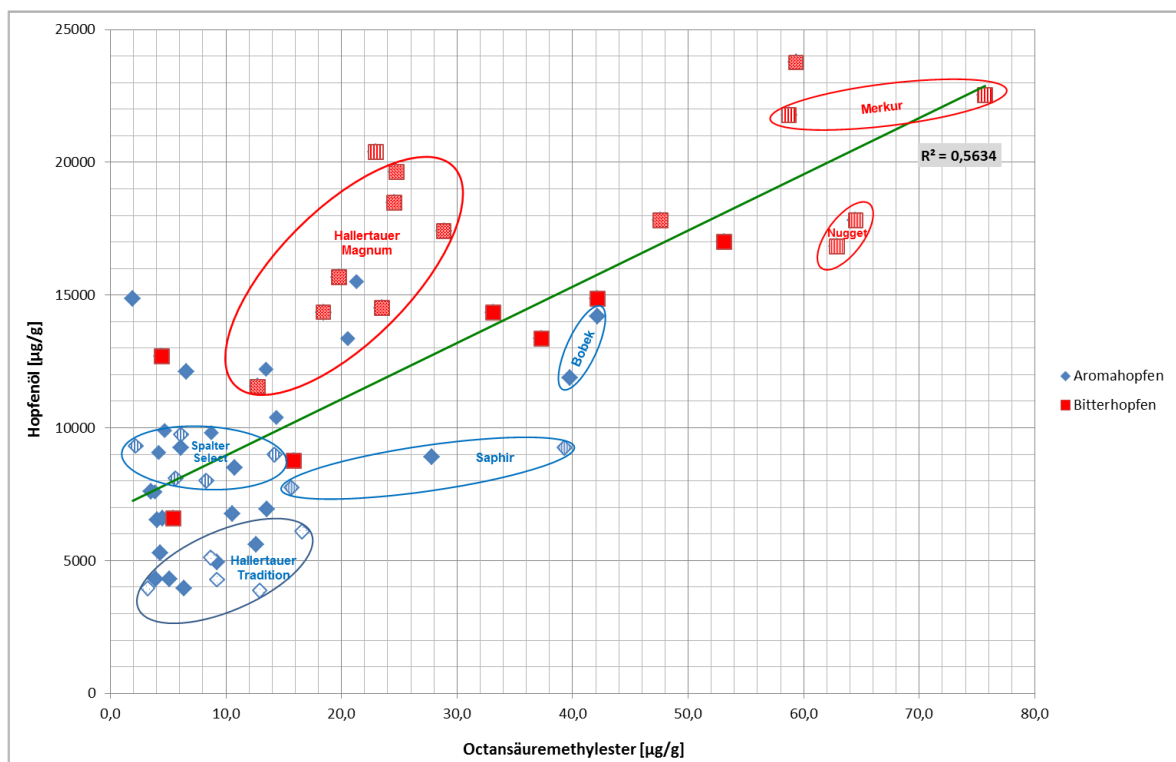


Abbildung 38: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Octansäuremethylester

4.7.2.4.5 Nonansäuremethylester

Nonansäuremethylester und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,6922$. Insgesamt wurden Konzentration in dem Bereich von 1,0 – 41,1 µg/g nachgewiesen. Die Anordnung der Datenpunkte im Korrelationsdiagramm ähnelt der Korrelation von

Octansäuremethylester mit Hopfenöl. Die graphische Darstellung dazu befindet sich im Anhang. Die Mehrzahl der Aromahopfen (89,5%) liegt auch hier im unteren Konzentrationsbereich von 1,0 – 18,0 µg/g. Darüber liegen nur die Aromahopfen „Opal“ (24,9 µg/g), „Saphir“ (31,8 µg/g) und „Bobek“ (22,7 µg/g, 28,3 µg/g). Die Werte der Bitterhopfen sind über den gesamten Konzentrationsbereich verteilt. Die höchsten Konzentrationen an Nonansäuremethylester weisen die Sorten „Merkur“ und „Nugget“ auf. Die niedrigsten Werte findet man bei den Sorten „US Zeus“ (5,9 µg/g) und „China Marco Polo“ (4,2 µg/g).

4.7.2.4.6 Decansäuremethylester

Der Korrelationskoeffizient von Decansäuremethylester und Hopfenöl beträgt $R = 0,7914$. Für alle Hopfenölanalysen wurden Konzentrationen in einem Bereich von 1,2 – 45,2 µg/g festgestellt. Bei der Anordnung der Daten im Korrelationsdiagramm ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei Nonansäuremethylester und Octansäuremethylester. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Die Mehrzahl der Aromahopfen (84,2%) liegt auch hier im unteren Konzentrationsbereich von 1,2 – 7,0 µg/g. Darüber liegen die Werte der Aromahopfen „Opal“ (15,3 µg/g), „Saphir“ (12,4 µg/g, 20,0 µg/g), „Bobek“ (13,1 µg/g, 21,4 µg/g) und „Tettlinger“ (10,5 µg/g). Die Ergebnisse der Bitterhopfen erstrecken sich über den gesamten Konzentrationsbereich, wobei ein Großteil (76,2%) Konzentrationen zwischen 15,0 – 35,0 µg/g aufweist. Niedrigere Werte findet man bei den Sorten „US Zeus“ (4,5 µg/g), „Hallertauer Herkules“ (10,9 µg/g), „Elbe-Saale Northern Brewer“ (4,3 µg/g) und „China Marco Polo“ (7,7 µg/g).

4.7.2.5 Hopfenölaromadiagramme der Ketone

Die Ketone 2-Nonanon und 2-Decanon zeigen überhaupt keine Korrelation mit Hopfenöl. Für 2-Nonanon beträgt der Korrelationskoeffizient $R = 0,0428$ und für 2-Decanon beträgt $R = 0,0598$. In den Korrelationsdiagrammen beider Komponenten zeigt sich eine ähnliche Anordnung der Datenpunkte. Die Daten weisen insgesamt eine große Streuung auf. Die Konzentrationscluster der einzelnen Hopfensorten können dadurch gut voneinander abgegrenzt werden. Es ist festzustellen, dass bei den Ketonen mit steigender Anzahl der C-Atome die Korrelation mit Hopfenöl zunimmt. Ein sprunghafter Anstieg tritt ab C12 bzw. C13, bei den Komponenten 2-Dodecanon, Tridecanon und Damascenon auf.

4.7.2.5.1 2-Nonanon

Für 2-Nonanon wurden Konzentrationen in einem Bereich von 0,2 – 21,5 µg/g nachgewiesen. Ein Großteil (78,0%) der analysierten Hopfenöle weist einen 2-Nonanongehalt von 2,0 bis 11,0 µg/g auf. Dies gilt für Aroma- und Bitterhopfen gleichermaßen.

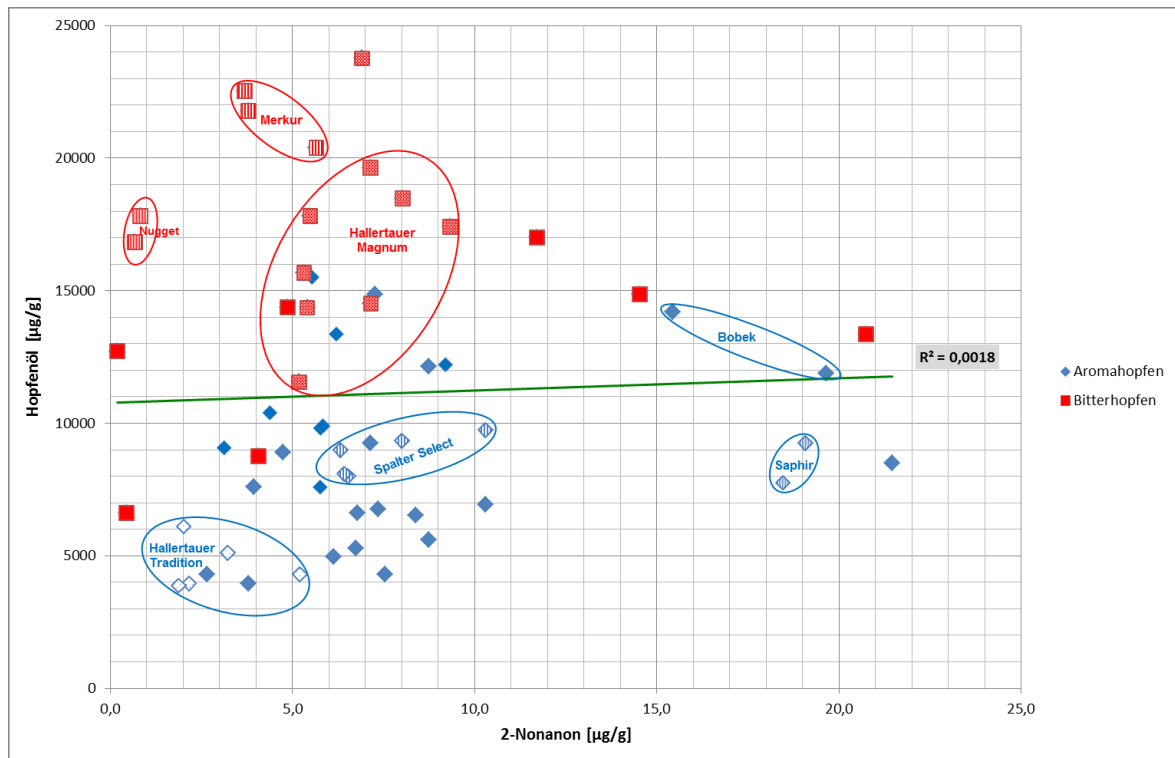


Abbildung 39: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Nonanon

Werte unter 2,0 µg/g wurden insbesondere für die Bitterhopfensorten „Nugget“, „US Zeus“ (0,2 µg/g) und „China Marco Polo“ (0,4 µg/g) analysiert. In dem Bereich ab 11,0 µg/g liegen die Bitterhopfensorten „Hallertauer Taurus“ (11,7 µg/g) und „Hallertauer Herkules“ (14,5 µg/g und 20,7 µg/g). Bei den Aromahopfen haben die Sorten „Bobek“, „Saphir“ und „Aurora“ (21,5 µg/g) höhere 2-Nonanon-Konzentrationen.

4.7.2.5.2 2-Decanon

Für 2-Decanon wurden ähnliche Konzentrationsbereiche von 0,7 – 27,8 µg/g ermittelt. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. In einem Bereich von 6,0 bis 15,0 µg/l liegt ein Großteil (78,0%) der analysierten Aroma- und Bitterhopfen. Wie auch bei 2-Nonanon finden sich im unteren

Konzentrationsbereich die Bitterhopfensorten „Nugget“, „US Zeus“ und „China Marco Polo“ sowie einzelne Proben der Aromahopfensorte „Hallertauer Taurus“. Bei den Aromahopfen „Bobek“, „Saphir“ und „Aurora“ und der Bitterhopfensorte „Hallertauer Herkules“ wurden 2-Decanon-Konzentrationen höher als 15,0 µg/g nachgewiesen.

4.7.2.5.3 2-Undecanon

Für 2-Undecanon liegt der Korrelationskoeffizient mit Hopfenöl bei $R = 0,3954$. Im Anhang befindet sich die zugehörige graphische Darstellung. Insgesamt wurden Konzentration in dem Bereich von 17,2 - 112 µg/g ermittelt. Ein Großteil (86,4%) aller analysierter Hopfen weist einen 2-Undecanongehalt zwischen 20,0 und 60,0 µg/g auf. Aroma- und Bitterhopfen liegen gleichermaßen in diesem Bereich. Bitterhopfen mit Werten größer als 60 µg/g findet man bei einer Probe der Sorte „Mercur“ (76,9 µg/g) und bei einer Probe der der Sorte „Elbe-Saale Target“ (74,4 µg/g). Ebenfalls höhere Werte wurden bei den Aromahopfen der Sorten „Aurora“ (69,9 µg/g), „Saphir“ (91,0 µg/g, 97,2 µg/g) und „Bobek“ (105 µg/g, 112 µg/g) nachgewiesen.

4.7.2.5.4 2-Dodecanon

2-Dodecanon und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,8015$. Die 2-Dodecanon-Konzentration liegt für alle analysierten Hopfen in einem Bereich von 6,8 – 47,6 µg/g. Mit Ausnahme der Sorten „Bobek“ und „Saphir“ liegen die Aromahopfen überwiegend im unteren Konzentrationsbereich bis 30,0 µg/g. Die meisten Bitterhopfensorten (81,0%) haben eine 2-Dodecanon-Konzentration größer als 24 µg/g. Unterhalb dieses Bereichs liegen die Bitterhopfensorten „China Marco Polo“ (12,6 µg/g), „Elbe-Saale Northern Brewer“ (17,5 µg/g), „US Zeus“ (20,4 µg/g) und „Hallertauer Taurus“ (22,3 µg/g).

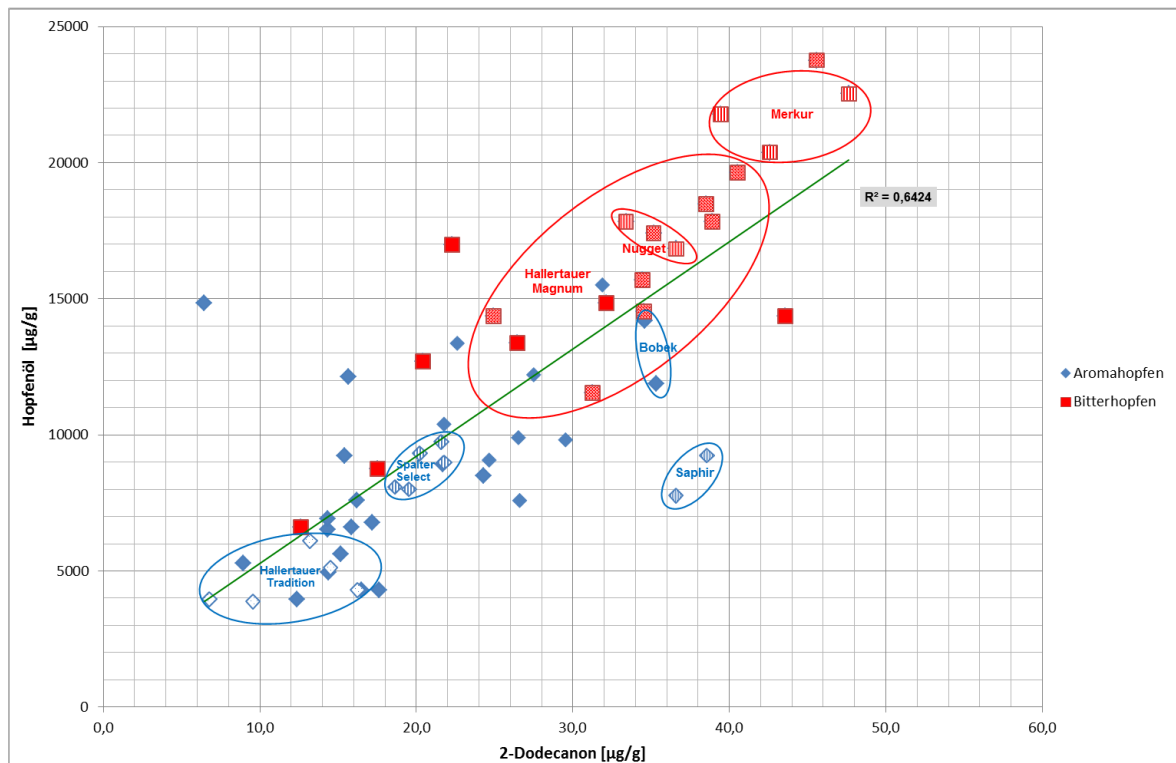


Abbildung 40: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Dodecanon

4.7.2.5.5 Tridecanon

Tridecanon und Hopfenöl korrelieren mit $R = 0,6880$. Die graphische Darstellung dieser Korrelation befindet sich im Anhang. Die Tridecanon-Konzentration liegt für alle analysierten Hopfen in einem Bereich von 27,1 – 196 µg/g. Mit Ausnahme der Sorte „Bobek“ haben alle Aromahopfen (94,7%) eine Tridecanon-Konzentration von 27,1 – 150 µg/g. Ein überwiegender Teil der Bitterhopfen (66,7%) haben einen Tridecanongehalt von mehr als 140 µg/g. Unterhalb dieses Bereichs liegen die Bitterhopfensorten „China Marco Polo“ (66,5 µg/g); „Elbe-Saale Northern Brewer“ (76,4 µg/g); „US Zeus“ (103,1 µg/g), „Hallertauer Herkules“ (73,9 µg/g, 101,2 µg/g) und „Hallertauer Taurus“ (22,3 µg/g).

4.7.2.5.6 Damascenon

Der Korrelationskoeffizient von Damascenon und Hopfenöl kann mit $R = 0,8342$ angegeben werden. Die Damascenon-Konzentration liegt für alle analysierten Hopfen in einem Bereich von 1,6 – 15,7 µg/g. Mit Ausnahme der Sorte „Perle“ liegen die Aromahopfen überwiegend in einem Konzentrationsbereich bis 7,5 µg/g.

Bei der Sorte „Französischer Strisselspalt“ wurde die höchste Damascenon-Konzentration von 15,7 µg/g gemessen. Die meisten Bitterhopfensorten (71,4%) haben eine Damascenon-Konzentration größer als 7,5 µg/g. Unterhalb dieses Bereichs liegen die Bitterhopfensorten „China Marco Polo“ (6,9 µg/g), „Elbe-Saale Northern Brewer“ (5,3 µg/g), „Hallertauer Herkules“ (6,2 µg/g, 7,1 µg/g) und „Hallertauer Taurus“ (5,3 µg/g).

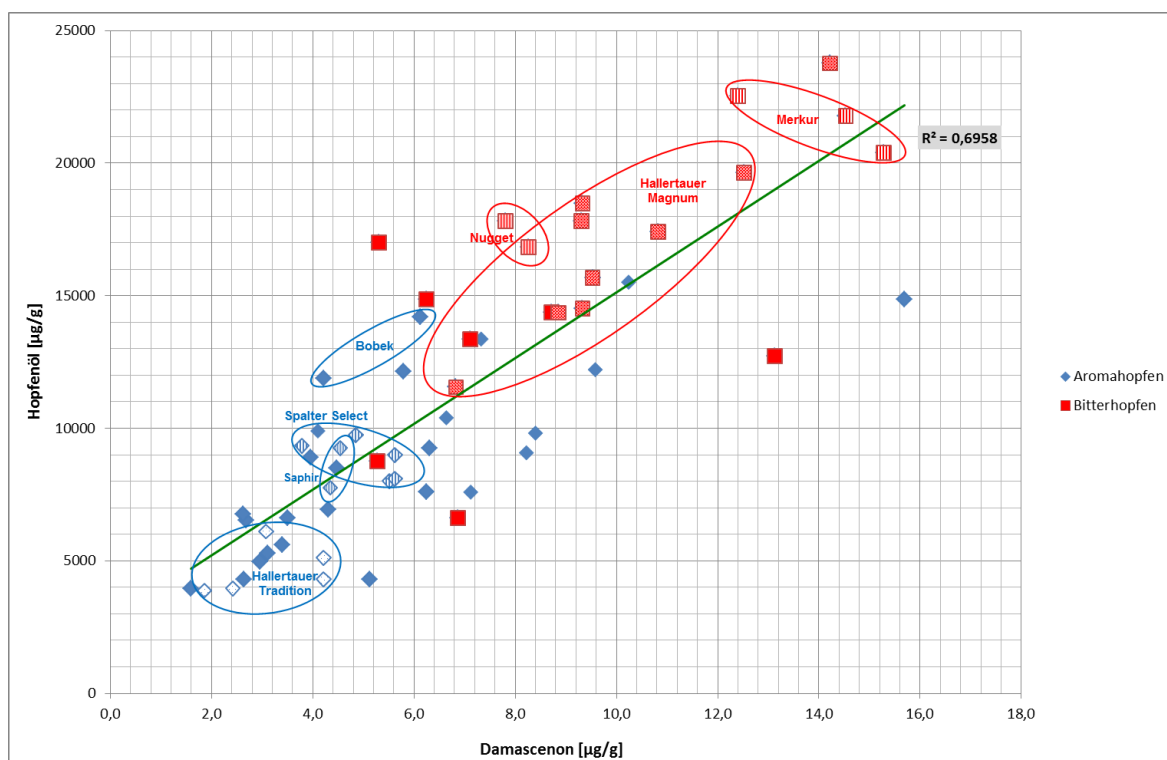


Abbildung 41: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Damascenon

4.7.2.6 Hopfenölaromadiagramm des Epoxides Caryophyllenoxid

Caryophyllenoxid zeigt keine Korrelation mit dem Hopfenöl. Der Korrelationskoeffizient R beträgt 0,1130. Die Daten zeigen eine starke Streuung um die Regressionsgerade. Die einzelnen Sorten bilden daher relativ gut abgrenzbare Konzentrationscluster. Insgesamt wurden Caryophyllenoxid-Konzentration in einem Bereich von 22,7 – 412 µg/g gefunden. Ein Großteil (83,1%) aller analysierter Hopfen weist einen Caryophyllenoxidgehalt zwischen 40 und 180 µg/g auf. Dies gilt für Aroma- und Bitterhopfen gleichermaßen. Höhere Werte wurden beispielsweise für die Aromahopfen „Slowenische Golding“ (245 µg/g) und „Französischer Strisselspalt“ (412 µg/g) analysiert.

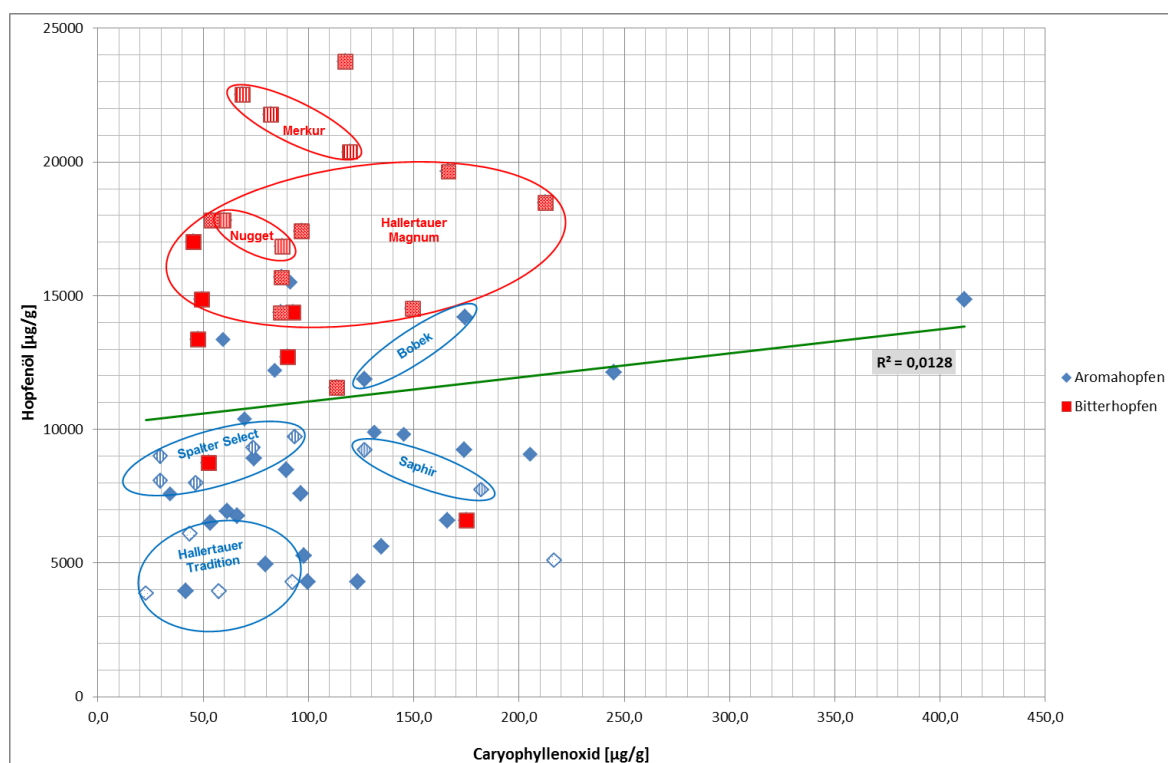


Abbildung 42: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Caryophyllenoxid

4.7.3 Charakterisierung der Hopfensorten hinsichtlich ihrer Aromastoffkomposition

4.7.3.1 Generierung sortenspezifischer Hopfenaromaprofile

Ausgehend von den einzelnen Hopfenölaromadiagrammen können für jede Hopfensorte spezifische Hopfenaromaprofile entwickelt werden. Diese können als sortencharakteristischer „Fingerprint“ angesehen werden. In diesem Diagramm werden sortenspezifisch die im Rahmen der Analysen gewonnenen Konzentrationsbereiche für Hopfenöl und für alle einzelnen Hopfenaromastoffe dargestellt. Anzumerken ist, dass für diese Studie nur Hopfenproben eines Jahrgangs analysiert wurden. Als Datenbasis sollten idealerweise mindestens fünf Proben je Hopfensorte analysiert werden. Dieser Probenumfang stand in der Studie allerdings nicht für jede Sorte zur Verfügung. Die Analyseergebnisse werden in einer Datenbank verwaltet. Die Abbildung des Hopfenaromaprofils stellt zum einen den gesamten Konzentrationsbereich ($\mu\text{g/g}$) aller untersuchten Hopfenproben (grau hinterlegt) und zum anderen den sortenspezifischen Konzentrationsbereich ($\mu\text{g/g}$) (rot schraffiert) dar.



Abbildung 43: Hopfenaromaprofil des Aromahopfens „Spalter Select“ (5 analysierte Hopfenproben, Jahrgang 2009)

4.7.3.2 Bedeutung der Hopfenaromaprofile zur Sortendifferenzierung und -identifizierung

Über die Datenbank wird das Analyseergebnis der untersuchten Hopfenprobe mit den verschiedenen sortenspezifischen Hopfenaromaprofilen verglichen. Der Abgleich erfolgt zum einen für die Hopfenölkonzentration und zum anderen für alle einzelnen Aromastoffkonzentrationen. Die Vergleichsprobe wird in dem Hopfenaromaprofil-Diagramm als blauer Punkt dargestellt. Der Vergleich erfolgt als Und-Abfrage, so dass neben der Hopfenölmenge als charakteristisches Merkmal auch die Übereinstimmung der einzelnen Aromastoffkonzentrationen geprüft wird. Die analysierte Probe kann dann idealerweise eindeutig als eine bestimmte Hopfensorte identifiziert werden, wenn die Analysenwerte jeweils in den definierten Konzentrationsbereichen dieser Sorte liegen. Je höher die Übereinstimmungsrate umso größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Sorte richtig identifiziert wird. Diese Darstellung zeigt zum einen, wie sich die einzelnen Hopfensorten hinsichtlich ihrer Aromastoffkomposition im gesamten Konzentrationsspektrum

aller analysierten Hopfen einordnen lassen. Zum anderen wird sortenspezifisch die Schwankungsbreite von den Analyseergebnissen der einzelnen Hopfenölkomponenten sichtbar. Die Abweichung bzw. Übereinstimmung einer unbekannten Hopfenprobe wird im Hopfenaromaprofil dargestellt.

Wenn für alle Hopfensorten eine ausreichende Datenbasis vorhanden ist, dann kann das Hopfenaromaprofil gut zur Sortendifferenzierung bzw. -identifizierung herangezogen werden. Dabei wird überprüft, mit welchem sortenspezifischen Hopfenaromaprofil die Analyseergebnisse der untersuchten Hopfenprobe übereinstimmen. Diese Art der Darstellung macht deutlich, dass zwei Hopfensorten wie „Spalter Select“ und „Saphir“, deren Hopfenölkonzentration ungefähr in dem gleichen Bereich liegt, dennoch aufgrund ihrer unterschiedlichen Aromastoffkomposition eindeutig voneinander unterschieden werden können. Für diese beiden Sorten, liegen die Unterschiede vorwiegend in den Sesquiterpen-, Terpenalkohol-, Ester-, Keton- und Epoxidkonzentrationen (Tabelle 66). Die Monoterpenkonzentrationen sind nahezu übereinstimmend.

Tabelle 66: Gegenüberstellung der Aromahopfensorten „Spalter Select“ und „Saphir“ hinsichtlich ihrer Aromastoffkonzentrationen (= Konz.-Bereich etwa gleich groß, ↓ Konz.-Bereich niedriger, ↑ Konz.-Bereich höher)

Komponente	<u>Spalter Select</u> Konz.-Bereich	Ver- gleich	<u>Saphir</u> Konz.-Bereich	Ver- gleich
	[µg/g]		[µg/g]	
Hopfenöl	8003 – 9735	=	7755 – 9240	=
Terpene:				
α-Pinen, β-Pinen, Limonen	5,3 – 17,7	=	5,2 – 16,4	=
Myrcen	3382 – 4743	=	2783 – 4602	=
β-Caryophyllen	274 – 532	↓	520 – 871	↑
α-Humulen	682 – 1052	↓	1208 – 1617	↑
Linalool	58,4 – 77,5	↑	42,7 – 46,0	↓
Ester	0,7 – 21,2	↓	2,5 – 39,3	↑
Ketone	3,6 – 126	↓	4,3 – 147	↑
Epoxide: Caryophyllenoxid	29,5 – 93,4	↓	127 - 182	↑

Mit Hilfe des Hopfenaromaprofils wird die Ausprägung einzelner Aromakomponenten anschaulich dargestellt. Diese Abfrage und Darstellung eignet sich sowohl zur Identifizierung als auch zur Charakterisierung einzelner Hopfensorten.

4.8 Korrelationsanalyse der Hopfenergebnisse

4.8.1 Korrelation der Hopfenaromastoffe

In der vorliegenden Arbeit wurde auch die Korrelation zwischen den verschiedenen Hopfenaromastoffen untersucht. Die Auswertung der Daten zeigt, dass insbesondere Komponenten derselben chemischen Substanzgruppe miteinander korrelieren. Innerhalb der untersuchten Monoterpene liegt zum Beispiel der Korrelationskoeffizient durchgängig über 0,90. Für die Monoterpene liegen die Korrelationskoeffizienten aus den Daten der Hopfenölanalyse geringfügig höher als die der HS-Trap-Analyse (siehe Tabelle 67 und 68). In den nachfolgenden Tabellen sind nur die Korrelationen aufgeführt mit $R > 0,80$.

Tabelle 67: Korrelation der einzelnen Hopfenaromastoffe (EBC-Hopfenölanalyse)

		Korrelationskoeffizienten R	Bestimmtheitsmaß R²	R² (%)
Monoterpene				
α-Pinen	↔ β-Pinen	0,9053	0,8196	81,96
α-Pinen	↔ Myrcen	0,9275	0,8603	86,03
α-Pinen	↔ Limonen	0,9538	0,9097	90,97
β-Pinen	↔ Myrcen	0,9067	0,8221	82,21
β-Pinen	↔ Limonen	0,8953	0,8016	80,16
Myrcen	↔ Limonen	0,9121	0,8319	83,19
Sesquiterpene				
α-Humulen	↔ β-Caryophyllen	0,9029	0,8152	81,52
Ester				
Heptansäuremethylester	↔ Octansäuremethylester	0,8455	0,7149	71,49
Heptansäuremethylester	↔ Nonansäuremethylester	0,8571	0,7346	73,46
Octansäuremethylester	↔ Nonansäuremethylester	0,9388	0,8813	88,13
Octansäuremethylester	↔ Decansäuremethylester	0,8355	0,6981	69,81
Nonansäuremethylester	↔ Decansäuremethylester	0,8536	0,7286	72,86
Ketone				
2-Nonanon	↔ 2-Decanon	0,9347	0,8737	87,37
2-Dodecanon	↔ 2-Tridecanon	0,9046	0,8183	81,83

Die beste Korrelation innerhalb der Monoterpene wurde zwischen α-Pinen und Limonen mit $R = 0,9538$ festgestellt. Die Sesquiterpene α-Humulen und β-Caryophyllen korrelieren untereinander ebenfalls mit $R > 0,90$.

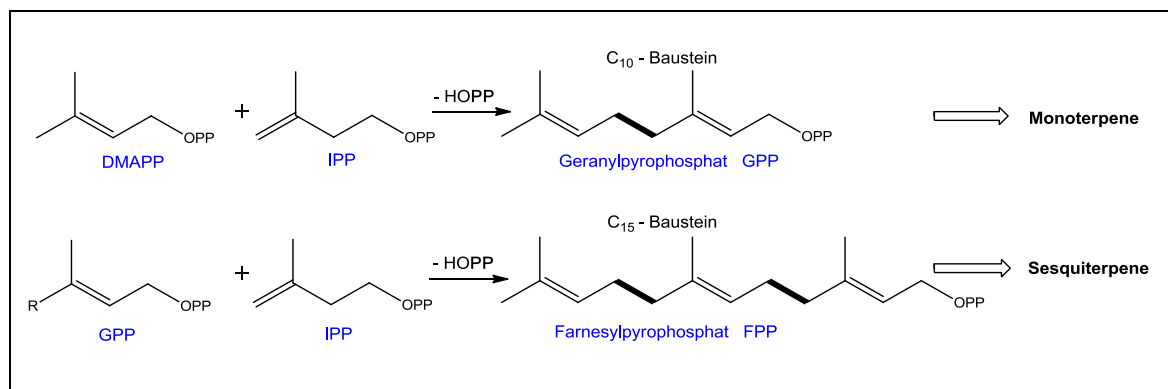


Abbildung 44: Übersicht der Biosynthesewege von Mono- und Sesquiterpenen [Breitmaier, 2005]

Wenn es eine Beziehung zwischen den Substanzen gibt, kann daraus geschlossen werden, dass gemeinsame Zwischenstufen während der Biosynthese durchlaufen werden oder diese ineinander umgewandelt werden. Alle terpenoiden Hydrokarbone entstammen aus einem gemeinsamen biogenen Ursprung [Kammhuber und Hagl, 2001]. Die Abbildung 44 zeigt den Biosyntheseweg der Mono- und Sesquiterpene auf. Das jeweils Monoterpene bzw. Sesquiterpene untereinander korrelieren, liegt an ihrer einheitlichen Struktur.

Tabelle 68: Korrelation der einzelnen Hopfenaromastoffe (HS-Trap-GC-MS Analyse)

		Korrelationskoeffizient	Bestimmtheitsmaß	
		R	R ²	R ² (%)
Monoterpene				
α-Pinen	↔ β-Pinen	0,8975	0,8055	80,55
α-Pinen	↔ Myrcen	0,8889	0,7901	79,01
α-Pinen	↔ Limonen	0,9187	0,8440	84,40
β-Pinen	↔ Myrcen	0,8868	0,7864	78,64
β-Pinen	↔ Limonen	0,8888	0,7900	79,00
Myrcen	↔ Limonen	0,8932	0,7978	79,78
Sesquiterpene				
α-Humulen	↔ β-Caryophyllen	0,9460	0,8949	89,49
Ester				
Heptansäuremethylester	↔ Octansäuremethylester	0,8459	0,7155	71,55
Heptansäuremethylester	↔ Nonansäuremethylester	0,8537	0,7288	72,88
Octansäuremethylester	↔ Nonansäuremethylester	0,9192	0,8449	84,49
Octansäuremethylester	↔ Decansäuremethylester	0,8517	0,7254	72,54
Nonansäuremethylester	↔ Decansäuremethylester	0,8522	0,7262	72,62
Ketone				
2-Nonanon	↔ 2-Decanon	0,9470	0,8968	89,68
2-Dodecanon	↔ 2-Tridecanon	0,9168	0,8405	84,05

Gute Korrelationen konnten größtenteils auch innerhalb der Gruppe der Methyl-ester festgestellt werden. In dieser Gruppe korrelieren am besten Octansäure- und Nonansäuremethylester miteinander. Ferner korrelieren die Ketone 2-Nonanon und 2-Decanon sowie 2-Dodecanon und 2-Tridecanon sehr gut miteinander, mit $R > 0,9$. In dieser Arbeit konnte auch festgestellt werden, dass Linalool mit keiner der anderen untersuchten Hopfenölkomponten korreliert. In der Abbildung 46 ist beispielhaft die Korrelation von Linalool und Myrcen graphfisch dargestellt. Der Korrelationskoeffizient R liegt hierfür bei 0,009. Es gibt somit keinerlei linearen Zusammenhang zwischen den beiden Substanzen. Das Korrelationsdiagramm von β -Caryophyllen und Caryophyllenoxid belegt, dass es auch für diese beiden Hopfenölkomponten keinen linearen Zusammenhang gibt (Abbildung 45). In einer früheren Arbeit [Kammhuber und Hagl, 2001] wurden innerhalb der Substanzklasse der Monoterpene und der Sesquiterpene auch Korrelationen von 0,81 bis 0,92 nachgewiesen. Für Linalool wurde ebenfalls keine Korrelation zwischen anderen Hopfenölkomponten ermittelt.

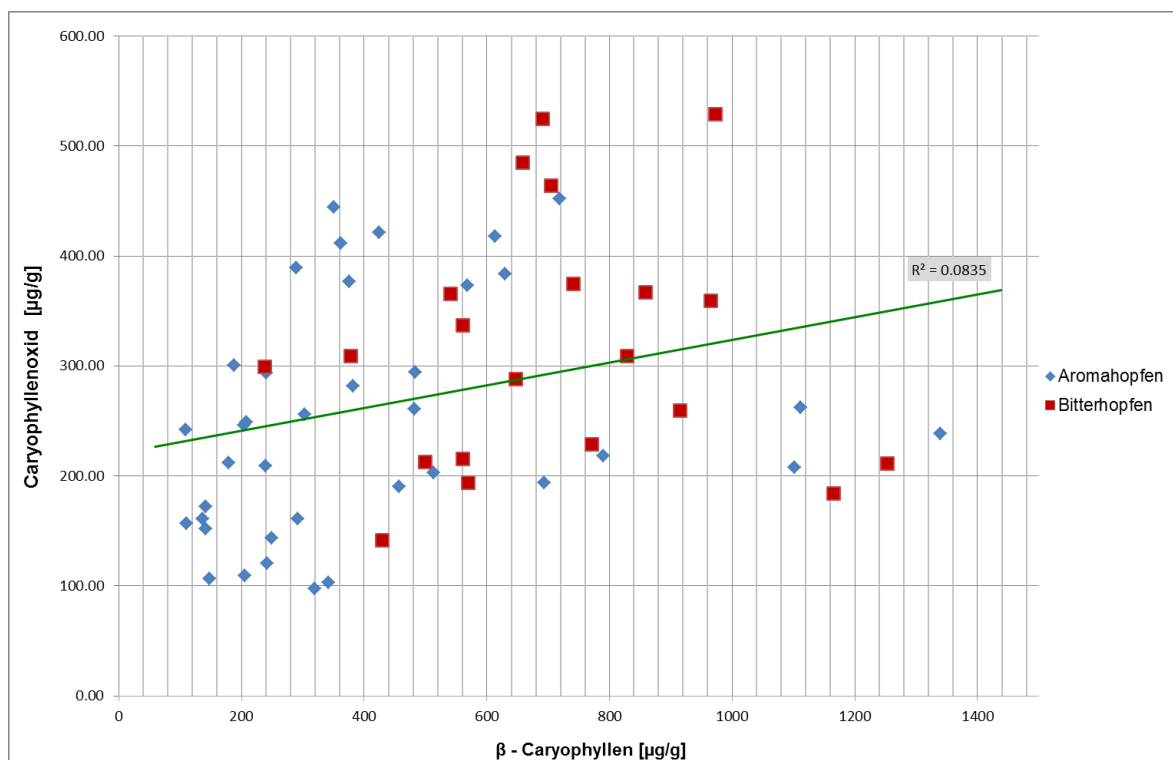


Abbildung 45: Korrelation von β -Caryophyllen und Caryophyllenoxid - (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

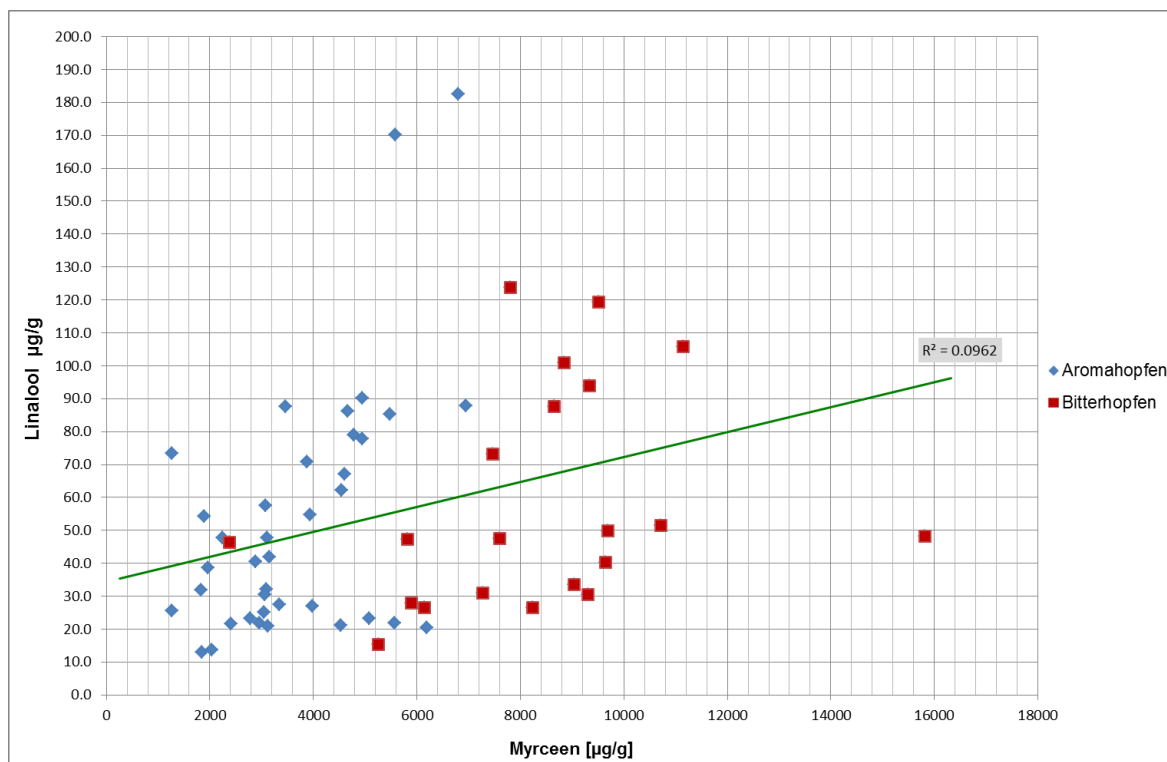


Abbildung 46: Korrelation von Linalool und Myrcen (HS-Trap-GC-MS-Analyse von Hopfen)

4.8.2 Korrelation der Hopfenaromastoffe und der Hopfenölmenge

In der Tabelle 69 wird jeweils der Korrelationskoeffizient R aus der Korrelation zwischen den einzelnen Hopfenölkomponenten mit der Hopfenölmenge dargestellt. In dem vorherigen Kapitel werden in den Hopfenölaromadiagrammen die Regressionsgerade der Korrelation und die Anordnung der Datenpunkte abgebildet. Sie verdeutlichen den linearen Zusammenhang zwischen Hopfenölmenge und der Menge an Hopfenölkomponenten. Die Tabelle zeigt, dass nur die Monoterpene eine gute Korrelation mit dem Hopfenöl aufweisen ($R > 0,9000$).

Tabelle 69: Korrelation zwischen den Hopfenölkomponenten und der Hopfenölmenge

			Korrelationskoeffizienten R	Bestimmtheitsmaß R ²	R ² (%)
Monoterpene					
α-Pinen	⇔	Hopfenöl	0,9204	0,8471	84,71
β-Pinen	⇔	Hopfenöl	0,9405	0,8845	88,45
Myrcen	⇔	Hopfenöl	0,9422	0,8878	88,78
Limonen	⇔	Hopfenöl	0,9039	0,8170	81,70
Sesquiterpene					
α-Humulon	⇔	Hopfenöl	0,7689	0,5912	59,12
β-Caryophyllen	⇔	Hopfenöl	0,7653	0,5857	58,57
Terpenalkohol					
Linalool		Hopfenöl	0,3839	0,1474	14,74
Ester					
Isobutylisobutyrat	⇔	Hopfenöl	0,4599	0,2115	21,15
Hexansäuremethylester	⇔	Hopfenöl	0,3687	0,1359	13,59
Heptansäuremethylester	⇔	Hopfenöl	0,6522	0,4254	42,54
Octansäuremethylester	⇔	Hopfenöl	0,7506	0,5634	56,34
Nonansäuremethylester	⇔	Hopfenöl	0,6922	0,4791	47,91
Decansäuremethylester	⇔	Hopfenöl	0,7914	0,6263	62,63
Ketone					
2-Nonanon	⇔	Hopfenöl	0,0428	0,0018	0,18
2-Decanon	⇔	Hopfenöl	0,0598	0,0036	0,36
2-Undecanon	⇔	Hopfenöl	0,3954	0,1563	15,63
2-Dodecanon	⇔	Hopfenöl	0,8015	0,6424	64,24
2-Tridecanon	⇔	Hopfenöl	0,6880	0,4733	47,33
Damascenon	⇔	Hopfenöl	0,8342	0,6959	69,59
Epoxid					
Caryophyllenoxid	⇔	Hopfenöl	0,1130	0,0128	1,28

4.8.3 Korrelation der Hopfenbitterstoffe und der Hopfenölmenge

Für einundzwanzig verschiedene Hopfensorten wurde neben den Hopfenaromastoffen auch der α-Säure- und β-Säure-Gehalt im Hopfen ermittelt. Die Korrelation der Hopfenbitterstoffe und Hopfenölmenge ist in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 70: Korrelation zwischen den Hopfenbitterstoffen und der Hopfenölmenge

			Korrelations- koeffizienten R	Bestimmt- heitsmaß R ²	R ² (%)
Hopfenbitterstoffe					
α-Säuren	↔	Hopfenöl	0,7527	0,5666	56,66
β-Säuren	↔	Hopfenöl	0,2187	0,0478	4,78

Anhand des Korrelationskoeffizienten R wird deutlich, dass die Menge an α-Säuren im Hopfen stärker mit der Hopfenölkonzentration korreliert ist, als die Menge an β-Säuren. Zwischen den α-Säuren und den β-Säuren besteht keine Korrelation. Der gemeinsame Korrelationskoeffizient beträgt R = -0,1806.

4.8.4 Korrelation der Hopfenaromastoffe mit den α-Säuren und β-Säuren

In der nachfolgenden Tabelle 71 ist die Korrelation der einzelnen Hopfenölkomponenten mit der α-Säuren-Konzentration dargestellt.

Tabelle 71: Korrelation zwischen den Hopfenaromastoffen und den α-Säuren

			Korrelations- koeffizienten R	Bestimmt- heitsmaß R ²	R ² (%)
Monoterpene					
α-Pinen	↔	α-Säuren	0,8690	0,7552	75,52
β-Pinen	↔	α-Säuren	0,8361	0,6991	69,91
Myrcen	↔	α-Säuren	0,7597	0,5771	57,71
Limonen	↔	α-Säuren	0,8994	0,8089	80,89
Sesquiterpene					
α-Humulen	↔	α-Säuren	0,6073	0,3688	36,88
β-Caryophyllen	↔	α-Säuren	0,5766	0,3325	33,25
Terpenalkohol					
Linalool		α-Säuren	0,2817	0,0794	7,94
Ester					
Isobutylisobutyrat	↔	α-Säuren	0,5648	0,3190	31,90
Hexansäuremethylester	↔	α-Säuren	0,3567	0,1272	12,72
Heptansäuremethylester	↔	α-Säuren	0,7887	0,6220	62,20
Octansäuremethylester	↔	α-Säuren	0,7488	0,5607	56,07
Nonansäuremethylester	↔	α-Säuren	0,6907	0,4771	47,71
Decansäuremethylester	↔	α-Säuren	0,6848	0,4690	46,90
Ketone					
2-Nonanon	↔	α-Säuren	0,0965	0,0093	0,93
2-Decanon	↔	α-Säuren	0,0711	0,0051	0,51
2-Undecanon	↔	α-Säuren	0,2825	0,0798	7,98
2-Dodecanon	↔	α-Säuren	0,5788	0,3350	33,50
2-Tridecanon	↔	α-Säuren	0,5103	0,2604	26,04
Damascenon	↔	α-Säuren	0,4704	0,2213	22,13
Epoxid					
Caryophyllenoxid	↔	α-Säuren	-0,4484	0,2011	20,11

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die α -Säuren am besten mit den Monoterpenen korrelieren. Die β -Säuren zeigen keine Korrelation mit einzelnen Inhaltsstoffen des Hopfenöls.

4.8.5 Korrelation der Summe der Einzelkomponenten und der Hopfenölmenge

In einem weiteren Test wurde der Gesamtgehalt an Hopfenöl aus der Wasserdampfdestillation und die Summe der einzelnen Konzentrationen aus der HS-Trap-Analyse miteinander verglichen. Obwohl einige Komponenten des Hopfenöls, wie zum Beispiel cis-4-Decensäuremethylester und Farnesen, aufgrund des Fehlens eines Standards nicht quantifiziert werden konnten zeigte sich eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden. In der nachfolgenden Tabelle 72 werden für eine Auswahl an Hopfenproben jeweils die Summen der Einzelkomponenten aus Hopfenölmethode und HS-Trap-Methode berechnet und der gesamten Hopfenölmenge gegenübergestellt. Für alle analysierten Hopfenproben korreliert die Summe der Einzelkomponenten aus der HS-Trap-Analyse mit der gesamten Hopfenölmenge mit $R = 0,9682$. Mit einer Ausdehnung der Anzahl der analysierten Komponenten könnte die rechnerische Bestimmung des Hopfenölgehaltes mit der HS-Trap Methode unter Umständen sehr viel genauer sein.

Tabelle 72: Vergleich der Hopfenölmenge mit der Summe der Einzelkomponenten aus der Hopfenölanalyse und der HS-Trap-Analyse (Auswahl an Hopfenproben)

Hopfensorte	Abk.	Mittelwert	Summe	Summe
		<u>Hopfenöl</u> (EBC) $\mu\text{g/g}$	<u>Einzelkomponenten</u> <u>Hopfenölmethode</u> (EBC) $\mu\text{g/g}$	<u>Einzelkomponenten</u> <u>HS-Trap-Methode</u> $\mu\text{g/g}$
Tschechien Saazer	CZ-SA	6518	4713	5189
Elbe-Saale Nugget	ENU	17820	13876	13705
Elbe-Saale Perle	EPE	13365	10109	10662
Elbe-Saale Target	ETA	14355	10968	10122
Elbe-Saale Hall. Taurus	ETU	16995	13950	12580
Hallertau Hall. Mittelfrüher	HHH	6930	6282	6175
Hallertau Hall. Magnum	HHM	23760	21343	20552
Hallertauer Herkules	HHS	14850	12939	12402
Hallertau Opal	HOL	8910	7613	7551
Hallertauer Perle	HPE	12210	10765	11503
Hallertauer Spalter Select	HSE	9735	6705	6540
Hallertau Saphir	HSR	9240	7792	7191
Polnischer Lubliner	PL-LU	5280	4350	4524
Slowenischer Aurora	SI-AU	8498	6815	6368
Spalt Spalter Select	SSE	9323	6289	6216
Spalt Spalter	SSP	6765	4520	4649
Tettnang Hallertauer Tradition	THH	6105	4418	5277
Tettnang Perle	TPE	10395	8531	8417
Tettnang Tettnanger	TTE	4950	3982	4168
US Zeus	US Zeus	12705	9036	8859

Zum Vergleich der beiden Analysenreihen wurde für alle analysierten Hopfenproben die Summe der Einzelkomponenten aus der HS-Trap-Analyse jeweils der Summe der Einzelkomponenten aus der Hopfenölanalyse gegenübergestellt. Die Ergebnisse korrelieren mit 0,9835. Die Mittelwerte beider Analysenreihen weichen um 5,6% voneinander ab. Um die Mittelwerte der beiden voneinander unabhängigen Messserien zu vergleichen wurde ferner ein t-Test durchgeführt. Mit einem t-Wert von 0,53 ist $t < t$ ($P = 0,95$; $f = 116$). Somit ist bewiesen, dass zwischen den beiden Mittelwerten kein signifikanter Unterschied vorliegt. Der Unterschied der beiden Mittelwerte ist allein auf Zufallsfehler zurückzuführen. Das Ergebnis des t-Testes belegt, dass bei keiner der beiden Messreihen bzw. Analysemethoden ein systematischer Fehler aufgetreten ist.

4.9 Lagerbedingungen des Hopfens bis zur Analyse

Frühere Studien haben gezeigt, dass im Hopfenöl der Gehalt an Kohlenwasserstoffen von 88% auf 7% abnahm und bei den sauerstoffhaltigen Komponenten von 12 auf 93% anstieg nach 3 Jahren Lagerung bei 0°C [Tressl, 1978]. Obwohl die verwendeten Hopfenproben bei einer Temperatur (-24°C) gelagert und die Analyse ungefähr 9 Monate nach der Ernte ausgeführt wurde, könnte sich die Zusammensetzung der Hopfenölkomponten verändert haben. Dennoch, sind diese Umstände unbedeutend für den Vergleich der HS-Trap-Methode mit der EBC Methode.

4.10 Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen mit Literaturwerten

In der nachfolgenden Tabelle werden für einige Hopfensorten die Ergebnisse der HS-Trap Aromastoffanalyse von Hopfen mit Literaturwerten einer Hopfenölanalyse nach EBC-Methode 7.12 miteinander verglichen. Gegenübergestellt werden zum einen die Analysenwerte für Linalool und zum anderen die charakteristische Kennzahl das Verhältnis β -Caryophyllen/ α -Humulen. Obwohl die Analyseergebnisse nicht von den gleichen Hopfenproben stammen lassen sich die Werte gut miteinander vergleichen und stimmen tendenziell überein.

Tabelle 73: Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap-Analyse von Hopfen mit Literaturwerten von Biendl et al., 2012.

Hopfensorten	Linalool (EBC 7.12) [mg/100g]	Linalool [mg/100g]	β -Caryophyllen / α -Humulen	β -Caryophyllen / α -Humulen
	[Biendl et al., 2012]	HS-Trap	[Biendl et al., 2012]	HS-Trap
Spalt Spalter	4	4,8	0,28	0,21
Tettnanger	4	3,2	0,29	0,28
Hall. Mittelfrüher	6	5,5	0,29	0,26
Perle	4	3,9	0,31	0,25
Hall. Tradition	7	7,3	0,28	0,29
Spalter Select	8	7,8	0,40	0,44
Tschechien Saazer	3	2,7	0,28	0,20
Northern Brewer	4	3,2	0,34	0,28
Nugget	10	9,4	0,47	0,38
Hallertauer Magnum	8	5,4	0,28	0,29
Hallertauer Taurus	19	13,1	0,29	0,24
Hallertauer Merkur	13	12,4	0,29	0,30
China Marco Polo	7	4,7	0,63	0,30
Opal	11	8,5	0,34	0,29

Des Weiteren werden in der Tabelle 74 für ausgewählte Hopfenproben die Ergebnisse aus der Hopfenölanalyse mit dem Hopfenölspektrum der entsprechenden Hopfensorten von Narziß et al. (1985) verglichen.

Tabelle 74: Vergleich der Analysenergebnisse aus der Hopfenölanalyse mit Hopfenölanalysen von Narziß et al., 1985

	Hall. Mittelfrüher HHA (μ g/g)		Hall. Perle HPE (μ g/g)		Tettnanger TTE (μ g/g)		Spalt Spalter SSP (μ g/g)	
	Hopfenöl Analyse	Hopfenöl Analyse (Narziß)	Hopfenöl Analyse	Hopfenöl Analyse (Narziß)	Hopfenöl Analyse	Hopfenöl Analyse (Narziß)	Hopfenöl Analyse	Hopfenöl Analyse (Narziß)
Monoterpene								
α -Pinen	4	6	7	3	5	3	4	2
β -Pinen	11	13	13	13	13	16	10	9
Myrcen	2400	2642	2963	2241	2598	2377	2892	1235
Limonen	7	9	20	51	12	51	9,4	34
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	842	1464	1299	2168	295	1763	344	1098
α -Humulen	2710	5095	3456	6545	967	6058	939	2217
Terpenalkohol								
Linalool	27	34	17	6	23	35	36	23
Ester								
Isobutylisobutytrat	5	5	15	2	1	9	1	3
Heptansäuremethylester	14	11	3	8	9	10	16	7
Octansäuremethylester	14	15	4	3	5	6	11	4
Nonansäuremethylester	8	3	3	6	4	15	11	3
Ketone								
2-Tridecanon	67	38	134	36	75	77	84	55
Epoxid								
Caryophyllenoxid	61	24	205	27	166	157	66	109

Beim Vergleich der Analysenergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die verwendeten Proben aus unterschiedlichen Jahrgängen und Anbaugebieten stammen. Die Aromastoffkomposition des Hopfens wird, wie bereits im Kapitel 2.1.8 beschrieben, durch die Witterungsbedingungen, den Erntezeitpunkt und die Bodenbeschaffenheit stark beeinflusst. Zudem haben Trocknungs- und Lagerbedingungen einen Einfluss auf das Hopfenaroma. Dennoch ist festzustellen, dass

bei den verglichenen Hopfenproben vor allem die Werte der Monoterpene und Ester sehr gut übereinstimmen. Bei den Sesquiterpenen β -Caryophyllen und α -Humulen sowie bei Caryophyllenoxid hingegen gibt es größere Differenzen.

4.11 Methodenvergleich zur Hopfenaromastoffanalyse

Aufgrund der Ergebnisse kann man schlussfolgern, dass die HS-Trap Methode im Vergleich zur EBC-Methode ähnliche Ergebnisse liefert was die flüchtigen Komponenten anbelangt. Sie beeinflusst nicht die hitzeinstabilen Komponenten wie die Epoxide. Komponenten, die in niedrigen Konzentrationen vorhanden sind, werden mit der HS-Trap-GC-MS Methode ebenfalls detektiert. Die HS-Trap-GC-MS Methode ist schnell und einfach anzuwenden, und zeichnet sich insbesondere durch eine unkomplizierte Probenvorbereitung aus. Ferner kann die Menge an ätherischem Hopfenöl mit einer hohen Sicherheit anhand der ermittelten Konzentrationen der Hopfenbestandteile errechnet werden. Nachfolgend werden die Methoden zur Analyse der Hopfenaromastoffe gegenübergestellt.

Tabelle 75: Methodenvergleich zur Analyse von Aromastoffen in Hopfen

	HS-Trap	Mebak (Band III, 1.4)	EBC (7.10, 7.12) ASBC (hops-13)
Prinzip	<ul style="list-style-type: none"> Ethanolischer Hopfenextrakt HS-Probe (5ml H₂O + 20mg Hopfenextrakt) HS-Trap-GC-MS 	<ul style="list-style-type: none"> Wasserdampfdestillation Extraktion mit CH₂Cl₂ Säulenchrom. Trennung 2 Fraktionen: Kohlenwasserstofffraktion Sauerstofffraktion GC-FID 	<ul style="list-style-type: none"> Wasserdampfdestillation Gewinnung von Hopfenöl 10%ige Hopfenöllösung GC-FID
Material	<ul style="list-style-type: none"> 2g Hopfen-/pellets + 18g Ethanol 	<ul style="list-style-type: none"> 5g Hopfen-/pellets, H₂O + 4ml EtOH 20g NaCl + 1,5ml CH₂Cl₂ 150ml Pentan 100ml Diethylether 	<ul style="list-style-type: none"> 100g – 120g Hopfen-/pellets H₂O
Zeit Probenvorbereitung	<ul style="list-style-type: none"> 45min /55°C (Ultraschallbad) 30min Kühlen (Eisbad) 	<ul style="list-style-type: none"> 5min/ 30min/ 30min/ 15min (Dest./ Kühlen/ Schütteln/ Zentrifugieren) Zeit: Säulenchrom. Zeit: 2 Eluate einengen + konzentrieren 	<ul style="list-style-type: none"> 3h – 4h Extraktion
Gesamtzeit	<ul style="list-style-type: none"> ca. 1h 25min 	<ul style="list-style-type: none"> ca. 2h 20min 	<ul style="list-style-type: none"> ca. 4h 15min
Nachteile	<ul style="list-style-type: none"> Unvollständige Gleichgewichtseinstellung für höher-siedende Substanzen 	<ul style="list-style-type: none"> Wasserdampfdestillationsapparatur, Zentrifuge, Schüttler erforderlich Hoher Lösemittelverbrauch Aufwendige, Probenvorbereitung, viele Arbeitsschritte (evtl. Verluste) 	<ul style="list-style-type: none"> Destillationsapparatur erforderlich Größere Hopfenmenge notwendig Lange Extraktionszeit Komponentenverluste

4.12 Ergebnisse der HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier

4.12.1 Additive Wechselwirkungen der Bieraromastoffe

Das wahrgenommene Bieraroma entsteht durch das Zusammenspiel mehrerer hundert Aromastoffe [Hanke et al., 2012]. Viele der, im Rahmen dieser Studie, analysierten Bieraromastoffe liegen in Konzentrationen unterhalb ihres Schwellenwertes vor. Dennoch können diese Stoffe einen sensorischen Einfluss ausüben. Es besteht die Möglichkeit, dass diese Komponenten mit Anderen eine additive Wechselwirkung eingehen und somit das sensorisch wahrnehmbare Bieraroma beeinflussen. Hanke et al. (2008) führte die Tatsache, dass mit niedrigeren Linalool-Konzentrationen im Bier höhere Aromaintensitäten wahrgenommen wurden, auf die additiven Effekte der Hopfenaromastoffe mit den Gährungsnebenprodukten, wie 2-Phenylethanol, 2- und 3-Butylacetat, zurück. 2-Phenylethanol hat ein rosenartiges, blumiges Aroma. Hier ist es möglich, dass additive Wechselwirkungen zwischen anderen blumigen Hopfenaromastoffen, wie Geraniol oder Nerol auftreten [Hanke et al, 2008]. In einer weiteren Studie stellte Hanke et al. (2012) den Einfluss steigender Linalool-, Ethylacetat- und Isoamylacetat-Konzentrationen auf die Wahrnehmung von Isovaleriansäure, DMS und Diacetyl im Bier fest.

4.12.2 Gesamtübersicht der Ergebnisse der Bieraromastoffanalysen

Die folgenden Abbildungen 47 – 49 stellen sortenbezogen die gesamten Analyseergebnisse in einer Übersicht dar und ermöglichen einen besseren Vergleich der Konzentrationen von Hellen-, Pils- und Weizenbieren. In den Abbildungen werden für die einzelnen Komponenten jeweils der gesamte Konzentrationsbereich und der engere Konzentrationsbereich, in dem 80% der analysierten Biere liegen, angegeben. Diese werden in der Graphik zum einen grau (gesamt) und zum anderen rot schraffiert (80%) dargestellt. Ferner wurde für jede Komponente der Mittelwert aus allen Analyseergebnissen berechnet. Dieser ist als Punkt in dem jeweiligen Balken dargestellt. Für jede Aromakomponente wird zudem der Schwellenwert in Bier [$\mu\text{g/l}$] angegeben.

4 Ergebnisse und Diskussion



Abbildung 47: Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller Weizenbiere

Gegenüber Pils- und Hellen-Bieren weisen insbesondere die für Weizenbier charakteristischen Ester Essigsäure-Isopentylester (Isoamylacetat) und Essigsäure-2-Phenyl-Ethylester (2-Phenylethylacetat) sowie die Vinylaromaten 4-Vinylbenzol und 4-Vinylguajakol deutlich höhere Konzentrationen auf. Die Konzentrationen von 3-Methyl-butanol-1 (Isoamylalkohol) liegt bei Weizenbieren ebenfalls im oberen Konzentrationsbereich. Weizenbiere weisen im Gegensatz zu Pils- und Hellen-Bieren im Allgemeinen auch eine höhere Hexanolkonzentration auf. Dagegen ist die Linalool-Konzentration der Weizenbiere mit 3,6 – 19,3 µg/l im Vergleich zu den Pils- und Hellen-Bieren eher im unteren Konzentrationsbereich.

In der nachfolgenden Abbildung 48 werden die Konzentrationsbereiche aller analysierten Hellen Biere dargestellt.



Abbildung 48: Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller Hellen-Biere

Im Vergleich zu den Weizenbieren, fallen bei den Hellen-Bieren die tendenziell niedrigeren 2-Methyl-1-Propanol Konzentrationen auf. Isoamylalkohol kommt in den analysierten Hellen-Bieren bis zu einer Konzentration von ca. 87.000 µg/l vor. Die Werte für Isoamylalkohol sind weitestgehend normalverteilt. Bei 86% der Hellen-Biere liegt die Linalool-Konzentration höher als der Schwellenwert von 5,0 µg/l. Die Linalool Konzentration der analysierten hellen Biere bewegt sich insgesamt in einem Bereich von 3,5 – 33,7 µg/l. Die Isoamylacetat Konzentra-

tionen liegen deutlich unter den Werten der Weizenbiere. Bei 84% der Hellen Biere liegt die Konzentration aber dennoch über dem Schwellenwert von 1.600 µg/l.

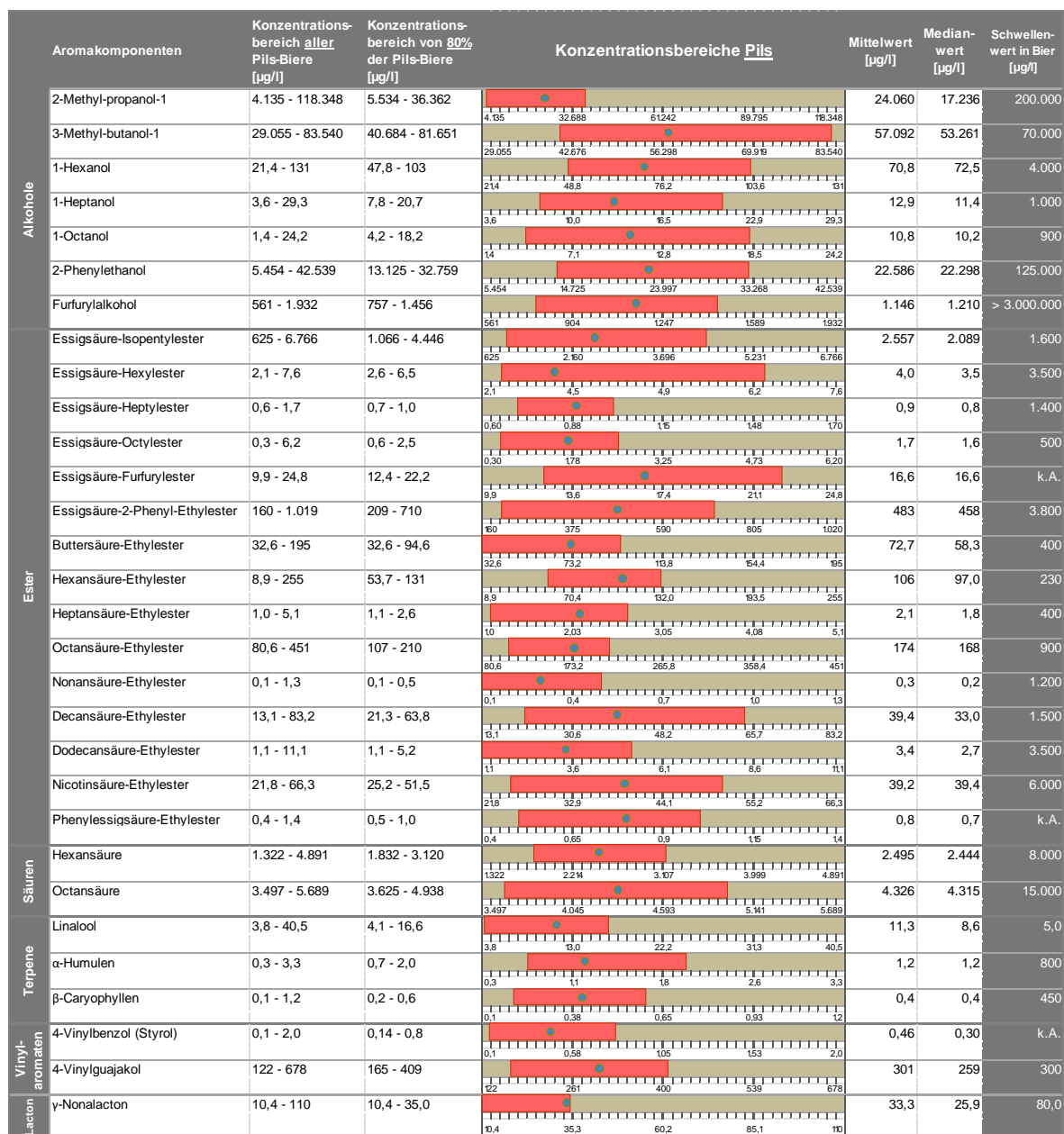


Abbildung 49: Gesamtübersicht der Analysenergebnisse aller Pils-Biere

In der Abbildung 49 werden die Konzentrationsbereiche aller analysierten Pils-Biere dargestellt. Die 4-Vinylguajakol-Konzentrationen sind im Gegensatz zu den Weizenbieren bei Hellen- und Pils-Bieren deutlich niedriger. Sie liegen zwischen 100 und 700 µg/l. Helle- und Pils-Biere weisen im Vergleich zu Weizenbieren nur minimale Styrol-Konzentrationen von etwa 0,1 – 2,0 µg/l auf. Pils-Biere haben die höchsten Linalool-Konzentrationen von bis zu 40,5 µg/l.

4.12.3 Auswertung der einzelnen Aromastoffe im Bier

Für jede der 30 analysierten Aromastoffe wurde jeweils die Konzentrationsverteilung abgebildet. Die Ergebnisse der Bieranalysen wurden in den Diagrammen so dargestellt, dass die Einzelergebnisse der Biere jeweils den definierten Konzentrationsbereichen zugeordnet wurden.

Durch die farbliche Differenzierung kann man die Sorten: Helles, Pils, Weizenbier und Dunkles unterscheiden. Die 161 Biere wurden immer in einer Doppelbestimmung analysiert. In den Diagrammen wurde jeweils der arithmetische Mittelwert der Analysen abgebildet. Diese Darstellungen beinhalten ausschließlich die Ergebnisse der „frischen“ Biere. Die Ergebnisse der „forciert gealterten“ Biere sind hier nicht berücksichtigt. Diese werden in separaten Abbildungen dargestellt. Für den Chargenvergleich wurden jeweils die Biere von drei aufeinanderfolgenden Produktionschargen analysiert.

4.12.3.1 Konzentrationsverteilung ausgewählter Alkohole im Bier

Im Rahmen dieser Studie wurden mittels HS-Trap Analyse die Konzentrationen sieben verschiedener Alkohole ermittelt. Nach Ethanol weist 3-Methyl-1-butanol gefolgt von 2-Methyl-1-propanol und 2-Phenylethanol die höchsten Konzentrationen auf. Nachfolgend erfolgt die Auswertung von 3-Methyl-1-butanol. Die Diagramme zur Konzentrationsverteilung aller weiteren analysierten Alkohole befinden sich im Anhang.

4.12.3.1.1 3-Methyl-1-butanol (Isoamylalkohol)

Die Isoamylalkohol-Konzentrationen der analysierten Biere liegen in einem Bereich von 30.596 – 134.630 µg/l. Von den 161 Bieren haben 63 Biere (38,2%) eine höhere Konzentration als der Schwellenwert von 70.000 µg/l [Meilgard, 1975]. Isoamylalkohol ist insbesondere für die Weizenbiere ein kennzeichnender Aromastoff [Hermann, 2005]. Von den 47 Weizenbieren liegen 32 (68,1%) über dem sensorisch relevanten Schwellenwert in einem Konzentrationsbereich von 70.000 – 138.000 µg/l. Bei den Hellen- und Pils-Bieren liegt der größte Teil unterhalb des Schwellenwertes. Von den 51 Hellen-Bieren haben 37 Proben (72,5%) eine Konzentration von 30.000 – 70.000 µg/l. Bei den 51 Pils-Bieren

weisen 35 Stück (68,6%) eine Konzentration von 30.000 – 70.000 µg/l auf. Bei den dunklen Bieren gibt es Proben mit niedrigen, aber auch einzelne mit ganz hohen Isoamylalkohol-Konzentrationen.

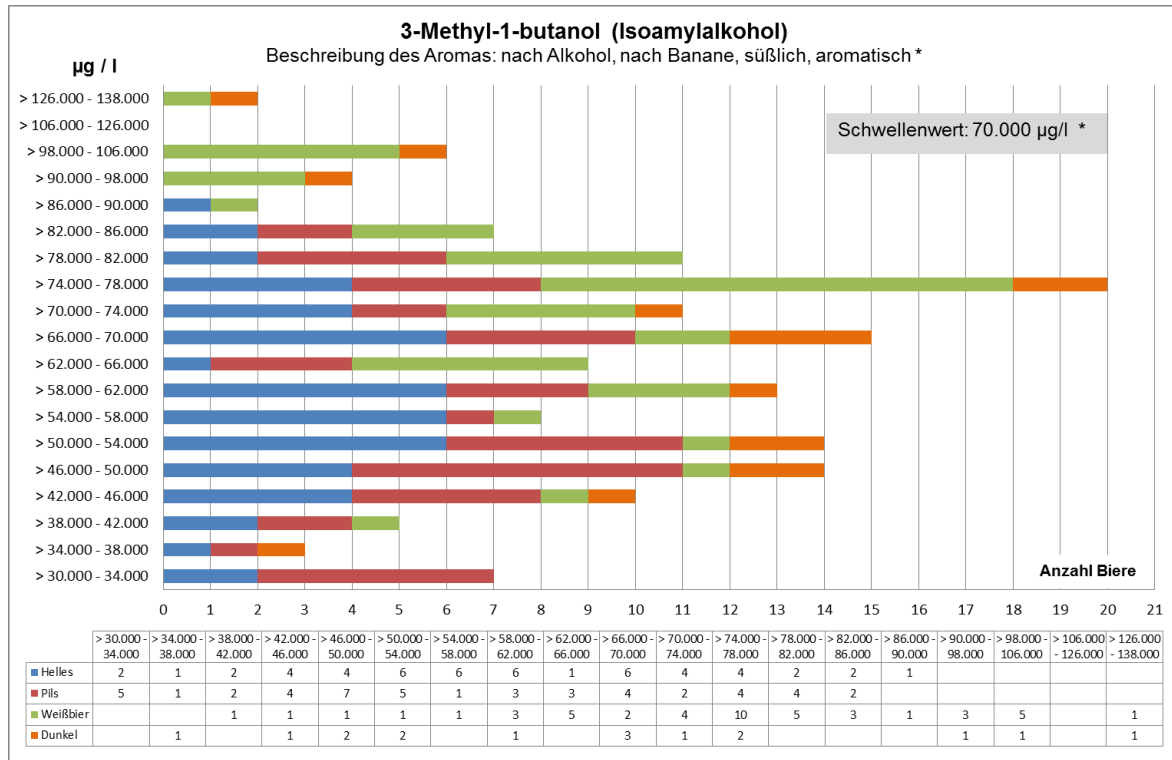


Abbildung 50: Isoamylalkohol-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Die Tabelle 76 zeigt im Chargenvergleich die Konzentrationen für Isoamylalkohol verschiedener Dunkler-, Pils-, Heller- und Weizen-Biere auf. Für den Chargenvergleich wurden jeweils drei aufeinander folgende Produktionschargen der „frischen“ Biere analysiert. Im Chargenvergleich zeigen die verschiedenen Biere eine sehr unterschiedliche Konstanz der Isoamylalkohol-Ergebnisse. Relativ gleichbleibende Isoamylalkohol-Konzentrationen (Variationskoeffizient < 5) weisen 3 Pils-Biere, 1 Helles und 3 Weizenbiere auf. Von den insgesamt 24 Biersorten haben 8 weitere Biere eine Schwankung der Isoamylalkohol-Konzentration mit einem Variationskoeffizienten von $5 < VK < 10$. Bei den restlichen 9 Sorten, insbesondere bei Hellen- und Weizenbieren, haben die Isoamylalkohol-Konzentrationen im Chargenvergleich wenig Konstanz. Die Konzentrationsunterschiede der miteinander verglichenen Chargen schwanken sortenabhängig um bis zu 67%. Bei diesen Bieren wird häufig der Schwellenwert von 70.000 µg/l bei einer Charge

unterschritten und bei der Folgecharge wieder überschritten. Diese starken Schwankungen können ggf. sensorisch wahrnehmbar sein.

Tabelle 76: Chargenvergleich von Isoamylalkohol bei verschiedenen Bieren

Sorte	Marke	Charge 1 [µg/l]	Charge 2 [µg/l]	Charge 3 [µg/l]	MW [µg/l]	S [µg/l]	VK (%)
Dunkel	DUN_1	66.944	75.707	66.547	69.733	4.228	6,1
	DUN_2	49.059	74.602	58.166	60.609	10.570	17,4
Pils	PIL_1	48.463	51.212	66.734	55.470	8.044	14,5
	PIL_2	46.475	55.168	47.333	49.659	3.912	7,9
	PIL_3	61.353	75.462	69.004	68.606	5.767	8,4
	PIL_4	65.096	75.386	74.683	71.721	4.694	6,5
	PIL_5	49.504	43.888	47.453	46.948	2.320	4,9
	PIL_6	81.705	82.793	74.127	79.542	3.854	4,8
	PIL_7	72.679	78.732	80.233	77.214	3.265	4,2
Helles	HEL_1	61.978	56.517	60.995	59.830	2.377	4,0
	HEL_2	57.843	67.753	56.711	60.769	4.960	8,2
	HEL_3	74.688	50.089	72.022	65.600	11.022	16,8
	HEL_4	76.503	54.812	78.845	70.053	10.819	15,4
	HEL_5	61.683	85.974	58.444	68.700	12.286	17,9
	HEL_6	70.624	86.909	59.047	72.193	11.429	15,8
	HEL_7	72.857	77.138	66.575	72.190	4.338	6,0
Weizen- bier	WEI_1	80.938	70.242	64.912	72.030	6.664	9,3
	WEI_2	56.353	75.189	66.420	65.987	7.696	11,7
	WEI_3	101.028	74.084	84.508	86.540	11.093	12,8
	WEI_4	75.412	76.051	81.673	77.712	2.813	3,6
	WEI_5	65.715	79.033	76.019	73.589	5.702	7,7
	WEI_6	98.362	99.550	104.359	100.757	2.593	2,6
	WEI_7	93.755	86.992	85.973	88.906	3.453	3,9
	WEI_8	126.157	75.689	81.972	94.606	22.457	23,7

4.12.3.2 Konzentrationsverteilung ausgewählter Ester in Bier

Im Rahmen dieser Studie wurden in den Bierproben insgesamt 15 verschiedene Ester analysiert. Die Ergebnisse einiger wichtiger Ester werden nachfolgend ausführlich erläutert und diskutiert. Die Abbildungen zur Konzentrationsverteilung aller weiteren Ester befinden sich im Anhang.

4.12.3.2.1 Isoamylacetat

Die Isoamylacetat-Konzentration der analysierten Biere liegt zwischen 625 – 11.157 µg/l. Isoamylacetat ist ein Stoffwechselprodukt der Hefe [Back, 2008a] und hat im Bier einen Schwellenwert von 1.600 µg/l [Meilgard, 1975]. Der sensorische Eindruck lässt sich als bananenartig, estrig beschreiben und ist insbesondere charakteristisch für Weizenbiere des estrigen Typs [Back, 2008a]. Die sortenspezifische Verteilung ist der nachfolgenden Abbildung zu entnehmen.

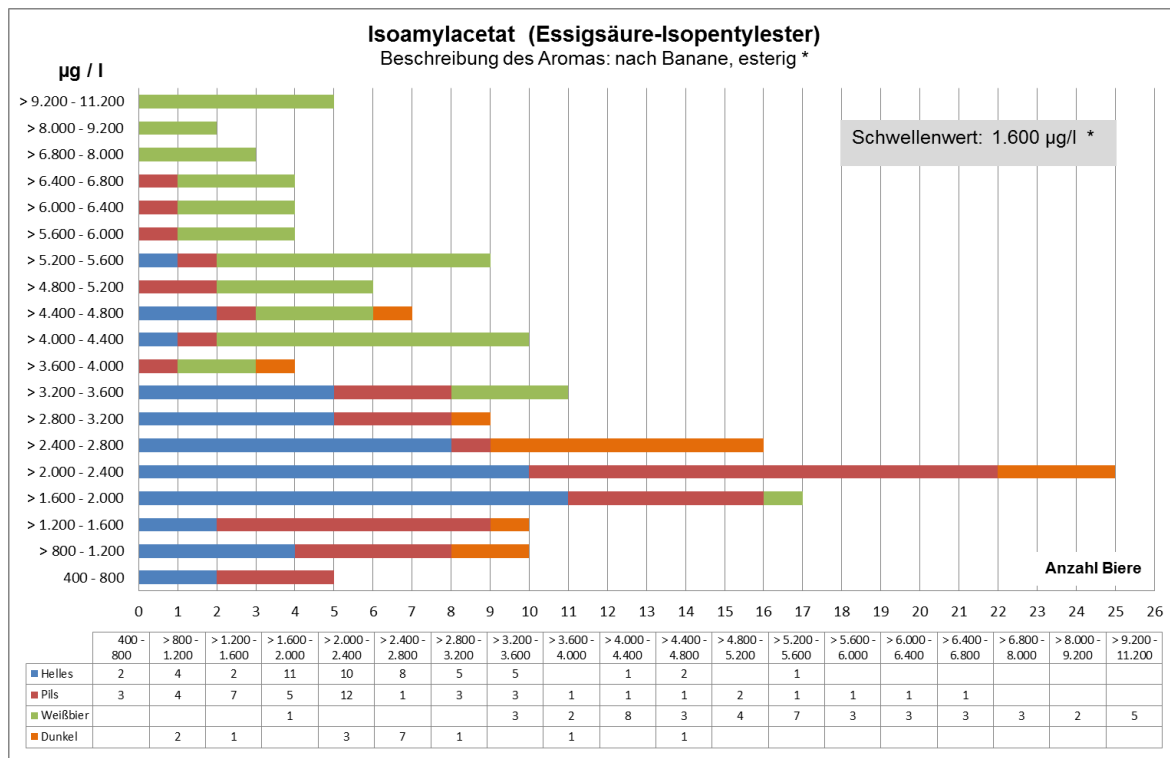


Abbildung 51: Isoamylacetat-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Bei 91,5% der untersuchten Weizenbiere findet sich eine Isoamylacetat-Konzentration im oberen Bereich von 3.600 – 11.200 µg/l. Bei den anderen Biersorten liegt die Isoamylacetat-Konzentration vorwiegend unterhalb dieses Bereichs. Die Hellen-Biere haben zu 86,3% eine Isoamylacetat-Konzentration von 800 – 3.600 µg/l. In einem ähnlichen Konzentrations-Bereich von 400 – 3.600 µg/l finden sich 38 Pils-Biere (80,9%).

Hanke et al. (2012) konnte durch Additionsversuche zeigen, dass sich höhere Isoamylacetatgehalte durch eine Anhebung des Schwellenwertes unterdrückend auf das unerwünschte DMS-Aroma auswirken.

Die nachfolgende Tabelle 77 zeigt im Chargenvergleich die Konzentrationen für Isoamylacetat verschiedener Dunkler-, Pils-, Heller- und Weizen-Biere auf. Für den Chargenvergleich wurden jeweils drei aufeinander folgende Produktionschargen der „frischen“ Biere analysiert. Im Chargenvergleich zeigen die verschiedenen Biere sehr unterschiedliche Schwankungen in ihren Isoamylacetat-Ergebnissen.

Tabelle 77: Chargenvergleich von Isoamylacetat bei verschiedenen Bieren

Sorte	Marke	Charge 1 [µg/l]	Charge 2 [µg/l]	Charge 3 [µg/l]	MW [µg/l]	S [µg/l]	VK (%)
Dunkel	DUN_1	2.329	2.687	2.576	2.531	149	5,9
	DUN_2	1.150	2.576	2.406	2.045	637	31,1
Pils	PIL_1	1.455	1.066	2.004	1.508	385	25,5
	PIL_2	1.430	1.150	777	1.119	267	23,9
	PIL_3	1.234	1.254	1.142	1.210	48,8	4,0
	PIL_4	1.812	2.135	2.274	2.074	194	9,3
	PIL_5	1.398	1.169	1.749	1.439	239	16,6
	PIL_6	2.353	3.521	2.326	2.733	557	20,4
	PIL_7	2.051	2.244	2.272	2.189	97,1	4,4
Helles	HEL_1	2.237	2.333	2.414	2.328	72,4	3,1
	HEL_2	2.243	1.822	1.257	1.777	408	22,9
	HEL_3	2.625	1.743	2.637	2.335	418	17,9
	HEL_4	2.334	1.633	1.916	1.961	288	14,7
	HEL_5	2.864	3.546	3.131	3.180	281	8,8
	HEL_6	2.247	2.021	2.217	2.162	100	4,6
	HEL_7	3.257	4.644	2.964	3.621	733	20,2
Weizen- bier	WEI_1	4.165	4.130	3.833	4.043	149	3,7
	WEI_2	3.494	4.170	3.725	3.796	281	7,4
	WEI_3	5.765	4.957	6.286	5.670	547	9,6
	WEI_4	5.658	5.701	6.411	5.923	345	5,8
	WEI_5	4.449	4.931	5.404	4.928	390	7,9
	WEI_6	4.386	5.252	5.363	5.000	437	8,7
	WEI_7	7.311	9.934	7.923	8.389	1.120	13,4
	WEI_8	5.454	4.361	5.321	5.046	487	9,7

Relativ konstante Werte weisen nahezu alle Weizenbiere auf. Von den acht verschiedenen Weizenbieren haben sieben Sorten Isoamylacetat-Ergebnisse mit einem Variationskoeffizienten < 10 . Bei den Chargen einer dunklen Biersorte hingegen unterscheiden sich die gemessenen Isoamylacetat-Konzentrationen um bis zu 124%. Mehr als die Hälfte der analysierten Pils- und Hellen-Biere haben sehr starke Schwankungen der Isoamylacetat-Konzentration von Charge zu Charge ($14,0 < VK < 26,0$). Die Konzentrationsunterschiede der miteinander verglichenen Chargen schwanken sortenabhängig bei Pils-Bieren um bis zu 88% und bei Hellen-Bieren um bis zu 78%. In diesen Fällen wird zum Teil auch der Schwellenwert von $1.600 \mu\text{g/l}$ zum einen unterschritten und dann wieder überschritten.

4.12.3.2.2 2-Phenylethylacetat

Die 2-Phenylethylacetat-Konzentration der analysierten Biere liegt insgesamt zwischen $103 - 3.806 \mu\text{g/l}$. In Bier weist 2-Phenylethylacetat einen Schwellenwert von $3.800 \mu\text{g/l}$ [Meilgard, 1975] auf. Von den Hellen-Bieren haben 49 Stück (96,1%) eine Konzentration von $100 - 1.000 \mu\text{g/l}$. Pils-Biere weisen vorwiegend

Konzentrationen zwischen 200 – 900 µg/l auf (93,6%). Ähnlich verhalten sich die Dunklen-Biere. Im Gegensatz dazu haben Weizenbiere etwas höhere 2-Phenylethylacetat-Konzentrationen. Diese liegen für 44 Stück (93,6%) bei 500 – 3.000 µg/l.

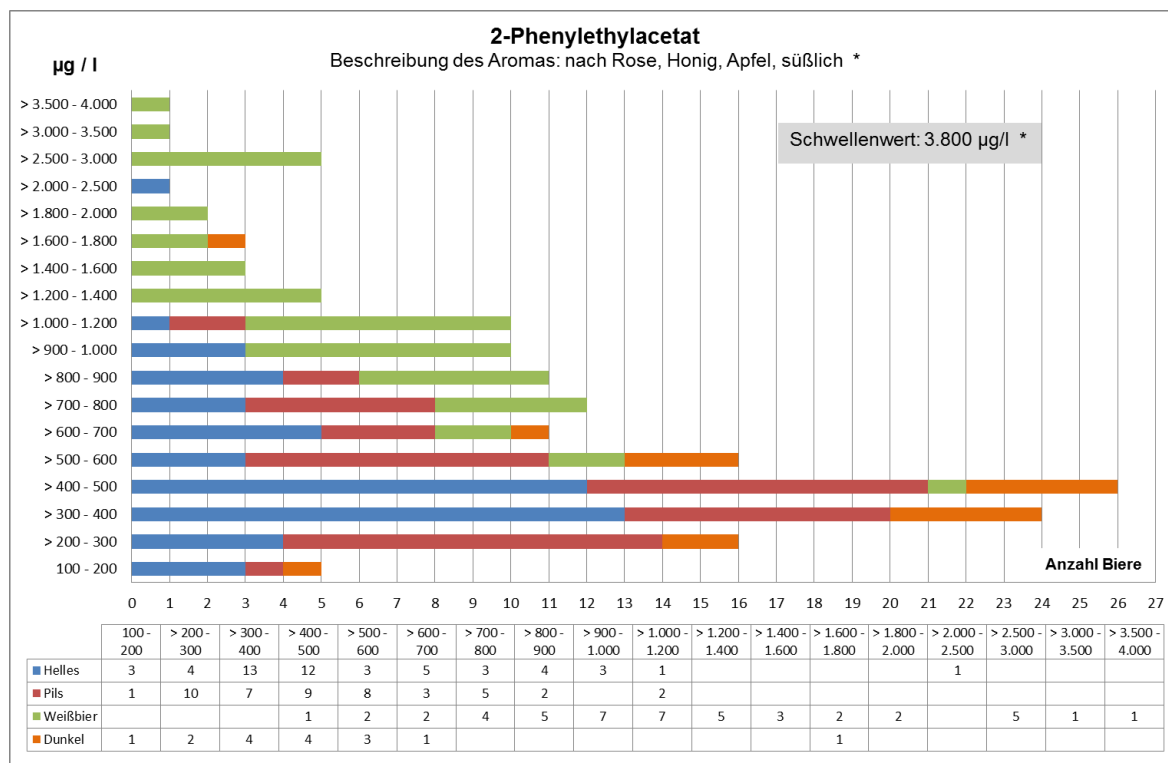


Abbildung 52: 2-Phenylethylacetat-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

4.12.3.2.3 Buttersäure-Ethylester

Die Buttersäure-Ethylester-Konzentrationen liegen in einem Bereich von 21,0 – 195 µg/l und somit unterhalb des Schwellenwertes von 400 µg/l [Meilgard, 1975]. Wie nachfolgende Abbildung 53 zeigt, haben die meisten der analysierte Biere (86,3%) eine Buttersäureethylester-Konzentration zwischen 30,0 – 110 µg/l, wobei diese bei den Weizenbieren tendenziell etwas höher liegt.

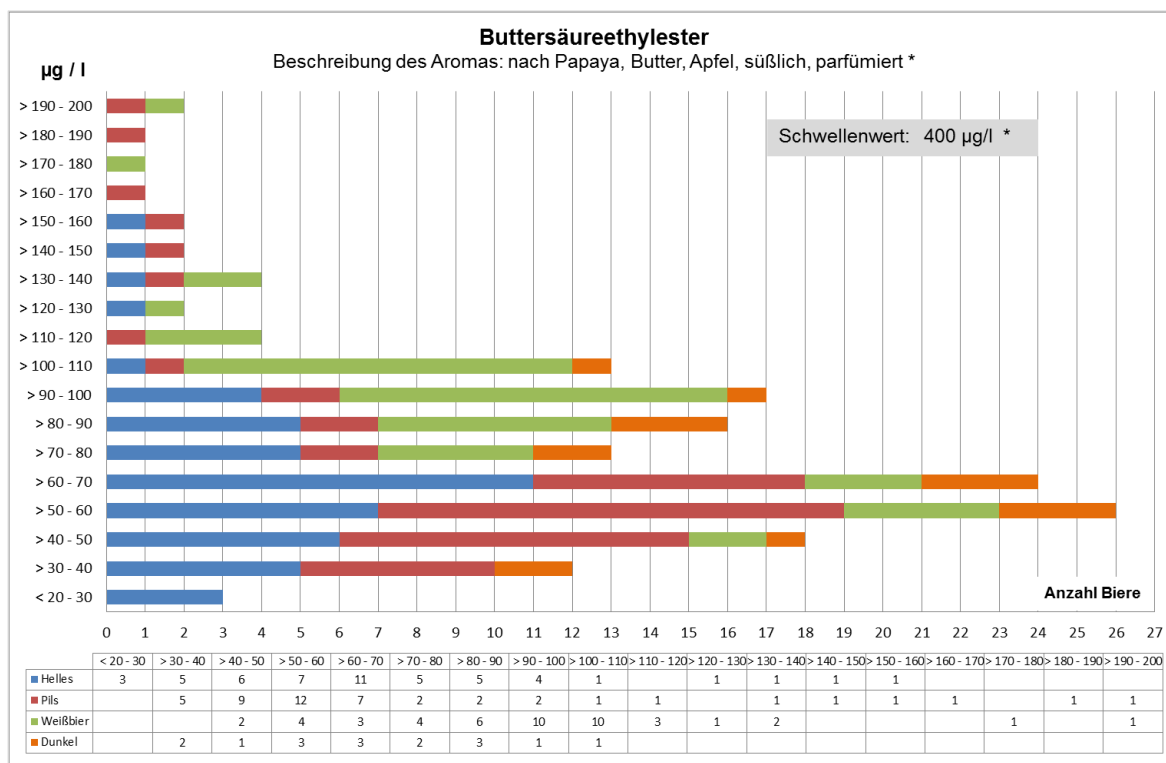


Abbildung 53: Buttersäure-Ethylester-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

4.12.3.2.4 Hexansäure-Ethylester

Bei den analysierten Biere liegt eine Hexansäure-Ethylester-Konzentration in einem Bereich von 8,9 – 347 µg/l vor. Der Schwellenwert im Bier liegt bei 230 µg/l [Meilgard, 1975]. Hexansäure-Ethylester wird im Bier, aufgrund seines apfelartigen Aromas, sensorisch eher negativ bewertet [Back, 2008a]. Die meisten Biere (80,7%) liegen in einem Bereich von 40 – 180 µg/l. Wie aus der nachfolgenden Abbildung 54 hervorgeht, haben 81,1% der Pils-Biere und 87,2% der Weizenbiere eine Hexansäure-Ethylester-Konzentration zwischen 60 – 180 µg/l.

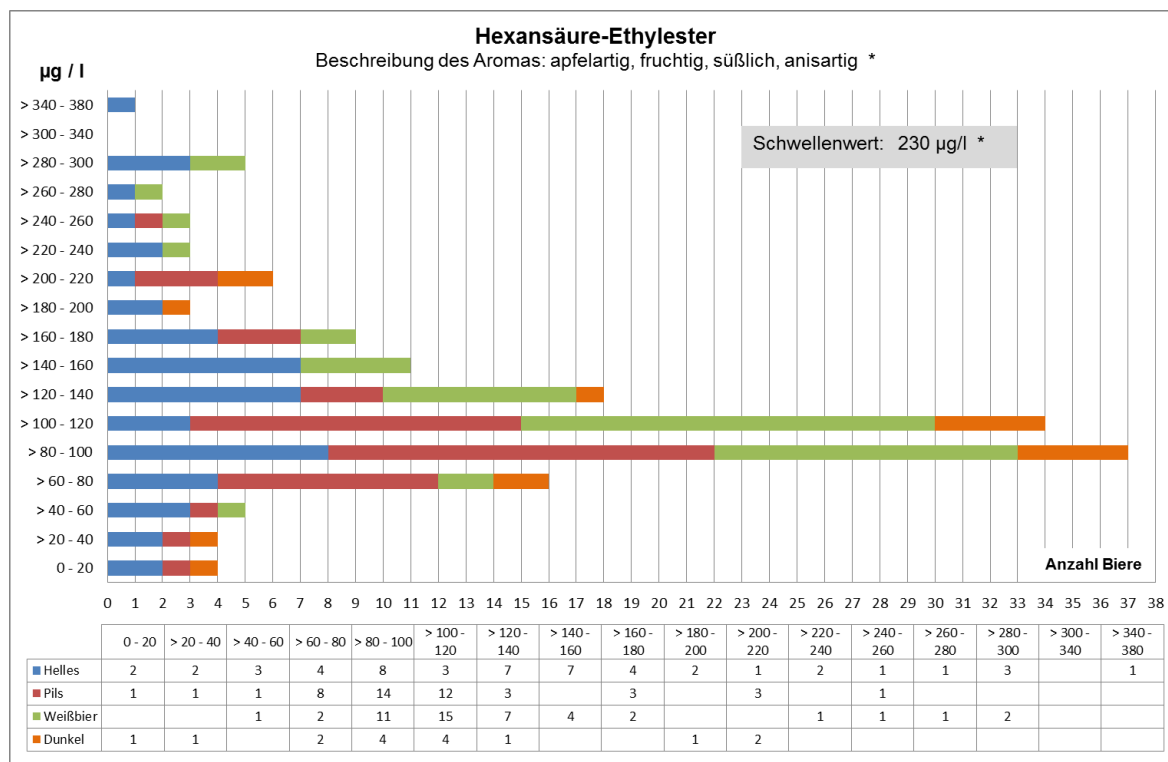


Abbildung 54: Hexansäure-Ethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975] – ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

4.12.3.2.5 Nicotinsäure-Ethylester

Die Alterungskomponente Nicotinsäureethylester [Eichhorn, 1991 und Lustig, 1994] liegt in den untersuchten „frischen“ Bieren in einem Konzentrationsbereich von 12,8 – 103 µg/l vor. Dies ist weit unter dem Schwellenwert von 6.000 µg/l [Meilgard, 1975]. Bei Alterung des Bieres nimmt die Konzentration von Nicotinsäureethylester zu [Lustig, 1994].

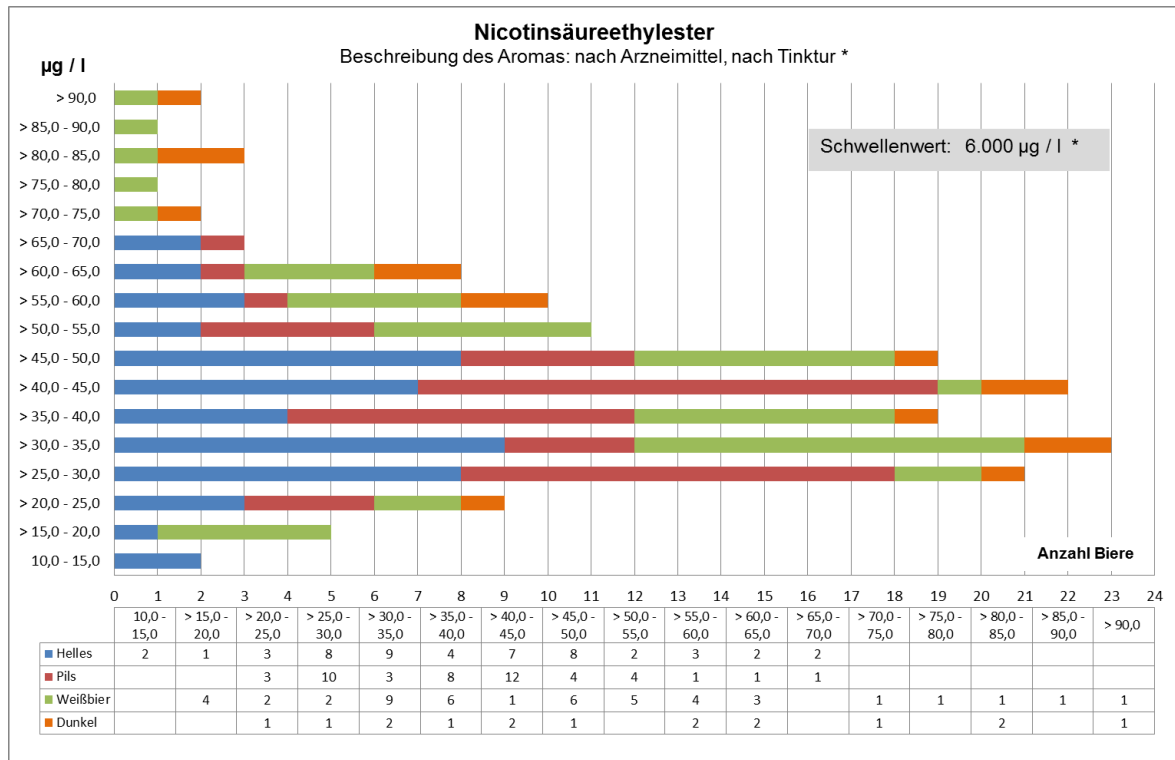


Abbildung 55: Nicotinsäure-Ethylester-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Schwellenwert: Meilgard, 1975] – ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Nachfolgende Abbildung 56 zeigt die Veränderung der Nicotinsäureethylester-Konzentration von frischen und forciert gealterten Bieren.

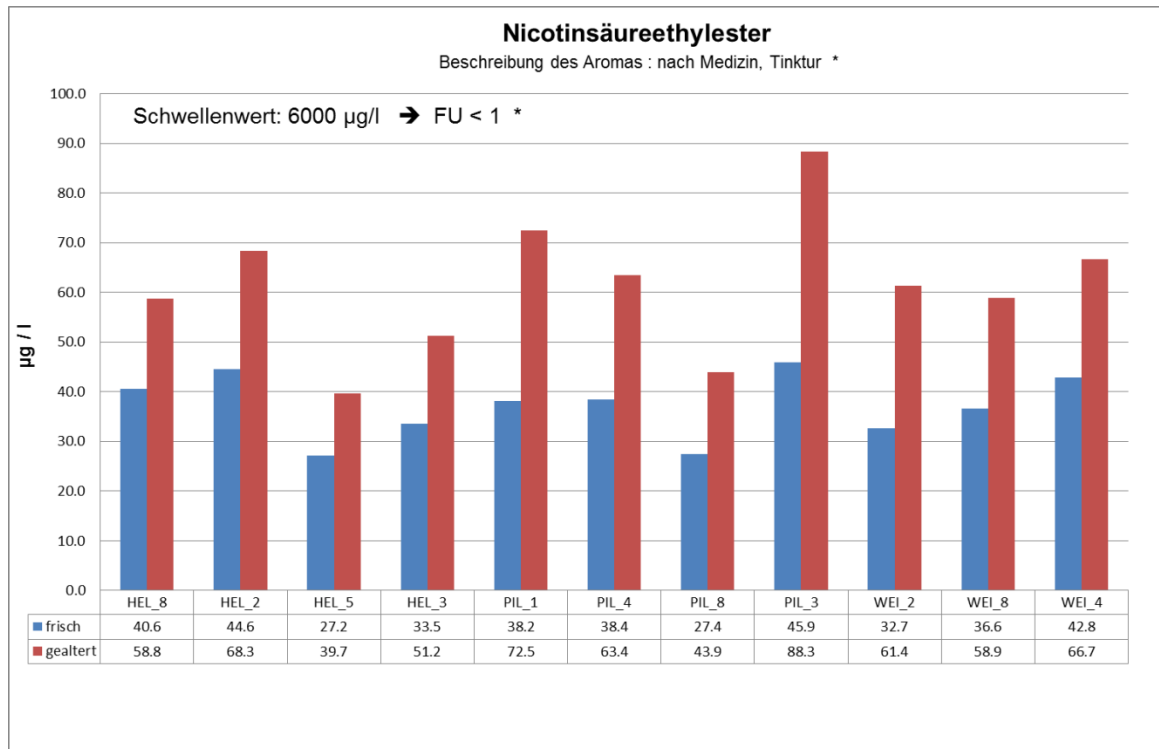


Abbildung 56: Vergleich von „frischen“ und „forciert gealterten“ Bieren am Beispiel von Nicotinsäureethylester [Schwellenwert: * Meilgard, 1975]

Generell lässt sich bei allen forciert gealterten Bieren ein Konzentrationsanstieg feststellen, der im Bereich von 45 – 90% liegt. Lustig (1994) zeigt in seinen Studien, dass Biere verschiedener Brauereien über einen Alterungszeitraum von 12 Monaten einen weitestgehend kontinuierlichen Anstieg in ihrer Nicotinsäureethylester-Konzentration aufweisen. So wird zum Beispiel bei einer Ausgangs-Konzentration von 5,0 µg/l im frischen Bier nach 12 Monaten Alterung eine Nicotinsäureethylester-Konzentration von 167,3 µg/l erreicht [Lustig, 1994].

4.12.3.3 Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Organische Säuren

Im Rahmen dieser Studie wurden die Konzentrationen der Hexansäure und Octansäure bestimmt.

4.12.3.3.1 Hexansäure

Die Hexansäure-Konzentrationen in den analysierten Bieren liegen in einem Bereich von 837 – 5.714 µg/l. Die sortenspezifische Verteilung ist in der nachfolgenden Abbildung 57 dargestellt.

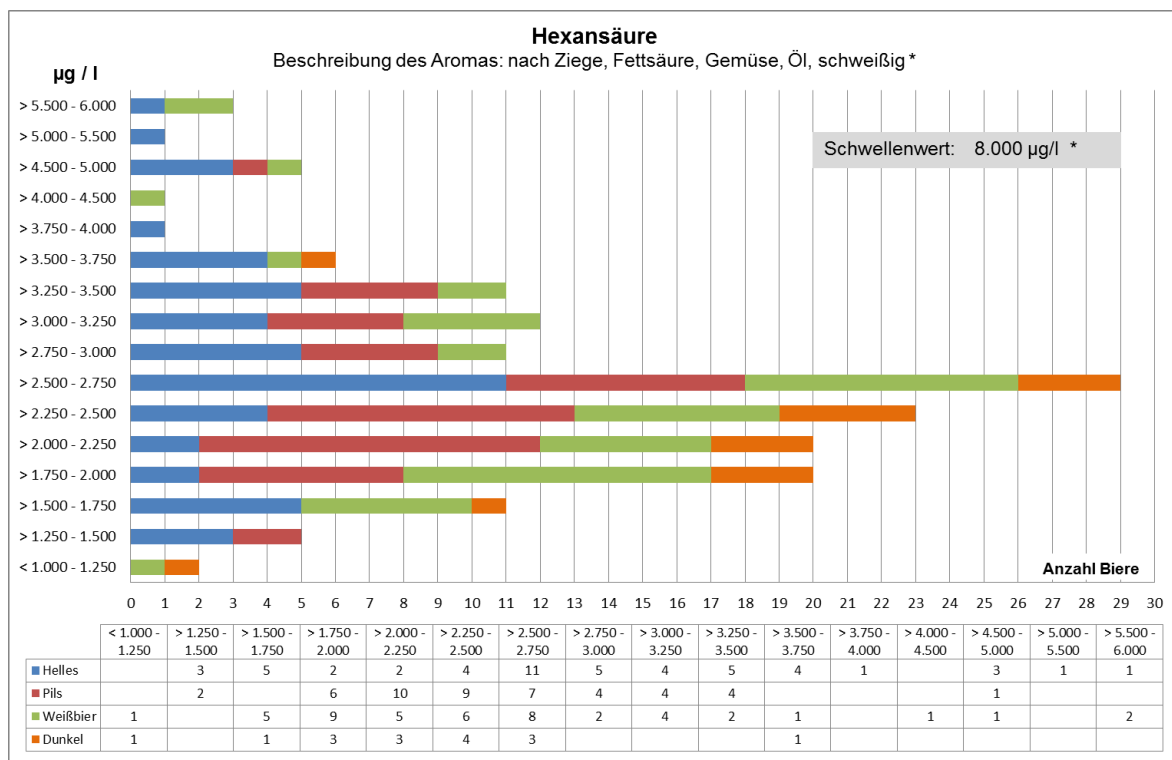


Abbildung 57: Hexansäure-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Schwellenwert: Meilgard, 1975] – ($n_{\text{Biere gesamt}}: 161$ davon $n_{\text{Helles}}: 51$; $n_{\text{Pils}}: 47$; $n_{\text{Weizenbier}}: 47$; $n_{\text{Dunkel}}: 16$)

Ein Großteil (85,9%) der Hexansäure-Ergebnisse liegt in dem Bereich von 1.500 – 3.500 µg/l. Alle nachgewiesenen Konzentrationen liegen unter dem Schwellenwert von 8.000 µg/l [Meilgard, 1975].

4.12.3.3.2 Octansäure

Die Octansäure-Konzentrationen in den analysierten Bieren liegen in einem Bereich von 2.838 – 6.137 µg/l. Die sortenspezifische Verteilung ist in der nachfolgenden Abbildung 58 dargestellt. Diese Werte liegen alle unter dem sensorischen Schwellenwert von 15.000 µg/l [Meilgard, 1975].

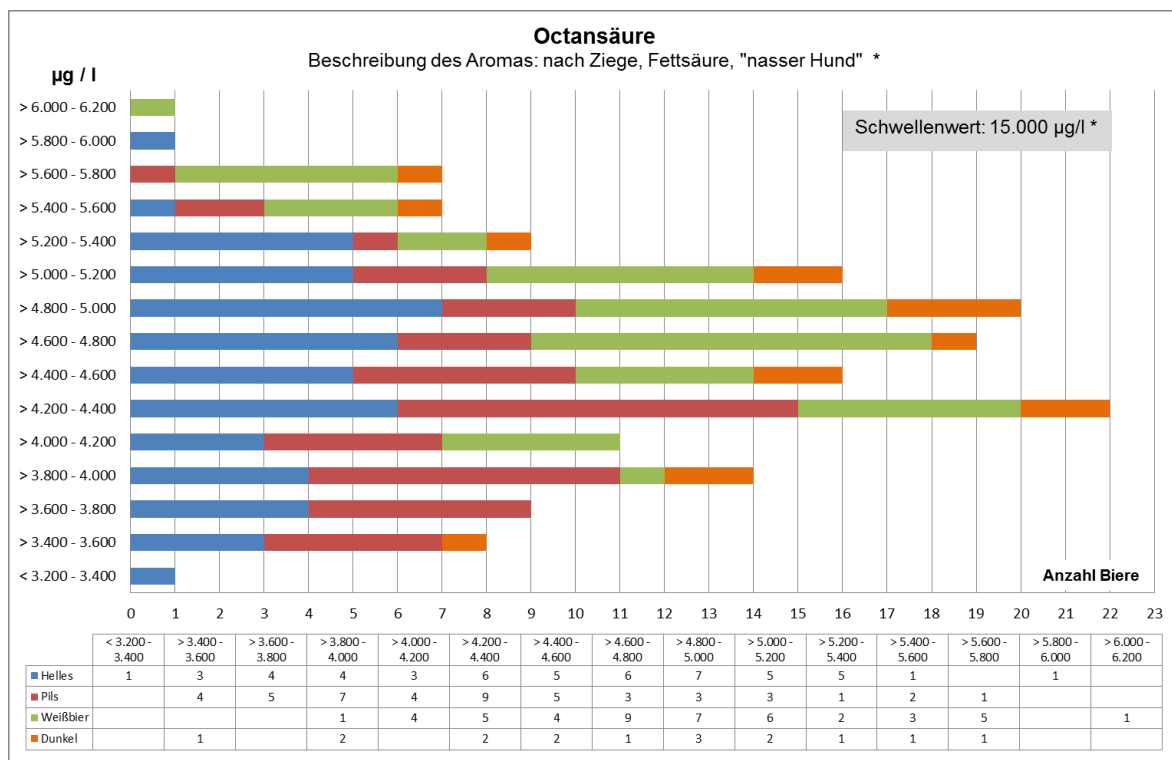


Abbildung 58: Octansäure-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Schwellenwert: Meilgard, 1975] – ($n_{\text{Biere gesamt}}: 161$ davon $n_{\text{Helles}}: 51$; $n_{\text{Pils}}: 47$; $n_{\text{Weizenbier}}: 47$; $n_{\text{Dunkel}}: 16$)

4.12.3.4 Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Terpene

Die Terpene gehören zu den charakteristischen Aromastoffen im Hopfen [Sharpe und Laws, 1981]. Aber nur wenige dieser Stoffe haben einen Einfluss auf das Hopfenaroma im Bier. Aufgrund der verschiedenen Brauprozessschritte unterscheidet sich das Hopfenaroma im Bier deutlich von Aromastoffen im Hopfen [Silbereisen, 1968].

4.12.3.4.1 Linalool

Im Rahmen dieser Studie wurden in den verschiedenen Hopfensorten Linalool-Konzentrationen von 9,6 – 161 µg/g nachgewiesen. Dass der Linaloolgehalt während des Brauprozesses stark abnimmt wird durch die in den Bieren analysierten Linalool-Konzentrationen von 3,5 – 40,5 µg/l deutlich (Abbildung 59). Hanke et al., (2008a, b) beschreibt die Transferraten verschiedener Hopfenaromakomponenten vom Hopfen über die Würze bis zum Bier. Dabei stellt er fest, dass mit einer linaloolbasierten Hopfengabe am Ende der Kochung oder beim Ausschlagen in den Whirlpool es möglich ist, ein konstantes Hopfenaroma im Bier zu erhalten.

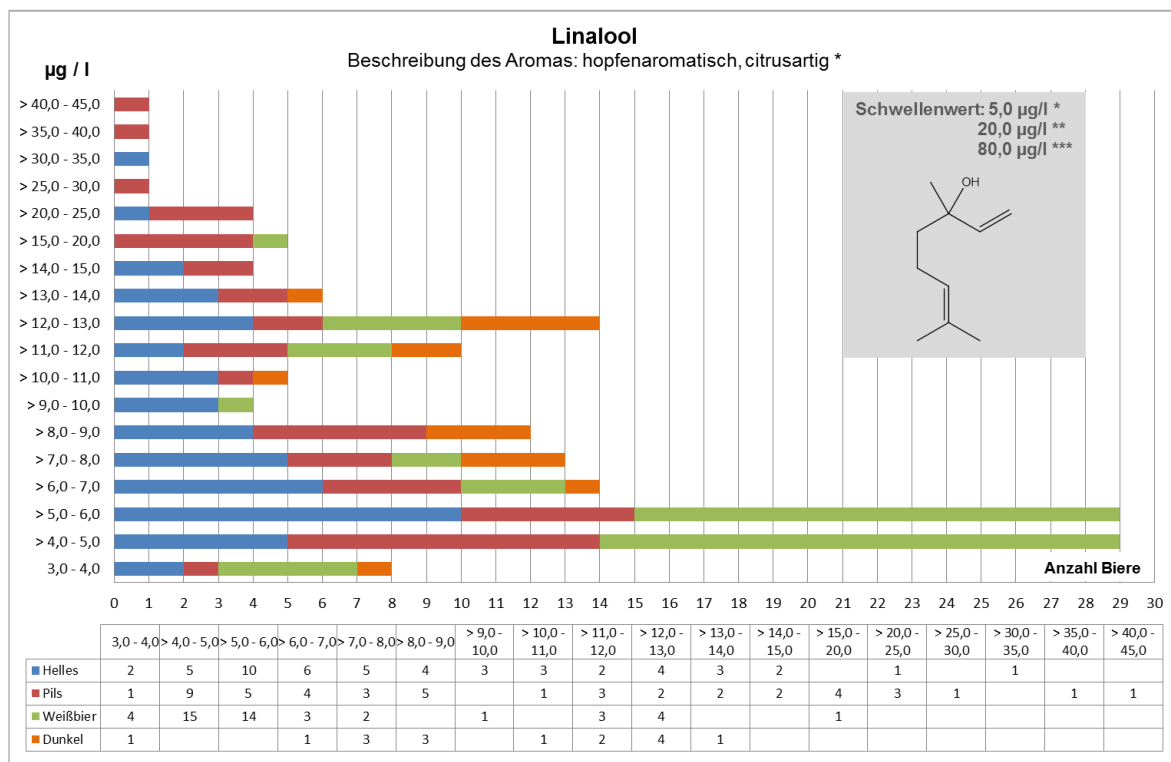


Abbildung 59: Linalool-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS-Analyse [Schwellenwert: * Harrison und Collins, 1968; ** Kaltner, 2000; *** Meilgaard, 1975b] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Wenn man von einem Schwellenwert von 5,0 µg/l ausgeht, kann bei den meisten analysierten Bieren das Linalool als hopfenaromatische Komponente wahrgenommen werden. Bei den Hellen- und Pils-Bieren erstrecken sich die Ergebnisse auf diesen gesamten Konzentrationsbereich. Ein Großteil (86,3 %) der Hellen-Biere hat eine Linalool-Konzentration in dem Bereich von 5,0 - 35,0 µg/l. Bei den Pils-Bieren liegen 80,4% über dem Schwellenwert von 5,0 µg/l in einem Bereich

von 5,0 – 45,0 µg/l. Es gibt aber auch 7 Helle- und 10 Pils-Biere mit keiner wahrnehmbaren Linalool-Konzentration. Ein Großteil (80,9%) der Weizenbiere hingegen, hat deutlich niedrigere Linalool-Konzentrationen in einem Bereich von 3,0 – 8,0 µg/l. Die Dunklen Biere (87,5 %) bewegen sich in einem Bereich von 6,0 – 13,0 µg Linalool pro Liter. Nachfolgende Tabelle 78 zeigt im Chargenvergleich die Linalool-Konzentrationen verschiedener Dunkler-, Heller-, Pils- und Weizenbiere. Es wurden jeweils drei aufeinanderfolgende Produktionschargen von nicht gealterten Bieren analysiert.

Tabelle 78: Chargenvergleich von Linalool bei verschiedenen Biersorten

Sorte	Marke	Charge 1 [µg/l]	Charge 2 [µg/l]	Charge 3 [µg/l]	MW [µg/l]	S [µg/l]	VK (%)
Dunkel	DUN_1	11,3	12,4	11,4	12,1	0,5	4,0
	DUN_2	8,3	8,3	7,5	8,0	0,4	5,0
Pils	PIL_1	7,0	4,9	4,8	5,6	1,0	18,3
	PIL_2	5,6	5,2	4,9	5,2	0,3	5,4
	PIL_3	8,9	6,7	8,0	7,8	0,9	11,2
	PIL_4	8,4	5,8	6,4	6,8	1,1	16,1
	PIL_5	7,9	4,9	8,6	7,1	1,6	22,6
	PIL_6	10,1	12,2	7,0	9,7	2,1	21,9
	PIL_7	4,3	5,7	4,1	4,7	0,7	15,4
Helles	HEL_1	5,7	5,4	3,5	4,9	1,0	20,4
	HEL_2	3,8	5,7	5,4	5,0	0,9	17,3
	HEL_3	5,5	4,3	4,1	4,6	0,6	13,7
	HEL_4	4,7	4,1	5,2	4,7	0,5	9,7
	HEL_5	8,5	7,8	6,2	7,5	1,0	12,8
	HEL_6	5,7	5,5	6,5	5,9	0,4	6,8
	HEL_7	7,8	12,5	6,7	9,0	2,5	27,8
Weizen- bier	WEI_1	5,8	5,8	4,6	5,4	0,6	10,8
	WEI_2	5,0	5,3	4,7	5,0	0,3	5,1
	WEI_3	5,8	4,9	4,6	5,1	0,5	9,8
	WEI_4	4,9	5,2	4,2	4,8	0,4	8,3
	WEI_5	4,4	4,9	4,7	4,7	0,2	3,9
	WEI_6	5,8	4,6	5,0	5,1	0,5	9,7
	WEI_7	5,3	7,5	5,7	6,2	1,0	15,9
	WEI_8	5,2	4,4	4,2	4,6	0,4	9,7

Im Chargenvergleich zeigen die verschiedenen Biere eine sehr unterschiedliche Konstanz der Linalool-Konzentrationen. Etwa die Hälfte der 24 Biere weisen bei den drei untersuchten Chargen relativ konstante Linalool-Konzentrationen auf, mit einem Variationskoeffizienten < 10,0%. Bei den anderen Proben, insbesondere bei nahezu allen Pils- und Helle-Biere schwanken die Linalool-Konzentrationen von Charge zu Charge zum Teil bis zu 87% ($10,0 < VK < 23,0$). Treten bei einer Sorte sehr großen Schwankungen auf, dann wird bei einzelnen Proben häufig auch der sensorisch relevante Schwellenwert von 5,0 µg/l unterschritten. Dies kann eine

unmittelbare Auswirkung auf die wahrnehmbare Qualität des Bieres haben. Eventuell könnte in diesen Fällen das von Hanke et al. (2008b) empfohlene Verfahren der linaloolbasierten Hopfengabe am Ende der Kochung hilfreich sein. Mit dieser Methode der Dosage nach Linaloolgehalt kann auf saisonale und sortenbedingte Schwankungen reagiert und ein konstantes Hopfen-aroma im Bier erreicht werden [Hanke et al., 2008b].

Ferner wurde die Veränderung der Linalool-Konzentration bei Bialterung untersucht. Die nachfolgende Abbildung 60 zeigt die Veränderung der Linalool-Konzentration von frischen und forciert gealterten Bieren. Dabei ist ersichtlich, dass die forciert gealterten Biere im Vergleich zu den frischen Bieren einen um 12 – 124 % höheren Linaloolgehalt aufweisen. Lustig (1994), fand in seinen Untersuchungen bei einem 12 Monate alten Bier einen Linaloolgehalt von 6,1 µg/l. Im Gegensatz dazu hatte das frische Bier nur 3,6 µg/l Linalool.

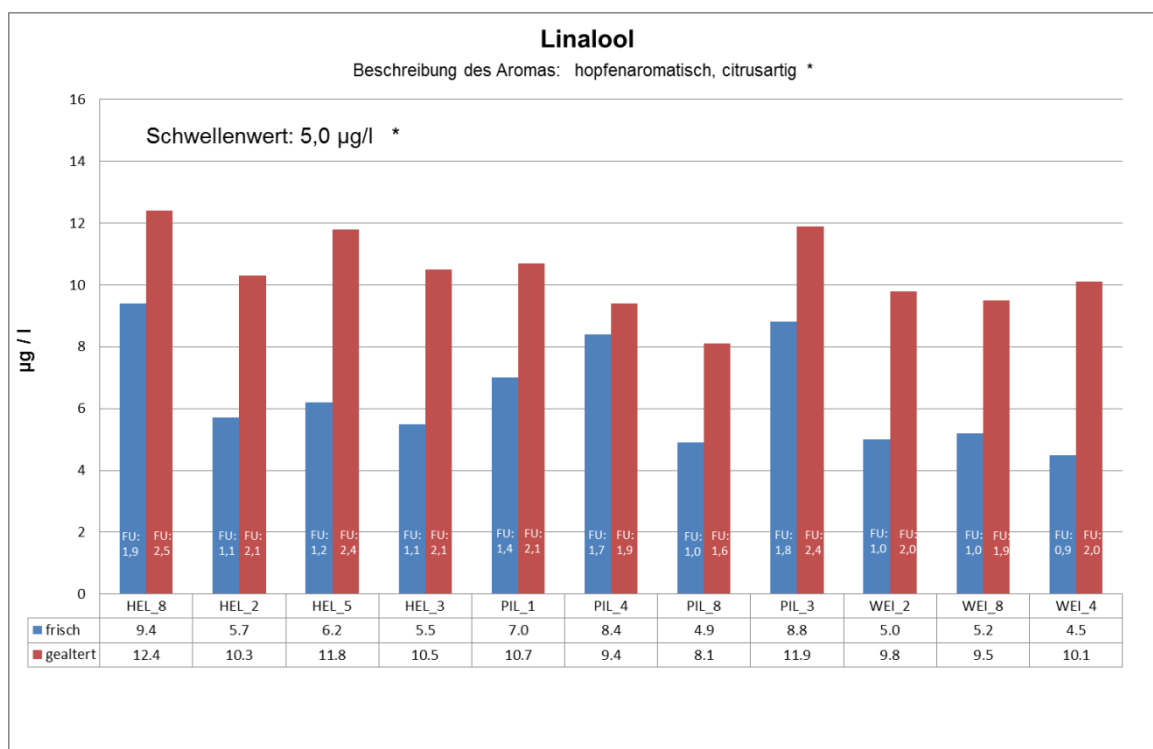


Abbildung 60: Vergleich „frische“ und „forciert gealterte“ Biere am Beispiel von Linalool [Schwellenwert: * Harrison und Collins, 1968]

Kollmannsberger et al., (2006) untersuchte das Vorkommen glykosidisch gebundener Aromakomponenten in Hopfen, Hopfenprodukten und in Bier. Dabei stellte er bei einem 8 Wochen gelagertem Bier einen Anstieg an freien Linalool fest, bedingt durch die Freisetzung an glykosidisch-gebundenem Linalool während der

Bieralterung. Dies bestätigt die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Linalool-Ergebnisse.

4.12.3.4.2 β -Caryophyllen

Das Terpen β -Caryophyllen gehört zu den Hauptkomponenten des Hopfenöls [Sharpe und Laws, 1981]. In den, im Rahmen dieser Studie, analysierten Hopfen-sorten liegt der Gehalt zwischen 219 – 2.311 $\mu\text{g/g}$. In den untersuchten Bieren dagegen kommt β -Caryophyllen nur in minimalen Konzentrationen von 0,05 – 1,2 $\mu\text{g/l}$ vor. Die Abbildung der β -Caryophyllen-Verteilung befindet sich im Anhang. Der Schwellenwert von β -Caryophyllen in Bier liegt bei 450 $\mu\text{g/l}$ [Silbereisen, 1968]. Bei den Versuchen zur Transferrate von Hopfenaromastoffen zeigt Hanke et al. (2008a), dass β -Caryophyllen zwar in allen Würzeproben, aber nur in einzelnen Bieren nachzuweisen war. Mitter et al. (2001) beschreibt ähnliche Erkenntnisse in seinen Versuchen. Er konnte β -Caryophyllen und α -Humulen in der Würze ebenfalls noch nachweisen, stellte aber auch große Verluste während des Würzekochprozesses fest. In weiteren Versuchen konnte er beobachten, dass der geringe Rest an β -Caryophyllen und α -Humulen während der Gärung verschwindet.

4.12.3.4.3 α -Humulen

In Hopfenöl hat α -Humulen entweder die größte oder nach Myrceen die zweitgrößte Konzentration [Sharpe und Laws, 1981]. Die α -Humulen-Konzentration in Hopfen ist stark sortenabhängig und beträgt in den hier analysierten Hopfenproben zwischen 664 – 5.672 $\mu\text{g/g}$. In Bier dagegen ist α -Humulen, wie auch β -Caryophyllen, nur in Spuren vorhanden. Bei den analysierten Bieren fanden sich α -Humulen-Konzentrationen von 0,1 – 4,6 $\mu\text{g/l}$. Die Abbildung der α -Humulen-Verteilung befindet sich im Anhang. Der Schwellenwert von α -Humulen in Bier beträgt 800 $\mu\text{g/l}$ [Silbereisen, 1968]. Mitter et al. (2001) konnte α -Humulen in geringen Mengen in der Würze finden, stellte aber fest, dass es während der Gärung verschwand. Hanke et al. (2008) konnte bei seinen Untersuchungen in allen Würzen α -Humulen-Konzentrationen zwischen 10 – 40 $\mu\text{g/l}$ nachweisen. Ferner ermittelte er, dass für einige Biere die α -Humulen-Konzentrationen während der Fermentation sogar anstiegen.

4.12.3.5 Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Vinylaromaten

Im Rahmen dieser Studie wurden die Konzentrationen von 4-Vinylbenzol und von 4-Vinylguajakol untersucht.

4.12.3.5.1 Styrol (4-Vinylbenzol)

Die Untersuchungen zeigten, dass für die Hellen-, Dunklen- und Pils-Biere keine relevanten Styrol-Konzentrationen nachzuweisen waren. Bei all diesen Bieren lagen die Styrol-Konzentrationen unterhalb von 1,0 – 2,0 µg/l.

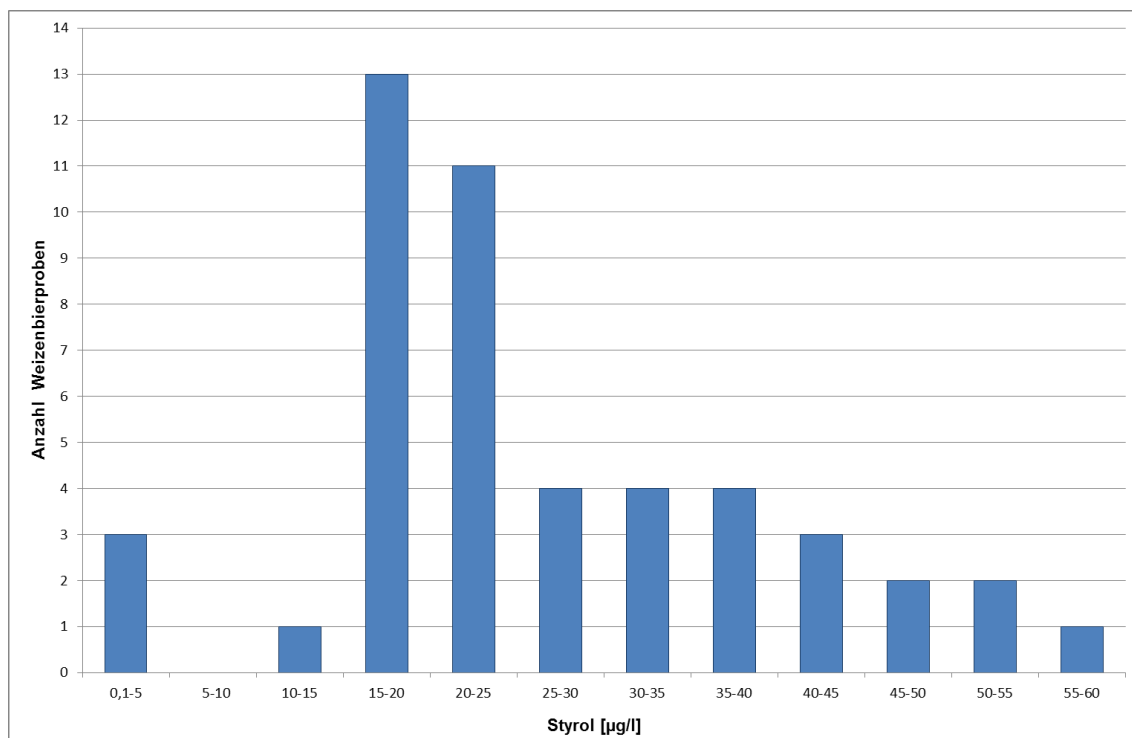


Abbildung 61: Verteilung der Styrol-Konzentration in Weizenbier (n = 47)

Für die Weizenbiere hingegen konnten Konzentrationen in einem Bereich von 0,1 µg/l bis 58,3 µg/l ermittelt werden. Die genaue Verteilung derselben ist der Abbildung 61 zu entnehmen. Neben vorwiegend hellen Weizenbieren wurden auch vier dunkle Weizenbiere analysiert. Leichte und alkoholfreie Weizenbiere wurden in dieser Abbildung nicht berücksichtigt. Bei einzelnen Bieren wurde von drei verschiedenen Produktionschargen bzw. von einer gealterten Charge der Styrolgehalt gemessen. Bei etwa der Hälfte der Weizenbiere ist ein Styrolgehalt zwischen 15 und 25 µg/l nachzuweisen. Davon haben 13 Biere (27,7%) einen Styrolgehalt von 15 – 20 µg/l und 11 Biere (23,4%) einen Styrolgehalt von 20 – 25 µg/l. Der Mittelwert liegt bei 26,5 µg/l. Bei den dunklen Weizenbieren liegt der

Styrolgehalt ähnlich. Nur ein dunkles Weizenbier weist einen höheren Wert von 51,4 µg/l auf. Alkoholfreie Weizenbiere enthalten nahezu kein Styrol. Bei einem hellen Weizenbier wurden bei allen analysierten Chargen überraschenderweise nur Spuren von Styrol (0,1 – 0,2 µg/l) gefunden. Dies liegt vermutlich an der speziellen Gärtechnologie dieses Bieres. Es stellte sich heraus, dass in Abhängigkeit von der Charge Styrol-Konzentrationen deutlich, bis über 100%, variieren können (Tabelle 79). Des Weiteren wurde festgestellt, dass sich der Styrolgehalt während der natürlichen Alterung des Bieres nicht wesentlich verändert. Langos et al. (2013) konnte mit einer neuen HS-GC-MS Schnellmethode Konzentrationen von 13,0 – 31,1 µg/l Styrol in verschiedenen Weizenbieren quantifizieren. In untergärigen Bieren unterschiedlichen Typs lagen die Styrolgehalte ebenso unterhalb der Nachweisgrenze. Dies lässt sich dadurch erklären, dass untergärrige Hefen in der Regel nicht in der Lage sind, Styrol in nennenswerten Mengen zu produzieren.

Tabelle 79: Chargenvergleich von Styrol bei verschiedenen Weizenbieren

Sorte	Marke	Charge 1 [µg/l]	Charge 2 [µg/l]	Charge 3 [µg/l]	M [µg/l]	S [µg/l]	VK (%)
Weizen- bier	WEI_1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,0	35,9
	WEI_2	15,8	18,4	23,3	19,1	3,1	16,3
	WEI_3	16,2	19,2	16,5	17,3	1,3	7,8
	WEI_4	19,6	24,3	20,8	21,6	2,0	9,2
	WEI_5	21,8	19,5	45,7	28,8	12,0	41,5
	WEI_6	15,8	17,0	18,5	17,1	1,1	6,5
	WEI_7	24,6	43,7	34,0	34,1	8,0	23,5
	WEI_8	32,5	21,7	20,9	25,0	5,3	21,1

In der Abbildung 62 ist das Streudiagramm von Styrol (µg/l) und 4-Vinylguajakol (µg/l) aller analysierten Weizenbiere dargestellt. Es zeigt den linearen Zusammenhang zwischen dem 4-Vinylguajakolgehalt und dem Styrolgehalt auf. Der Korrelationskoeffizient R liegt bei 0,7763. Eine Korrelation von Styrol mit dem gebildeten 4-Vinylguajakol und 4-Vinylphenol wurde bereits beschrieben [Schwarz und Methner, 2011 a, b]. Sie konnten auch nachweisen, dass aber keine direkte Korrelation zwischen dem Zimtsäuregehalt in der Würze und der Styrol-Konzentration im Bier vorliegt. Dies zeigt, dass die Bildung von Styrol hauptsächlich von der individuellen Prozessführung abhängt. Insbesondere der verwendete Hefestamm und die Temperaturen während der Haupt- und Nachgärung spielen eine entscheidende Rolle [Schwarz und Methner, 2011 a, b].

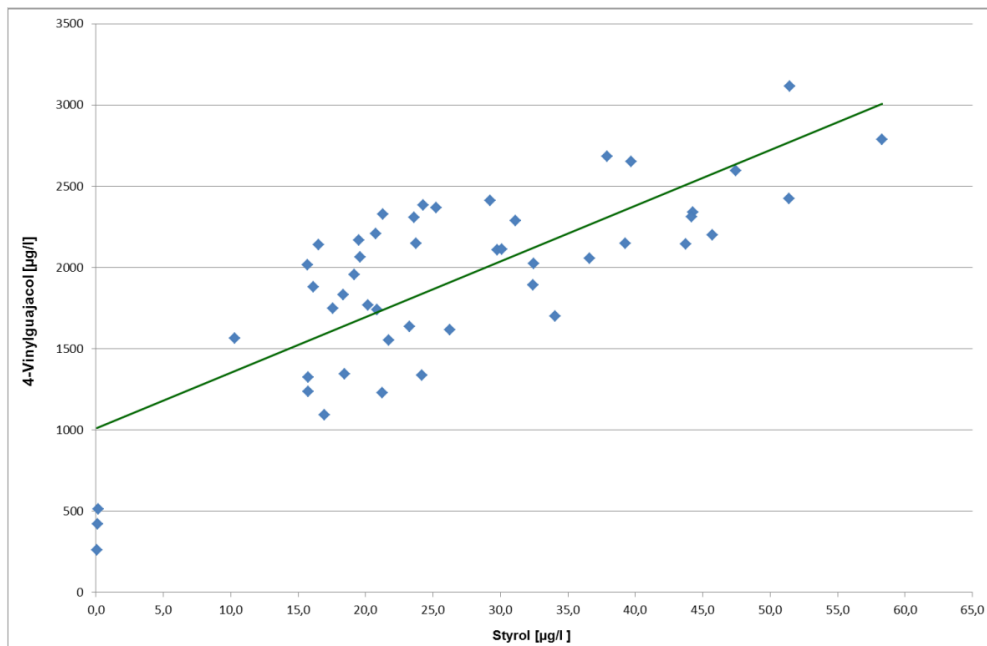


Abbildung 62: Lineare Korrelation zwischen Styrol und 4-Vinylguajacol

Da Styrol zum Bieraroma keinen positiven Beitrag leistet und zudem ein unerwünschter Stoff in Lebensmitteln ist, sollte die Konzentration in Bier möglichst gering sein. Styrol wird von der „International Agency for Research on Cancer“ [IARC, 2002], sowie von dem deutschen Bundesinstitut für Risikobewertung [BfR, 2006] als „möglicherweise krebserregend für den Menschen“ eingestuft. Die Analytendaten zeigen, dass Potential zur Reduktion des toxikologisch relevanten Styrols in Weizenbier vorhanden ist. Die nachgewiesenen Styrolkonzentrationen führen allerdings nicht zur Überschreitung von der WHO festgelegten TDI- und ADI-Werte durch den Konsum von Weizenbier. Bei Konzepten zur Minimierung des Styrolgehaltes liegt die Herausforderung darin, dass die charakteristischen sensorischen Eigenschaften, d.h. Aroma und Geschmack des trinkfertigen Weizenbieres auch weiterhin erhalten bleiben [Langos et al., 2013].

4.12.3.5.2 4-Vinylguajakol

Das 4-Vinylguajakol ist mit seinem gewürznelkenartigen Aroma der charakteristische Aromastoff des phenolischen Weizenbiertyps [Back, 2008a]. Der Schwellenwert liegt bei 300 µg/l [Meilgard, 1975]. Konzentrationen des 4-Vinylguajakols über 4.000 µg/l werden jedoch häufig als unangenehm medizinisch wahrgenommen [Back, 2008a].

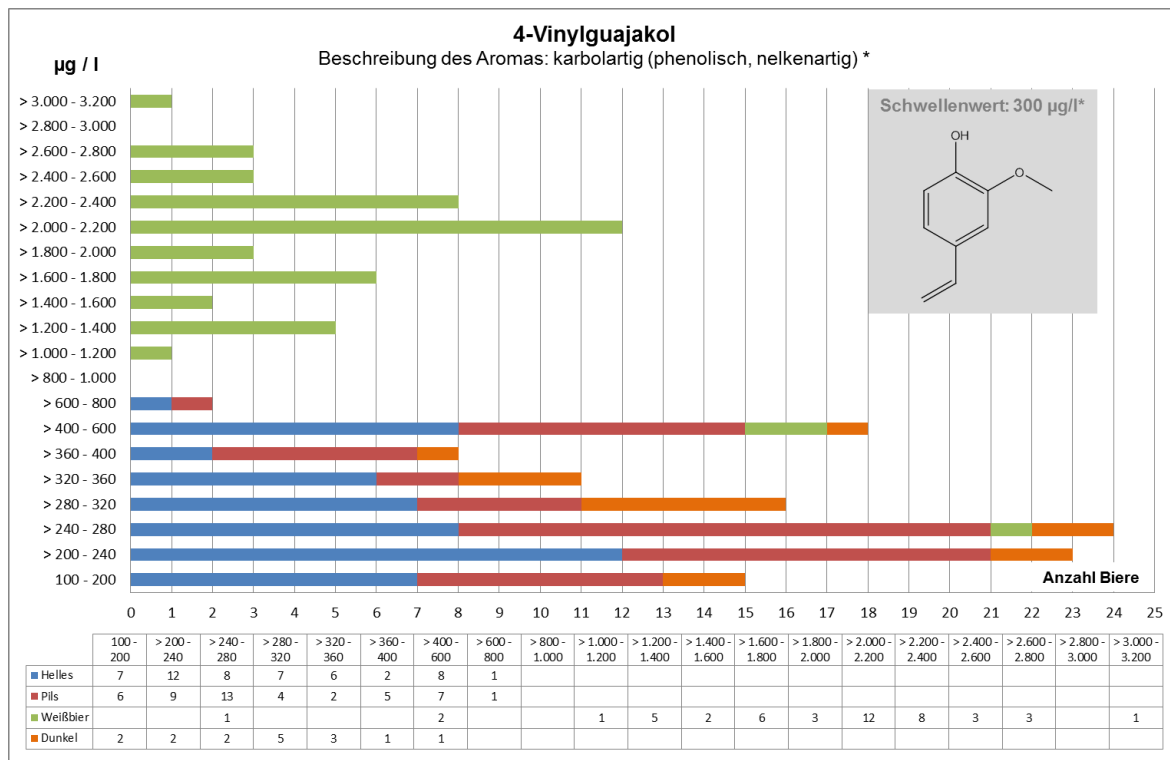


Abbildung 63: 4-Vinylguajakol-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Schwellenwert: Meilgard, 1975] - ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Die Konzentrationen der analysierten Weizenbiere liegen, bis auf eine Ausnahme, weit über dem Schwellenwert in einem Bereich von 1.093 – 3.113 µg/l. Die drei Chargen des Weizenbieres „WEI_1“ weisen neben einem sehr niedrigen Styrolgehalt auch eine niedrige, nicht Weizenbier typische, 4-Vinylguajakol-Konzentration auf. Dies ist vermutlich auf den verwendeten Hefestamm zurückzuführen. Für die Hellen-, Pils- und Dunklen-Biere konnten 4-Vinylguajakol-Konzentrationen von 105 – 678 µg/l nachgewiesen werden. Von diesen 114 Bieren liegt bei einer überwiegenden Anzahl von 89 Bieren die 4-Vinylguajakol-Konzentration unter dem Schwellenwert. In diesem unteren Bereich sind die verschiedenen Biersorten hinsichtlich ihrer Konzentration relativ gleich verteilt.

Wackerbauer (1978) zeigte, dass bei den untergärigen Kulturhefen kein Stamm Ferulasäure decarboxylieren und 4-Vinylguajakol bilden konnte. Dies erklärt auch die niedrigeren 4-Vinylguajakol-Konzentrationen bei den Pils-, Hellen- und Dunklen-Bieren. Die hier vorhandenen 4-Vinylguajakol Mengen müssen dann durch thermische Decarboxylierung der Ferulasäure entstanden sein.

Bei acht Weizenbieren wurde ein Chargenvergleich mit jeweils drei Bieren aus unterschiedlichen Produktionschargen durchgeführt. Die Schwankungen der 4-Vinylguajakol-Konzentration der einzelnen Chargen sind stark sortenabhängig (Tabelle 80). Bei vier Sorten gibt es größere Unterschiede ($10,0 < VK < 27,0$).

Tabelle 80: Chargenvergleich von 4-Vinylguakol bei verschiedenen Weizenbieren

Sorte	Marke	Charge 1 [µg/l]	Charge 2 [µg/l]	Charge 3 [µg/l]	M [µg/l]	S [µg/l]	VK (%)
Weizen- bier	WEI_1	512	421	260	397	104	26,2
	WEI_2	1.325	1.831	1.637	1.598	208	13,0
	WEI_3	1.880	1.955	2.138	1.991	108	5,4
	WEI_4	2.064	2.382	2.206	2.217	130	5,9
	WEI_5	2.327	2.169	2.198	2.231	68,6	3,1
	WEI_6	1.236	1.093	1.346	1.225	104	8,5
	WEI_7	1.338	2.145	1.700	1.728	330	19,1
	WEI_8	2.022	1.551	1.740	1.771	193	10,9

4.12.3.6 Konzentrationsverteilung der Bieraromastoffe – Lactone

Das Lacton γ -Nonalacton gehört zu den alterungsrelevanten Aromastoffen, die bei der Bieralterung zunehmen [Eichhorn, 1991; Lustig, 1994].

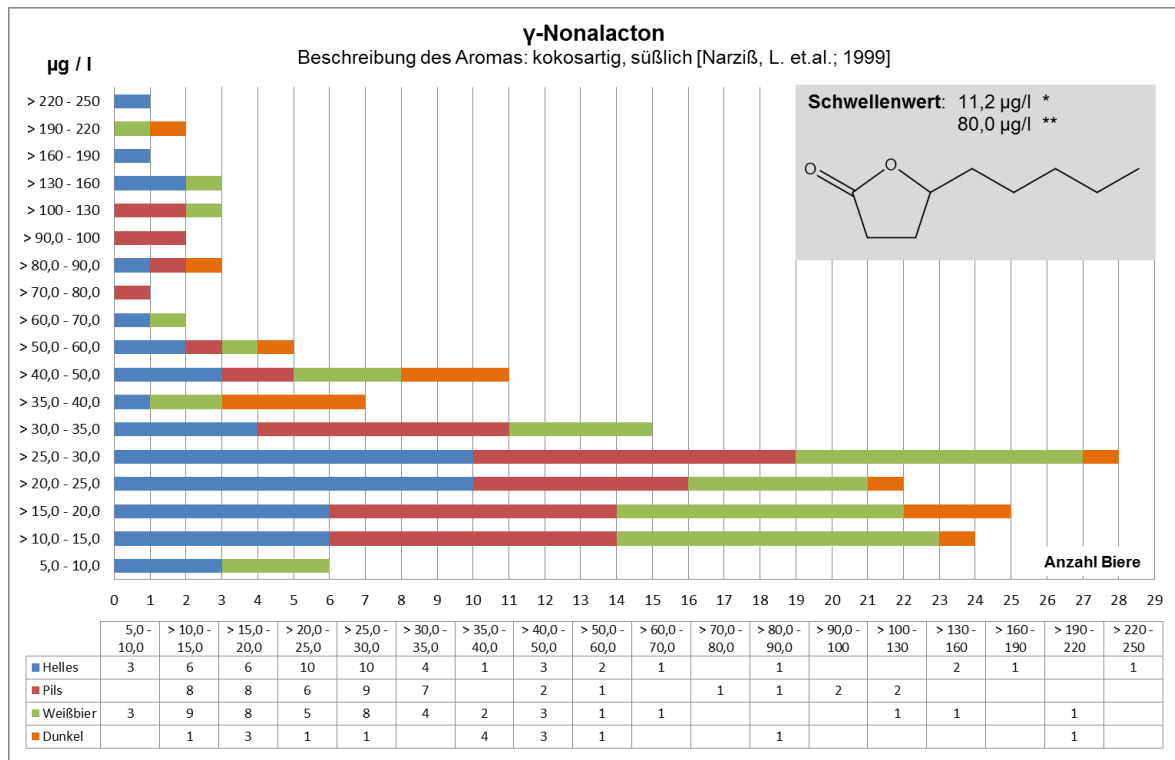


Abbildung 64: γ -Nonalacton-Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [Schwellenwerte: * Suzuku, 2006; ** Yamashita, 2006] – ($n_{\text{Biere gesamt}} = 161$ davon $n_{\text{Helles}} = 51$; $n_{\text{Pils}} = 47$; $n_{\text{Weizenbier}} = 47$; $n_{\text{Dunkel}} = 16$)

Im Rahmen dieser Studie konnte γ -Nonalacton in den 161 analysierten nicht-gealterten Bieren in Konzentrationen von 6,9 – 232 $\mu\text{g/l}$ nachgewiesen werden (Abbildung 64). Davon liegen 138 Biere (85,7%) in dem Konzentrationsbereich von 5,0 – 50,0 $\mu\text{g/l}$. Bezüglich des Schwellenwertes von γ -Nonalacton in Bier gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben. Zum einen wird der Schwellenwert mit 11,2 $\mu\text{g/l}$ [Suzuku, 2006] und zum anderen mit 80,0 $\mu\text{g/l}$ [Yamashita, 2006] angegeben.

In der nachfolgenden Abbildung 65 wird die Veränderung der γ -Nonalacton-Konzentration von frischen und forciert gealterten Bieren dargestellt.

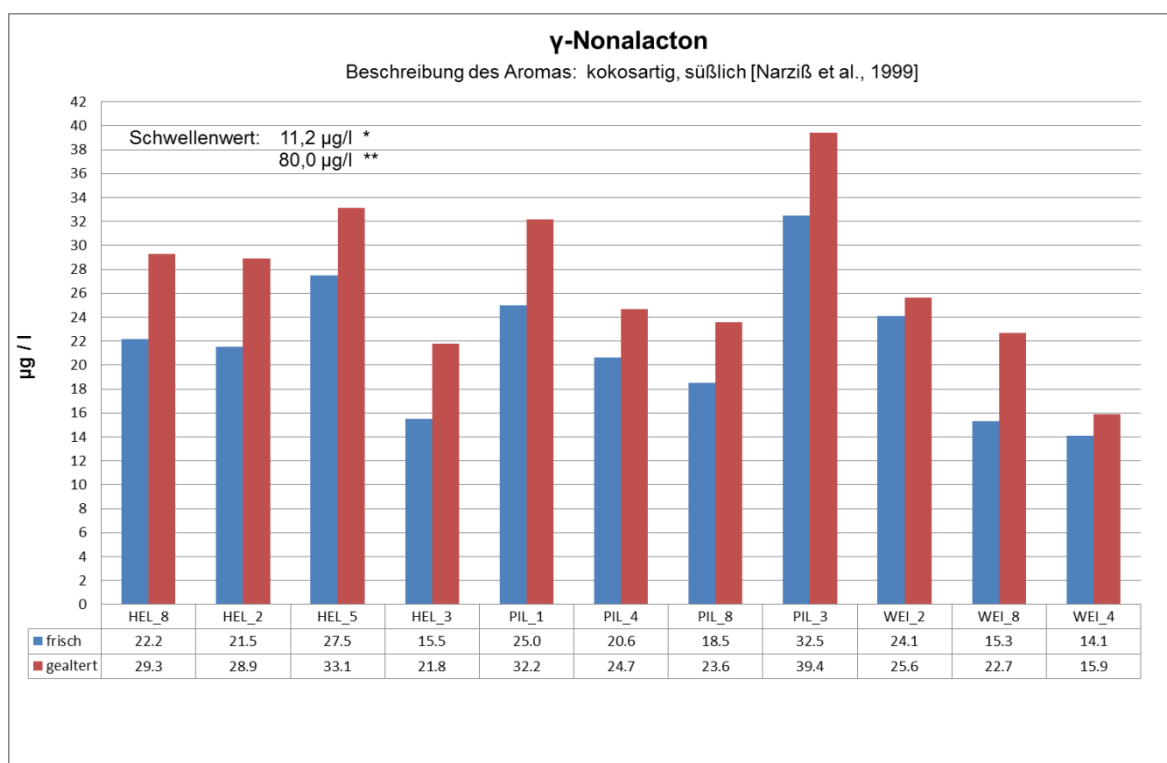


Abbildung 65: Vergleich von „frischen“ und „forciert gealterten“ Bieren am Beispiel von γ -Nonalacton [Schwellenwerte: * Suzuku, 2006; ** Yamashita, 2006]

Bei allen gealterten Bieren kann ein Anstieg der γ -Nonalacton-Konzentration zwischen 6 – 48% festgestellt werden. In der Arbeit von Lustig (1994) wird die Veränderung der γ -Nonalacton-Konzentration über einen Zeitraum von 12 Monaten für verschiedene Biere untersucht. Es kann eine Veränderung dieser Alterungskomponente von 30,2 $\mu\text{g/l}$ im frischen Bier bis zu 100,2 $\mu\text{g/l}$ im 12 Monate alten Bier ermittelt werden [Lustig, 1994].

4.13 Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier mit Literaturwerten

Die nachfolgende Tabelle 81 zeigt den Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap Analyse mit Literaturwerten von Back, (2008a). Bei den HS-Trap Ergebnissen liegen mindestens 80% der analysierten Biere in den angegebenen Konzentrationsbereichen. Insgesamt wurden 47 Weizenbiere und 51 Helle Biere mittels HS-Trap-GC-MS untersucht. Die zugrundeliegende Probenanzahl bei den Vergleichswerten ist nicht bekannt. Die unterschiedliche Ausstattung mit Aromastoffen lässt sich auf die verschiedenen Brauverfahren von Weizenbier und Hellem Vollbier zurückführen [Back, 2008a]. Weizenbiere verfügen nicht nur über höhere Konzentrationen an Aromastoffen, v.a. im Bereich der Gärungsnebenprodukte, sondern auch über größere Schwankungsbreiten [Back, 2008a]. Diese Unterschiede können mit den gewonnenen Ergebnissen der HS-Trap Analyse umfangreich bestätigt werden. Generell stimmen die HS-Trap Analysenwerte durchgängig sehr gut mit den Konzentrationsangaben von Back (2008a) überein.

Tabelle 81: Vergleich der Ergebnisse der HS-Trap Analyse von ausgewählten Bieraromastoffen in Weizenbier und Hellem Vollbier mit Literaturwerten von Back (2008a).

Bieraromastoffe		Konzentration Weizenbier [Back, 2008a]	Konzentration Weizenbier HS-Trap	Konzentration Helles Vollbier [Back, 2008a]	Konzentration Helles Vollbier HS-Trap
2-Methyl-propanol-1	mg/l	20,0 – 60,0	15,4 – 47,4	10,0 – 20,0	4,7 – 18,7
3-Methyl-butanol-1	mg/l	40,0 – 100,0	56,4 – 98,4	30,0 – 50,0	42,4 – 77,1
1-Heptanol	µg/l	10,0 – 50,0	14,9 – 27,7	10,0 – 30,0	3,5 – 19,1
1-Octanol	µg/l	10,0 – 40,0	2,0 – 11,2	20,0 – 40,0	5,3 – 13,3
2-Phenylethanol	mg/l	15,0 – 45,0	14,4 – 32,6	10,0 – 30,0	12,2 – 25,0
Essigsäure-Isopentylester	mg/l	0,5 – 8,0	3,5 – 7,3	0,5 – 2,0	1,3 – 3,5
Essigsäure-Hexylester	µg/l	3,0 – 15,0	3,0 – 11,3	3,0 – 15,0	2,9 – 5,8
Essigsäure-Heptylester	µg/l	2,0 – 10,0	0,7 – 1,8	2,0 – 6,0	0,6 – 1,1
Essigsäure-Octylester	µg/l	1,5 – 5,0	0,3 – 2,5	1,0 – 5,0	0,8 – 2,6
Essigsäure-Furfurylester	µg/l	3,0 – 20,0	10,3 – 25,5	10,0 – 30,0	10,7 – 27,5
Essigsäure-2-Phenylethylester	mg/l	0,2 – 2,0	0,7 – 2,6	0,1 – 0,3	0,3 – 0,9
Buttersäure-Ethylester	mg/l	0,05 – 0,20	0,06 – 0,11	0,05 – 0,15	0,04 – 0,09
Hexansäure-Ethylester	mg/l	0,05 – 0,30	0,08 – 0,16	0,05 – 0,30	0,02 – 0,22
Octansäure-Ethylester	mg/l	0,10 – 0,40	0,11 – 0,35	0,10 – 0,50	0,11 – 0,27
Decansäure-Ethylester	mg/l	0,01 – 0,05	0,03 – 0,11	0,01 – 0,05	0,02 – 0,06
Dodecansäure-Ethylester	µg/l	1,0 – 5,0	2,0 – 7,4	2,0 – 10,0	1,1 – 5,5
Hexansäure	mg/l	1,0 – 4,0	1,6 – 3,2	0,5 – 2,0	1,5 – 3,7
Octansäure	mg/l	2,0 – 10,0	4,1 – 5,4	2,0 – 10,0	3,7 – 5,2
γ-Nonalacton	µg/l	20,0 – 50,0	10,9 – 42,7	20,0 – 40,0	10,4 – 51,8
4-Vinylguajakol	mg/l	0,5 – 4,0	1,2 – 2,4	0,1 – 1,0	0,1 – 0,4

Die nachfolgende Tabelle zeigt den Vergleich der Ergebnisse aus der HS-Trap Analyse mit Literaturwerten einer SPME- und SBSE-Analyse von Harák, (2010). Bei den HS-Trap Ergebnissen liegen mindestens 80 % der analysierten Biere in dem angegebenen Konzentrationsbereich. Insgesamt wurden 47 Pils Biere mittels

HS-Trap-GC-MS untersucht. Die Probenanzahl bei den Vergleichsbieren ist wesentlich niedriger. Zudem wurden nicht die gleichen Sorten bzw. Chargen analysiert. Ein Vergleich ist daher kritisch zu betrachten. Die Tabelle 82 zeigt eine sehr gute Übereinstimmung der SPME- und SBSE-Analysendaten. Die Ergebnisse der HS-Trap Analyse stimmen aber dennoch überwiegend gut mit den Vergleichswerten überein.

Tabelle 82: Vergleich der Ergebnisse der HS-Trap Analyse von ausgewählten Estern in Pils mit Literaturwerten von SPME- und SBSE-Analysen von Horák et al. (2010).

Bieraromastoffe – Ester		Konzentration SPME-Analyse (Pils) [Horák et al., 2010]	Konzentration SBSE-Analyse (Pils) [Horák et al., 2010]	Konzentration HS-Trap Analyse (Pils)
Essigsäure-Isopentylester	mg/l	1,0 – 2,1	1,1 – 2,1	1,1 – 4,4
Essigsäure-2-Phenylethylester	mg/l	0,2 – 1,0	0,3 – 1,0	0,2 – 0,7
Hexansäure-Ethylester	mg/l	0,2 – 0,3	0,2 – 0,3	0,05 – 0,15
Octansäure-Ethylester	mg/l	0,1 – 0,4	0,1 – 0,4	0,1 – 0,2
Decansäure-Ethylester	mg/l	0,02 – 0,08	0,03 – 0,10	0,02 – 0,06
Dodecansäure-Ethylester	µg/l	10,0 – 20,0	20,0 – 30,0	1,1 – 5,2

4.14 Methodenvergleich zur Aromastoffanalyse von Bier

In der Tabelle 83 werden verschiedene Methoden zu Analyse von Aromastoffen in Bier einander gegenübergestellt. Die Ergebnisse der Bieranalyse mittels HS-Trap-GC-MS lassen erkennen, dass durch den Anreicherungs-schritt auch Terpene und Ethylester in niedrigen Konzentrationen noch gut detektiert werden können. Die HS-Trap-GC-MS Methode ist schnell und einfach anzuwenden und zeichnet sich insbesondere durch eine unkomplizierte Probenvorbereitung aus. Ferner hat sie, wie auch die Stir Bar Sorptive Extraction, den Vorteil, dass keine organischen Lösungsmittel benötigt werden. Die SBSE eignet sich sehr gut für die Spurenanalyse von wässrigen Proben. Diese Methode ist leicht zu handhaben, robust und präzise. Allerdings ist die relativ lange Extraktionszeit der SBSE-Methode nachteilig. Die MEBAK-Methode mit der destillativen Anreicherung und Dichlormethanextraktion ist insbesondere für flüchtige Bierinhaltsstoffe geringerer Konzentration vorteilhaft. Die Probenvorbereitung gestaltet sich allerdings aufwendiger. Nachfolgend werden drei Methoden zur Analyse von Bieraromastoffen einander gegenübergestellt.

Tabelle 83: Methodenvergleich zur Analyse von Aromastoffen in Bier

	HS-Trap	Dichlormethanextraktion (Mebak: Band III, 1.1.3)	SBSE (siehe Kap. 2.3.6)
Prinzip	<ul style="list-style-type: none"> Analyse flüchtiger organischer Verb. aus dem Dampf-raum der Bierprobe HS-Trap-GC-MS 	<ul style="list-style-type: none"> Anreicherung flüchtiger Bierinhaltsstoffe mittels Wasserdampfdestillation Extraktion mit CH₂Cl₂ GC-FID 	<ul style="list-style-type: none"> Extraktion der hydrophoben Bierinhaltsstoffe mittels PDMS beschichteten Rührstäbchen GC-MS
Material	<ul style="list-style-type: none"> 5,0 ml Bier (4°C) 2,0 g NaCl 	<ul style="list-style-type: none"> 100 ml Bier 22g NaCl + 1,0 g K₂S₂O₅ 1 ml CH₂Cl₂ 	<ul style="list-style-type: none"> 30 ml Bier PDMS-beschichtete Rührstäbchen /Magnetrührer
Zeiten	<ul style="list-style-type: none"> keine aufwendige Probenvorbereitung GC-/MS: 40 min 	<ul style="list-style-type: none"> 5min/ 30min/ 30min/ 15min (Dest./ Kühlen/ Schütteln/ Zentrifugieren) Destillat entfernen u. org. Phase überführen GC-/FID: ca 40 min 	<ul style="list-style-type: none"> Extraktion: 2 h – 4 h GC-/MS: ca. 40 min
Gesamt	<ul style="list-style-type: none"> ca. 45 min 	<ul style="list-style-type: none"> ca. 2h 	<ul style="list-style-type: none"> ca. 2,5 h – 4,5 h
Bewertung	<ul style="list-style-type: none"> einfache, schnelle Anwendung besonders gut geeignet für leichtflüchtige Bierinhaltsstoffe 	<ul style="list-style-type: none"> Wasserdampfdestillations-apparatur, Zentrifuge, Schüttler erforderlich aufwendige, Probenvorbereitung, viele Arbeitsschritte (evtl. Verluste) durch die Anreicherung können auch Verbindungen mit geringerer Konzentration oder geringer Flüchtigkeit erfasst werden 	<ul style="list-style-type: none"> einfache Anwendung hohe Empfindlichkeit lange Extraktionszeit

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit der Headspace-Trap-GC-MS Methode ein neues Verfahren zur schnellen quantitativen Bestimmung von flüchtigen Verbindungen in Hopfen und Bier entwickelt und validiert. Generell zeichnet sich die HS-Trap Methode dadurch aus, dass sie schnell und einfach anzuwenden und zudem sehr empfindlich ist. Für die Gewinnung des Hopfenextraktes wurde ein Verfahren der Ultraschallextraktion entwickelt. Die dazu erforderliche Probenvorbereitung beschränkt sich auf eine geringe Anzahl von Arbeitsschritten. Zudem wird nur eine kleine Probenmenge von 2,0 g gemahlene Hopfen-/pellets benötigt. Bei der Ermittlung der optimalen Extraktionsparameter (55°C, 45 min) wurde darauf geachtet, dass eine hohe Ausbeute erreicht wird, die Probe aber dabei einer möglichst geringen thermischen Belastung ausgesetzt wird. Als HS Sampler wurde ein Turbo Matrix HS-Trap Sampler mit einer „Air toxic“ Trap, aus graphitisiertem Kohlenstoff und Kohlenstoffmolekularsieb, verwendet. Durch die Anwendung von bis zu vier Trap-Anreicherungs-Zyklen konnte mit diesem hochempfindlichen System eine deutliche Herabsetzung der Nachweisgrenzen erreicht werden. Die HS-Trap Methode wurde anfangs in Modelllösungen etabliert und dann auf die Matrix Hopfen und Bier übertragen. Eine Anzahl von zwei Trap-Zyklen erwies sich dabei als ideal. In den Hopfenproben konnten mehr als 65 flüchtige Verbindungen identifiziert werden, von denen 20 wichtige Hopfenkomponenten quantitativ bestimmt wurden. Zur Überprüfung der Praxistauglichkeit der Methode wurden insgesamt 70 authentische Hopfenproben unterschiedlicher Sorten und Anbauregionen mit der neuen HS-Trap-GC-MS Methode quantitativ analysiert und mit den Ergebnissen der „European Brewery Convention“ (EBC) – Referenzmethode zur Hopfenölanalyse verglichen. Im Gegensatz zu der etablierten, auf Wasserdampfdestillation basierenden, EBC – Standardmethode zeichnet sich die neue HS-Trap Methode durch seine gute Automatisierbarkeit aus. Zudem können sehr viele Proben parallel aufbereitet werden, was ebenfalls zu einer deutlichen Zeitersparnis beiträgt. Die HS-Trap Methode ist daher deutlich schneller und effizienter als die EBC Hopfenöl-Methode.

Die HS-Trap Methode zeigte eine gute Präzision der Analysendaten. Zur Bewertung der Ergebnisse wurden die ermittelten Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$) beider Methoden einer Korrelationsanalyse unterzogen. Für weitgehend alle

Komponenten, außer Caryophyllenoxid, wurde eine gute Korrelation zwischen den Ergebnissen der HS-Trap Methode und der EBC-Methode gefunden. Aus den Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass die Korrelation der Analyseergebnisse sehr stark vom Siedepunkt beziehungsweise vom Partialdruck der einzelnen Substanzen abhängt ist. Dabei wurde festgestellt, dass Substanzen mit einem Siedepunkt $< 215^{\circ}\text{C}$ eine optimale Übereinstimmung ($R \geq 0,9800$) zwischen den HS-Trap- und den Hopfenöl-Daten aufweisen. Verbindungen mit einem relativ niedrigen Siedepunkt, wie zum Beispiel alle Monoterpene, der Terpenalkohol Linalool sowie einige Ester und Ketone erreichen mit der HS-Trap Methode höhere Messwerte als mit der EBC Hopfenöl-Methode. Im Gegensatz dazu, werden für die höher siedenden Substanzen, wie die Sesquiterpene α -Humulen und β -Caryophyllen sowie einige Ester und Ketone, mit der EBC Hopfenöl-Methode höhere Konzentrationen quantifiziert. Die Werte des Epoxids Caryophyllenoxid, das einen hohen Siedepunkt aufweist, stimmten nicht mit den übrigen Ergebnissen überein. In diesem Fall sind die Ergebnisse der HS-Trap-Analyse um durchschnittlich 2,9-mal höher als die Ergebnisse mit der Hopfenöl-Methode. Aufgrund der geringen Flüchtigkeit dieser Komponente wären eigentlich mit der Hopfenöl-Methode höhere Analyseergebnisse zu erwarten gewesen.

Versuche bestätigen, dass weder während der Herstellung des Hopfenextraktes noch bei der Analyse selbst eine Oxidation von Caryophyllen zu Caryophyllenoxid stattgefunden hat. Mit Hilfe von Re-Destillationsversuchen wurde daraufhin die Auswirkung der Wasserdampfdestillation auf die Zusammensetzung des Hopfenöls genauer untersucht. Die Ergebnisse belegen, dass das Epoxid Caryophyllenoxid durch die Wasserdampfdestillation zum Teil zersetzt und dadurch seine Wiederfindung stark reduziert wurde. Bei den Re-Destillationstests zeigte sich ferner, dass insbesondere die Konzentrationen der hoch flüchtigen Monoterpene und einiger Ester zum Teil ebenfalls sehr stark reduziert wurden. Dadurch erklären sich auch die höheren HS-Trap Ergebnisse für diese Substanzen.

Im Gegensatz zu früheren Literaturangaben wurde bei der Auswertung der Ergebnisse deutlich, dass die Hopfensorten nur in einzelnen Fällen aufgrund ihres Hopfenölgehaltes eindeutig voneinander unterschieden werden können. Bei den meisten Hopfensorten kann für den Hopfenölgehalt ein Konzentrationsbereich

angegeben werden, der sich mit dem Ölgehalt anderer Sorten überschneidet. Um eine eindeutige Identifizierung und Differenzierung der Hopfensorten zu erleichtern wurden aus den Analyseergebnissen sogenannte Hopfenölaromadiagramme entwickelt. Diese Korrelationsdiagramme zeigen jeweils graphisch den linearen Zusammenhang zwischen dem Hopfenölgehalt ($\mu\text{g/g}$) und der Konzentration einzelner Hopfenaromastoffe ($\mu\text{g/g}$) auf. Aus den Diagrammen ist ersichtlich, dass es für jede Hopfensorte charakteristische Konzentrationsbereiche, sogenannte „Cluster“, gibt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden dann aus den Hopfenölaromadiagrammen spezifische Hopfenaromaprofile abgeleitet, die als sortencharakteristischer „Fingerprint“ angesehen werden können. Die neu entwickelten Hopfenaromaprofile berücksichtigen sowohl den Hopfenölgehalt als auch die sortenspezifischen Konzentrationsbereiche für die einzelnen Aromakomponenten. Für eine eindeutige Sortendifferenzierung bzw. Sortenidentifizierung können dann die Analyseergebnisse der untersuchten Hopfenprobe hinsichtlich ihrer Übereinstimmung mit den Hopfenaromaprofilen in der angelegten Datenbank verglichen werden.

Des Weiteren wurde die neue Erkenntnis gewonnen, dass eine rein rechnerische Ermittlung der sortenspezifischen Hopfenölmenge grundsätzlich möglich ist. Dies belegen die Ergebnisse der Korrelationsanalyse aus den Daten der HS-Trap-GC-MS Analyse. Die Summe der Einzelkomponenten ($\mu\text{g/g}$) aus der HS-Trap Analyse korreliert mit der tatsächlichen Hopfenölmenge ($\mu\text{g/g}$) aus der EBC-Analyse mit $R = 0,9682$. Mit einer Ausdehnung der Anzahl der analysierten Komponenten könnte die rechnerische Bestimmung des Hopfenölgehaltes mit Hilfe der HS-Trap Methode unter Umständen noch sehr viel genauer werden. Zur statistischen Überprüfung der HS-Trap-GC-MS Methode und EBC-Hopfenölmethode wurde ferner ein t-Test durchgeführt. Das Ergebnis des t-Testes bestätigt, dass bei keinen der beiden Messreihen beziehungsweise Analysenmethoden ein systematischer Fehler aufgetreten ist.

Die Datenauswertungen der Korrelationsanalyse beweisen, dass insbesondere Komponenten derselben chemischen Substanzgruppe gut miteinander korrelieren, d.h. mit $R > 0,9000$. Dies ist beispielsweise zutreffend für die Gruppe der Monoterpene und die Gruppe der Sesquiterpene. Linalool korreliert mit keiner der

anderen untersuchten Hopfenölkomponenten. Die Korrelationsanalyse zeigt auch, dass nur die Monoterpene eine gute Korrelation mit der Hopfenölmenge aufweisen ($R > 0,9000$). Die Korrelationskoeffizienten R wurden aus den Konzentrationsangaben ($\mu\text{g/g}$) berechnet.

Die HS-Trap-GC-MS Methode wurde auch erfolgreich für die quantitative Bestimmung flüchtiger Verbindungen im Bier adaptiert. Es konnten hier ebenfalls die Vorteile der einfachen Anwendbarkeit und der guten Automatisierbarkeit genutzt werden. Mit Hilfe der HS-Trap Analyse wurden 97 flüchtige Verbindungen erkannt und davon 30 wichtige Komponenten quantifiziert. Insgesamt wurden 161 authentische Bierproben analysiert. Die HS-Trap Methode liefert eine hohe Präzision der Messergebnisse. Durch die hohe Empfindlichkeit der Methode konnten flüchtige Analyten wie Heptylacetat, Octylacetat, Ethylphenylacetat, β -Caryophyllen, α -Humulen und Styrol im Bier auch in niedrigen Konzentrationen bis zu $0,1 \mu\text{g/l}$ bestimmt werden. Im Rahmen des Chargenvergleichs wurde festgestellt, dass einige Biere von Charge zu Charge sehr große Konzentrationschwankungen ihrer Analyten aufweisen. Die Ergebnisse belegen, dass so bei verschiedenen konventionell gebrauten Bieren der sensorisch wahrnehmbare Schwellenwert für biercharakteristische Aromastoffe wie zum Beispiel Linalool, Isoamylalkohol oder Isoamylacetat bei einer Charge beispielsweise überschritten und bei der darauf folgenden Charge aber wieder unterschritten wurde. Für einige Biere wurde mit der HS-Trap-GC-MS Methode ergänzend die Veränderung alterungsrelevanter Bierinhaltsstoffe untersucht. Dabei wurde auch die Veränderung der für das Hopfenaroma des Bieres relevanten Linaloolkonzentration bei der Bieralterung näher betrachtet. Gegenüber frischen Bieren zeigte sich bei den gealterten Bieren ein Konzentrationsanstieg an freiem Linalool, welcher durch die Freisetzung des glykosidisch gebunden Linalools begründet wird. Diese Ergebnisse entsprechen den Erkenntnissen aus der Fachliteratur.

6 Abschließende Diskussion und Ausblick

Bei der Bierherstellung wird zunehmend auch das Verfahren des „Dry hoppings“ angewandt. Bei diesem Verfahren der Kalthopfung werden durch die direkte Zugabe von Hopfenöl zum Beispiel vor der Filtration ganz gezielt die sensorisch relevanten Schlüsselaromastoffe des Hopfens, wie Linalool, in das Bier eingebracht. Die Herstellung besonders hopfenaromatischer Biere kann so gezielter gesteuert werden. Um eine konstante und auch sensorisch wiedererkennbare Bierqualität sicherzustellen, müssen die Konzentrationen der einzelnen Hopfenaromakomponenten genau und zuverlässig ermittelt werden können. Daher besteht für die Routineanalytik hopfenverarbeitender Unternehmen und auch Brauereien ein großer Bedarf an leistungsfähigen, schnellen und kostengünstigen Verfahren zur Bestimmung von Aromastoffen in Hopfen und Bier. Die bislang gängig angewendete Methode zur Quantifizierung von Hopfenölkomponenten ist die Wasserdampfdestillation mit GC-FID Detektion (EBC-Methode). Mit der Headspace-Trap-GC-MS Methode wurde dazu ein alternatives, weitgehend automatisierbares Analysenverfahren entwickelt.

Die zu analysierenden Medien Hopfen und Bier zeichnen sich vor allem dadurch aus, dass relativ viele Komponenten mit sehr unterschiedlichen Konzentrationsbereichen und Siedepunkten erfasst werden müssen. Die analytische Zielsetzung, eine schnelle und zuverlässige Methode mit einfacher Probenvorbereitung, moderater Analysezeit und der Fähigkeit zur Serienanalyse zu entwickeln, konnte mit der HS-Trap Methode erfolgreich umgesetzt werden. Noch genauere Analyseergebnisse wären unter Umständen zu erreichen, wenn für alle Substanzen die entsprechenden isotope markierten internen Standards zur Anwendung kämen.

Die Gegenüberstellung von HS-Trap- und Hopfenölmethode zeigt, dass bei Substanzen mit niedrigerem Siedepunkt die HS-Trap Methode höhere Konzentrationen liefert. Dies liegt vermutlich daran, dass in diesem Fall die Gleichgewichtseinstellung zwischen den Konzentrationen in der flüssigen HS-Probe und der Gasphase begünstigt wird. Im Trap-Verfahren werden optional die Komponenten im Dampfraum über der Probe in bis zu vier Schritten auf einer Adsorbens-Trap angereichert. Durch wiederholten Druckaufbau und Injektion auf

die Trap kann eine nahezu vollständige Extraktion der Komponenten aus dem Dampfraum der Probe erreicht werden. Nach einem möglichen Trocknungsschritt werden die Komponenten anschließend thermisch desorbiert.

Mit Hilfe der Re-Destillation des Hopfenöls wurde vor allem untersucht, welche Auswirkung die Destillation auf die einzelnen Analyten hat. Dabei hat sich gezeigt, dass insbesondere leichter flüchtige Verbindungen und Epoxide durch die Wasserdampfdestillation in ihrer Konzentration zum Teil sehr stark reduziert werden. Daraus lässt sich ableiten, dass im Vergleich zur konventionellen Destillationsmethode die HS-Trap-Methode insbesondere für leichter flüchtige Komponenten, wie Monoterpene, Ester und Epoxide, vorteilhaft ist. Diese Ergebnisse unterstreichen die Erkenntnisse anderer bereits bekannter wissenschaftlicher Studien, bei denen für Caryophyllenoxid und anderen Hopfenaromakomponenten mit der Wasserdampfdestillation ebenfalls deutlich niedrigere Werte im Vergleich zur „Direct Thermal Desorption“ (DTD) oder zur „Rapid Solvent Extraction“ (RSE) erzielt wurden. Der Vergleich der Ergebnisse aus HS-Trap- und Hopfenöl-Methode (EBC) bestätigt wiederum auch, dass das verwendete Analysenverfahren immer auch eine Auswirkung auf das ermittelte Aromaprofil hat und u.U. von dem realen Aromaprofil der untersuchten Probe abweichen kann.

Des Weiteren wurde in der vorliegenden Arbeit die Anwendung der HS-Trap-GC-MS Methode zur Analyse von Bier ausführlich untersucht. Die Methode eignet sich insbesondere für die schnelle Analyse leichter flüchtiger Bierinhaltsstoffe. Durch die HS-Trap Anreicherung sind auch flüchtige Verbindungen, wie zum Beispiel Terpene und einige Ethylester in niedrigen Konzentrationen noch gut detektierbar. Generell stimmen die mit der HS-Trap Methode gewonnenen Analysenwerte durchgängig gut mit den Konzentrationsangaben in der angegebenen Literatur überein. Durch die Darstellung der Ergebnisse in Konzentrationsverteilungsdiagrammen konnten sortenspezifische Unterschiede und die Einordnung der Analysenwerte bzgl. des jeweiligen sensorischen Schwellenwertes gut visualisiert werden. Bei dem Chargenvergleich zeigten einzelne Biere zum Teil sehr starke Schwankungen in ihren Ergebnissen. Es gab aber auch Biere bei denen relativ konstante Konzentrationen ermittelt wurden. Daraus lässt sich schließen, dass es den einzelnen Brauereien unterschiedlich gut gelingt, mit den verwendeten

Rohstoffen und der Gestaltung des Brauprozesses eine konstante Bierqualität sicherzustellen. Eine umfassende und regelmäßige Analyse des Aromaprofils der Biere könnte daher eine wichtige Grundlage darstellen, um Qualitätsschwankungen zu erkennen, Fehlgerüche zu identifizieren und gegebenenfalls Optimierungen im Brauprozess durchzuführen.

Zusammenfassend wurde in der vorliegenden Arbeit, mit der Headspace-Trap-GC-MS Methode eine weitgehend automatisierbare, zuverlässige Analysenmethode zur schnellen, quantitativen Bestimmung flüchtiger Komponenten in Hopfen und Bier entwickelt. Durch die mehrfache Trap-Anreicherung konnte eine deutlich höhere Extraktionsausbeute erzielt und dadurch eine Herabsetzung der Nachweisgrenzen erreicht werden. Mit der Auswahl des geeigneten Trap-Materials kann eine optimale Anreicherung der gewünschten Substanzklassen realisiert werden. Die Untersuchungsergebnisse belegen, dass die Headspace-Trap Technik erfolgreich für die Analyse von flüchtigen Substanzen in Hopfen und Bier eingesetzt werden kann und auch für den Routinebetrieb geeignet ist. Eine Ausweitung dieser Analysenmethode auf weitere Getränke oder Matrices, wie zum Beispiel (Frucht)säfte, Wein, Spirituosen, Tee oder Kaffee scheint denkbar und sollte noch weiter untersucht werden.

Literaturverzeichnis

Aberl, A.; Coelhan, M. Determination of volatile compounds in different hop varieties by headspace-trap GC-MS – in comparison with conventional hop essential oil analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 2785 – 2792.

Anitescu, G.; Doneanu, C.; Radulescu, V. Isolation of coriander oil: Comparison between steam distillation and supercritical CO₂ extraction. *Flav. Fragr. J.* 1997, 12, 173 – 176.

ASBC: American Society of Brewing Chemists: Methods of Analysis, 8th ed; St. Paul, MN, 1992; Hops-13, 1-2.

Ashraf, N.; Linforth, R.S.T.; Bealin-Kelly, F.; Smart, K.; Taylor, A.J. Rapid analysis of selected beer volatiles by atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 2010, 294, 47 – 53.

Attokaran, M. Natural food flavors and colorants. 1st Edition, John Wiley & Sons, Iowa, USA, 2011.

Back, W. (Hrsg.) Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie. 2. Auflage, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 2008a.

Back, W. (Hrsg.) Mikrobiologie der Lebensmittel: Band 5: Getränke. 3. Auflage, Behr's Verlag, Hamburg, 2008b.

Baert, J.J.; De Clippeleer, J.; Hughes, P.S.; De Cooman, L.; Aerts, G. On the origin of free and bound staling aldehydes in beer. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60 (46), 11449 – 11472.

Baltes, W.; Matissek, R. Lebensmittelchemie. 7. Auflage, Springer Verlag, Berlin, 2011.

Barani, F.; Dell'Amico, N.; Griffone, L.; Santoro, M.; Tarabelle, C. Determination of volatile organic compounds by headspace trap. *J. Chromatogr. Sci.* 2006, 44, 625 – 630.

Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle, P. Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 6. Auflage, Springer Verlag, Berlin, 2008.

Bendall, J.G. Aroma compounds of fresh milk from New Zealand cows fed different diets. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49 (10), 4825 – 4832.

Benitez, J.L.; Forster, A.; De Keukelaire, D.; Moir, M.; Sharpe, F.R.; Verhagen, L.C.; Westwood, K.T. Hops and hop products. EBC manual of good practice. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 1997.

Bicchi, C.; Cordero, C.; Liberto, E.; Sgorbini, B.; Rubiolo, P. Headspace sampling in flavor and fragrance field. In: *Coprehensive sampling and sample preparation: Analytical techniques for scientists*; Pawliszyn, J. (Editor); Academic Press Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2012.

Biendl, M. „Bier – bitter und gesund“. Medizinische Verwendungsmöglichkeiten. *Brauwelt.* 2006, 36, 1051 – 1053.

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, Nürnberg, 2012.

BierStG: Neufassung des vorläufigen Biersteuergesetzes, herausgegeben vom Bundesministerium der Justiz; *Bundesgesetzblatt Teil I, Jahrgang 1993, 1399 – 1401.*

Bock, R. Methoden der Analytischen Chemie, Band 1: Trennungsmethoden. Verlag Chemie, Weinheim, 1974.

Breitmaier, E. Terpene – Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone. 2 Auflage, Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2005.

Budzikiewicz, H.; Schäfer, M. Massenspektrometrie. 5. Auflage, Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2005.

Buiatti, S. Beer composition: An overview. In: *Beer in health and disease prevention*; Preedy, V.R. (Editor), 1st edition, Elsevier, San Diego, California, USA, 2009.

Burns, C.S.; Heyerick, A.; De Keukeleire, D.; Forbes, M.D.E. Mechanism for formation of the lightstruck flavor in beer revealed by time-resolved electron paramagnetic resonance. *Chem. Eur. J.* 2001, Vol. 7, Iss. 21, 4553 – 4561.

Buttery, R.G.; McFadden, W.H.; Teranishi, R.; Kealy, M.P.; Mon, T.R. Constituents of hop oil. *Nature.* 1963, 200, 435 – 436.

Cadwallader, K.R.; Heo, J. Aroma of roasted sesame oil: Characterization by direct thermal desorption – gas chromatography-olfactometry and sample dilution analysis. In: Gas chromatography – olfactometry: The state of the art; Chapter 16; Leland, J.V.; Schieberle, P.; Buettner, A.; Acree, T.E. (Editor). ACS: American Chemical Society, Washington DC, USA, 2001.

Chapman, A.C. The essential oil of hops. Preliminary notice. Proc. Chem. Soc. 1893, 9, 177.

Chapman, A.C. Essential oil of hops. Proc. Chem. Soc. 1894, 10, 227 – 229.

Chapman, A.C. Essential oil of hops. J. Chem. Soc. Trans. 1895a, 67, 54 – 63.

Chapman, A.C. Some derivatives of humulene. J. Chem. Soc. Trans. 1895b, 67, 780 – 784.

Chapman, A.C. The essential oil of hops. J. Inst. Brew. 1929b, 35, 247 – 255.

Chetschik, I.; Granvogl, M.; Schieberle, P. Quantitation of key peanut aroma compounds in raw peanuts and pan-roasted peanut meal. Aroma reconstitution and comparison with commercial peanut products. J. Agric. Food Chem. 2010, 58 (20), 11018 – 11026.

Connolly, J.D.; Hill, R.A. (Editor) Dictionary of terpenoids, Vol. 1: Mono- and sesquiterpenoids, Vol. 2: Di- and higher terpenoids, Chapman & Hall, London, New York, Tokyo, Melbourne, 1991.

Da Costa, N.C.; Eri, S. Identification of aroma chemicals. In: Chemistry and technology of flavors and fragrances rowe; D.J. (Editor); 1st Edition, CRC Press, Oxford, United Kingdom, 2005.

De Schutter, D.P.; Saison, D.; Delvaux, F.; Derdelinckx, G.; Rock, J.-M.; Neven, H.; Delvaux, F.R. Characterization of volatiles in unhopped wort. J. Agric. Food Chem. 2008, 56 (1), 246 – 254.

Dean, J.R. Extraction techniques in analytical science. Chapter 5.2: Stir bar sorptive extraction (SBSE). 1st Edition, John Wiley & Sons, West Sussex, United Kingdom, 2009.

Didzbalis, J.; Ritter, K.A.; Trail, A.C.; Plog, F.J. Identification of fruity / fermented odorants in high-temperature-cured roasted peanuts. J. Agric. Food Chem. 2004, 52 (15), 4828 – 4833.

Doerffel, K. Statistik in der analytischen Chemie. 3. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, 1984.

Dong, L.; Piao, Y.; Zhang, X.; Zhao, C.; Hou, Y.; Shi, Z. Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase-micro-extraction and GC-MS. *Food Res. Int.* 2013, 51, 783 – 789.

EBC: European Brewery Convention. Hops and hop products. Manual of good practice. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 1997.

EBC: European Brewery Convention. Analytica-EBC. Section 7 hops, methods 7.10 and 7.12, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 2006.

Ecres, G.T.; Marriott, P.J.; Dufour, J.-P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus L.*) essential oil from four different varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 6252 – 6261.

Eichhorn, P. Untersuchungen zur Geschmacksstabilität des Bieres. Dissertation, TU- München, Freising, 1991.

Elmore, J.S. Aroma (Chapter 24). In: Handbook of seafood and seafood product analysis; Nollet, L.M.L.; Toldra, F. (Editor), 1st Edition, CRC Press, USA, 2010.

Engan, S. Carbonyls in beer. *Brew. Digest.* 1975, 50, 64 – 72.

Engel, W.; Bahr, W.; Schieberle, P. Solvent assisted flavour evaporation (SAFE) – a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.* 1999, 209, 237 – 241.

Engewald, W.; Efer, J. Novia – Extreme Spurenanalyse mittels GC und GC/MS inkl. Grundlagen GC/MS-Kopplung, Schulungsunterlagen, Bad Soden am Taunus, 2009.

Eri, S.; Khoo, B.K.; Lech, J.; Hartmann, T.G. Direct thermal desorption – gas chromatography and gas chromatography – mass spectrometry profiling of hop (*Humulus lupulus L.*) essential oils in support of varietal characterization. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1140 – 1149.

EuGH: Rechtsprechung des Europäischen Gerichtshofs vom 12.03.1987 zum Thema Reinheitsgebot, Aktenzeichen: 178/84.

Eyres, G.T.; Marriott, P.J.; Dufour, J.-P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.). Essential oil from four different varieties. J. Agric. Food Chem. 2007, 55 (15) 6252 – 6261.

Fahrmeier, L.; Künstler, R.; Pigeot, I.; Tutz, G. Statistik. Der Weg zur Datenanalyse. 7. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg, 2010.

Field, J.A.; Nickerson, G.; James, D.D.; Heider, C. Determination of essential oils in hops by headspace solid-phase microextraction. J. Agric. Food Chem. 1996, 44, 1768 – 1772.

Forster, A.; Beck, B.; Schmidt, R. Veränderungen von Bitter- und Aromastoffen verschiedenartiger Hopfenextrakte während ihrer Lagerung. Monatsschr. Brau. 1987, Heft 1, 4 – 8.

Foster, T.R.; Nickerson, G.B. Changes in hop oil content and hoppiness potential during hop aging. J. Am. Soc. Brew. Chem. 1985, 43, 127 – 135.

Freundorfer, J.; Maier, J.; Reiner, L. Rechnergestützte Verfahren zur Sortenerkennung bei Hopfen und Hopfenprodukten auf der Basis der ätherischen Öle. Teil 2: Umwelt- und Verarbeitungseinflüsse auf die Ausprägung der Hopfenöle. Monatsschr. Brau. 1991, 44, 221 – 238.

Friese, L.; Fendesack, F.; Tressl, R. Untersuchung von Hopfenaromastoffen, ihr Verhalten während der Lagerung und Gärung und ihr Beitrag zum Bieraroma. Monatsschr. Brau. 1979, 32, 255 – 259.

Fritsch, H. Einfluss des Hopfens auf wertgebende Aromastoffe in Pilsener-Bieren sowie in Zwischenstufen des Brauprozesses, Dissertation, TU-München, Freising, 2001.

Fritsch, H.; Schieberle, P. Changes in key aroma compounds during boiling of unhopped and hopped wort. Proc. of the 29th EBC Congress, Dublin, Ireland, 2003.

Fritsch, H.; Kaltner, D.; Schieberle, P.; Back, W. Entschlüsselung des Hopfenaromas in Bier. Brauwelt. 2004, 39/40, 1206 – 1207.

Fritsch, H.; Schieberle, P. Identification based on quantitative measurements and aroma recombination of the character impact odorants in a Bavarian Pilsner-type beer. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 7544 – 7551.

Geiger, E.; Back, W. Skript zur Vorlesung Getränketechnologie 3 (Bier), Fakultät für Brau- und Lebensmitteltechnologie, TU-München, Freising-Weihenstephan, WS 2001/02.

Grecsek, H. Environmental volatile organic compounds (VOCs) by headspace trap with GC-MS. LC-GC North America; 2005, Vol. 23, 42.

Green, C.P. Use of a chromatography data system to identify varieties in binary mixtures of hops. J. Inst. Brew. 1997, 103, 293 – 296.

Griffith, H.; Marotta, L.; Tipler, A.; Grossner, Z. Symposium on air quality measurement methods and technology proceedings. Air & waste management association Pittsburgh, PA, USA, 2004, 267.

Grimm, C.C.; Lloyd, S.W.; Miller, J.A.; Spanier, A.M. The analysis of food volatiles using direct thermal desorption. In: Techniques for analyzing food aroma; Marsili, R. (Editor), 1st edition, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1997.

Grosshauser, S.; Schieberle, P. Characterization of the key odorants in pan-fried white mushrooms (*agaricus bisporus L.*) by means of molecular sensory science: Comparison with the raw mushroom tissue. J. Agric. Food Chem. 2013, 61 (16), 3804 – 3813.

Hampson, T. Das Bier Buch. 1. Auflage, Dorling Kindersley Verlag, München, 2009.

Hanke, S.; Hermann, M.; Ruckerl, J.; Schönberger, C.; Back, W. Hop volatile compounds (Part II): Transfer rates of hop compounds from hop pellets to wort and beer. Brewing Sci. 2008a, July/August, 140 – 147.

Hanke, S.; Hermann, M.; Ruckerl, J.; Back, W. Transfer von Hopfenaromastoffen im Brauprozess. Brauwelt. 2008b, 46 – 47, 1386 – 1389.

Hanke, S.; Ditz, V.; Herrmann, M.; Back, W.; Krottenthaler, M. Beeinflussung von Fehleraromen durch Gärungsnebenprodukte und Linalool (Teil 2). Brauwelt. 2012, 32, 922 – 925.

Hardwick, W.A. Handbook of Brewing. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1995.

Harrison, G.F.A.; Collins, E. Determination of taste threshold for a wide range of volatile and nonvolatile compounds in beer. Am. Soc. Brew. Chem. Proc. 1968, 26, 83 – 87.

Hartsuck, J.A.; Paul, I.C. Molecular structure of humulene: x-ray analysis of the silver nitrate adducts. Chem. Ind. London, United Kingdom, 1964.

Havemose, M.S.; Justesen, P.; Bredie, W.L.P.; Nielsen, J.H. Measurement of volatile oxidation products from milk using solvent assisted flavor evaporation and solid phase microextraction. Int. Dairy J. 2007, Vol. 17, Iss. 7, 746 – 752.

Hecht, S. Über die Veränderung wertbestimmender Stoffgruppen bei der Herstellung von bayerischen Weizenbieren. Dissertation, TU-München, Freising, 1983.

Helms, H.; Felix, U. Neue Headspace-Trap verbesserte Nachweisgrenzen. LaborPraxis, 2004, 28, 46 – 47.

Hermann, M. Entstehung und Beeinflussung qualitätsbestimmender Aromastoffe bei der Herstellung von Weißbier. Dissertation, TU-München, Freising, 2005.

Hermann, M.; Hanke, S.; Kaltner, D.; Back, W. Hop volatile compounds (Part I): Analysis of hop pellets and seasonal variations. Brewing Sci. 2008, July/August, 135 – 139.

Hill, P.G.; Lustig, S.; Barklage, H.-J. Seeing the light – using innovative instrumental analysis to assess new packaging. In: Proceedings of the 28th European Brewery Convention Congress, Budapest, 2001, 98, 910 – 915.

Hiralal, L.; Pillay, B.; Olaniran, A.O. Stability profile of flavor-active ester compounds in ale and lager beer during storage. Afr. J. Biotechnol. 2013, 12 (5), 491 – 498.

Hoffmann, A.; Bremer, R. Stir bar sorptive extraction (SBSE). Neue Extraktionstechnik für wässrige Proben. Gerstel Aktuell. 2000, 24, 4 – 7.

Hoffmann, A.; Sponholz, W.R.; Frank, D. Pat, S. Korkig schmeckender Wein – Spurenanalyse von 2,4,6-Trichloranisol mittels Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), Thermodesorption und GC/MS. Gerstel Aktuel. 2000, 25, 10 – 13.

Hopsteiner – Hopfensorten: www.hopsteiner.de/info/nc/sortendatenblaetter.html

Horák, T.; Kellner, V.; Culík, J.; Jurková, M.; Cejka, P. Determination of some beer flavours by stir bar sorptive extraction and solvent back extraction. J. Inst. Brew. 2007, Vol. 113, No. 2, 154 – 158.

Horák, T.; Culík, J.; Kellner, V.; Jurková, M.; Cejka, P.; Hasková, D.; Dvorak, J. Analysis of selected esters in beer: Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. *J. Inst. Brew.* 2010, Vol. 116, No. 1, 81 – 85.

Howard, G.A. New approach to the analysis of hop oil. *J. Inst. Brew.* 1956, 62, 158 – 159.

Howard, G.A. Evaluation of hops. V. The essential oil of hops. *J. Inst. Brew.* 1957, 63, 126 – 138.

Hu, C.; He, M.; Chen, B.; Hu, B. Determination of estrogens in pork and chicken samples by stir bar sorptive extraction combined with high-performance liquid chromatography – ultraviolet detection. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60 (42), 10494 – 10500.

Hudec, M.; Neumann, C. Regression. Eine anwendungsorientierte Einführung. Skriptum, Institut für Statistik, Universität Wien, Österreich, 2002.

Hübschmann, H.-J. Handbook of GC/MS. Fundamentals and application. 2nd edition, Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2009.

Hughes, P.S.; Baxter, E.D. Beer: Quality, safety and nutritional aspects. RSC: Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 2001.

Hughes, P.S. Beer flavor. In: Beer – A quality perspective, Bamforth, C.W. (Editor), 1st edition, Elsevier Academic Verlag, Amsterdam, Netherlands, 2009.

Inui, T.; Tsuchiya, F.; Ishimaru, M.; Oka, K.; Komura, H. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 4758 – 4764.

Jacob, F. (Hrsg). Würze, Bier, Biermischgetränke. MEBAK Brautechnische Analysenmethoden, Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission, 1. Auflage, Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, 2012.

Jahnsen, V.J. Complexity of hop oil. *Nature.* 1962, 196, 474 – 475.

Jahnsen, V.J. Composition of hop oil. *J. Inst. Brew.* 1963, 69, 460 – 466.

Jiao, J.; Ding, N.; Shi, T.; Chai, X.; Cong, P.; Zhu, Z. Study of chromatographic fingerprint of the flavor in beer by HS-SPME-GC. *Analytical Letters*. 2011, 44, 648 – 655.

Joh. Barth & Sohn GmbH. Das große Hopfenaromabuch. Ein Geschmacksleitfaden. Band 1, Verlag: Hopsessed, Nürnberg, 2011.

Joh. Barth & Sohn GmbH. Das große Hopfenaromabuch. Ein Geschmacksleitfaden. Band 2, Verlag: Hopsessed, Nürnberg, 2012.

Kaltner, D. Untersuchungen zur Ausbildung des Hopfenaromas und technologischer Maßnahmen zur Erzeugung hopfenaromatischer Biere. Dissertation, TU-München, Freising, 2000.

Kaltner, D.; Thum, B.; Forster, C.; Back, W. Untersuchungen zum Hopfenaroma in Pilsener Bieren bei Variation technologischer Parameter. *Monatsschr. Brau.* 2001, 54, 199 – 205.

Kaltner, D.; Steinhaus, M.; Mitter, W.; Biendl, M.; Schieberle, P. (R)-Linalool als Schlüsselaromastoff für das Hopfenaroma in Bier und sein Verhalten während der Bialterung. *Monatsschr. Brau.* 2003, 56, 192 – 196.

Kammhuber, K. Untersuchungen zur Biogenese der ätherischen Öle des Hopfens. *Monatsschr. Brau.* 2000, Heft 7/8, 138 – 142.

Kammhuber, K.; Hagl, S. Statistische Untersuchungen zur Korrelation von Hopfenölkomponenten. *Monatsschr. Brau.* 2001, 54, 100-103.

Kammhuber, K. Die Bedeutung der Hopfeninhaltsstoffe für das Bierbrauen und die Gesundheit. Vortrag der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Freising, 2007.

Kammhuber, K. Analytical aroma characterization of the new Hüller “Special-flavor-Hops”. Vortrag im Rahmen der International Hop Growers`Convention, Kiew, Ukraine, 04. – 09. Juni 2013.

Kenning, D. Bier. Brauereien und Sorten aus der ganzen Welt. 1. Auflage, Amber Books Ltd., Bath, United Kingdom, 2005.

Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Gagami, N.; Kawatsura, K. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar – sorptive extraction method with GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4701 – 4707.

Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Kono, K.; Shibata, K. Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 8855 – 8861.

Kolb, B. Gaschromatographie in Bildern. 2. Auflage, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, 2003.

Kolb, B.; Ettre, L.S. Static headspace-gas chromatography: Theory and practice. 2nd edition, WILEY-Interscience, New Jersey, USA, 2006.

Kollmannsberger, H.; Biendl, M.; Nitz, S. Occurrence of glycosidically bound flavour compounds in hops, hop products and beer. *Monatsschr. Brau.* 2006, 59, 83 – 89.

Komarek, D. Key odorants in beer – Influence of storage on the flavor stability. Dissertation, TU-München, 2001.

Krämer, P. Die Bildung von Phenolen beim Brauprozess. Dissertation, TU-Berlin, Berlin, 1982.

Krell, E. Einführung in die Trennverfahren. VEB Deutscher Verlag für Grundstoff-industrie, Leipzig, 1975.

Kromidas, S. Validierung in der Analytik. 2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, 2011.

Lam, K.C.; Foster, R.T.; Deinzer, M.L. Aging of hops and their contribution to beer flavor. *J. Agric. Food Chem.* 1986a, 34, 763 – 770.

Lam, K.C.; Nickerson, G.B.; Deinzer, M.L. A rapid solvent extraction method for hop essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 1986b, 34, 63 – 66.

Langezaal, C.R.; Chandra, A.; Katsiotis, S.T.; Scheffer, J.J.C.; De Haans, A.B. Analysis of supercritical carbon dioxide extracts from cones and leaves of a *Humulus lupulus* L. cultivar. *J. Sci. Food Agric.* 1990, 53, 455 – 463.

Langos, D.; Granvogl, M.; Schieberle, P. Quantitation of desirable aroma-active and undesirable toxicologically relevant vinyl aromatic compounds in wheat beer. Vortrag, 34rd EBC-Congress, 2013, 26 – 30 May, Luxemburg.

Lermusieau, G.; Bulens, M.; Collin, S. Use of GC – olfactometry to identify the hop aromatic compounds in beer. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 3867 – 3874.

Lermusieau, G.; Collin, S. Hop aroma extraction and analysis. In: Analysis of taste and aroma; Jackson, J.F.; Linskens, H.F. (Editor), Springer-Verlag, Berlin, 2002.

LfL Pflanzenbau „List of world hop varieties of the International Hop Growers Convention (IHGC) 2012: www.lfl.bayern.de/ipz/hopfen/024299/index.php

LfL Pflanzenbau „Special Flavor-Hops“ – Neuer Trend in der Hopfenzüchtung, 2013: www.lfl.bayern.de/ipz/hopfen/019190/index.php

Lieberei, R.; Reisdorff, C. Nutzpflanzen. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2012.

Likens, S.T.; Nickerson, G.B. Identification of hop varieties by gas chromatographic analysis of their essential oils. Constancy of oil composition under various environmental influences. J. Agric. Food Chem. 1967, 15, 525 – 530.

Liu, M.; Zeng, Z.; Xiong, B. Preparation of novel solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for headspace solid-phase microextraction gas chromatographic analysis of aroma compounds in beer. J. Chromatogr. A. 2005, 1065, 287 – 299.

Lozano, P.R.; Miracle, E.R.; Krause, A.J.; Drake, M.; Cadwallader, K.R. Effect of cold storage and packaging material on the major aroma components of sweet cream butter. J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 7840 – 7846.

Lustig, S. Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. Dissertation, TU-München, Freising, 1994.

Lutz, A.; Kneidl, J.; Seigner, E.; Kammhuber, K.: Hopfenqualität – Ernte zum richtigen Zeitpunkt. LfL-Information, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Arbeitsbereich Hopfen, 2009.

Lutz, A.; Kammhuber, K.; Seigner, E. New trend in hop breeding at the hop research center Huell. Brewing Sci. 2012, 65, 24 – 32.

Lynen, F. Der Weg der „aktivierten Essigsäure“ zu den Terpenen und Fettsäuren. Angew. Chem. 1965, 77, 929.

Maier, J. Zusammensetzung des Hopfenöles in Beziehung zu Sorte und Qualität des Hopfens und zu seinen Umwandlungsprodukten. Brauwiss. 1966, 19, 425 – 434.

Marotta, L.; Tipler, A. Monitoring volatile organic compounds in beer production using the Clarus SQ 8 GC/MS and TurboMatrix headspace trap system. Application note: Gas chromatography / mass spectrometry, PerkinElmer, Shelton, CT, USA, 2011, 1 – 6.

Meilgaard, M.C.; Moya, E. A study of carbonyl compounds in beer; Part I. Background and literature review. MBAA Techn. Quart. 1970, 7, 135 – 143.

Meilgaard, M.C.; Elizondo, A.; Moya, E. A study of carbonyl compounds in beer; Part II. Flavour and thresholds of aldehydes and ketones added to beer. MBAA Techn. Quart., 1970, 7, 143 – 149.

Meilgaard, M.C. Flavor chemistry of beer: Part I. Flavor interaction between principal volatiles. MBAA Techn. Quart. 1975a, 12, 107 – 117.

Meilgaard, M.C. Flavor chemistry of beer: Part II. Flavor and threshold of 239 aroma volatiles. MBAA Techn. Quart. 1975b, 12, 3, 151 – 168.

Meilgaard, M.C. Prediction of flavor differences between beers from their chemical composition. J. Agric. Food Chem. 1982, 28, 1009 – 1017.

Meisch, H.U.; Göbl, L.; Veit, H. Methodische Entwicklungsarbeiten zur schnellen Bestimmung alterungsrelevanter Inhaltsstoffe in Bier mittels Festphasenmikroextraktion (SPME/GC), Abschlussbericht zum Projekt B64, Zentrum für Umweltforschung, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 2003.

Mitter, W.; Biendl, M; Kaltner, D. Behaviour of hop derived aroma substances during wort boiling. European Brewery Convention, Monograph 31, Symposium on Flavour and Flavour Stability, 2001, 125 – 136.

Mitter, W.; Cocuzza, S. Dry hopping – A study of various parameters. Consequences of the applied dosing method. Brewing and Beverage Industry International. 2013, 4, 70 – 74.

Moir, M. Hops – A millennium review. J. Am. Soc. Brew. 2000, 58, 131- 146.

Narziß, L.; Forster, A. Gaschromatographische Untersuchungen zur Bestimmung der Aromastoffe in Hopfen und Hopfenverarbeitungsprodukten. 2. Mitteilung: Der Einfluss der Trocknung des Hopfens auf die Zusammensetzung seiner Aromakomponenten. Brauwiss. 1971, 24, 145 – 151.

Narziß, L.; Forster, A. Gaschromatographische Untersuchungen zur Bestimmung der Aromastoffe in Hopfen und Hopfenverarbeitungsprodukten. 3. Mitteilung: Der Einfluss des Mahlens und Evakuierens von Hopfen auf seine Aromakomponenten. Brauwiss. 1972a, 25, 8 – 16.

Narziß, L.; Forster, A. Gaschromatographische Untersuchungen zur Bestimmung der Aromastoffe in Hopfen und Hopfenverarbeitungsprodukten. 4. Mitteilung: Der Einfluss der Hopfenextraktion auf die Zusammensetzung der Aromastoffe. Brauwiss. 1972b, 25, 128 – 135.

Narziß, L.; Miedaner, H.; Gresser, A. Technologische Maßnahmen zur Werterhaltung des Hopfens. Auswirkungen auf die Zusammensetzung der ätherischen Öle im Hopfen. Monatsschr. Brau. 1985, 9, 360 – 366.

Narziß, L.; Miedaner, H.; Gresser, A. Vergleich des Hopfenölspektrums verschiedener Hopfensorten. Brauwiss. 1985, 36, 1794 – 1798.

Narziß, L. Die Bierbrauerei. Band II: Die Technologie der Würzebereitung. 7. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1992.

Nijssen, L.M.; Vissher, C.A.; Maarse, H.; Willemsens, L.C.; Boelens, M.H. Volatile compounds in food. Qualitative and quantitative data: Hop oil. Central institute for nutrition and food research, Zeist, The Netherlands, 1996, No. 62.

Nikfardjam, M.P.; Maier, D. Development of a headspace trap HRGC/MS method for the assessment of the relevance of certain aroma compounds on the sensorial characteristics of commercial apple juice. Food Chem. 2011, 126, 1926–1933.

Parliament, T.H. Solvent extraction and distillation techniques. In: Techniques for analyzing food aroma; Marsili, R. (Editor), 1st edition, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1997.

Pawliszyn J. (Editor). Applications of solid phase microextraction. 1st Edition, RSC: The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 1999.

Peacock, V. E.; McCarty, P. Varietal identification of hops and hop pellets. Tech. Quart. Master Brew. Assoc. Am. 1992, 29, 81 – 85

PerkinElmer. Turbo Matrix Headspace Sampler and HS 40/110 Trap User's Guide. Shelton, United Kingdom, 2008.

Pfannkuche, A. Einsatzmöglichkeiten der Mikrodestillation zur Gewinnung und Fraktionierung kleiner Mengen ätherischer Öle. Dissertation, Universität Hamburg, Fachbereich Chemie, Hamburg, 2000.

Pfenninger, H. (Hrsg). MEBAK Brautechnische Analysenmethoden Band III, Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission. 2. Auflage, Selbstverlag der MEBAK, Freising-Weihenstephan, 1996.

Pinho, O.; Ferreira, I.; Santos, L. Method optimization by solid-phase micro-extraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. *J. Chromatogr. A.* 2006, 1121, 145 – 153.

Poole, C. Gas chromatography. 1st edition, Elsevier, Oxford, United Kingdom, 2012.

Porter, J.W. Biosynthesis of isoprenoid compounds. Wiley, New York, USA, 1981.

Rettberg, N.; Thörner, S.; Garbe, L.-A. Bugging hop analysis – on the isomerization and oxidation of terpene alcohols during steam distillation. *Brewing Sci.* 2012, 65, 112 – 117.

Rinder, R.; Bomme, U. Wasserdampf-Destillation ätherischer Öle aus frischen oder angewelkten Pflanzen. Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Freising – München, 1998.

Roberts, M.T.; Dufour, J-P.; Lewis, A.C. Application of comprehensive multidimensional gas chromatography combined with time-of-flight mass spectrometry (GC x GC-TOFMS) for high resolution analysis of hop essential oil. *J. Sep. Sci.* 2004, 27, 473 – 478.

Røen, B.T., Unneberg, E.; Tørnes, J.A.; Lundanes, E. Trace determination of sulphur mustard and related compounds in water by headspace-trap gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2010a, 1217, 761–767.

Røen, B.T.; Unneberg, E.; Tørnes, J.A.; Lundanes, E. Headspace-trap gas chromatography–mass spectrometry for determination of sulphur mustard and related compounds in soil. *J. Chromatogr. A.* 2010b, 1217, 2171–2178.

Rubiolo, P.; Sgorbini, B.; Liberto, E.; Cordero, C.; Bicchi, C. Essential oils and volatiles: Sample preparation and analysis. A review. *Flavour Fragr. J.* 2010, 25, 282 – 290.

Ruisinger, B.; Schieberle, P. Characterization of the key aroma compounds in rape honey by means of the molecular sensory science concept. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 4186 – 4194.

Ruzicka, L. Isopren-Regel. *Proc. Chem. Soc. London, United Kingdom,* 1959, 341.

Saison, D.; De Schutter, D.P.; Delvaux, F.; Delvaux, F.R. Optimisation of a complete method for the analysis of volatiles involved in the flavour stability of beer by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2008, 1190, 342 – 349.

Saison, D.; De Schutter, D.P.; Uyttenhove, B.; Delvaux, F.; Delvaux, F.R. Contribution of staling compounds to the aged flavor of lager beer by studying their flavor thresholds. *Food Chem.* 2009, 114, 1206 – 1215.

Salzer, U.-J.; Siewek, F. *Handbuch Aromen und Gewürze, Band 1. Kapitel 1.5.9. Bier,* Behrs Verlag, Hamburg, 2000.

Scheidig, C.; Czerny, M.; Schieberle, P. Changes in key odorants of raw coffee beans during storage under defined conditions. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 5768 – 5775.

Schieberle, P. New developments in methods of analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In: *Characterization of Food: Emerging Methods;* Gaonkar, A.G. (editor), Chapter 17, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 1995.

Schirack, A.V.; Drake, M.A.; Sanders, T.H.; Sandeep, K.P. Characterization of aroma-active compounds in microwave blanched peanuts. *J. Food Sci.* 2006, Vol. 71, Iss. 9, 513 – 520.

Schulz, K.; Dreßler, J.; Sohnius, E.-M.; Lachenmeier, D.W. Determination of volatile constituents in spirits using headspace trap technology. *J. Chromatogr. A.* 2007a, 1145, 204 – 209.

Schulz, K.; Müller, R.K.; Engewald, W.; Gräfe, A.; Dreßler, J. Determination of aroma compounds from alcoholic beverages in spiked blood samples by means of dynamic headspace GC-MS. *Chromatographia.* 2007b, 66, 879 – 886.

Schwarz, K.; Methner, F.-J. Styrene concentrations during wheat beer production. *Brewing Sci.* 2011a, 64, 156 – 160.

Schwarz, K.; Methner, F.-J. Zusammenhang zwischen der Bildung von Styrol und den Aromastoffen 4-Vinylgajakol und 4-Vinylphenol durch obergärige Weizenbierhefen. Vortrag: Deutscher Lebensmittelchemikertag 12. – 14.09.2011, Halle Saale, 2011b.

Schwedt, G. Taschenatlas der Lebensmittelchemie. 2. Auflage, WILEY-VCH-Verlag, Weinheim, 2005.

Sharpe, F.R.; Laws, D.R.J. The essential oil of hops – a review. *J. Inst. Brew.* 1981, 87, 96-107.

Sides, A.; Robards, K.; Helliwell, S. Development in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in food. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 2000, Vol. 19, Iss. 5, 322 – 329.

Siebert, K.J. A data base management system for flavor threshold information and an evaluation of strategies for identifying new flavor-active substances in beer. *J. Am. Soc. Brew.* 1988, 46, 82 – 91.

Silbereisen, K.; Krüger, E.; Wagner, B.; Forch, M. Einfluss einiger Hopfenölkomponten auf Geschmack und Aroma des Bieres. *Monatsschr. Brau.* 1968, 21, 206 – 211.

Silva, G.A.D.; Augusto, F.; Poppi, R.J. Exploratory analysis of the volatile profile of beers by HS-SPME-GC. *Food Chem.* 2008, 111, 1057 – 1063.

Snow, N.H.; Bullock, G.P. Novel techniques for enhancing sensitivity in static headspace extraction gas chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2010, 1217, 2726 – 2735.

Sorm, F.; Mleziva, J.; Arnold, Z. On terpenes. XII. On the composition of oil of hops. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1949a, 14, 693.

Sorm, F.; Mleziva, J.; Arnold, Z.; Pliva, J. On the sesquiterpenes from the essential oil of hops. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1949b, 14, 699.

Steinhaus, M. Wichtige Aromastoffe in Hopfen (*Humulus lupulus* L.). Dissertation, TU-München, 2000.

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.* 2000, 48, 1776 – 1783.

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.* 2003, 24, 7100 – 7105.

Steinhaus, M.; Wilhelm, W.; Schieberle P. Comparison of the most odour-active volatiles in different hop varieties by application of a comparative aroma extract dilution analysis. *Eur. Food Res. Technol.* 2007, 226, 45 – 55.

Suzuki, M.; Wanikawa, A.; Kono, K.; Shibata, K. Factors affecting the formation of gamma-nonalactone and its contribution to the flavor and aroma of aging beer. Asia Pacific Section, Tasmania: The Institute of Brewing and Distilling, 2006.

Takeoka, G.R.; Full, G.H. Analysis of volatile constituents of fruit. In: *Plant volatile analysis (Molecular methods of plant analysis)*; Linskens, H.F.; Jackson, J.F. (Editor). 1st edition, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1997.

Takoi, K.; Itoga, Y.; Koie, K.; Kosugi, T.; Shimase, M.; Katayama, Y.; Nakayamy, Y.; Watari, J. The contribution of geraniol metabolism to the citrus flavor of beer: Synergy of geraniol and β -citronellol under coexistence with excess linalool. *J. Inst. Brew.* 2010, 116, 251 – 260.

Takoi, K. Aromaverbindungen und der typische Geschmack von Aromahopfen-Neuzüchtungen. *Brauwelt.* 2012, 32, 916 – 921.

Tan, Y.; Siebert, K.J. Quantitative structure – activity relationship modeling of alcohol, ester, aldehyde, and ketone. Flavor thresholds in beer from molecular features. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 3057 – 3064.

Taschan, H.; Uhlig, R. Bier und Braustoffe. In: *Handbuch für Lebensmittelchemiker*; Frede, W. (Hrsg.), 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 2010.

Teutsch, I.A. Einfluss der Rohkaffeeverarbeitung auf Aromastoffveränderungen in gerösteten Kaffeebohnen sowie im Kaffeegetränk. Dissertation, TU-München, 2004.

Tian, J. Application of static headspace gas chromatography for determination of acetaldehyde in beer. *J. Food Comp. Ana.* 2010a, 23, 475 – 479.

Tian, J. Determination of several flavours in beer with headspace sampling gas chromatography. *Food Chem.* 2010b, 123, 1318 – 1321.

Tressl, R.; Kossa, T.; Renner, R.; Köppler, H. Über die Bildung von Aromastoffen in Malz, Würze und Bier. *Monatsschr. Brau.* 1974, 27, 98 – 102.

Tressl, R. Aromastoffe des Bieres und ihre Entstehung. *Brauwelt.* 1976, 116, Nr. 39, 1252 – 1259.

Tressl, R.; Friese, L.; Fendesack, F.; Köppler, H. Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of hop aroma constituents in beer. *J. Agric. Food Chem.* 1978a, 26, 1422 – 1426.

Tressl, R.; Friese, L.; Fendesack, F.; Köppler, H. Studies of the volatile composition of hops during storage. *J. Agric. Food Chem.* 1978b, 26, 1426 – 1430.

Tressl, R.; Engel, K.-H.; Kossa, T. Charakterisierung neuer Aromastoffe in Hopfen, Hopfenextrakten und Bier. *Monatsschr. Brau.* 1983, 36, 432 – 437.

Tressl, R.; Kossa, T.; Köppler, H. Changes of aroma components during processing of hops, In *Eur. Brew. Conv., Monogr. XIII.*, Weihenstephan, 1987. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 1987, 23 – 28.

Trinkl, F. Einführung: Turbo Matrix 40 und 110 Trap, Headspace sampler, Technische Eigenschaften, PerkinElmer Vortrag, 2007.

Trinkl, F. GC-MS Kurzübersicht, Perkin Elmer Vortrag, 2010.

Vanderhaegen, B.; Neven, H.; Coghe, S.; Verstrepen, K.J.; Verachtert, H.; Derdelinckx, G. Evolution of chemical and sensory properties during Aging of top-fermented beer. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 6782 – 6790.

Vanderhaegen, B.; Neven, H.; Verachtert, H.; Derdelinckx, G. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chem.* 2006, 95, 357 – 381.

Vanderhaegen, B.; Delvaux, F.; Daenen, L.; Verachtert, H.; Delvaux, F.R. Aging characteristics of different beer types. *Food Chem.*, 2007, 103, 404 – 412.

Van Opstaele, F.; De Causmaecker, B.; Aerts, G.; De Cooman, L. Characterization of novel varietal floral hop aromas by headspace solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry / olfactometry. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 12270 – 12281.

Verhagen, L.C. 3.22 Beer flavor in comprehensive natural products II: Chemistry and biology, Elsevier, United Kingdom, 2010.

Verstrepen, K.J.; Derdelinckx, G.; Dufour, J.-P.; Winderickx, J.; Thevelein, J.M.; Pretorius, I.S.; Delvaux, F.R. Review – Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. *J. Biosci. Bioeng.* 2003, Vol. 96, No. 2, 110 – 118.

Wackerbauer, K.; Kossa, T.; Tressl, R. Die Bildung von Phenolen durch Hefen. *Monatsschr. Brau.* 1978, Februar, 52 – 55.

Wei, A.; Mura, K.; Shibamoto, T. Antioxidative activity of volatile chemicals extracted from beer. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 4097 – 4101.

Weidenbörner, M. Lexikon der Lebensmittelmykologie, Springer, 1. Auflage, Berlin, 2000.

Weldegergis, B.T.; Crouch, A.M. Analysis of volatiles in ponotage wines by stir bar sorptive extraction and chemometric Profiling. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 10225 – 10236.

Werkhoff, P.; Brennecke, S.; Bretschneider, W.; Bertram, H.-J. Modern methods for isolating and quantifying volatile flavor and fragrance compounds. In: Flavor, fragrance, and odor analysis; Marsili, R. (Editor), 1st Edition, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 2002.

Whetstine, M.E.; Cadwallader, K.R.; Drake, M.A. Characterization of aroma compounds responsible for the rosy / floral flavor in cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 3126 – 3132.

Yamashita, H.; Kühbeck, F.; Hohrein, A.; Herrmann, M.; Back, W.; Krottenthaler, M. Fractionated boiling technology: Wort boiling of different lauter fractions. *Monatsschr. Brau.* 2006, 130 – 147.

Yonezawa, T.; Fushiki, T. Testing for taste and flavour of beer. In: Analysis of taste and aroma. Molecular methods of plant analysis, Volume 21; Jackson, J.F.; Linskens, H.F. (Editor), 1st edition, Springer, Heidelberg, Deutschland, 2002.

Zhang, S.; Müller, C. Comparative analysis of volatiles in traditionally cured bourbon and ugandan vanilla bean (*vanilla planifolia*) extracts. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60 (42), 10433 – 10444.

A Anhang

A 1: Kalibriergeraden

A 1.1: Kalibriergeraden für die HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfenaromastoffen (aus XCalibur)

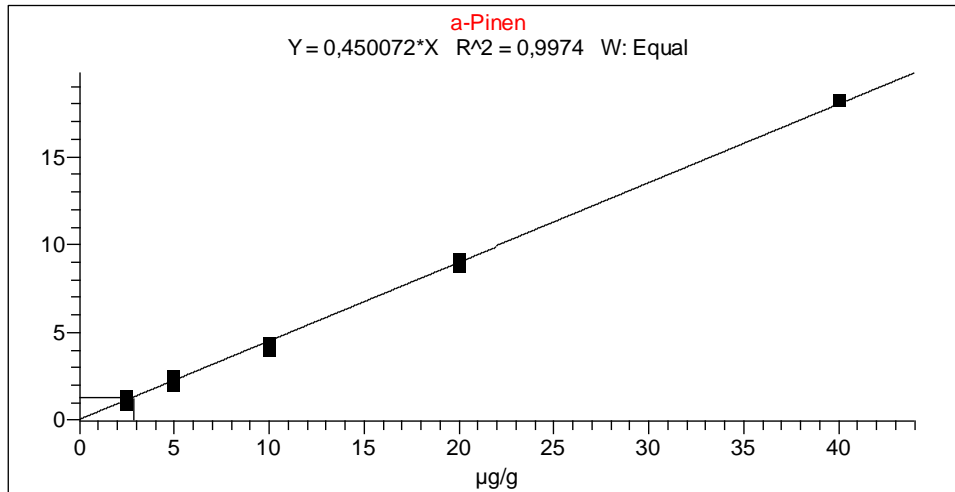


Abbildung A1: Kalibriergerade für α-Pinen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

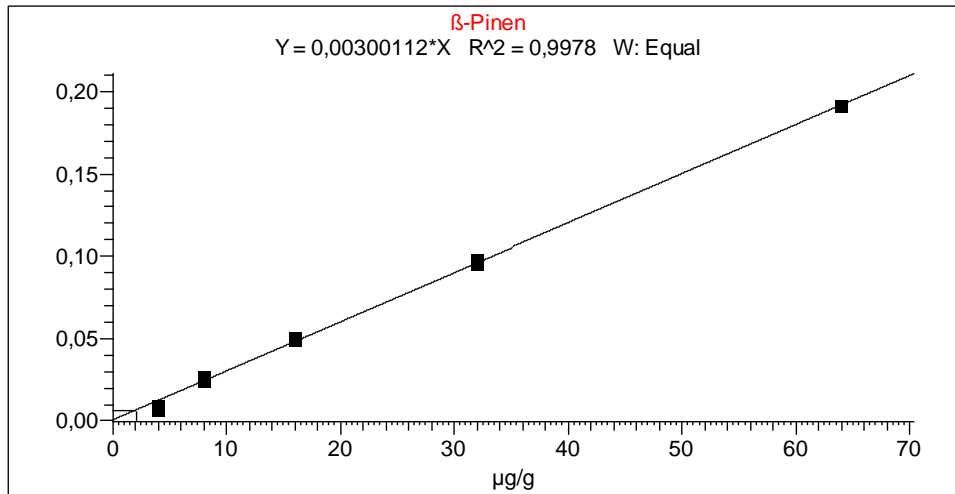


Abbildung A2: Kalibriergerade für β-Pinen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

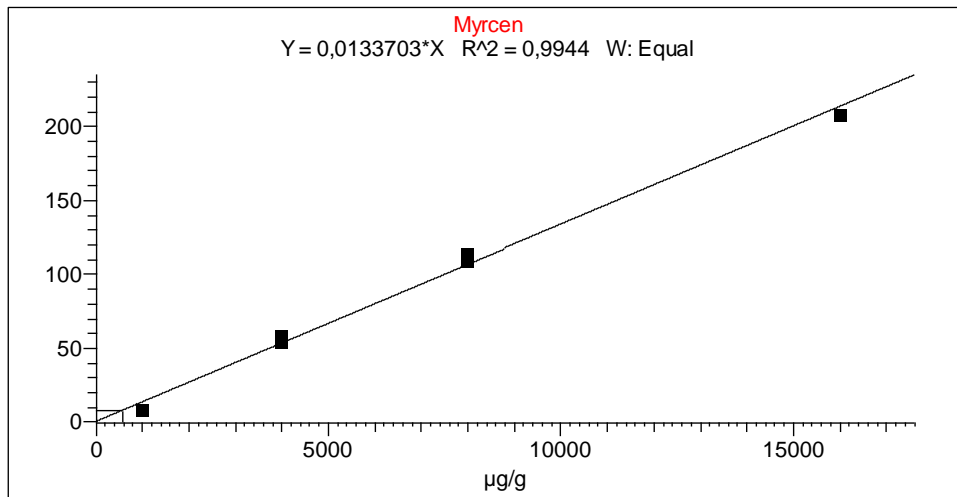


Abbildung A3: Kalibriergerade für Myrcen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

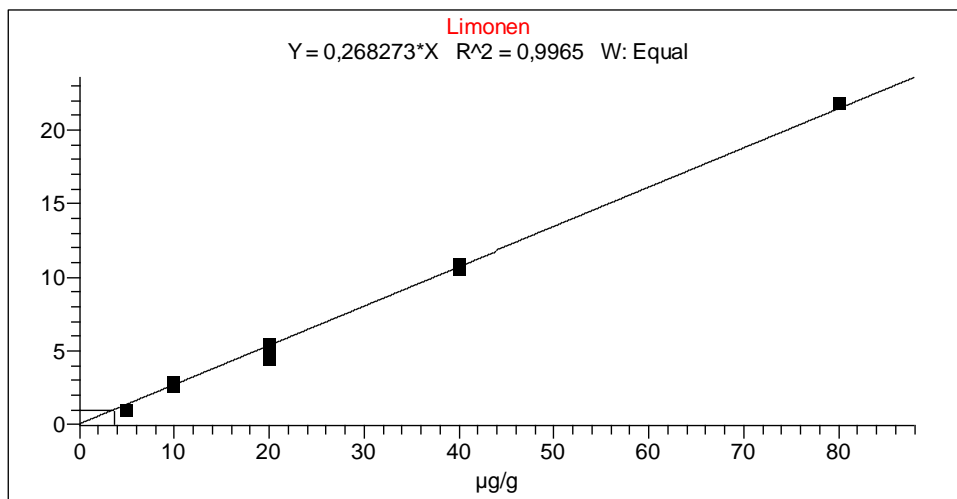


Abbildung A4: Kalibriergerade für Limonen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

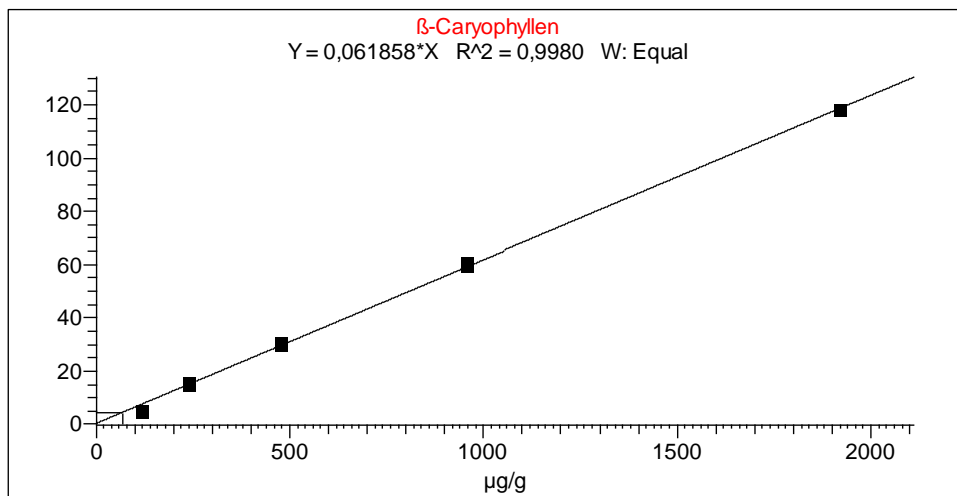


Abbildung A5: Kalibriergerade für β-Caryophyllen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

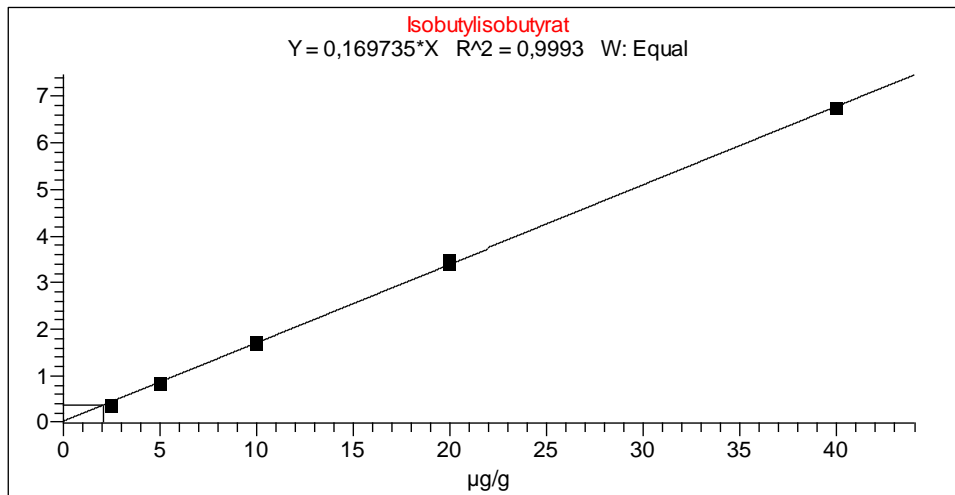


Abbildung A6: Kalibriergerade für Isobutylisobutytrat (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

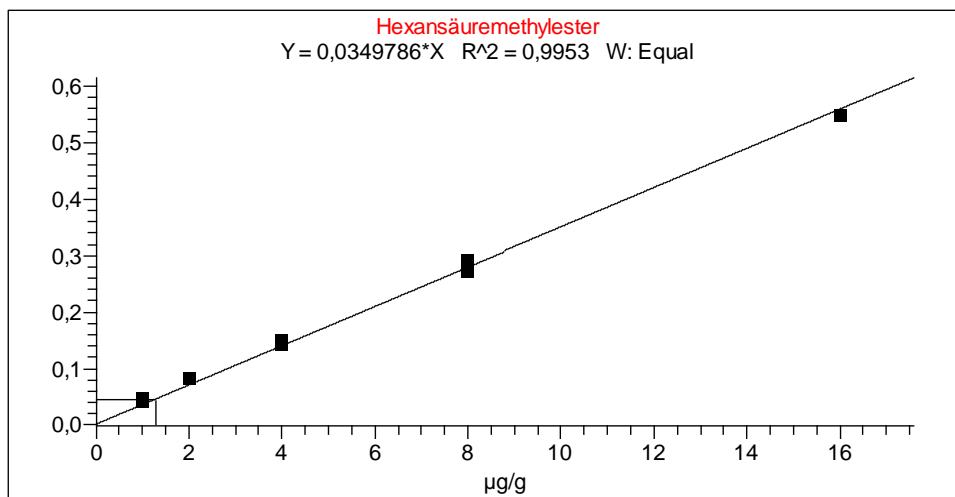


Abbildung A7: Kalibriergerade für Hexansäuremethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

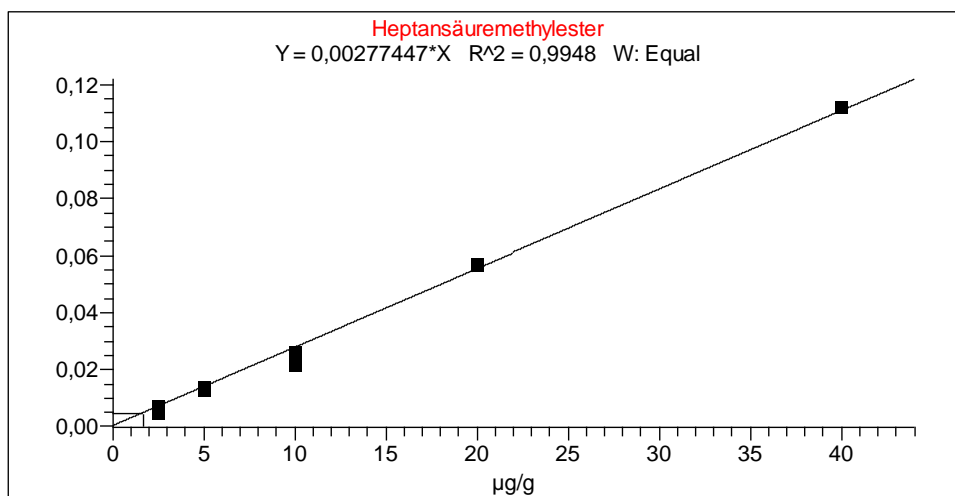


Abbildung A8: Kalibriergerade für Heptansäuremethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

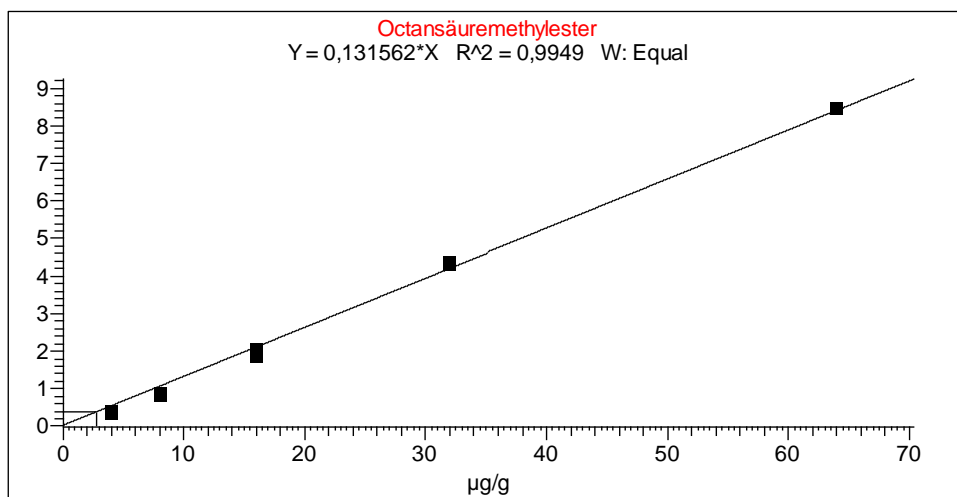


Abbildung A9: Kalibriergerade für Octansäuremethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

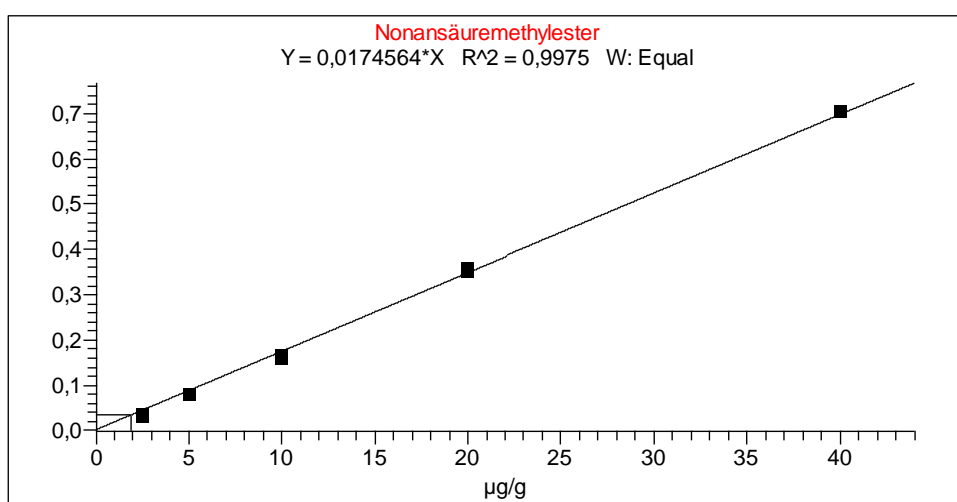


Abbildung A10: Kalibriergerade für Nonansäuremethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

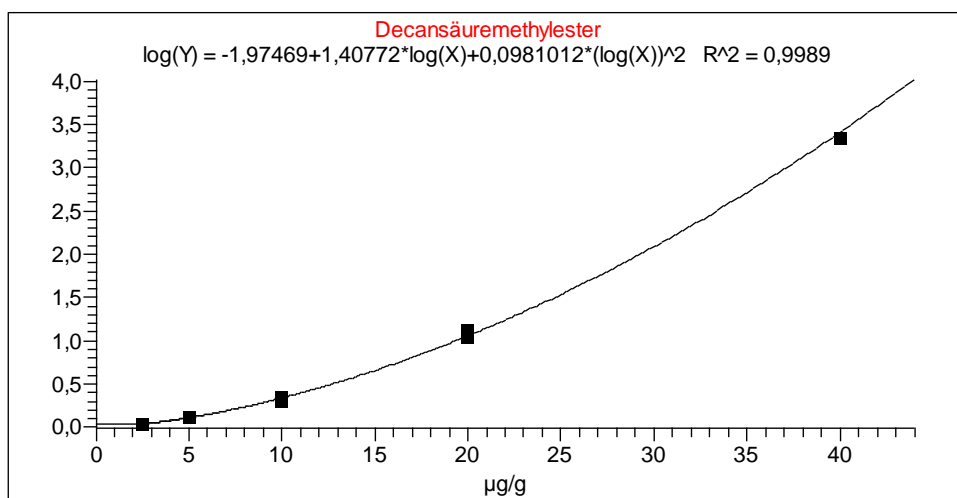


Abbildung A11: Kalibriergerade für Decansäuremethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

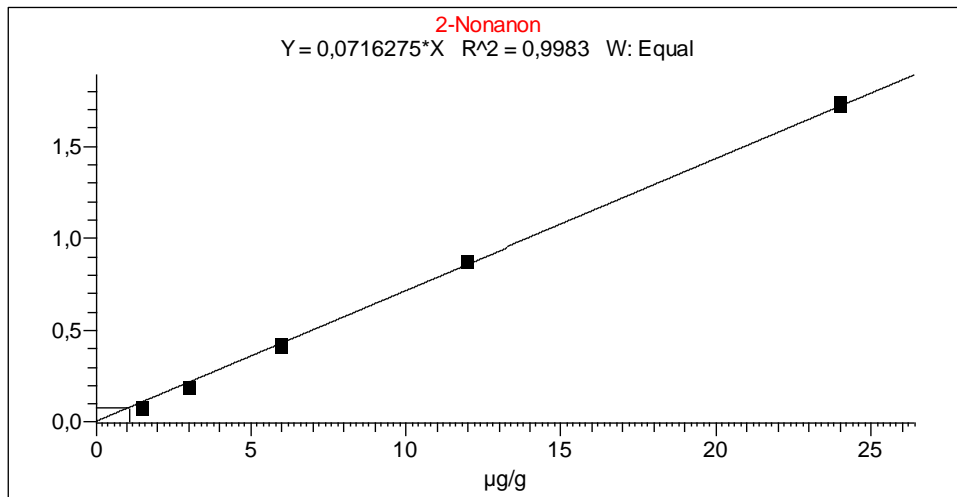


Abbildung A12: Kalibriergerade für 2-Nonanon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

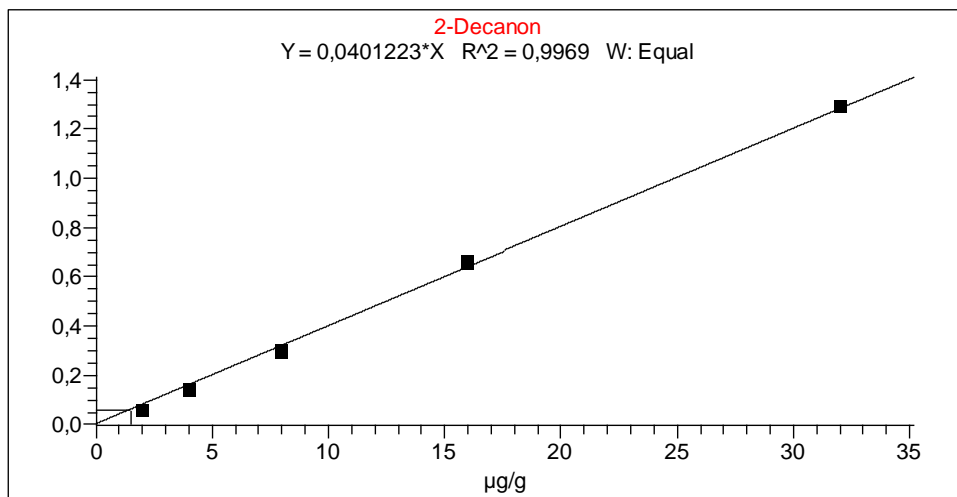


Abbildung A13: Kalibriergerade für 2-Decanon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

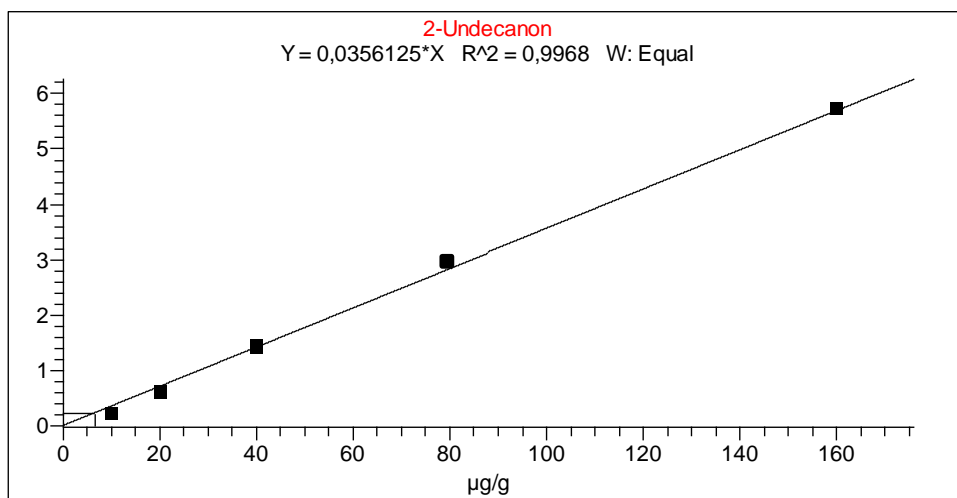


Abbildung A14: Kalibriergerade für 2-Undecanon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

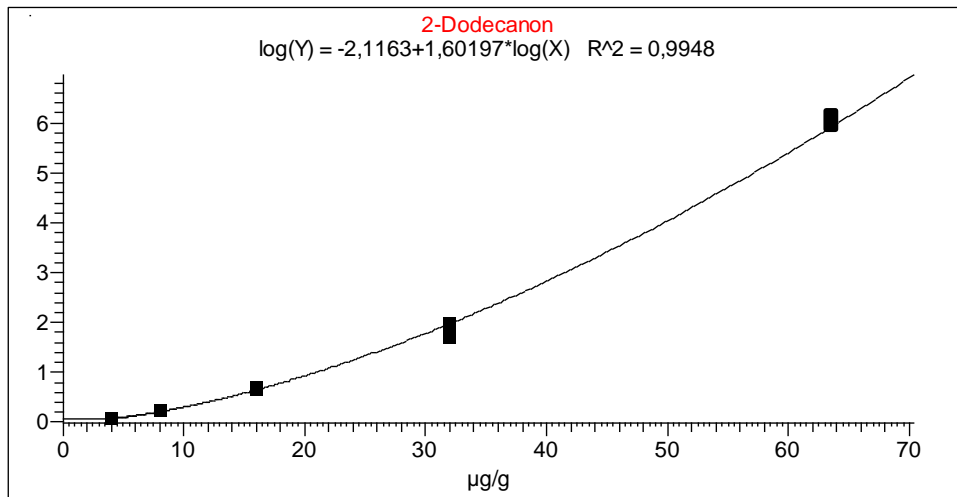


Abbildung A15: Kalibriergerade für 2-Dodecanon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

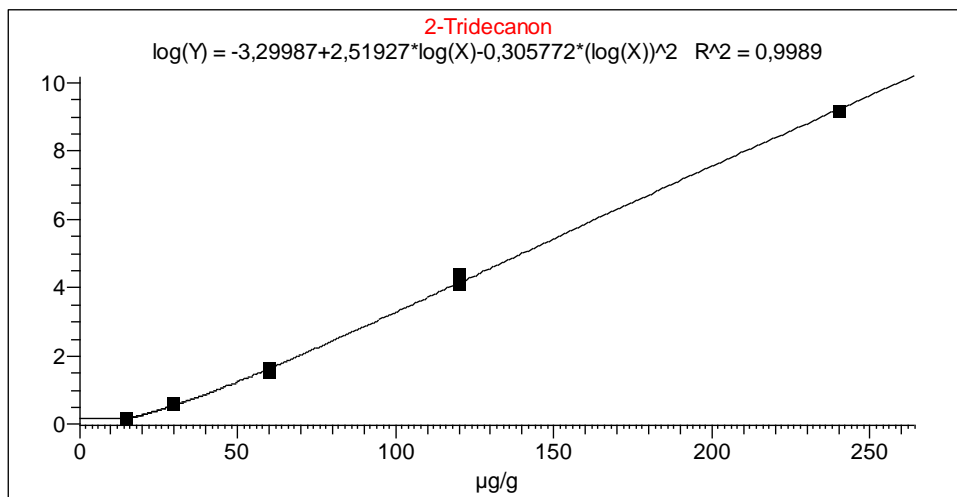


Abbildung A16: Kalibriergerade für 2-Tridecanon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

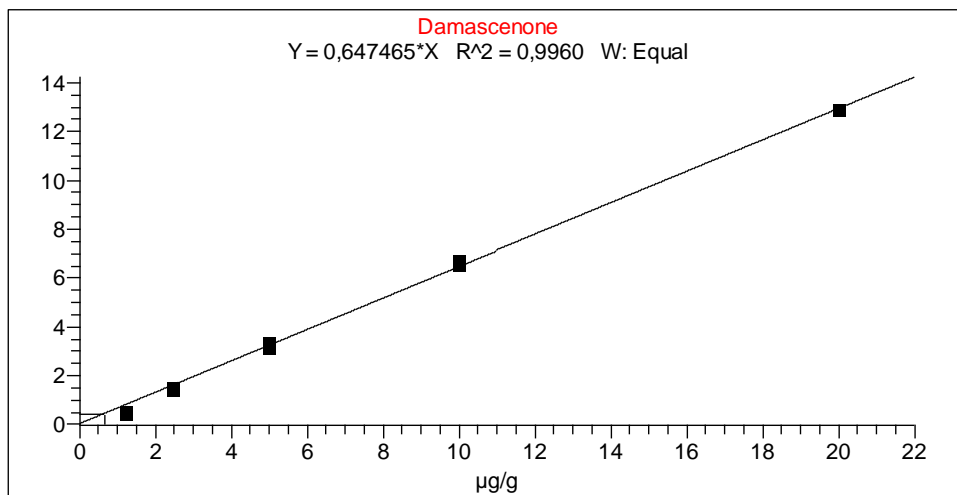


Abbildung A17: Kalibriergerade für Damascenon (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

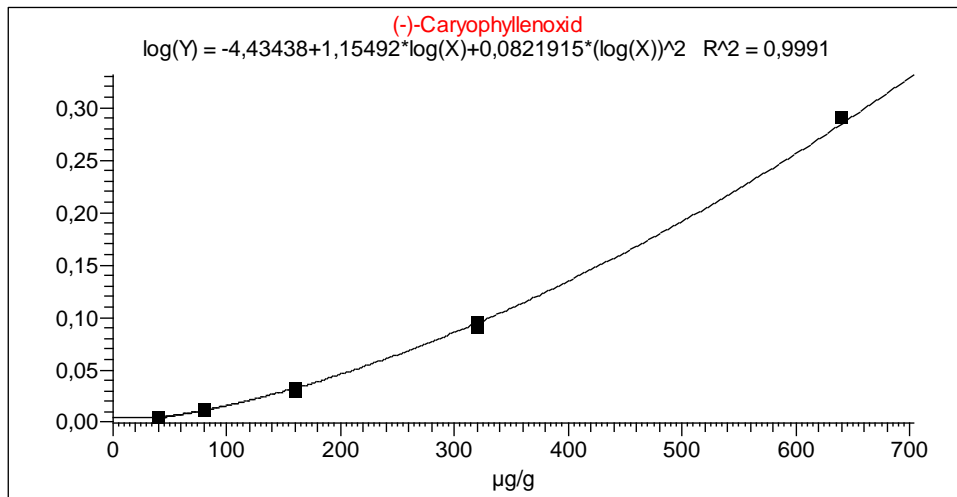


Abbildung A18: Kalibriergerade für Caryophyllenoxid (HS-Trap-GC-MS Analyse von Hopfen)

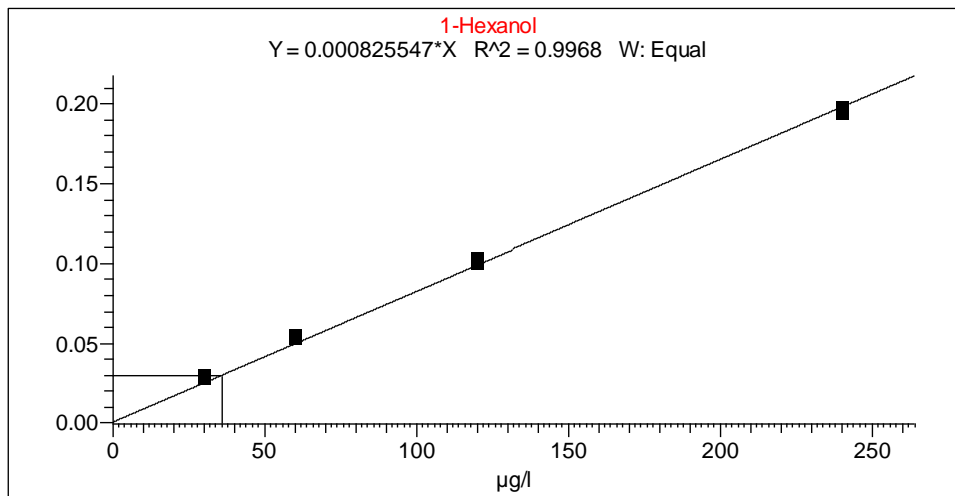
A 1.2: Kalibriergeraden für die HS-Trap-GC-MS Analyse von Bieraroma-
stoffen (aus Xcalibur)

Abbildung A29: Kalibriergerade für 1-Hexanol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

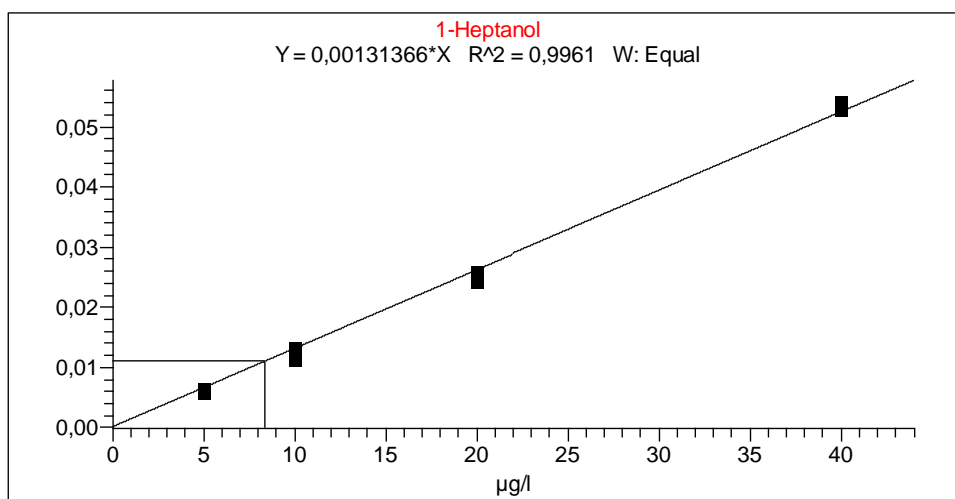


Abbildung A20: Kalibriergerade für 1-Heptanol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

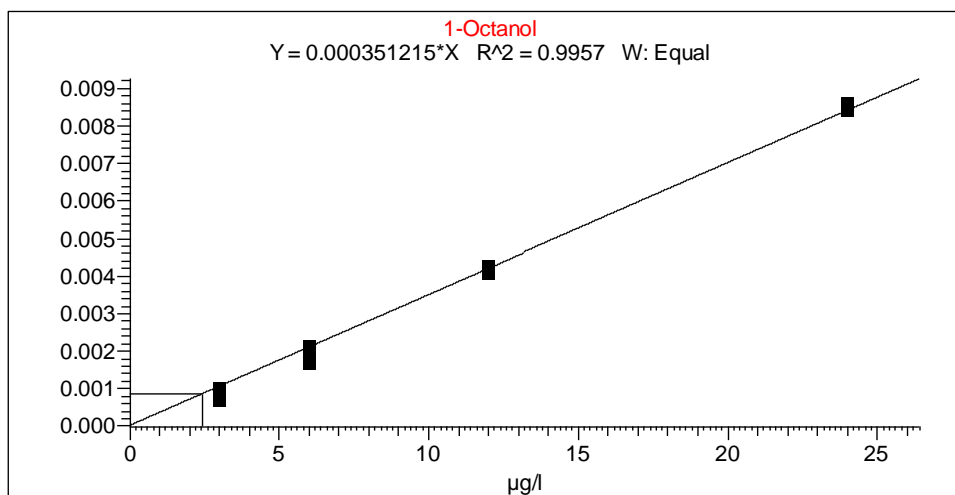


Abbildung A21: Kalibriergerade für 1-Octanol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

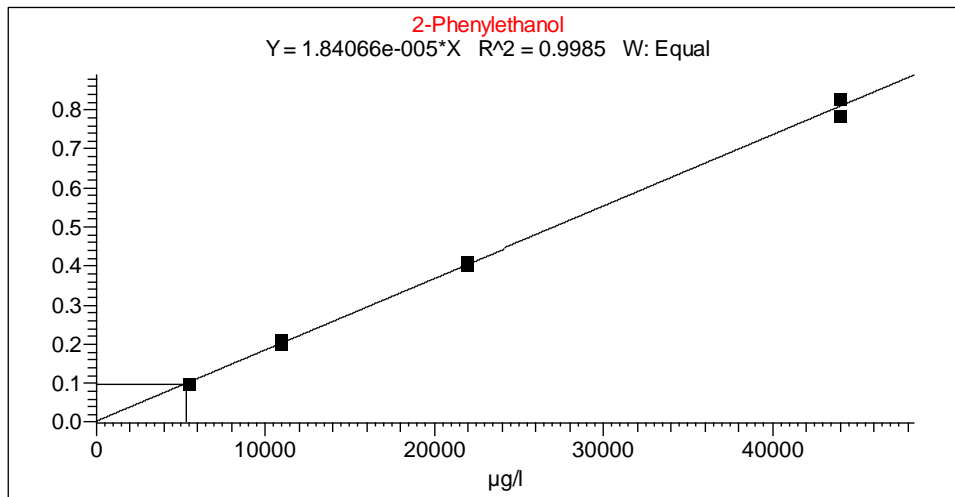


Abbildung A22: Kalibriergerade für 2-Phenylethanol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

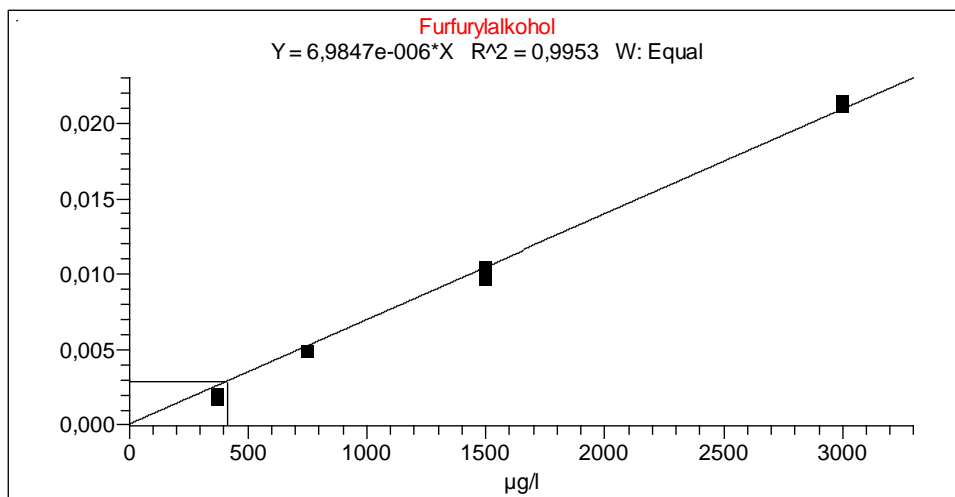


Abbildung A23: Kalibriergerade für Furfurylalkohol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

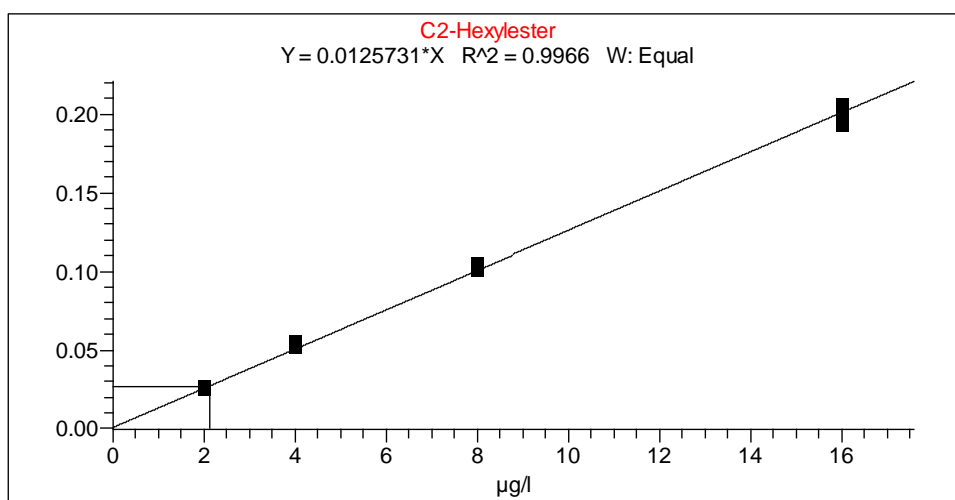


Abbildung A24: Kalibriergerade für Essigsäure-Hexylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

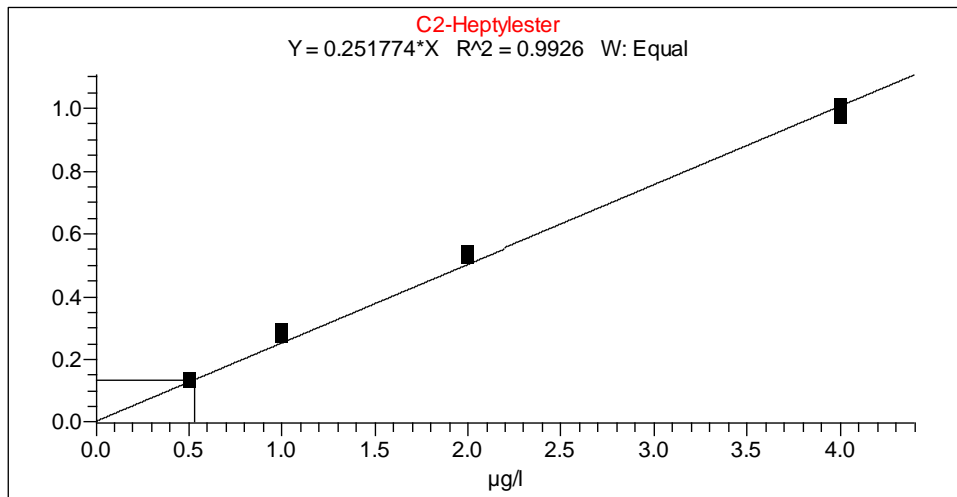


Abbildung A25: Kalibriergerade für Essigsäure-Heptylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

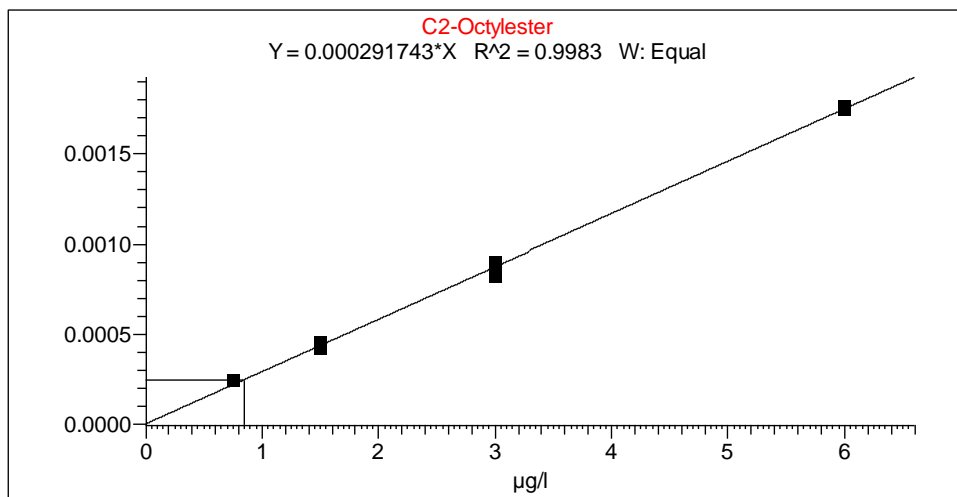


Abbildung A26: Kalibriergerade für Essigsäure-Octylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

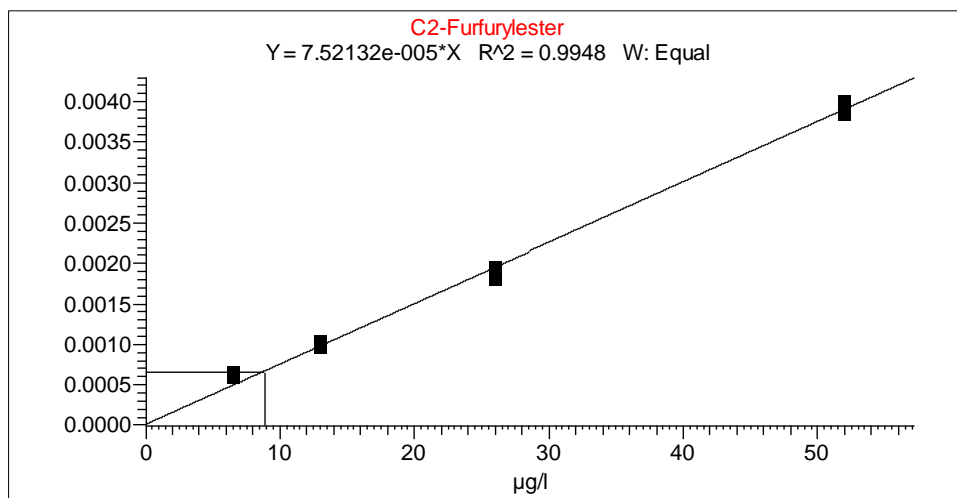


Abbildung A27: Kalibriergerade für Essigsäure-Furfurylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

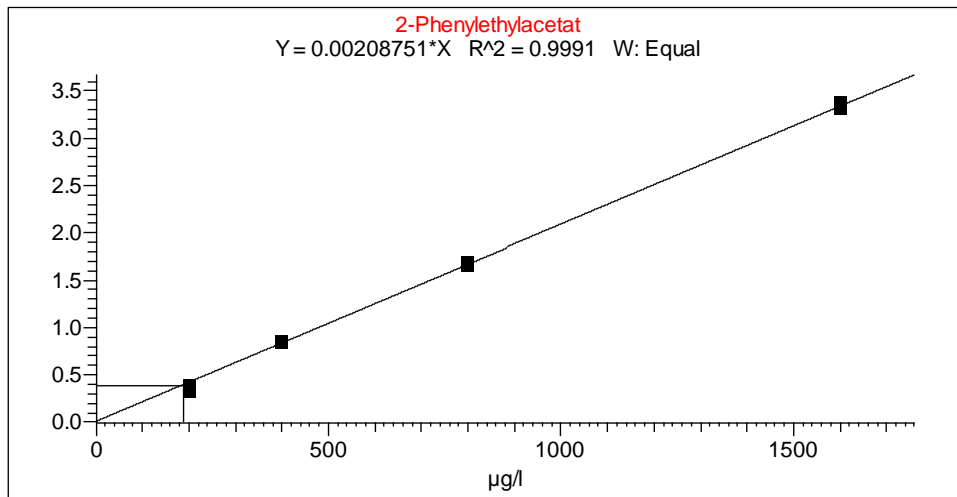


Abbildung A28: Kalibriergerade für 2-Phenylethylacetat (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

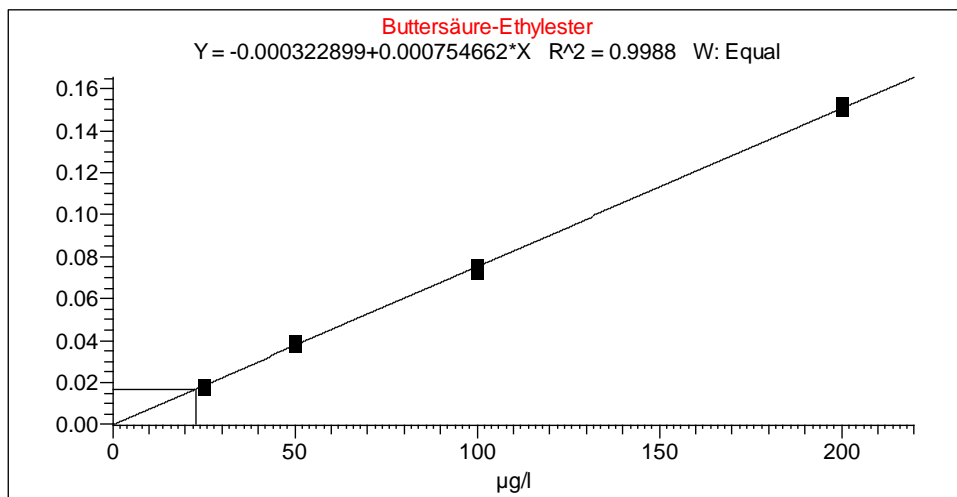


Abbildung A29: Kalibriergerade für Buttersäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

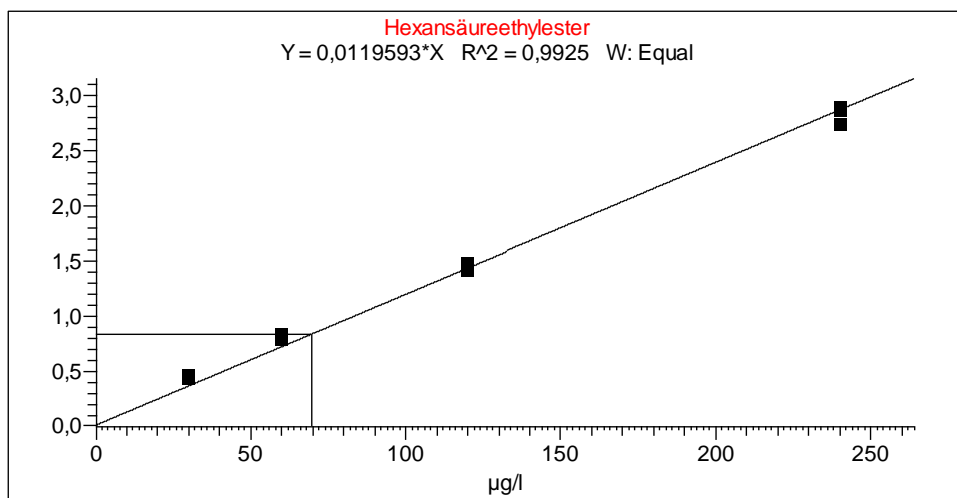


Abbildung A30: Kalibriergerade für Hexansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

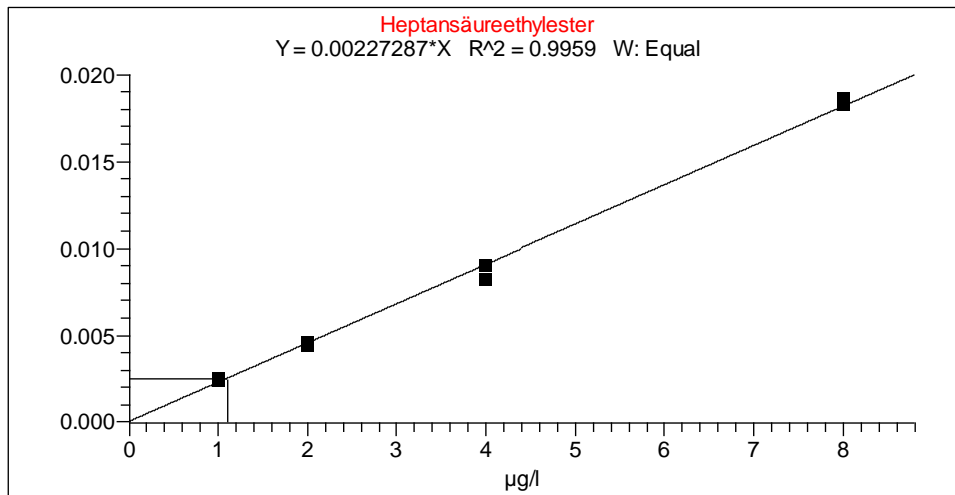


Abbildung A31: Kalibriergerade für Heptansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

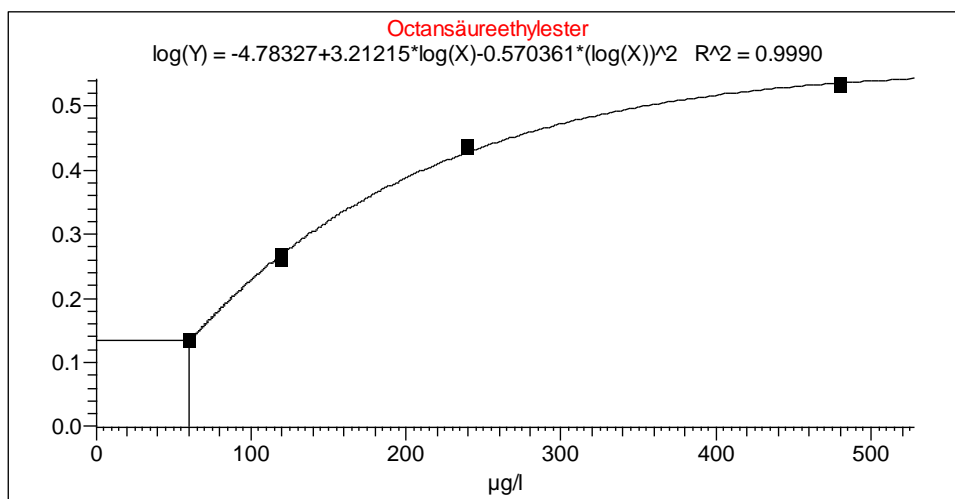


Abbildung A32: Kalibriergerade für Octansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

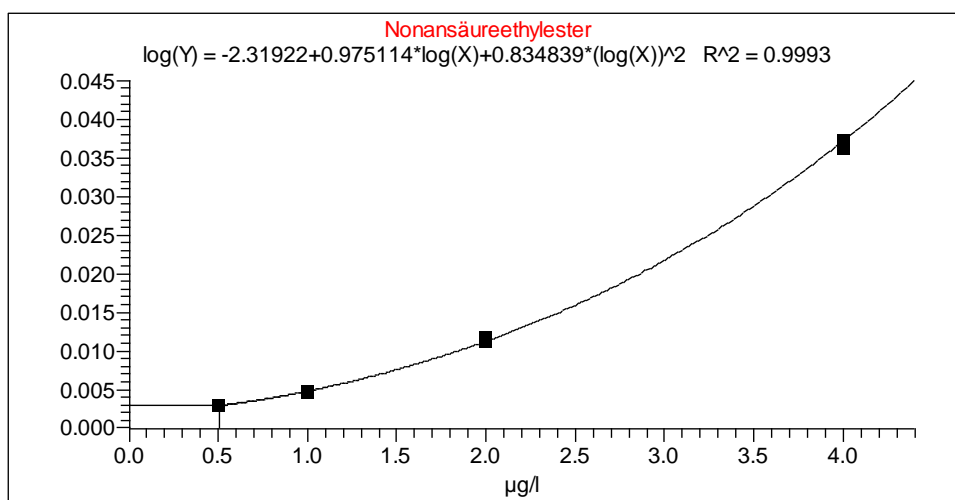


Abbildung A33: Kalibriergerade für Nonansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

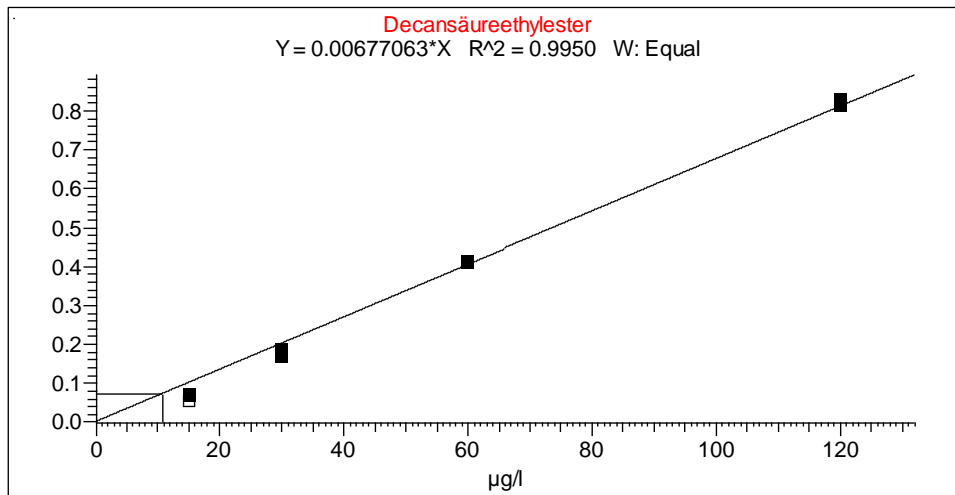


Abbildung A34: Kalibriergerade für Decansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

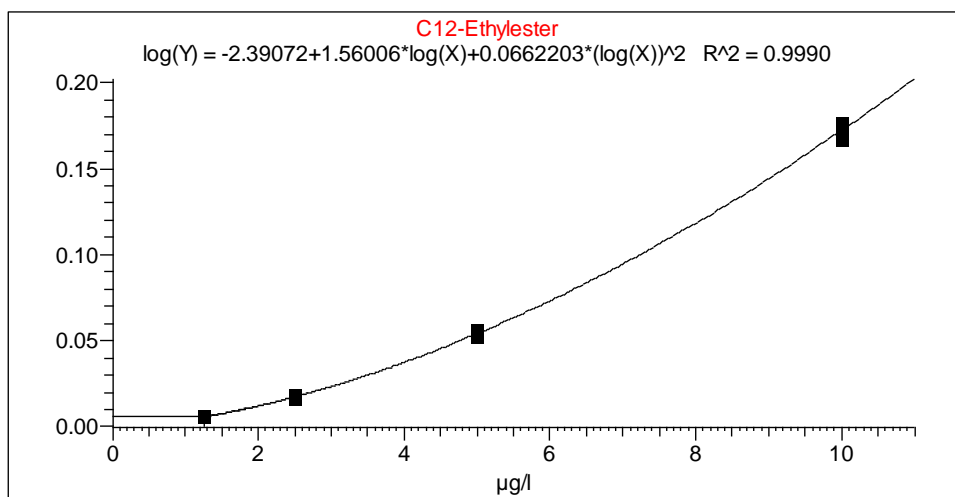


Abbildung A35: Kalibriergerade für Dodecansäure-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

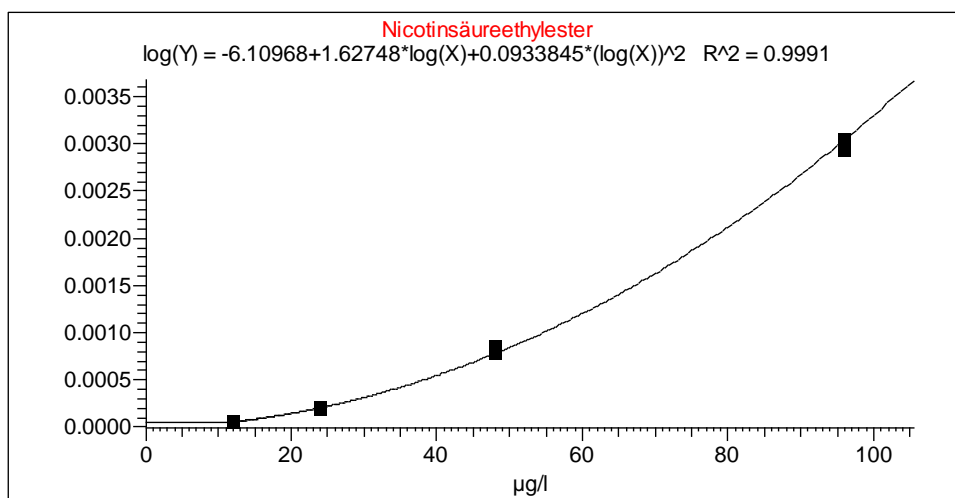


Abbildung A36: Kalibriergerade für Nicotinsäureethylester-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

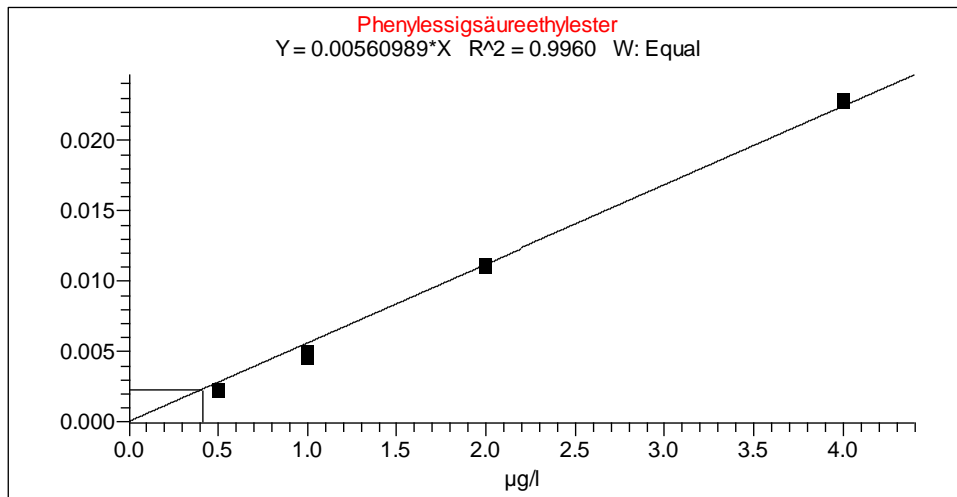


Abbildung A37: Kalibriergerade für 2-Phenylacetic acid ethyl ester-Ethylester (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

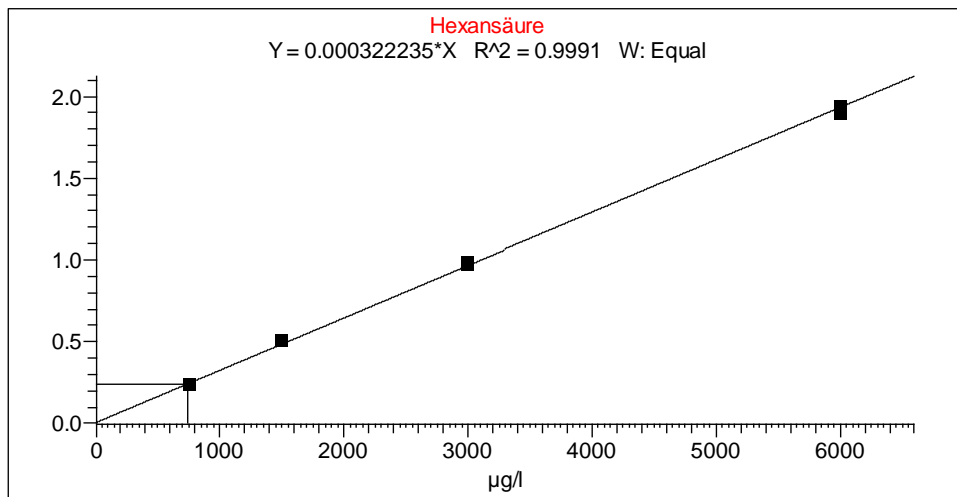


Abbildung A38: Kalibriergerade für Hexanoic acid (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

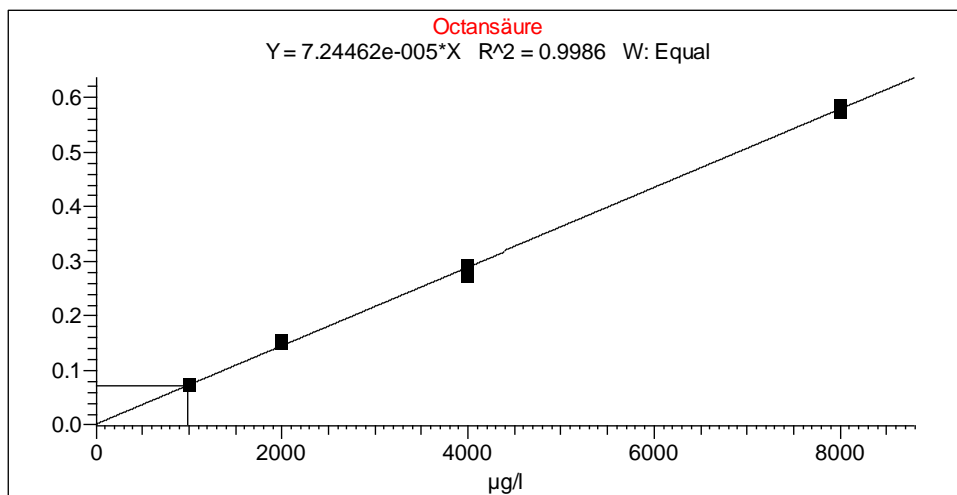


Abbildung A39: Kalibriergerade für Octanoic acid (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

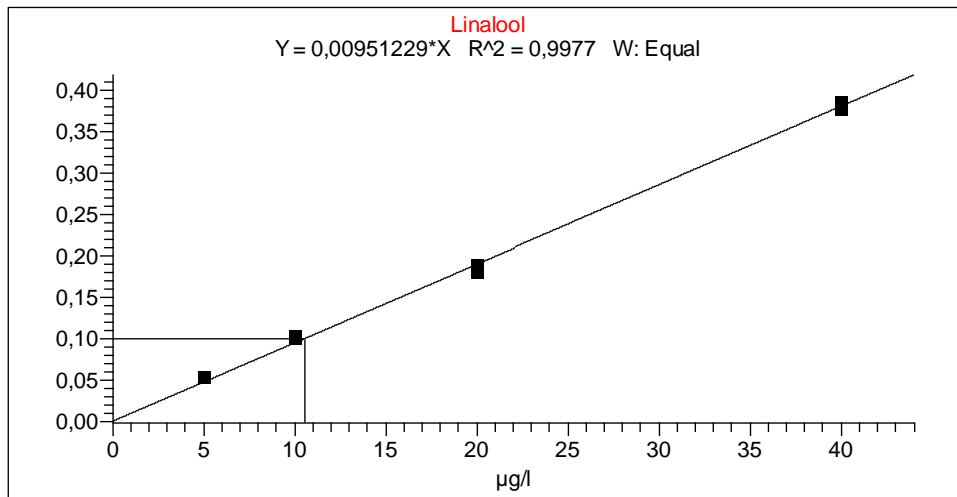


Abbildung A40: Kalibriergerade für Linalool (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

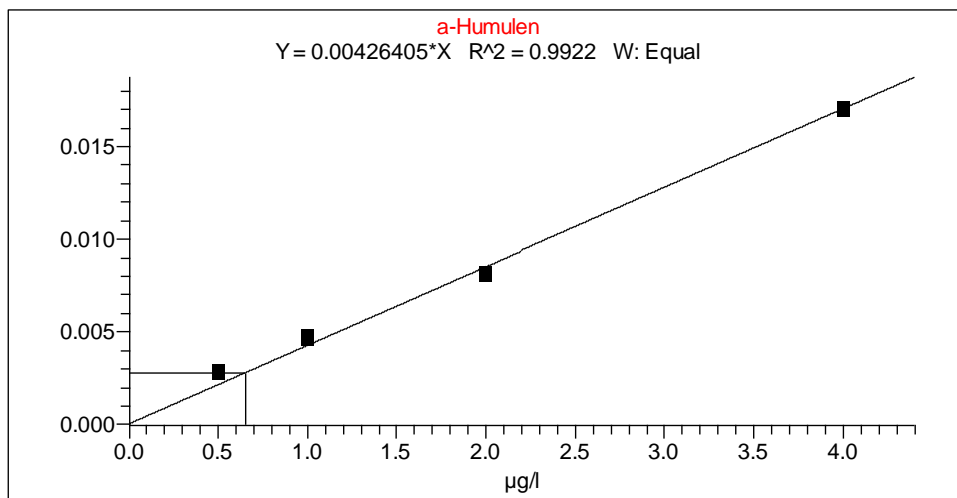


Abbildung A41: Kalibriergerade für α-Humulene (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

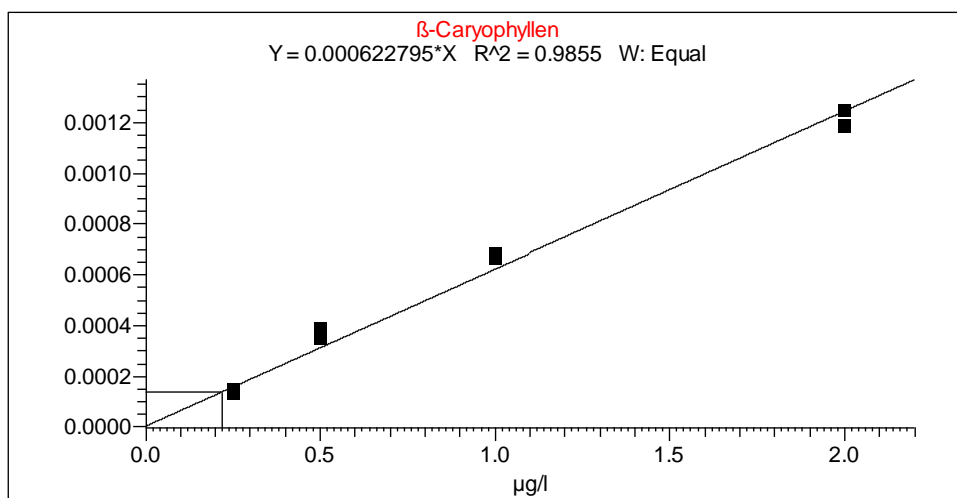


Abbildung A42: Kalibriergerade für β-Caryophyllen (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

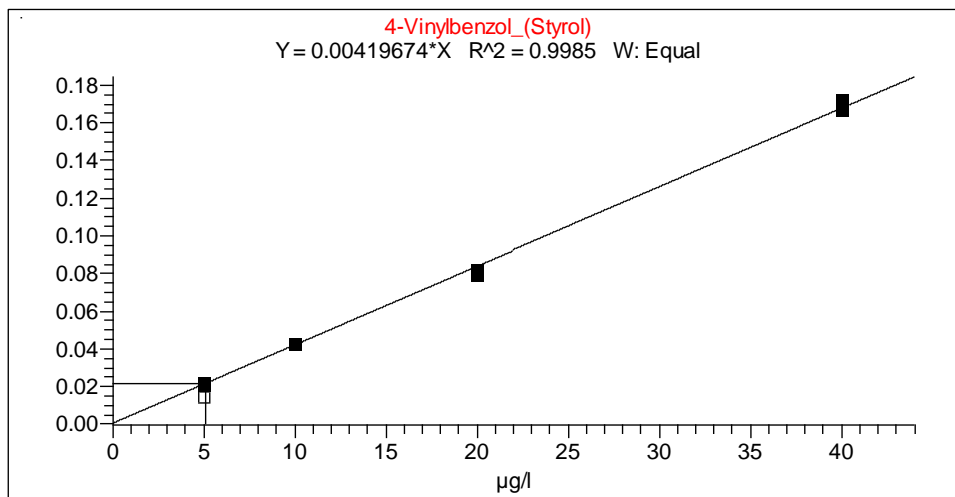


Abbildung A43: Kalibriergerade für 4-Vinylbenzol (HS-Trap-GC-MS Analyse von Bier)

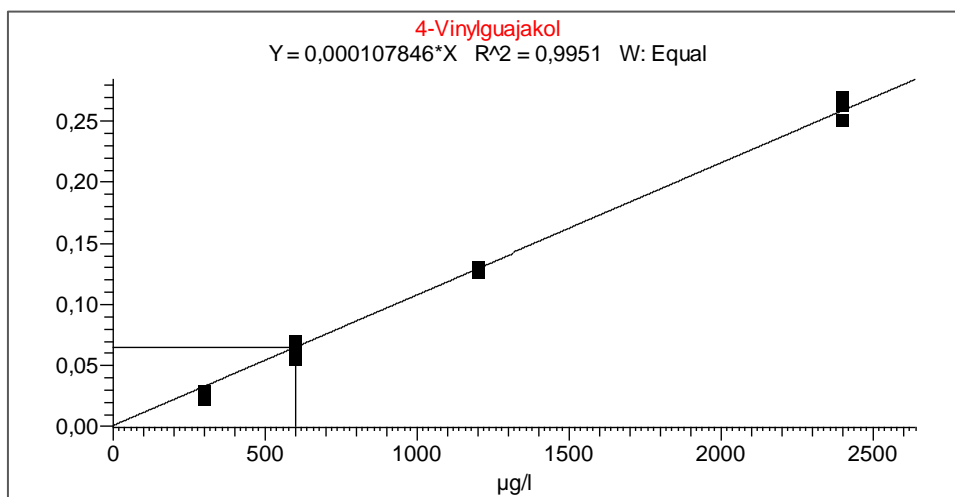
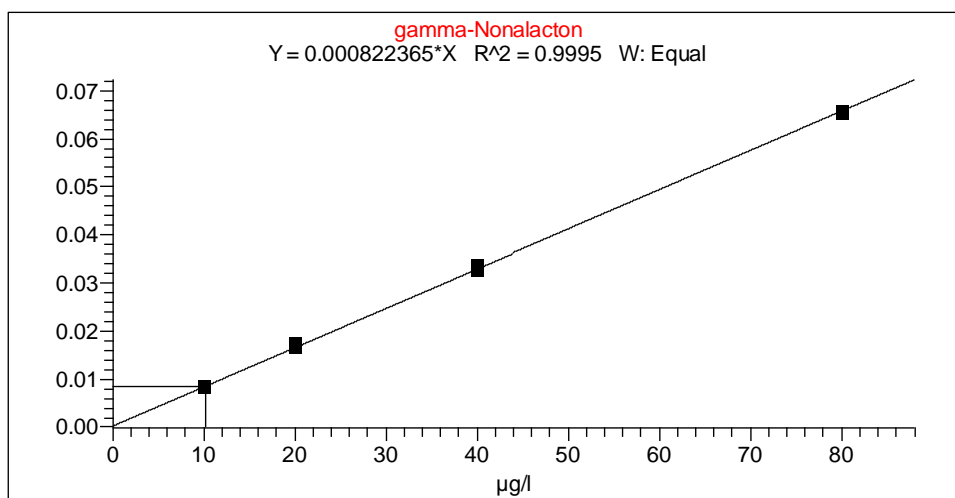


Abbildung A44: Kalibriergerade für 4-Vinylguajakol (HS-Trap-GC-MS-Methode zur Bieranalyse)

Abbildung A45: Kalibriergerade für γ -Nonalacton (HS-Trap-GC-MS-Methode zur Bieranalyse)

A 2: Gegenüberstellung der Analysenergebnisse – Bitterhopfen

Tabelle A1: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	US-ZS (1)		ETA (2)		EHM (2)		EMR (1)	
	Öl: 12705 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14355 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14355 $\mu\text{g/g}$		Öl: 22523 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	13,6 \pm 0,3	10,2 \pm 0,2	12,7 \pm 0,2	10,3 \pm 0,1	19,2 \pm 0,3	12,1 \pm 0,2	20,3 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2
β -Pinen	22,3 \pm 0,4	19,4 \pm 0,3	21,4 \pm 0,2	19,9 \pm 0,2	26,0 \pm 0,5	22,0 \pm 0,3	36,4 \pm 0,4	33,9 \pm 0,3
Myrcen	5818 \pm 82	5145 \pm 76	7472 \pm 78	7258 \pm 81	5894 \pm 73	7035 \pm 98	8850 \pm 92	9643 \pm 102
Limonen	33,3 \pm 0,5	25,6 \pm 0,3	31,2 \pm 0,4	25,9 \pm 0,2	30,5 \pm 0,4	26,8 \pm 0,3	39,2 \pm 0,4	29,9 \pm 0,3
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	772 \pm 9	961 \pm 11	379 \pm 5	901 \pm 9	741 \pm 8	1231 \pm 13	1165 \pm 14	1717 \pm 20
α -Humulen	1716 \pm 16	2539 \pm 24	1297 \pm 14	2055 \pm 22	2523 \pm 31	4640 \pm 56	4257 \pm 48	5672 \pm 62
Terpenalkohol								
Linalool	47,4 \pm 0,8	34,3 \pm 0,6	73,1 \pm 0,8	68,6 \pm 0,7	27,9 \pm 0,5	26,3 \pm 0,4	101 \pm 0,9	99,5 \pm 0,8
Ester								
Isobutylisobutyrat	4,2 \pm 0,4	2,6 \pm 0,2	58,9 \pm 0,5	59,5 \pm 0,3	12,0 \pm 0,3	11,1 \pm 0,2	39,3 \pm 0,5	43,0 \pm 0,5
Hexansäuremethylester	1,8 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	10,4 \pm 0,2	7,8 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	14,6 \pm 0,3	13,5 \pm 0,2	24,5 \pm 0,2	24,5 \pm 0,2	20,2 \pm 0,2	18,6 \pm 0,3	47,2 \pm 0,4	40,4 \pm 0,3
Octansäuremethylester	5,6 \pm 0,3	4,7 \pm 0,3	40,8 \pm 0,4	33,1 \pm 0,5	21,5 \pm 0,2	18,4 \pm 0,4	87,3 \pm 1,1	75,7 \pm 0,8
Nonansäuremethylester	8,7 \pm 0,4	6,0 \pm 0,3	34,2 \pm 0,3	31,5 \pm 0,4	21,8 \pm 0,5	15,6 \pm 0,3	38,1 \pm 0,4	35,4 \pm 0,5
Decansäuremethylester	4,2 \pm 0,3	4,5 \pm 0,2	19,7 \pm 0,2	21,7 \pm 0,1	12,7 \pm 0,2	15,2 \pm 0,2	26,7 \pm 0,3	28,6 \pm 0,3
Ketone								
2-Nonanon	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	5,5 \pm 0,2	4,9 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	5,4 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1
2-Decanon	0,9 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	14,7 \pm 0,3	11,5 \pm 0,2	9,4 \pm 0,2	8,9 \pm 0,1	10,2 \pm 0,1	9,5 \pm 0,1
2-Undecanon	23,8 \pm 0,5	21,5 \pm 0,4	75,4 \pm 0,4	74,4 \pm 0,6	38,8 \pm 0,6	37,7 \pm 0,5	54,6 \pm 0,7	52,8 \pm 0,6
2-Dodecanon	19,8 \pm 0,4	20,4 \pm 0,3	40,7 \pm 0,5	43,6 \pm 0,5	21,7 \pm 0,4	25,0 \pm 0,3	40,7 \pm 0,5	47,6 \pm 0,4
2-Tridecanon	93,2 \pm 2,3	103 \pm 2,1	176 \pm 2,2	194 \pm 2,5	93,8 \pm 1,3	98,5 \pm 2,3	173 \pm 1,9	186 \pm 2,1
Damascenon	12,3 \pm 0,2	13,1 \pm 0,3	7,6 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	8,9 \pm 0,2	11,7 \pm 0,2	12,4 \pm 0,2
Epoxid								
Caryophyllenoxid	228 \pm 3	90,2 \pm 1,5	309 \pm 4	92,9 \pm 1,3	374 \pm 5	86,9 \pm 1,2	184 \pm 2	68,7 \pm 0,9

Tabelle A2: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	ETA (1)		HHM (2)		EHM (1)		ETU (1)	
	Öl: 14355 $\mu\text{g/g}$		Öl: 15675 $\mu\text{g/g}$		Öl: 17820 $\mu\text{g/g}$		Öl: 16995 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	12,7 \pm 0,2	10,3 \pm 0,1	16,8 \pm 0,2	12,9 \pm 0,1	22,8 \pm 0,3	16,4 \pm 0,2	16,4 \pm 0,2	14,6 \pm 0,2
β -Pinen	21,3 \pm 0,2	19,9 \pm 0,2	25,1 \pm 0,3	20,6 \pm 0,2	37,8 \pm 0,5	33,6 \pm 0,4	27,4 \pm 0,3	26,9 \pm 0,3
Myrcen	7472 \pm 78	7258 \pm 81	8231 \pm 96	7986 \pm 85	9313 \pm 106	11684 \pm 98	9521 \pm 89	10611 \pm 97
Limonen	31,2 \pm 0,4	25,9 \pm 0,2	38,1 \pm 0,5	33,3 \pm 0,4	36,8 \pm 0,4	35,6 \pm 0,5	40,9 \pm 0,5	32,6 \pm 0,4
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	379 \pm 5	901 \pm 10	560 \pm 8	976 \pm 11	648 \pm 7	1379 \pm 16	430 \pm 5	672 \pm 8
α -Humulen	1297 \pm 14	2055 \pm 19	2178 \pm 29	3215 \pm 35	2831 \pm 32	4095 \pm 43	1927 \pm 21	2123 \pm 25
Terpenalkohol								
Linalool	73,1 \pm 0,6	68,6 \pm 0,8	26,4 \pm 0,3	23,7 \pm 0,3	30,6 \pm 0,5	31,9 \pm 0,5	119 \pm 1,5	95,9 \pm 1,3
Ester								
Isobutylisobutyrat	58,9 \pm 0,5	59,5 \pm 0,6	14,5 \pm 0,2	13,0 \pm 0,2	24,5 \pm 0,3	20,5 \pm 0,2	25,1 \pm 0,4	19,8 \pm 0,2
Hexansäuremethylester	3,6 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	24,5 \pm 0,2	24,5 \pm 0,2	20,4 \pm 0,3	15,3 \pm 0,2	27,4 \pm 0,4	26,4 \pm 0,3	33,7 \pm 0,4	22,2 \pm 0,2
Octansäuremethylester	40,8 \pm 0,4	33,1 \pm 0,5	22,3 \pm 0,4	19,8 \pm 0,3	50,7 \pm 0,6	47,6 \pm 0,6	64,4 \pm 0,8	53,1 \pm 0,5
Nonansäuremethylester	34,2 \pm 0,3	31,5 \pm 0,4	20,1 \pm 0,3	16,9 \pm 0,3	33,9 \pm 0,3	29,8 \pm 0,4	30,9 \pm 0,4	23,1 \pm 0,3
Decansäuremethylester	19,7 \pm 0,2	21,7 \pm 0,1	18,6 \pm 0,2	29,5 \pm 0,4	19,0 \pm 0,2	20,5 \pm 0,2	12,8 \pm 0,2	16,2 \pm 0,2
Ketone								
2-Nonanon	5,5 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	14,1 \pm 0,1	11,7 \pm 0,2
2-Decanon	14,7 \pm 0,3	11,5 \pm 0,2	9,4 \pm 0,1	8,2 \pm 0,1	12,2 \pm 0,2	10,7 \pm 0,1	16,1 \pm 0,2	13,1 \pm 0,2
2-Undecanon	75,4 \pm 0,8	74,4 \pm 0,6	41,8 \pm 0,5	43,5 \pm 0,6	46,2 \pm 0,6	45,3 \pm 0,5	55,5 \pm 0,7	50,5 \pm 0,6
2-Dodecanon	40,7 \pm 0,5	43,6 \pm 0,4	32,5 \pm 0,4	34,5 \pm 0,4	35,2 \pm 0,3	38,9 \pm 0,4	15,4 \pm 0,2	22,3 \pm 0,3
2-Tridecanon	176 \pm 2,1	194 \pm 2,4	129 \pm 1,6	144 \pm 1,6	136 \pm 1,5	146 \pm 1,3	75,0 \pm 0,9	80,5 \pm 1,0
Damascenon	7,6 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	7,9 \pm 0,1	9,5 \pm 0,1	8,6 \pm 0,1	9,3 \pm 0,2	4,9 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	309 \pm 3	92,9 \pm 1,2	337 \pm 5	87,2 \pm 1,1	288 \pm 4	54,1 \pm 0,9	141 \pm 2	45,4 \pm 0,6

Tabelle A3: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	HHM (3)		HNU (1)		HMR (2)		HHM (4)	
	Öl: 18480 $\mu\text{g/g}$		Öl: 16830 $\mu\text{g/g}$		Öl: 21780 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14520 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	17,4 \pm 0,2	13,6 \pm 0,2	12,9 \pm 0,1	10,7 \pm 0,1	17,2 \pm 0,2	13,3 \pm 0,2	18,5 \pm 0,2	15,5 \pm 0,2
β -Pinen	27,3 \pm 0,3	23,2 \pm 0,2	28,2 \pm 0,3	25,2 \pm 0,3	35,8 \pm 0,4	32,1 \pm 0,3	27,7 \pm 0,3	23,5 \pm 0,2
Myrcen	9698 \pm 85	9265 \pm 78	9340 \pm 81	9577 \pm 84	11140 \pm 95	10526 \pm 90	7597 \pm 77	6859 \pm 69
Limonen	46,6 \pm 0,5	41,3 \pm 0,4	29,8 \pm 0,4	24,7 \pm 0,2	32,2 \pm 0,3	29,6 \pm 0,3	33,5 \pm 0,4	27,8 \pm 0,3
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	691 \pm 8	1115 \pm 14	916 \pm 12	1916 \pm 24	858 \pm 10	1452 \pm 16	659 \pm 7	1046 \pm 11
α -Humulen	2733 \pm 29	3769 \pm 35	2389 \pm 25	3720 \pm 40	3442 \pm 36	4815 \pm 57	2640 \pm 27	3705 \pm 38
Terpenalkohol								
Linalool	49,8 \pm 0,6	42,6 \pm 0,5	94,0 \pm 1,0	86,3 \pm 0,9	106 \pm 1,3	91,9 \pm 1,0	47,4 \pm 0,6	43,5 \pm 0,5
Ester								
Isobutylisobutyrat	15,5 \pm 0,2	13,4 \pm 0,2	40,2 \pm 0,5	31,8 \pm 0,3	24,6 \pm 0,3	22,8 \pm 0,2	14,2 \pm 0,2	13,5 \pm 0,2
Hexansäuremethylester	2,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	20,4 \pm 0,2	16,3 \pm 0,2	12,6 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	33,7 \pm 0,4	24,3 \pm 0,3	51,3 \pm 0,6	44,9 \pm 0,5	43,9 \pm 0,5	41,1 \pm 0,4	34,3 \pm 0,3	26,5 \pm 0,2
Octansäuremethylester	25,6 \pm 0,3	24,6 \pm 0,3	76,5 \pm 0,9	62,9 \pm 0,7	66,4 \pm 0,8	58,7 \pm 0,6	23,7 \pm 0,2	23,5 \pm 0,2
Nonansäuremethylester	17,6 \pm 0,2	14,3 \pm 0,2	42,4 \pm 0,4	41,1 \pm 0,5	41,2 \pm 0,5	34,5 \pm 0,3	19,7 \pm 0,2	16,9 \pm 0,2
Decansäuremethylester	17,7 \pm 0,2	23,6 \pm 0,3	28,6 \pm 0,3	33,6 \pm 0,3	30,6 \pm 0,4	45,2 \pm 0,4	19,7 \pm 0,2	26,4 \pm 0,3
Ketone								
2-Nonanon	9,4 \pm 0,1	8,0 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1
2-Decanon	12,3 \pm 0,2	9,5 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	11,1 \pm 0,1	9,4 \pm 0,1	10,4 \pm 0,1	9,8 \pm 0,1
2-Undecanon	56,5 \pm 0,6	58,6 \pm 0,7	57,6 \pm 0,6	58,7 \pm 0,8	69,4 \pm 0,8	59,6 \pm 0,6	45,5 \pm 0,5	46,8 \pm 0,6
2-Dodecanon	37,2 \pm 0,4	38,5 \pm 0,4	32,9 \pm 0,3	36,6 \pm 0,4	36,7 \pm 0,4	39,5 \pm 0,4	33,4 \pm 0,3	34,5 \pm 0,3
2-Tridecanon	155 \pm 1,8	199 \pm 2,2	177 \pm 1,9	195 \pm 2,1	161 \pm 1,8	169 \pm 2,0	138 \pm 1,5	181 \pm 2,2
Damascenon	7,7 \pm 0,1	9,3 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	8,3 \pm 0,1	12,3 \pm 0,1	14,5 \pm 0,2	7,3 \pm 0,1	9,3 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	525 \pm 6	213 \pm 3	260 \pm 3	87,6 \pm 1	367 \pm 4	82,1 \pm 1,1	485 \pm 5	150 \pm 2

Tabelle A4: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	HHM (5)		HHS (2)		HHM (6)		CMP (1)	
	Öl: 19635 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14850 $\mu\text{g/g}$		Öl: 23760 $\mu\text{g/g}$		Öl: 6600 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	19,9 \pm 0,2	16,9 \pm 0,2	19,3 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	25,4 \pm 0,3	21,0 \pm 0,3	12,6 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1
β -Pinen	40,7 \pm 0,4	36,4 \pm 0,3	25,9 \pm 0,2	21,5 \pm 0,3	38,3 \pm 0,4	33,5 \pm 0,4	14,2 \pm 0,2	10,6 \pm 0,1
Myrcen	10713 \pm 91	9740 \pm 88	9044 \pm 82	8725 \pm 79	15818 \pm 98	15142 \pm 95	2374 \pm 26	1332 \pm 15
Limonen	44,3 \pm 0,5	41,5 \pm 0,4	32,8 \pm 0,4	28,6 \pm 0,3	49,5 \pm 0,5	47,1 \pm 0,6	25,0 \pm 0,3	13,9 \pm 0,2
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	705 \pm 8	1172 \pm 13	560 \pm 6	942 \pm 10	828 \pm 9	1315 \pm 15	238 \pm 2	629 \pm 7
α -Humulen	2591 \pm 23	3759 \pm 36	2013 \pm 21	2683 \pm 28	2925 \pm 27	4124 \pm 43	781 \pm 8	1042 \pm 12
Terpenalkohol								
Linalool	51,6 \pm 0,6	44,9 \pm 0,5	33,5 \pm 0,4	28,5 \pm 0,4	48,2 \pm 0,5	41,0 \pm 0,4	46,5 \pm 0,5	31,4 \pm 0,4
Ester								
Isobutylisobutyrat	17,4 \pm 0,2	15,3 \pm 0,2	61,1 \pm 0,5	58,4 \pm 0,6	15,3 \pm 0,2	13,5 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	0,9 \pm 0,0
Hexansäuremethylester	2,1 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0	3,3 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	35,7 \pm 0,4	25,3 \pm 0,3	32,5 \pm 0,3	25,6 \pm 0,3	45,7 \pm 0,5	42,1 \pm 0,4	4,8 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1
Octansäuremethylester	26,6 \pm 0,3	24,8 \pm 0,3	43,5 \pm 0,5	42,1 \pm 0,4	78,1 \pm 0,7	59,3 \pm 0,6	6,1 \pm 0,2	5,5 \pm 0,1
Nonansäuremethylester	23,4 \pm 0,3	21,3 \pm 0,2	38,7 \pm 0,4	37,1 \pm 0,5	43,8 \pm 0,4	41,2 \pm 0,4	4,8 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1
Decansäuremethylester	21,6 \pm 0,2	29,4 \pm 0,4	17,2 \pm 0,2	27,8 \pm 0,3	23,8 \pm 0,2	34,2 \pm 0,4	6,7 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	9,2 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	19,7 \pm 0,2	14,5 \pm 0,1	10,4 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0
2-Decanon	12,2 \pm 0,2	9,6 \pm 0,1	27,4 \pm 0,2	21,4 \pm 0,2	14,7 \pm 0,2	12,9 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1
2-Undecanon	50,6 \pm 0,5	54,4 \pm 0,6	62,4 \pm 0,6	57,6 \pm 0,7	50,5 \pm 0,6	50,9 \pm 0,7	19,8 \pm 0,2	17,2 \pm 0,2
2-Dodecanon	40,7 \pm 0,5	40,5 \pm 0,5	31,6 \pm 0,3	32,1 \pm 0,3	42,8 \pm 0,4	45,6 \pm 0,5	11,1 \pm 0,2	12,6 \pm 0,2
2-Tridecanon	159 \pm 1,7	196 \pm 2,3	101 \pm 1,1	101 \pm 1,3	145 \pm 1,2	146 \pm 1,4	59,9 \pm 0,7	66,5 \pm 0,8
Damascenon	9,9 \pm 0,1	12,5 \pm 0,2	7,1 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1	11,2 \pm 0,2	14,2 \pm 0,2	5,7 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	464 \pm 5	167 \pm 2	215 \pm 2	49,5 \pm 0,7	309 \pm 4	117 \pm 1	299 \pm 3	175 \pm 2

Tabelle A5: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	HHM (7)		HTU (1)		HNB (1)		EHS (1)	
	Öl: 11550 $\mu\text{g/g}$		HS-Trap	Hopfenöl	HS-Trap	Hopfenöl	HS-Trap	Hopfenöl
	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	10,3 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	16,1 \pm 0,2	-----	10,8 \pm 0,2	-----	11,6 \pm 0,1	-----
β -Pinen	19,9 \pm 0,2	16,3 \pm 0,2	22,8 \pm 0,2	-----	20,6 \pm 0,3	-----	14,9 \pm 0,2	-----
Myrcen	6143 \pm 58	5784 \pm 52	3392 \pm 39	-----	4279 \pm 45	-----	7572 \pm 63	-----
Limonen	23,7 \pm 0,2	18,7 \pm 0,2	25,1 \pm 0,3	-----	25,7 \pm 0,3	-----	18,6 \pm 0,2	-----
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	541 \pm 6	990 \pm 10	422 \pm 5	-----	883 \pm 10	-----	284 \pm 4	-----
α -Humulen	2127 \pm 19	3484 \pm 31	1793 \pm 14	-----	3140 \pm 27	-----	1306 \pm 15	-----
Terpenalkohol								
Linalool	26,5 \pm 0,3	22,0 \pm 0,2	131 \pm 0,9	-----	31,5 \pm 0,3	-----	24,2 \pm 0,2	-----
Ester								
Isobutylisobutyrat	10,2 \pm 0,2	9,8 \pm 0,1	39,7 \pm 0,5	-----	37,6 \pm 0,4	-----	96,2 \pm 1,1	-----
Hexansäuremethylester	0,7 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	2,5 \pm 0,1	-----	12,7 \pm 0,1	-----	0,6 \pm 0,0	-----
Heptansäuremethylester	27,3 \pm 0,3	21,0 \pm 0,2	26,5 \pm 0,3	-----	61,9 \pm 0,7	-----	36,4 \pm 0,5	-----
Octansäuremethylester	14,3 \pm 0,2	12,8 \pm 0,2	64,0 \pm 0,5	-----	44,5 \pm 0,5	-----	35,4 \pm 0,4	-----
Nonansäuremethylester	14,5 \pm 0,2	13,7 \pm 0,2	29,4 \pm 0,3	-----	31,7 \pm 0,4	-----	36,6 \pm 0,4	-----
Decansäuremethylester	11,6 \pm 0,1	16,5 \pm 0,2	11,9 \pm 0,2	-----	5,9 \pm 0,1	-----	7,2 \pm 0,1	-----
Ketone								
2-Nonanon	6,4 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1	14,7 \pm 0,2	-----	8,4 \pm 0,1	-----	16,6 \pm 0,2	-----
2-Decanon	8,3 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	19,4 \pm 0,3	-----	14,8 \pm 0,2	-----	25,2 \pm 0,3	-----
2-Undecanon	35,7 \pm 0,4	36,8 \pm 0,5	70,6 \pm 0,8	-----	49,8 \pm 0,5	-----	48,7 \pm 0,5	-----
2-Dodecanon	26,8 \pm 0,3	31,3 \pm 0,4	24,9 \pm 0,3	-----	20,8 \pm 0,3	-----	15,6 \pm 0,2	-----
2-Tridecanon	125 \pm 1,4	160 \pm 1,9	45,3 \pm 0,5	-----	53,0 \pm 0,6	-----	49,6 \pm 0,6	-----
Damascenon	7,1 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	-----	4,8 \pm 0,1	-----	5,2 \pm 0,1	-----
Epoxid								
Caryophyllenoxid	366 \pm 4	114 \pm 2	189 \pm 2	-----	184 \pm 2	-----	96,0 \pm 0,8	-----

Tabelle A6: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Bitterhopfensorten

	HHM (8)		US-CO (1)	
	HS-Trap	Hopfenöl	HS-Trap	Hopfenöl
	Analyse	Analyse	Analyse	Analyse
Monoterpene				
α -Pinen	9,0 \pm 0,1	-----	12,4 \pm 0,1	-----
β -Pinen	22,6 \pm 0,2	-----	16,5 \pm 0,2	-----
Myrcen	5578 \pm 62	-----	5978 \pm 70	-----
Limonen	27,4 \pm 0,3	-----	22,4 \pm 0,2	-----
Sesquiterpene				
β -Caryophyllen	511 \pm 6	-----	560 \pm 7	-----
α -Humulen	1788 \pm 19	-----	1044 \pm 12	-----
Terpenalkohol				
Linalool	53,9 \pm 0,6	-----	27,8 \pm 0,3	-----
Ester				
Isobutylisobutyrat	13,7 \pm 0,1	-----	4,5 \pm 0,1	-----
Hexansäuremethylester	1,8 \pm 0,0	-----	1,8 \pm 0,0	-----
Heptansäuremethylester	27,4 \pm 0,3	-----	3,3 \pm 0,0	-----
Octansäuremethylester	21,4 \pm 0,2	-----	4,5 \pm 0,1	-----
Nonansäuremethylester	19,7 \pm 0,2	-----	4,6 \pm 0,1	-----
Decansäuremethylester	3,1 \pm 0,0	-----	6,1 \pm 0,1	-----
Ketone				
2-Nonanon	6,3 \pm 0,1	-----	0,3 \pm 0,0	-----
2-Decanon	11,6 \pm 0,2	-----	1,0 \pm 0,0	-----
2-Undecanon	38,3 \pm 0,4	-----	23,3 \pm 0,2	-----
2-Dodecanon	18,2 \pm 0,2	-----	14,3 \pm 0,2	-----
2-Tridecanon	59,3 \pm 0,7	-----	42,3 \pm 0,4	-----
Damascenon	4,5 \pm 0,1	-----	5,4 \pm 0,1	-----
Epoxid				
Caryophyllenoxid	440 \pm 5	-----	123 \pm 2	-----

A 3: Gegenüberstellung der Analysenergebnisse – Aromahopfen

Tabelle A7: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfsorten

	TTE (1)		HPE (2)		PL-LU (1)		TPE (1)	
	Öl: 6600 $\mu\text{g/g}$		Öl: 15510 $\mu\text{g/g}$		Öl: 5280 $\mu\text{g/g}$		Öl: 10395 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	7,8 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	12,3 \pm 0,2	9,7 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	12,7 \pm 0,2	8,1 \pm 0,1
β -Pinen	14,7 \pm 0,2	12,5 \pm 0,2	25,1 \pm 0,3	21,0 \pm 0,3	8,9 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	16,9 \pm 0,2	14,8 \pm 0,1
Myrcen	2783 \pm 29	2598 \pm 22	6190 \pm 53	5986 \pm 65	3085 \pm 29	2700 \pm 31	4530 \pm 41	4163 \pm 39
Limonen	15,0 \pm 0,1	11,7 \pm 0,2	24,5 \pm 0,2	19,8 \pm 0,3	10,0 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	21,2 \pm 0,2	16,0 \pm 0,2
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	142 \pm 3	295 \pm 5	1112 \pm 14	2053 \pm 21	241 \pm 2,5	318 \pm 3,4	790 \pm 9	991 \pm 11
α -Humulen	540 \pm 7	967 \pm 12	3159 \pm 29	4312 \pm 37	885 \pm 7,6	1062 \pm 11	2529 \pm 21	2961 \pm 28
Terpenalkohol								
Linalool	23,3 \pm 0,3	23,3 \pm 0,2	20,4 \pm 0,3	17,9 \pm 0,3	32,2 \pm 0,2	26,2 \pm 0,3	21,2 \pm 0,2	18,9 \pm 0,2
Ester								
Isobutylisobutyrat	1,5 \pm 0,1	1,0 \pm 0,0	23,1 \pm 0,2	21,5 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	33,7 \pm 0,4	40,3 \pm 0,5
Hexansäuremethylester	0,6 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0	2,1 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	4,5 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	9,2 \pm 0,2	9,0 \pm 0,1	18,0 \pm 0,2	11,3 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	32,5 \pm 0,3	30,6 \pm 0,3
Octansäuremethylester	5,3 \pm 0,1	4,5 \pm 0,2	23,6 \pm 0,3	21,3 \pm 0,3	5,8 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	14,6 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2
Nonansäuremethylester	4,1 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1	14,3 \pm 0,1	14,4 \pm 0,2	8,0 \pm 0,2	5,8 \pm 0,1	12,3 \pm 0,1	12,2 \pm 0,2
Decansäuremethylester	2,7 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	7,9 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1
2-Decanon	12,6 \pm 0,2	11,4 \pm 0,2	12,9 \pm 0,1	10,4 \pm 0,1	12,5 \pm 0,2	10,4 \pm 0,2	12,3 \pm 0,1	11,2 \pm 0,1
2-Undecanon	35,8 \pm 0,4	31,3 \pm 0,3	42,4 \pm 0,5	44,8 \pm 0,6	31,3 \pm 0,3	28,0 \pm 0,4	36,6 \pm 0,4	34,7 \pm 0,4
2-Dodecanon	14,9 \pm 0,1	15,9 \pm 0,1	28,2 \pm 0,2	31,9 \pm 0,3	10,2 \pm 0,1	9,0 \pm 0,1	20,4 \pm 0,2	21,8 \pm 0,3
2-Tridecanon	71,7 \pm 0,6	75,2 \pm 0,8	94,3 \pm 1,0	115 \pm 1,5	32,5 \pm 0,4	39,7 \pm 0,5	71,0 \pm 0,8	77,3 \pm 0,9
Damascenon	2,8 \pm 0,0	3,5 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	10,2 \pm 0,2	2,6 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	172 \pm 3	166 \pm 2	262 \pm 3	91,3 \pm 1,1	121 \pm 2	97,7 \pm 1,2	218 \pm 2	69,6 \pm 0,8

Tabelle A8: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfsorten

	HPE (3)		SSE (1)		FR-ST (1)		EPE (2)	
	Öl: 9900 $\mu\text{g/g}$		Öl: 9323 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14850 $\mu\text{g/g}$		Öl: 7590 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	9,7 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	10,0 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	12,9 \pm 0,2	9,4 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1
β -Pinen	19,8 \pm 0,2	16,5 \pm 0,2	18,1 \pm 0,2	11,6 \pm 0,2	14,6 \pm 0,2	9,7 \pm 0,1	14,6 \pm 0,2	11,4 \pm 0,1
Myrcen	3345 \pm 28	2986 \pm 32	4788 \pm 51	4553 \pm 49	6948 \pm 72	6895 \pm 74	1850 \pm 20	1654 \pm 18
Limonen	22,3 \pm 0,2	17,0 \pm 0,2	24,6 \pm 0,3	17,5 \pm 0,2	20,9 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2	12,1 \pm 0,2	8,9 \pm 0,1
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	629 \pm 7	985 \pm 10	141 \pm 2	274 \pm 3	289 \pm 3	724 \pm 8	568 \pm 6	884 \pm 9
α -Humulen	2252 \pm 24	3162 \pm 33	762 \pm 8	1052 \pm 12	856 \pm 9	1749 \pm 19	2102 \pm 19	3256 \pm 30
Terpenalkohol								
Linalool	27,4 \pm 0,3	23,4 \pm 0,2	79,1 \pm 0,7	67,5 \pm 0,6	87,8 \pm 0,9	62,1 \pm 0,8	13,0 \pm 0,1	9,6 \pm 0,1
Ester								
Isobutylisobutyrat	28,1 \pm 0,3	26,5 \pm 0,3	11,6 \pm 0,2	9,7 \pm 0,1	10,1 \pm 0,1	8,7 \pm 0,2	27,6 \pm 0,3	24,6 \pm 0,4
Hexansäuremethylester	0,8 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	2,9 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	0,8 \pm 0,0	1,2 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	3,5 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1
Octansäuremethylester	5,5 \pm 0,1	4,7 \pm 0,2	3,1 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
Nonansäuremethylester	5,8 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1
Decansäuremethylester	1,1 \pm 0,0	2,5 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	6,7 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	9,1 \pm 0,1	8,0 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1
2-Decanon	10,8 \pm 0,1	9,4 \pm 0,1	12,5 \pm 0,2	10,7 \pm 0,1	11,4 \pm 0,1	9,4 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1
2-Undecanon	46,8 \pm 0,5	45,5 \pm 0,5	55,3 \pm 0,5	51,6 \pm 0,6	39,7 \pm 0,4	32,2 \pm 0,4	37,8 \pm 0,3	35,2 \pm 0,4
2-Dodecanon	20,6 \pm 0,2	26,5 \pm 0,3	19,7 \pm 0,2	20,2 \pm 0,2	11,7 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	13,1 \pm 0,2	16,2 \pm 0,2
2-Tridecanon	93,6 \pm 1,1	103 \pm 1,3	97,0 \pm 1,2	101 \pm 1,4	38,4 \pm 0,4	41,3 \pm 0,5	61,7 \pm 0,7	96,5 \pm 1,1
Damascenon	6,6 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	15,2 \pm 0,2	15,7 \pm 0,2	5,2 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	384 \pm 4	131 \pm 1	152 \pm 2	73,7 \pm 0,8	389 \pm 4	411 \pm 4	373 \pm 4	96,3 \pm 1,1

Tabelle A9: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	HHA (2)		EPE (1)		TTE (2)		HPE (5)	
	Öl: 6930 $\mu\text{g/g}$		Öl: 13365 $\mu\text{g/g}$		Öl: 4290 $\mu\text{g/g}$		Öl: 4290 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	6,7 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	13,1 \pm 0,2	8,8 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1
β -Pinen	12,7 \pm 0,1	10,7 \pm 0,1	20,3 \pm 0,2	16,0 \pm 0,2	11,4 \pm 0,2	9,2 \pm 0,1	10,6 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1
Myrcen	3065 \pm 32	2406 \pm 26	5564 \pm 51	4916 \pm 53	1832 \pm 20	1315 \pm 15	1969 \pm 22	1660 \pm 19
Limonen	10,2 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	25,6 \pm 0,3	17,4 \pm 0,2	10,9 \pm 0,1	8,0 \pm 0,1	14,3 \pm 0,2	9,9 \pm 0,1
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	513 \pm 6	842 \pm 10	1101 \pm 12	1132 \pm 10	188 \pm 2	243 \pm 3	241 \pm 3	335 \pm 5
α -Humulen	2101 \pm 23	2710 \pm 25	3340 \pm 35	3560 \pm 32	675 \pm 7	689 \pm 8	957 \pm 11	1253 \pm 14
Terpenalkohol								
Linalool	30,5 \pm 0,3	26,6 \pm 0,3	21,9 \pm 0,2	20,8 \pm 0,2	31,9 \pm 0,4	26,2 \pm 0,3	38,7 \pm 0,4	32,7 \pm 0,4
Ester								
Isobutylisobutyrat	6,4 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	71,4 \pm 0,8	80,6 \pm 0,9	2,7 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	16,7 \pm 0,2	12,6 \pm 0,2
Hexansäuremethylester	4,7 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	0,5 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0	0,9 \pm 0,0	1,2 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	17,6 \pm 0,2	13,5 \pm 0,2	40,2 \pm 0,4	36,5 \pm 0,4	7,8 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	9,1 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1
Octansäuremethylester	19,6 \pm 0,3	13,5 \pm 0,2	20,4 \pm 0,2	20,5 \pm 0,2	4,6 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1
Nonansäuremethylester	11,4 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	15,3 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	5,7 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1
Decansäuremethylester	4,9 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	11,3 \pm 0,2	10,3 \pm 0,1	7,0 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1	9,4 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1
2-Decanon	12,5 \pm 0,3	10,6 \pm 0,1	14,1 \pm 0,2	12,4 \pm 0,2	15,3 \pm 0,2	13,4 \pm 0,2	4,3 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1
2-Undecanon	47,5 \pm 0,5	43,2 \pm 0,4	44,1 \pm 0,4	43,5 \pm 0,5	40,4 \pm 0,4	33,7 \pm 0,3	30,2 \pm 0,3	26,0 \pm 0,3
2-Dodecanon	15,5 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2	20,1 \pm 0,2	22,6 \pm 0,3	17,5 \pm 0,1	17,6 \pm 0,2	13,2 \pm 0,2	16,5 \pm 0,2
2-Tridecanon	61,9 \pm 0,7	67,1 \pm 0,8	92,3 \pm 1,0	96,6 \pm 1,1	67,9 \pm 0,7	71,4 \pm 0,8	40,4 \pm 0,4	76,6 \pm 0,8
Damascenon	4,0 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	5,1 \pm 0,1
Epoxyd								
Caryophyllenoxid	203 \pm 2	61,4 \pm 0,7	208 \pm 3	59,4 \pm 0,7	301 \pm 3	78,9 \pm 0,9	294 \pm 3	123 \pm 1

Tabelle A10: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	SSE (2)		HPE (4)		SI-BO (1)		TTE (3)	
	Öl: 8003 $\mu\text{g/g}$		Öl: 9818 $\mu\text{g/g}$		Öl: 14190 $\mu\text{g/g}$		Öl: 4950 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	8,2 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	10,9 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	14,7 \pm 0,2	11,9 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1
β -Pinen	18,6 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	11,4 \pm 0,1	25,8 \pm 0,3	20,3 \pm 0,3	9,0 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1
Myrcen	3462 \pm 29	3382 \pm 34	3052 \pm 32	2654 \pm 30	6793 \pm 61	6694 \pm 69	2961 \pm 31	2544 \pm 28
Limonen	17,3 \pm 0,2	13,6 \pm 0,2	19,5 \pm 0,2	14,3 \pm 0,2	41,1 \pm 0,5	36,5 \pm 0,4	11,4 \pm 0,2	7,9 \pm 0,1
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	239 \pm 3	323 \pm 4	613 \pm 7	953 \pm 11	362 \pm 4	514 \pm 7	109 \pm 2	273 \pm 3
α -Humulen	700 \pm 8	934 \pm 11	2166 \pm 23	3025 \pm 29	1084 \pm 12	1465 \pm 16	622 \pm 8	853 \pm 10
Terpenalkohol								
Linalool	87,6 \pm 0,7	77,5 \pm 0,7	25,2 \pm 0,3	20,7 \pm 0,2	182 \pm 2	161 \pm 3	21,8 \pm 0,2	17,9 \pm 0,2
Ester								
Isobutylisobutyrat	13,8 \pm 0,2	11,4 \pm 0,1	21,1 \pm 0,2	18,5 \pm 0,3	22,5 \pm 0,3	20,4 \pm 0,2	1,6 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
Hexansäuremethylester	1,2 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0	0,9 \pm 0,0	0,7 \pm 0,0	3,9 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,0
Heptansäuremethylester	6,4 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	33,4 \pm 0,4	22,3 \pm 0,3	15,3 \pm 0,2	10,2 \pm 0,1
Octansäuremethylester	9,3 \pm 0,1	8,3 \pm 0,2	9,5 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	56,5 \pm 0,6	42,2 \pm 0,5	11,1 \pm 0,1	9,3 \pm 0,1
Nonansäuremethylester	5,6 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	30,6 \pm 0,3	28,3 \pm 0,3	18,3 \pm 0,2	13,4 \pm 0,2
Decansäuremethylester	1,6 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	13,5 \pm 0,1	21,4 \pm 0,2	5,1 \pm 0,1	10,5 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	7,3 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	20,2 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	7,8 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1
2-Decanon	10,6 \pm 0,1	8,9 \pm 0,1	10,8 \pm 0,1	9,4 \pm 0,1	21,4 \pm 0,3	14,5 \pm 0,1	14,7 \pm 0,1	12,4 \pm 0,1
2-Undecanon	49,6 \pm 0,5	48,5 \pm 0,6	45,6 \pm 0,4	46,2 \pm 0,5	92,9 \pm 1,1	105 \pm 1,3	35,4 \pm 0,4	29,8 \pm 0,3
2-Dodecanon	20,4 \pm 0,2	19,5 \pm 0,2	25,5 \pm 0,3	29,5 \pm 0,3	31,3 \pm 0,4	34,6 \pm 0,4	13,6 \pm 0,2	14,4 \pm 0,2
2-Tridecanon	96,7 \pm 1,0	126 \pm 1,8	102 \pm 1,2	130 \pm 1,6	152 \pm 1,6	162 \pm 1,9	52,4 \pm 0,6	72,2 \pm 0,9
Damascenon	2,7 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1
Epoxyd								
Caryophyllenoxid	209 \pm 3	46,5 \pm 0,6	418 \pm 4	145 \pm 2	412 \pm 5	174 \pm 2	242 \pm 3	79,5 \pm 0,9

Tabelle A11: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	THT		SSE (3)		HHT (1)		SI-AU (1)	
	Öl: 6105 $\mu\text{g/g}$		Öl: 8085 $\mu\text{g/g}$		Öl: 5115 $\mu\text{g/g}$		Öl: 8498 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	5,7 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	9,5 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	9,9 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1
β -Pinen	10,3 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	20,3 \pm 0,2	16,5 \pm 0,2	14,0 \pm 0,2	10,3 \pm 0,2	18,4 \pm 0,2	12,0 \pm 0,2
Myrcen	3147 \pm 33	2330 \pm 28	3879 \pm 36	3605 \pm 41	1884 \pm 21	1623 \pm 19	4662 \pm 42	4158 \pm 39
Limonen	9,6 \pm 0,2	6,9 \pm 0,1	19,5 \pm 0,2	15,9 \pm 0,2	11,2 \pm 0,2	8,5 \pm 0,1	22,9 \pm 0,3	18,5 \pm 0,2
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	292 \pm 3	393 \pm 5	250 \pm 3	432 \pm 4	351 \pm 4	484 \pm 5	208 \pm 2	513 \pm 4
α -Humulen	1375 \pm 14	1403 \pm 16	760 \pm 6	922 \pm 10	1251 \pm 10	1715 \pm 16	765 \pm 6	1635 \pm 13
Terpenalkohol								
Linalool	42,0 \pm 0,5	32,9 \pm 0,4	70,8 \pm 0,8	65,8 \pm 0,7	54,3 \pm 0,6	47,6 \pm 0,5	86,2 \pm 0,9	62,6 \pm 0,8
Ester								
Isobutylisobutyrat	16,9 \pm 0,3	13,4 \pm 0,2	8,2 \pm 0,2	6,3 \pm 0,1	11,8 \pm 0,2	9,3 \pm 0,1	15,9 \pm 0,2	10,8 \pm 0,1
Hexansäuremethylester	8,3 \pm 0,1	7,0 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1	0,5 \pm 0,0	3,5 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	43,0 \pm 0,5	34,7 \pm 0,4	4,3 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	5,1 \pm 0,1	8,5 \pm 0,1	7,6 \pm 0,1
Octansäuremethylester	30,1 \pm 0,4	16,6 \pm 0,2	4,8 \pm 0,2	5,6 \pm 0,1	11,5 \pm 0,2	8,7 \pm 0,2	19,3 \pm 0,3	10,8 \pm 0,2
Nonansäuremethylester	23,9 \pm 0,2	17,5 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	11,7 \pm 0,2	7,6 \pm 0,1	13,2 \pm 0,2	7,5 \pm 0,1
Decansäuremethylester	4,8 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1	5,1 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	2,9 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	8,3 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	26,4 \pm 0,3	21,5 \pm 0,2
2-Decanon	7,4 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	11,1 \pm 0,2	8,6 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	29,6 \pm 0,3	25,2 \pm 0,3
2-Undecanon	29,2 \pm 0,3	23,3 \pm 0,2	51,5 \pm 0,5	47,6 \pm 0,5	41,4 \pm 0,4	35,4 \pm 0,4	78,9 \pm 0,9	69,9 \pm 0,8
2-Dodecanon	14,4 \pm 0,1	13,2 \pm 0,2	18,6 \pm 0,2	18,6 \pm 0,3	10,4 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	29,2 \pm 0,3	24,3 \pm 0,3
2-Tridecanon	42,6 \pm 0,5	47,2 \pm 0,6	92,2 \pm 1,0	94,2 \pm 1,2	62,5 \pm 0,7	93,3 \pm 1,0	102 \pm 1,1	118 \pm 1,5
Damascenon	2,9 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	161 \pm 2	43,5 \pm 0,5	144 \pm 2	29,5 \pm 0,4	445 \pm 5	217 \pm 3	249 \pm 3	89,4 \pm 1,0

Tabelle A12: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	SI-GO (1)		HPE (6)		SSP (1)		EHT (1)	
	Öl: 12128 $\mu\text{g/g}$		Öl: 7590 $\mu\text{g/g}$		Öl: 6765 $\mu\text{g/g}$		Öl: 3878 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	8,7 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1
β -Pinen	21,3 \pm 0,2	14,3 \pm 0,1	11,2 \pm 0,1	9,1 \pm 0,2	14,6 \pm 0,2	10,4 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1
Myrcen	4944 \pm 38	4575 \pm 43	1261 \pm 14	1023 \pm 12	3099 \pm 34	2892 \pm 31	2402 \pm 22	1464 \pm 16
Limonen	23,7 \pm 0,3	15,9 \pm 0,2	9,1 \pm 0,2	6,7 \pm 0,1	12,8 \pm 0,2	9,4 \pm 0,2	6,6 \pm 0,1	4,7 \pm 0,2
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	482 \pm 5	823 \pm 9	694 \pm 8	1002 \pm 11	179 \pm 2	344 \pm 4	148 \pm 2	229 \pm 3
α -Humulen	1240 \pm 13	1885 \pm 20	2356 \pm 24	3256 \pm 34	850 \pm 7	939 \pm 8	677 \pm 8	759 \pm 9
Terpenalkohol								
Linalool	90,2 \pm 1,0	71,7 \pm 0,8	25,5 \pm 0,3	23,4 \pm 0,4	47,7 \pm 0,5	36,2 \pm 0,3	21,7 \pm 0,2	18,6 \pm 0,2
Ester								
Isobutylisobutyrat	6,7 \pm 0,2	3,8 \pm 0,1	22,4 \pm 0,2	20,7 \pm 0,3	1,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	12,7 \pm 0,1	11,2 \pm 0,2
Hexansäuremethylester	2,5 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	0,9 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	4,4 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	3,5 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1	20,2 \pm 0,3	15,7 \pm 0,3	13,9 \pm 0,2	10,1 \pm 0,1
Octansäuremethylester	8,8 \pm 0,1	6,6 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1	11,6 \pm 0,1	10,6 \pm 0,1	18,4 \pm 0,3	12,9 \pm 0,2
Nonansäuremethylester	8,7 \pm 0,2	5,4 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	4,1 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	11,1 \pm 0,2	12,5 \pm 0,2	7,9 \pm 0,1
Decansäuremethylester	2,1 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	9,9 \pm 0,2	8,8 \pm 0,1	6,1 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
2-Decanon	11,8 \pm 0,1	10,5 \pm 0,3	11,1 \pm 0,1	10,2 \pm 0,1	14,3 \pm 0,2	11,4 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1
2-Undecanon	42,5 \pm 0,4	30,0 \pm 0,4	46,9 \pm 0,5	44,4 \pm 0,4	39,3 \pm 0,4	36,4 \pm 0,4	27,7 \pm 0,3	21,5 \pm 0,2
2-Dodecanon	15,5 \pm 0,2	15,7 \pm 0,2	20,3 \pm 0,2	26,6 \pm 0,3	15,3 \pm 0,2	17,2 \pm 0,2	9,7 \pm 0,2	9,6 \pm 0,1
2-Tridecanon	49,6 \pm 0,5	54,2 \pm 0,6	97,0 \pm 1,1	137 \pm 1,6	77,2 \pm 0,9	83,9 \pm 0,9	44,8 \pm 0,5	48,2 \pm 0,6
Damascenon	5,1 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	5,9 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	261 \pm 3	245 \pm 3	194 \pm 2	34,3 \pm 0,4	212 \pm 2	66,1 \pm 0,7	106 \pm 1	22,7 \pm 0,2

Tabelle A13: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	HPE (7)		THA (1)		HOL (1)		SI-BO (2)	
	Öl: 9075 $\mu\text{g/g}$		Öl: 5610 $\mu\text{g/g}$		Öl: 8910 $\mu\text{g/g}$		Öl: 11880 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	10,7 \pm 0,2	7,3 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	9,8 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	15,6 \pm 0,2	12,6 \pm 0,1
β -Pinen	16,2 \pm 0,2	12,5 \pm 0,1	11,5 \pm 0,1	7,6 \pm 0,2	19,0 \pm 0,2	13,3 \pm 0,2	22,3 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2
Myrcen	3118 \pm 29	2963 \pm 32	2245 \pm 21	1726 \pm 20	5480 \pm 48	4786 \pm 51	5587 \pm 52	5119 \pm 54
Limonen	26,0 \pm 0,3	20,0 \pm 0,2	10,0 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	22,4 \pm 0,2	14,7 \pm 0,2	36,1 \pm 0,4	31,2 \pm 0,4
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	719 \pm 9	1299 \pm 17	424 \pm 5	567 \pm 7	303 \pm 2	667 \pm 8	376 \pm 4	489 \pm 5
α -Humulen	2474 \pm 26	3456 \pm 33	1713 \pm 19	1870 \pm 21	1057 \pm 9	1692 \pm 18	1149 \pm 10	1513 \pm 13
Terpenalkohol								
Linalool	20,9 \pm 0,3	16,5 \pm 0,2	47,6 \pm 0,4	35,8 \pm 0,3	85,3 \pm 0,7	59,3 \pm 0,6	170 \pm 1,3	150 \pm 1,4
Ester								
Isobutylisobutyrat	17,9 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	12,5 \pm 0,2	5,3 \pm 0,1	11,4 \pm 0,1	8,2 \pm 0,1	20,5 \pm 0,2	21,6 \pm 0,3
Hexansäuremethylester	0,6 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	4,9 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	3,0 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	27,7 \pm 0,3	21,4 \pm 0,3	38,6 \pm 0,4	34,6 \pm 0,5	35,2 \pm 0,4	31,4 \pm 0,4
Octansäuremethylester	6,0 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1	22,4 \pm 0,2	12,6 \pm 0,3	33,6 \pm 0,3	27,8 \pm 0,3	40,6 \pm 0,5	39,8 \pm 0,5
Nonansäuremethylester	3,5 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	17,1 \pm 0,2	10,5 \pm 0,2	34,9 \pm 0,4	24,9 \pm 0,3	25,4 \pm 0,3	22,7 \pm 0,2
Decansäuremethylester	1,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1	11,9 \pm 0,1	15,3 \pm 0,2	11,2 \pm 0,1	13,1 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	6,2 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	10,4 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	21,4 \pm 0,2	19,6 \pm 0,2
2-Decanon	10,3 \pm 0,1	9,2 \pm 0,1	16,0 \pm 0,2	11,7 \pm 0,1	12,9 \pm 0,2	11,1 \pm 0,1	26,6 \pm 0,3	23,2 \pm 0,3
2-Undecanon	47,5 \pm 0,4	50,7 \pm 0,6	52,4 \pm 0,6	36,5 \pm 0,4	46,4 \pm 0,5	40,9 \pm 0,6	103 \pm 1,2	112 \pm 1,5
2-Dodecanon	20,5 \pm 0,2	24,7 \pm 0,3	17,7 \pm 0,2	15,2 \pm 0,2	18,7 \pm 0,3	21,7 \pm 0,2	30,4 \pm 0,2	35,3 \pm 0,4
2-Tridecanon	96,6 \pm 1,1	134 \pm 1,5	56,7 \pm 0,5	62,8 \pm 0,8	83,6 \pm 0,9	87,5 \pm 1,1	160 \pm 1,7	196 \pm 2,2
Damascenon	6,7 \pm 0,1	8,2 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1	3,4 \pm 0,2	3,2 \pm 0,1	4,0 \pm 0,2	4,5 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	452 \pm 5	205 \pm 2	421 \pm 4	135 \pm 2	256 \pm 3	74,3 \pm 0,9	377 \pm 4	127 \pm 1

Tabelle A14: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	HSR (2)		HSE (2)		SK-SA (1)		FR-HT (1)	
	Öl: 9240 $\mu\text{g/g}$		Öl: 8993 $\mu\text{g/g}$		Öl: 3960 $\mu\text{g/g}$		Öl: 3960 $\mu\text{g/g}$	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	9,1 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	8,5 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1
β -Pinen	16,7 \pm 0,2	13,8 \pm 0,1	14,8 \pm 0,2	10,5 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	8,5 \pm 0,2	5,6 \pm 0,1
Myrcen	4543 \pm 37	4602 \pm 48	4606 \pm 43	4328 \pm 46	2037 \pm 19	1576 \pm 17	2887 \pm 25	1545 \pm 16
Limonen	19,3 \pm 0,2	16,4 \pm 0,2	22,7 \pm 0,2	13,8 \pm 0,1	9,1 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	8,9 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	457 \pm 5	871 \pm 9	319 \pm 4	532 \pm 6	111 \pm 2	219 \pm 2	206 \pm 2	318 \pm 4
α -Humulen	1381 \pm 12	1617 \pm 18	647 \pm 7	682 \pm 8	601 \pm 5	664 \pm 7	897 \pm 9	1144 \pm 12
Terpenalkohol								
Linalool	62,1 \pm 0,7	46,0 \pm 0,5	67,0 \pm 0,7	58,4 \pm 0,6	13,7 \pm 0,2	10,9 \pm 0,2	40,4 \pm 0,5	34,1 \pm 0,4
Ester								
Isobutylisobutyrat	6,4 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	0,3 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	14,8 \pm 0,1	8,6 \pm 0,2
Hexansäuremethylester	9,5 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	6,9 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	0,8 \pm 0,0	1,6 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
Heptansäuremethylester	42,7 \pm 0,3	35,4 \pm 0,3	25,5 \pm 0,3	21,2 \pm 0,4	10,3 \pm 0,2	9,1 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1
Octansäuremethylester	47,4 \pm 0,4	39,3 \pm 0,4	15,7 \pm 0,2	14,2 \pm 0,2	6,9 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	3,2 \pm 0,1
Nonansäuremethylester	38,7 \pm 0,4	31,8 \pm 0,3	12,1 \pm 0,2	9,4 \pm 0,1	12,9 \pm 0,2	10,3 \pm 0,2	7,2 \pm 0,2	3,5 \pm 0,1
Decansäuremethylester	17,0 \pm 0,2	20,0 \pm 0,2	3,1 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1
Ketone								
2-Nonanon	21,3 \pm 0,2	19,1 \pm 0,2	7,3 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1
2-Decanon	29,6 \pm 0,3	26,1 \pm 0,3	11,4 \pm 0,1	10,2 \pm 0,1	11,7 \pm 0,1	10,5 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1
2-Undecanon	109 \pm 1,2	97,2 \pm 0,8	44,9 \pm 0,3	44,2 \pm 0,4	31,6 \pm 0,2	27,3 \pm 0,3	28,8 \pm 0,3	21,8 \pm 0,2
2-Dodecanon	35,4 \pm 0,4	38,6 \pm 0,3	19,5 \pm 0,2	21,8 \pm 0,2	11,5 \pm 0,1	12,4 \pm 0,2	10,9 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1
2-Tridecanon	131 \pm 1,1	147 \pm 1,3	95,3 \pm 0,8	106 \pm 1,2	48,2 \pm 0,5	53,6 \pm 0,6	23,1 \pm 0,2	27,1 \pm 0,3
Damascenon	4,0 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1
Epoxid								
Caryophyllenoxid	191 \pm 3	127 \pm 2	97,6 \pm 1	29,5 \pm 0,4	157 \pm 2	41,7 \pm 0,5	110 \pm 1	57,4 \pm 0,7

Tabelle A15: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	HHT (2)		CZ-SA (1)		HSD (1)		PI-LU (2)	
	Öl: 4290 $\mu\text{g/g}$		Öl: 6518 $\mu\text{g/g}$					
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	4,7 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1	10,0 \pm 0,1	-----	7,9 \pm 0,1	-----
β -Pinen	10,3 \pm 0,2	6,5 \pm 0,1	15,8 \pm 0,2	10,2 \pm 0,2	12,4 \pm 0,2	-----	11,2 \pm 0,2	-----
Myrcen	1261 \pm 14	1023 \pm 12	3976 \pm 41	3143 \pm 34	7347 \pm 66	-----	6564 \pm 57	-----
Limonen	7,8 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	19,2 \pm 0,2	11,6 \pm 0,1	16,1 \pm 0,2	-----	15,9 \pm 0,2	-----
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	382 \pm 4	551 \pm 6	137 \pm 2	316 \pm 3	335 \pm 4	-----	126 \pm 2	-----
α -Humulen	1304 \pm 11	1714 \pm 19	672 \pm 8	995 \pm 11	1641 \pm 18	-----	728 \pm 9	-----
Terpenalkohol								
Linalool	73,4 \pm 0,8	65,5 \pm 0,7	27,0 \pm 0,3	22,1 \pm 0,3	41,9 \pm 0,5	-----	15,9 \pm 0,2	-----
Ester								
Isobutylisobutyrat	11,8 \pm 0,2	10,3 \pm 0,2	0,2 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	3,5 \pm 0,1	-----	1,1 \pm 0,1	-----
Hexansäuremethylester	1,0 \pm 0,1	0,6 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	3,9 \pm 0,1	-----	1,4 \pm 0,1	-----
Heptansäuremethylester	6,2 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	21,6 \pm 0,2	-----	10,2 \pm 0,1	-----
Octansäuremethylester	10,0 \pm 0,1	9,2 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	35,1 \pm 0,4	-----	10,5 \pm 0,2	-----
Nonansäuremethylester	11,6 \pm 0,2	7,7 \pm 0,1	13,1 \pm 0,2	6,8 \pm 0,2	15,4 \pm 0,2	-----	13,2 \pm 0,2	-----
Decansäuremethylester	2,9 \pm 0,1	6,2 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1	-----	4,6 \pm 0,1	-----
Ketone								
2-Nonanon	4,9 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1	9,9 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	-----	5,7 \pm 0,1	-----
2-Decanon	7,4 \pm 0,1	6,7 \pm 0,1	17,8 \pm 0,2	14,5 \pm 0,2	8,2 \pm 0,1	-----	10,9 \pm 0,1	-----
2-Undecanon	43,2 \pm 0,3	40,3 \pm 0,5	41,4 \pm 0,5	32,4 \pm 0,4	29,5 \pm 0,3	-----	34,1 \pm 0,4	-----
2-Dodecanon	10,8 \pm 0,1	16,3 \pm 0,2	15,9 \pm 0,2	14,4 \pm 0,3	15,3 \pm 0,2	-----	10,7 \pm 0,2	-----
2-Tridecanon	60,6 \pm 0,7	81,3 \pm 1,0	51,2 \pm 0,6	58,6 \pm 0,7	58,5 \pm 0,6	-----	39,9 \pm 0,4	-----
Damascenon	3,2 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1	-----	3,1 \pm 0,1	-----
Epoxid								
Caryophyllenoxid	282 \pm 3	92,5 \pm 1,0	161 \pm 2	53,4 \pm 0,6	281 \pm 3	-----	176 \pm 2	-----

Tabelle A16: Vergleich der Konzentrationen aus der HS-Tap- und der Hopfenölanalyse (EBC) ($\mu\text{g/g}$ luftgetrockneten Hopfen) für die analysierten Aromahopfensorten

	TTE (4)		HHT (3)		CZ-SA (2)		TTE (5)	
	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse	HS-Trap Analyse	Hopfenöl Analyse
Monoterpene								
α -Pinen	7,2 \pm 0,1	-----	5,7 \pm 0,1	-----	8,1 \pm 0,1	-----	7,8 \pm 0,1	-----
β -Pinen	12,3 \pm 0,2	-----	8,2 \pm 0,1	-----	9,6 \pm 0,1	-----	16,5 \pm 0,2	-----
Myrcen	1210 \pm 14	-----	1579 \pm 17	-----	7043 \pm 64	-----	3850 \pm 41	-----
Limonen	9,8 \pm 0,1	-----	8,5 \pm 0,1	-----	14,6 \pm 0,2	-----	20,5 \pm 0,3	-----
Sesquiterpene								
β -Caryophyllen	213 \pm 3	-----	333 \pm 4	-----	193 \pm 2	-----	228 \pm 3	-----
α -Humulen	809 \pm 9	-----	1255 \pm 11	-----	574 \pm 6	-----	628 \pm 8	-----
Terpenalkohol								
Linalool	32,6 \pm 0,3	-----	53,2 \pm 0,4	-----	15,5 \pm 0,2	-----	19,3 \pm 0,2	-----
Ester								
Isobutylisobutyrat	2,7 \pm 0,1	-----	9,3 \pm 0,2	-----	0,3 \pm 0,0	-----	0,3 \pm 0,0	-----
Hexansäuremethylester	0,9 \pm 0,0	-----	1,0 \pm 0,1	-----	1,5 \pm 0,1	-----	1,3 \pm 0,1	-----
Heptansäuremethylester	15,5 \pm 0,2	-----	5,8 \pm 0,1	-----	12,4 \pm 0,2	-----	19,1 \pm 0,2	-----
Octansäuremethylester	4,5 \pm 0,1	-----	10,8 \pm 0,1	-----	8,1 \pm 0,1	-----	11,7 \pm 0,2	-----
Nonansäuremethylester	6,3 \pm 0,1	-----	11,5 \pm 0,2	-----	13,4 \pm 0,2	-----	23,5 \pm 0,3	-----
Decansäuremethylester	2,1 \pm 0,1	-----	3,3 \pm 0,1	-----	3,9 \pm 0,1	-----	3,4 \pm 0,1	-----
Ketone								
2-Nonanon	8,4 \pm 0,1	-----	4,2 \pm 0,1	-----	5,9 \pm 0,1	-----	6,8 \pm 0,1	-----
2-Decanon	13,9 \pm 0,1	-----	5,7 \pm 0,1	-----	11,2 \pm 0,2	-----	11,5 \pm 0,1	-----
2-Undecanon	36,4 \pm 0,4	-----	41,5 \pm 0,5	-----	33,6 \pm 0,4	-----	25,2 \pm 0,3	-----
2-Dodecanon	15,4 \pm 0,2	-----	10,3 \pm 0,1	-----	11,2 \pm 0,2	-----	16,6 \pm 0,2	-----
2-Tridecanon	41,2 \pm 0,5	-----	31,7 \pm 0,3	-----	60,3 \pm 0,7	-----	51,3 \pm 0,6	-----
Damascenon	6,1 \pm 0,1	-----	3,1 \pm 0,1	-----	3,0 \pm 0,1	-----	4,2 \pm 0,1	-----
Epoxid								
Caryophyllenoxid	226 \pm 3	-----	347 \pm 4	-----	167 \pm 2	-----	145 \pm 2	-----

A 4: Re-Destillationsversuch von Hopfenöl

Tabelle A17: Re-Destillationsversuch mit der Hopfensorte „Hallertauer Magnum“, 2008 (Veränderung der Peakfläche: (- Abnahme / + Zunahme)

	Relative Peakfläche 1. Destillation bzgl. 0,490 ml Hopfenölmenge	Relative Peakfläche 2. Destillation bzgl. 0,350 ml Hopfenölmenge	Relative Peakfläche 2. Destillation <u>korrigiert</u> bzgl. 0,490 ml Hopfenölmenge	<u>Veränderung</u> der relative Peakfläche (%)
Monoterpene				
α-Pinen	0,2268	0,1017	0,1424	- 37,2
β-Pinen	0,5769	0,3651	0,5111	- 11,4
Myrcen	9,4321	5,3763	7,5268	- 20,2
Limonen	0,9782	0,6463	0,9048	- 7,5
Sesquiterpene				
β-Caryophyllen	1,9562	1,4993	2,0990	+ 7,3
α-Humulon	4,6490	3,7823	5,2952	+ 13,9
Terpenalkohol				
Linalool	0,2834	0,1909	0,2673	- 5,7
Ester				
Isobutylisobutyrat	0,1247	0,0625	0,0875	- 29,8
Heptansäuremethylester	0,4542	0,2832	0,3965	- 12,7
Octansäuremethylester	0,6593	0,4318	0,6046	- 8,3
Nonansäuremethylester	0,2168	0,1454	0,2036	- 6,1
Decansäuremethylester	0,2453	0,1670	0,2338	- 4,7
Ketone				
2-Nonanon	0,1206	0,0803	0,1124	- 6,8
2-Decanon	0,0957	0,0657	0,0920	- 3,9
2-Undecanon	0,9742	0,6673	0,9343	- 4,1
2-Dodecanon	0,0246	0,0186	0,0260	+ 5,6
2-Tridecanon	0,0185	0,0140	0,0196	+ 5,8
Damascenon	0,7122	0,5403	0,7564	+ 6,2
Epoxide				
Caryophyllenoxid	0,3665	0,2120	0,2969	- 19,0

A 5: Hopfenölaromadiagramme

A 5.1: Hopfenölaromadiagramme der Monoterpene

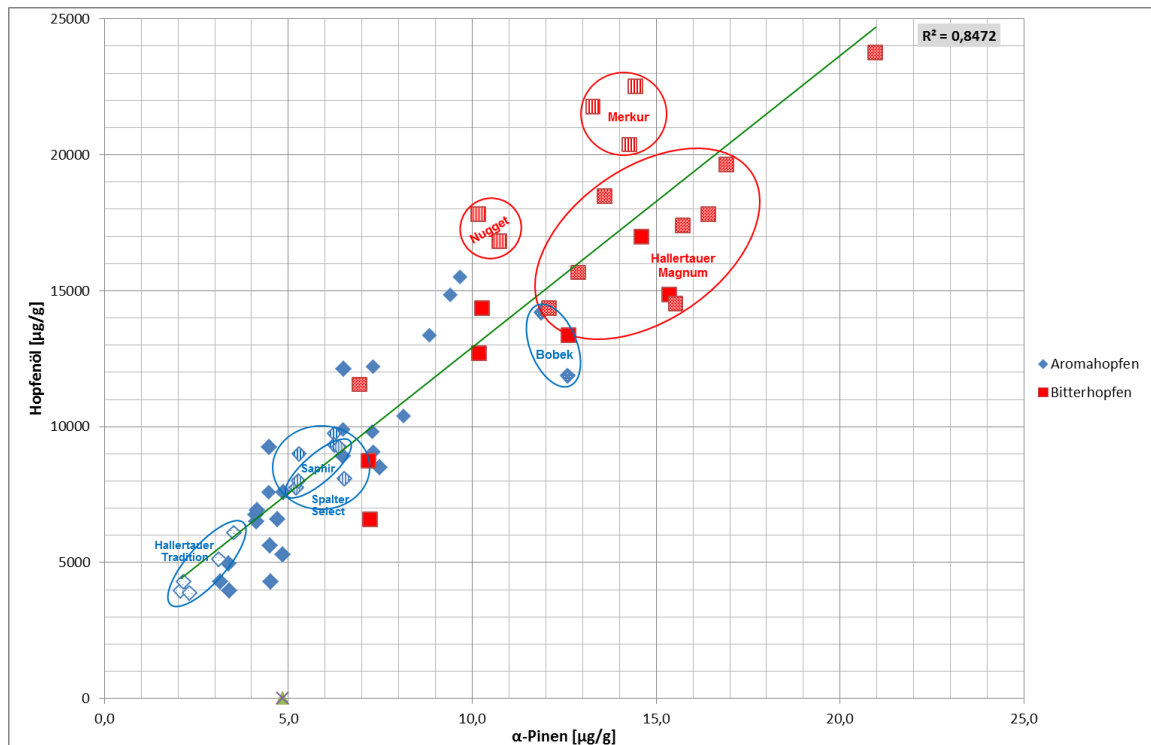


Abbildung A46: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und α-Pinen

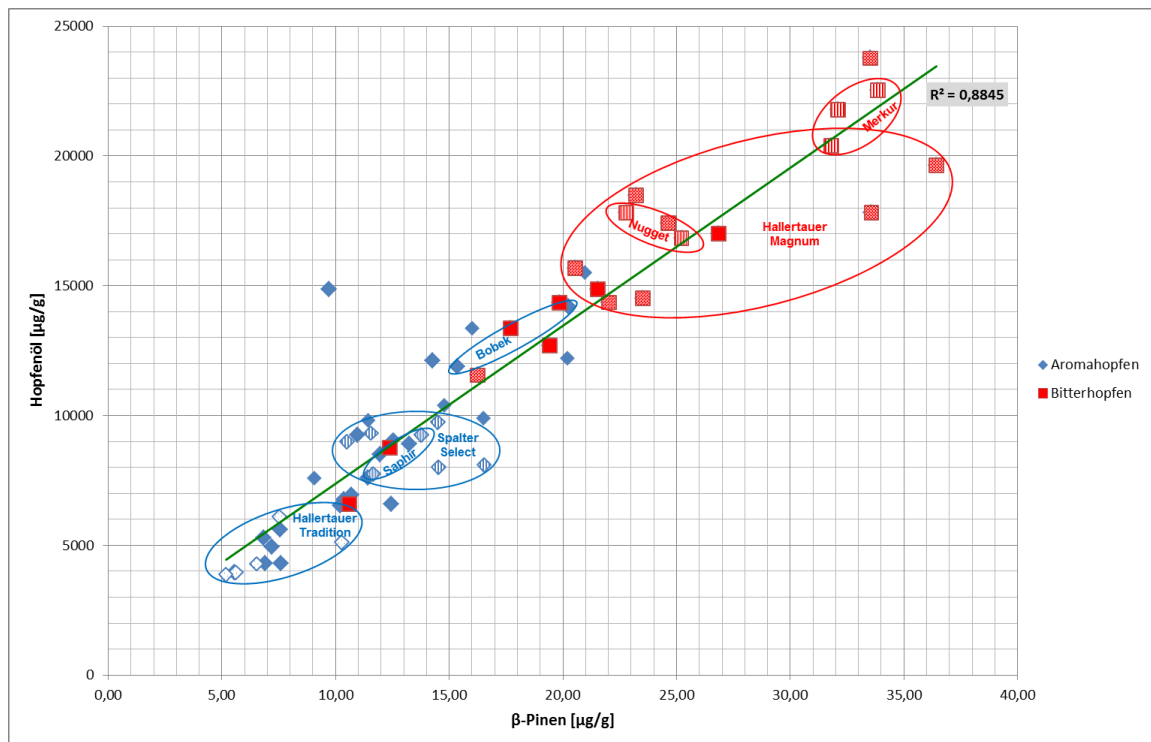


Abbildung A47: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und β-Pinen

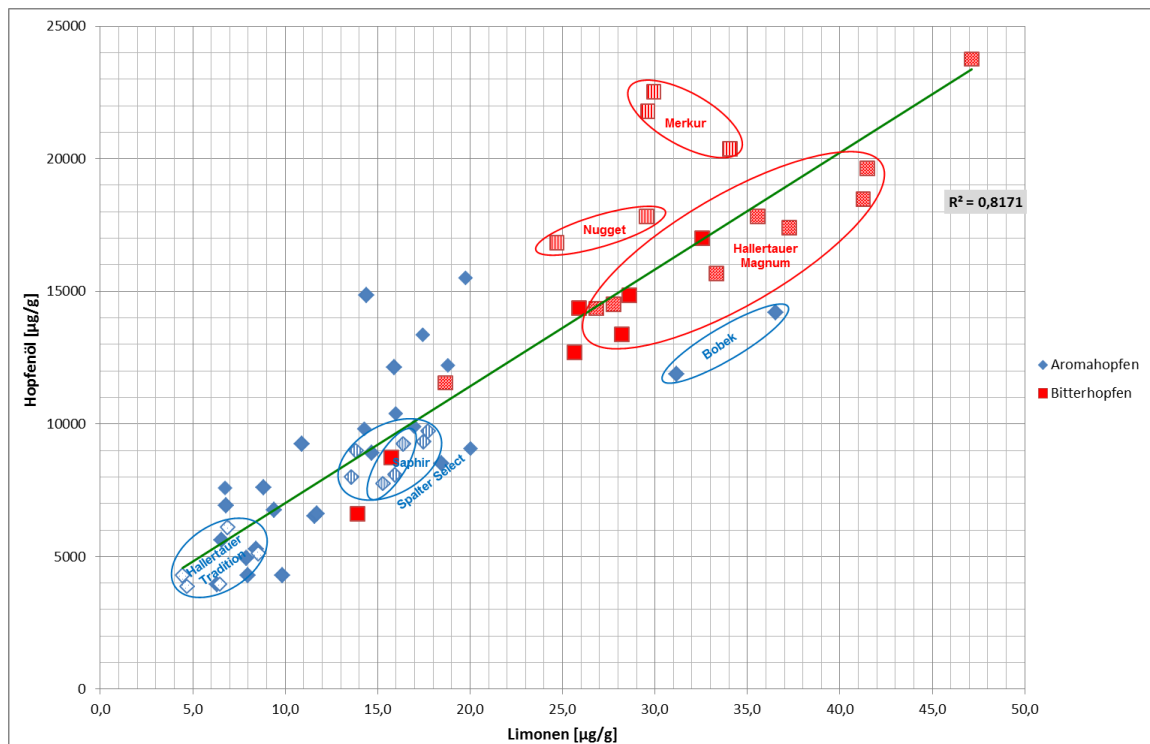


Abbildung A48: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Limonen

A 5.2: Hopfenölaromadiagramme der Sesquiterpene

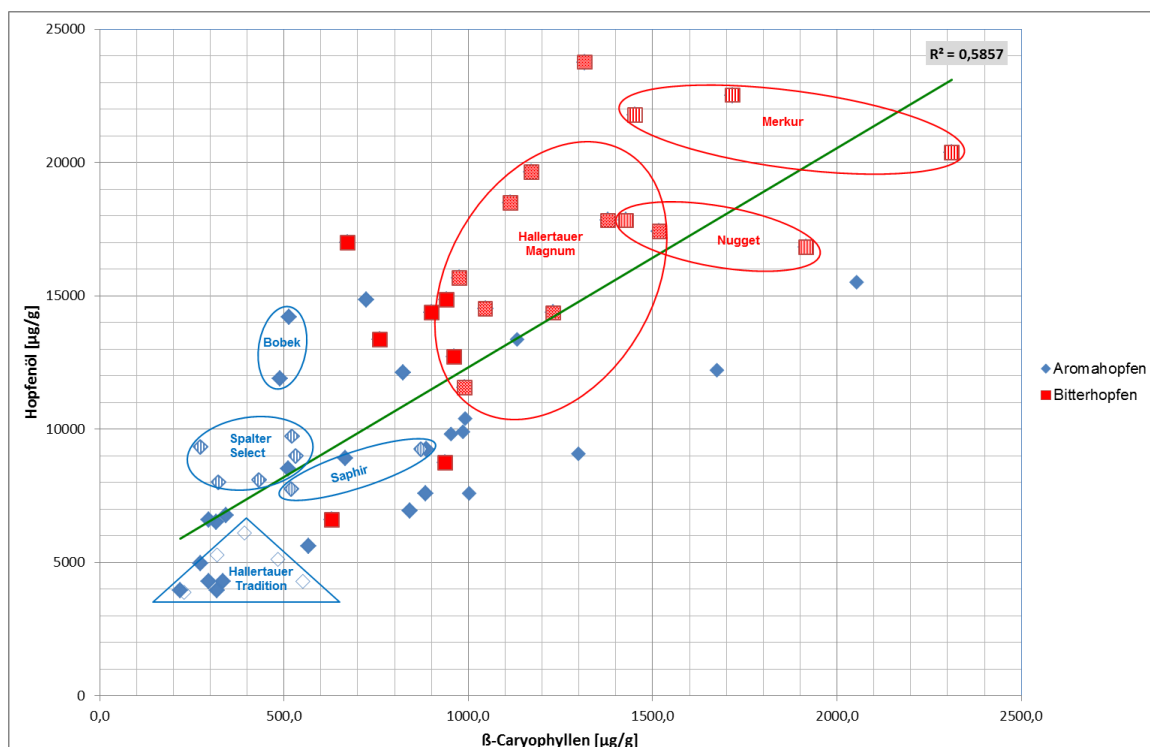


Abbildung A49: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und β-Caryophyllen

A 5.3: Hopfenölaromadiagramme der Ester

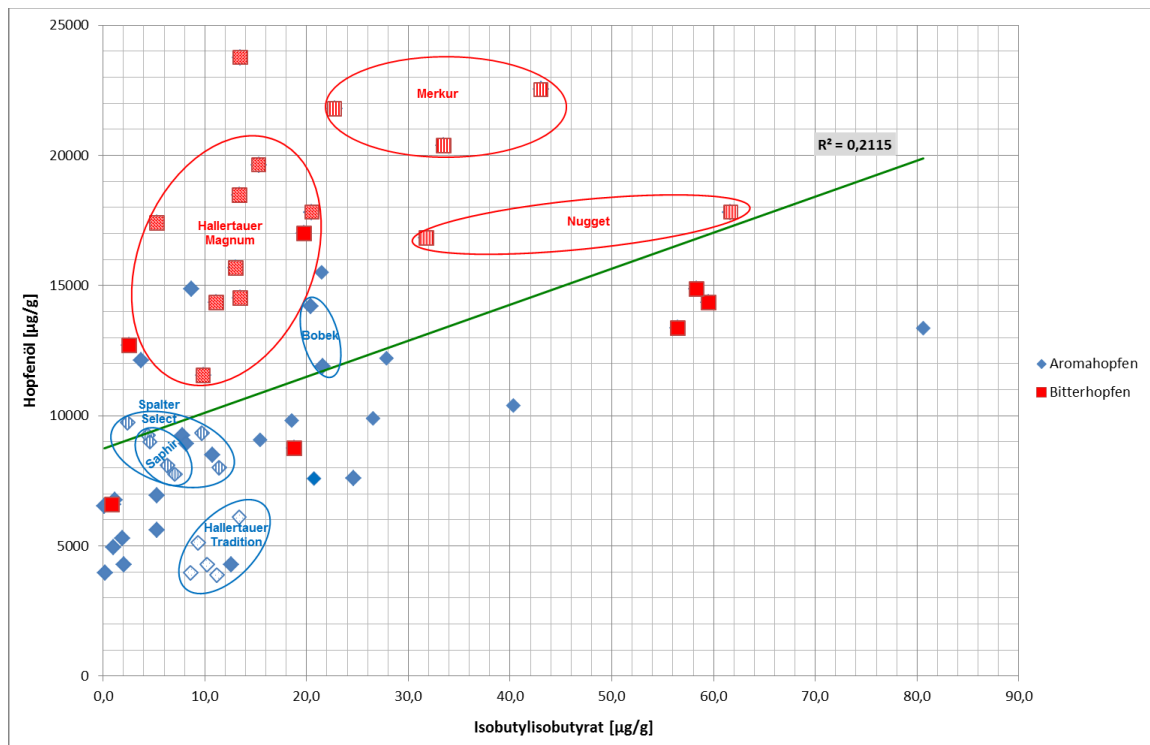


Abbildung A50: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Isobutylisobutyrat

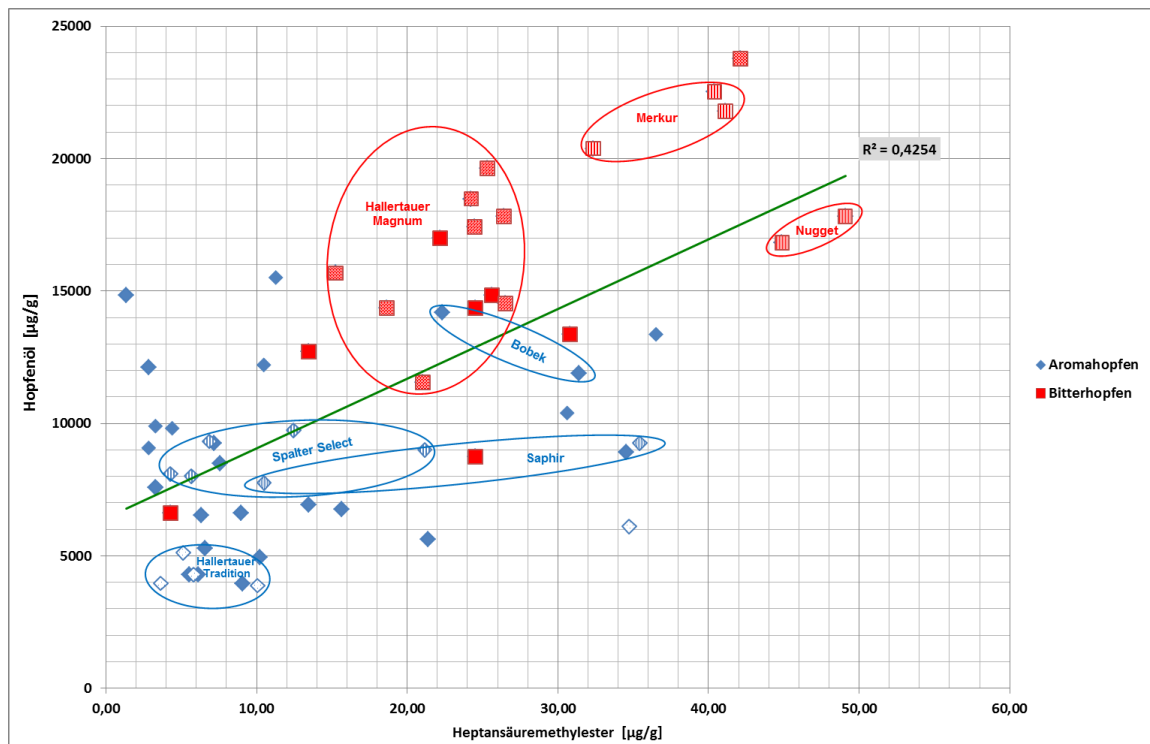


Abbildung A51: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Heptansäuremethylester

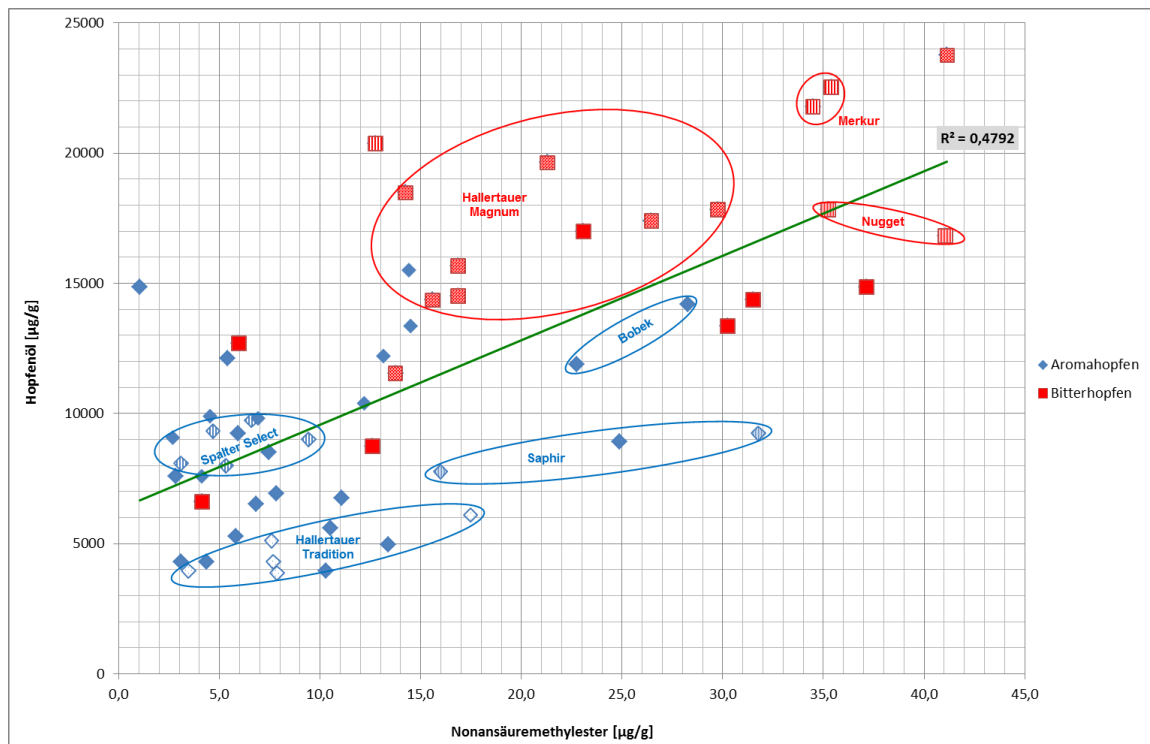


Abbildung A52: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Nonansäuremethylester

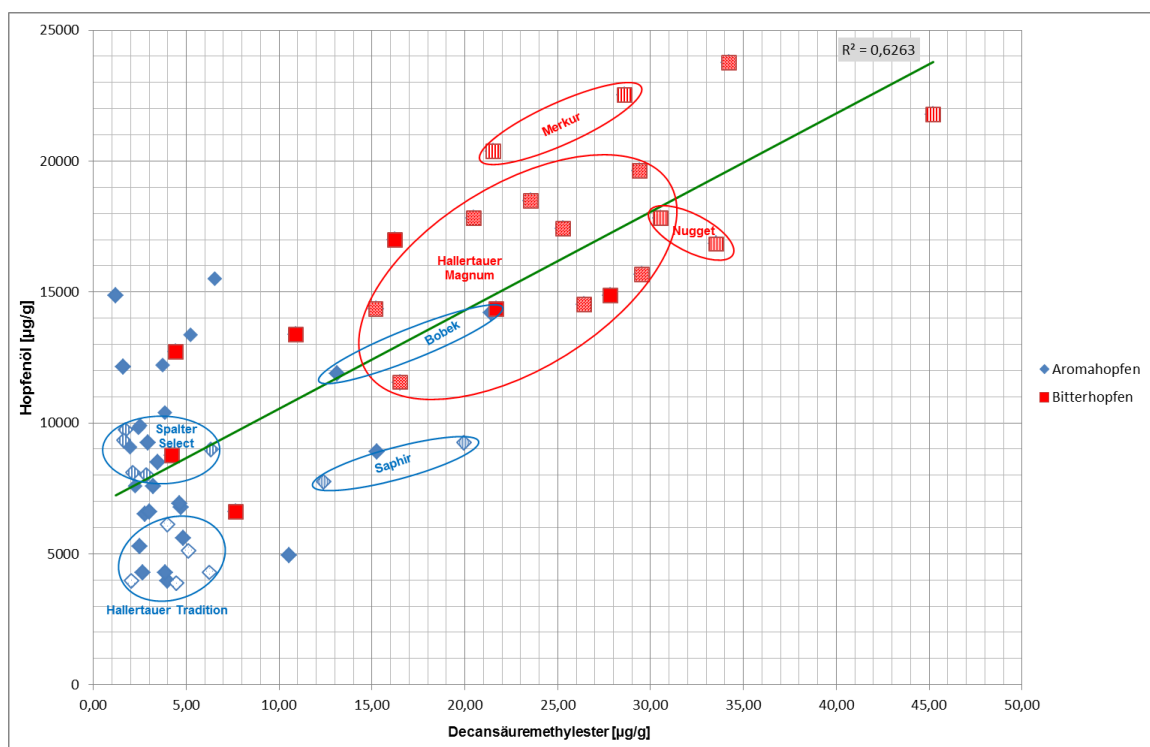


Abbildung A53: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Decansäuremethylester

A 5.4: Hopfenölaromadiagramme der Ketone

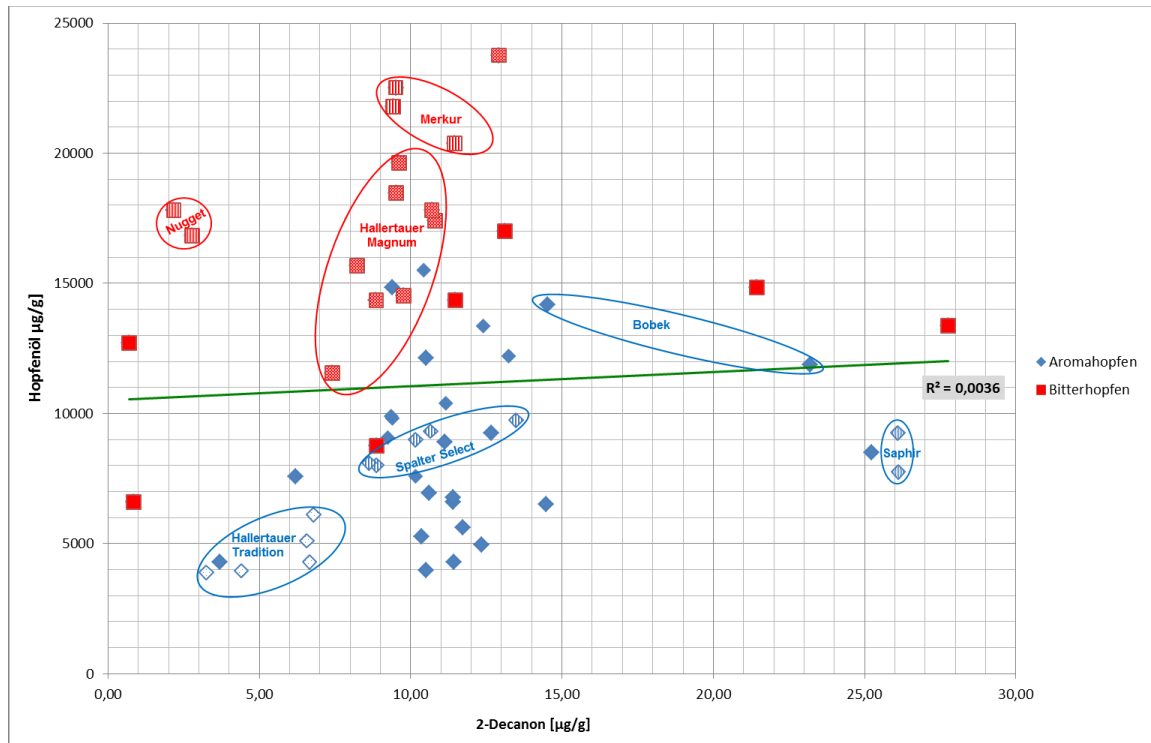


Abbildung A54: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Decanon

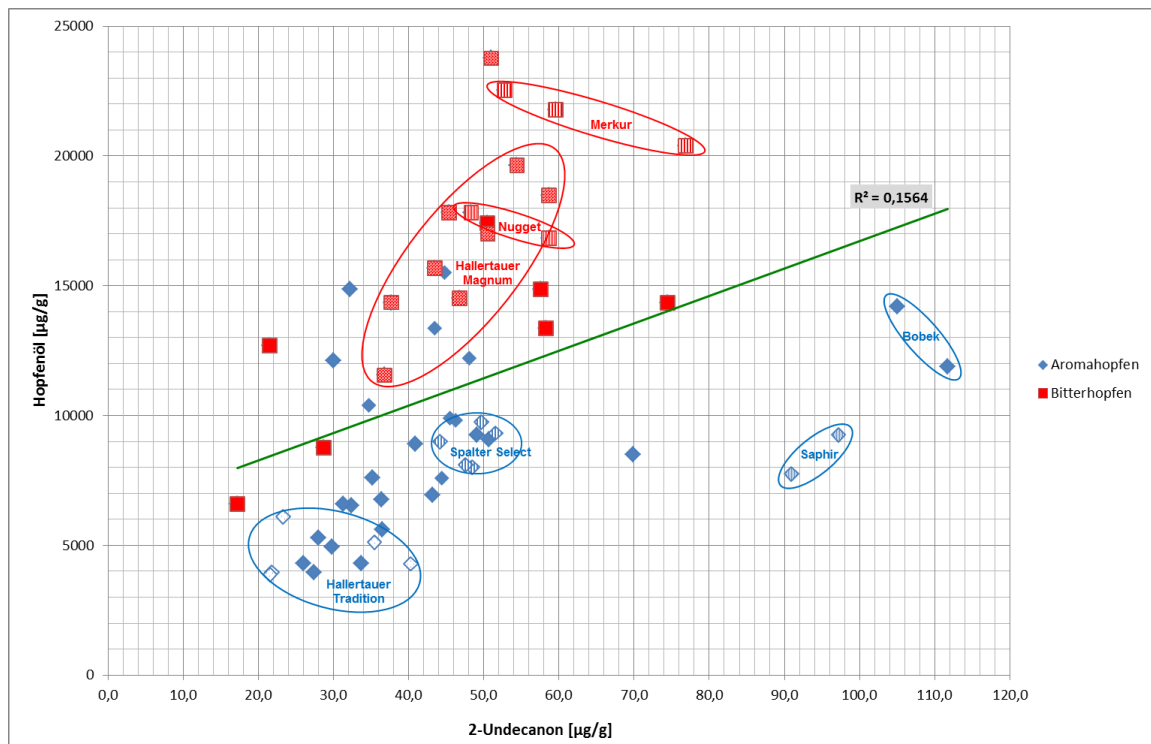


Abbildung A55: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und 2-Undecanon

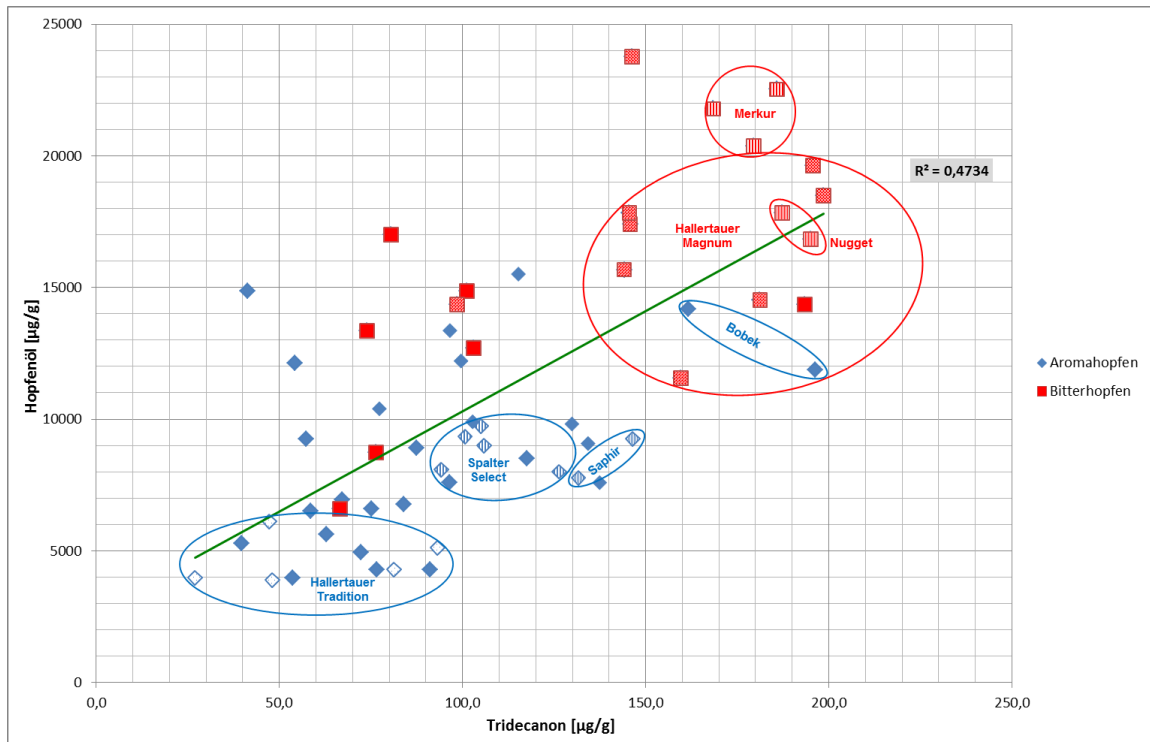


Abbildung A56: Hopfenölaromadiagramm zur graphischen Darstellung der Korrelation von Hopfenöl und Tridecanon

A 6: Konzentrationsverteilungs-Diagramm ausgewählter Aromastoffe im Bier

A 6.1: Konzentrationsverteilungs-Diagramm ausgewählter Alkohole

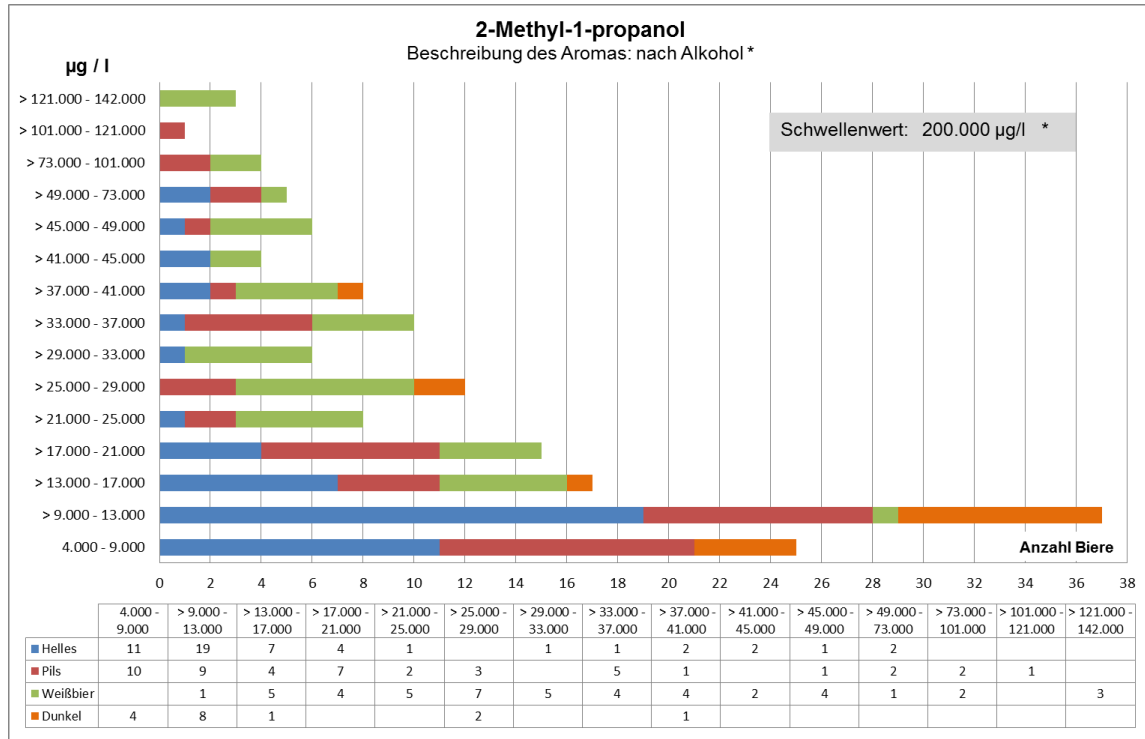


Abbildung A57: 2-Methyl-propanol-1 Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

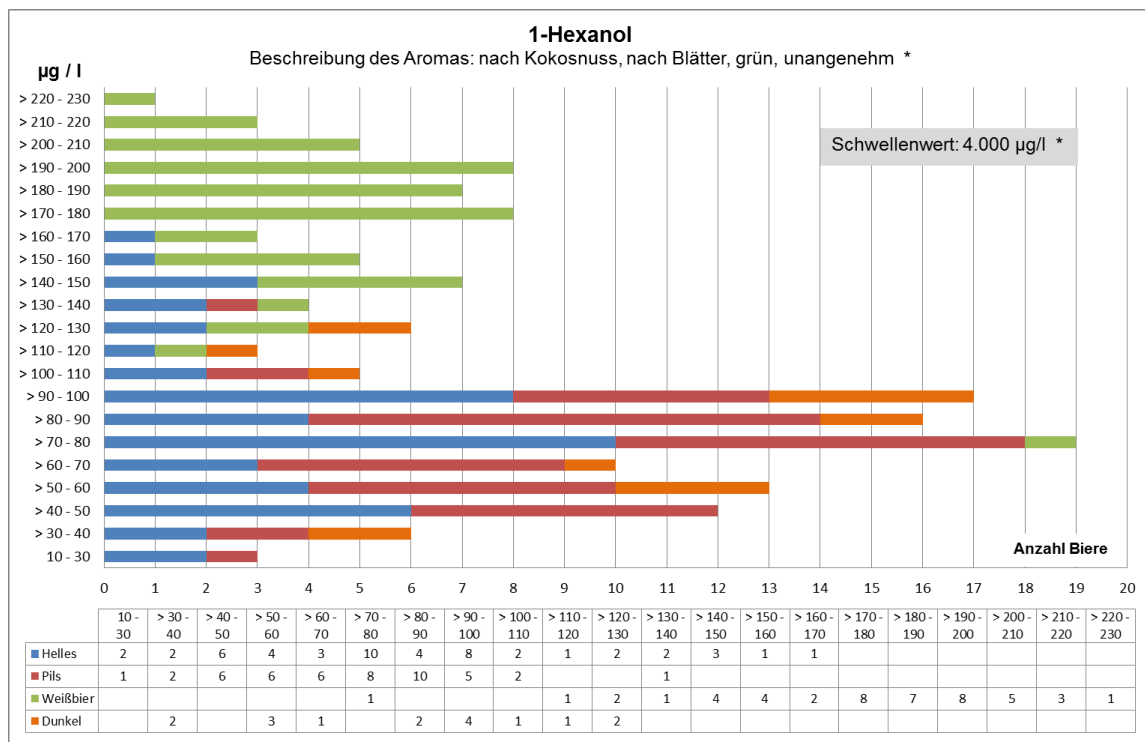


Abbildung A58: 1-Hexanol Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

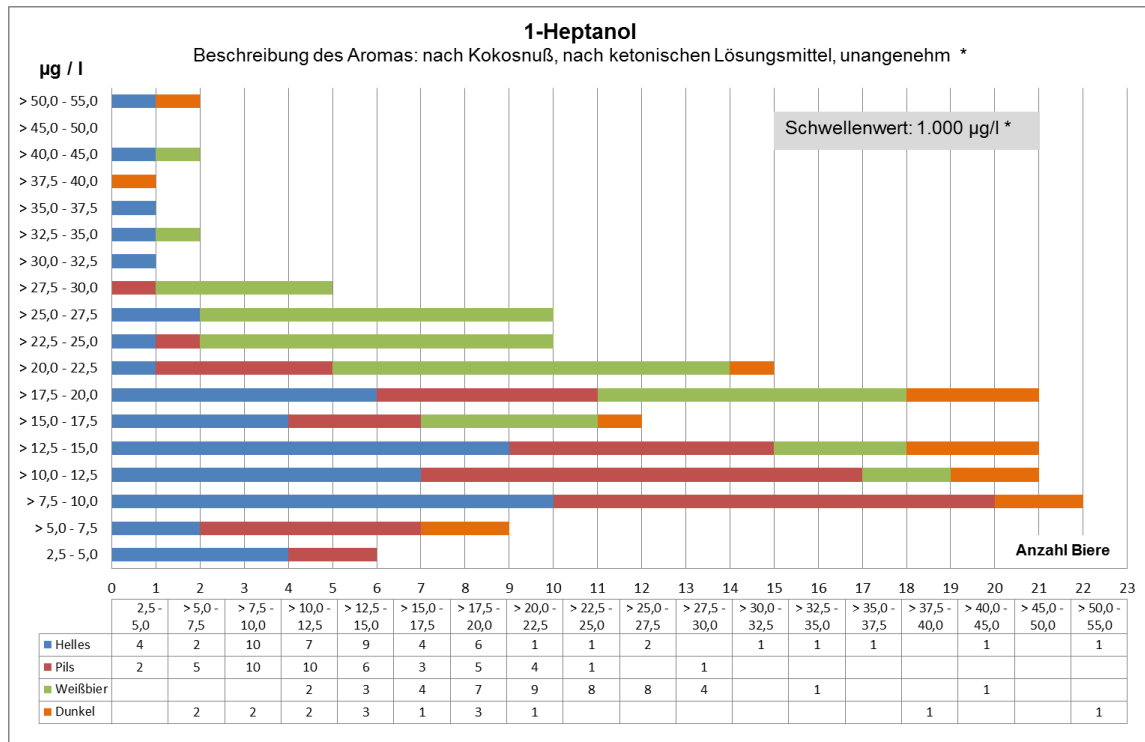


Abbildung A59: 1-Heptanol Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

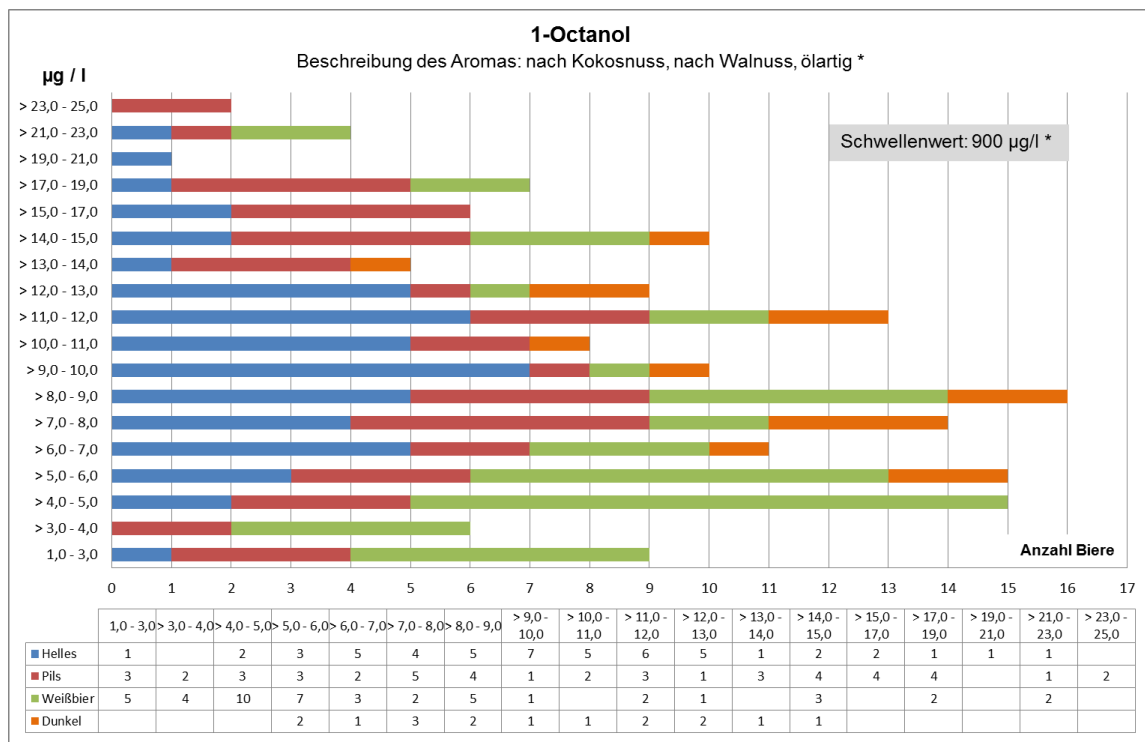


Abbildung A60: 1-Octanol Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

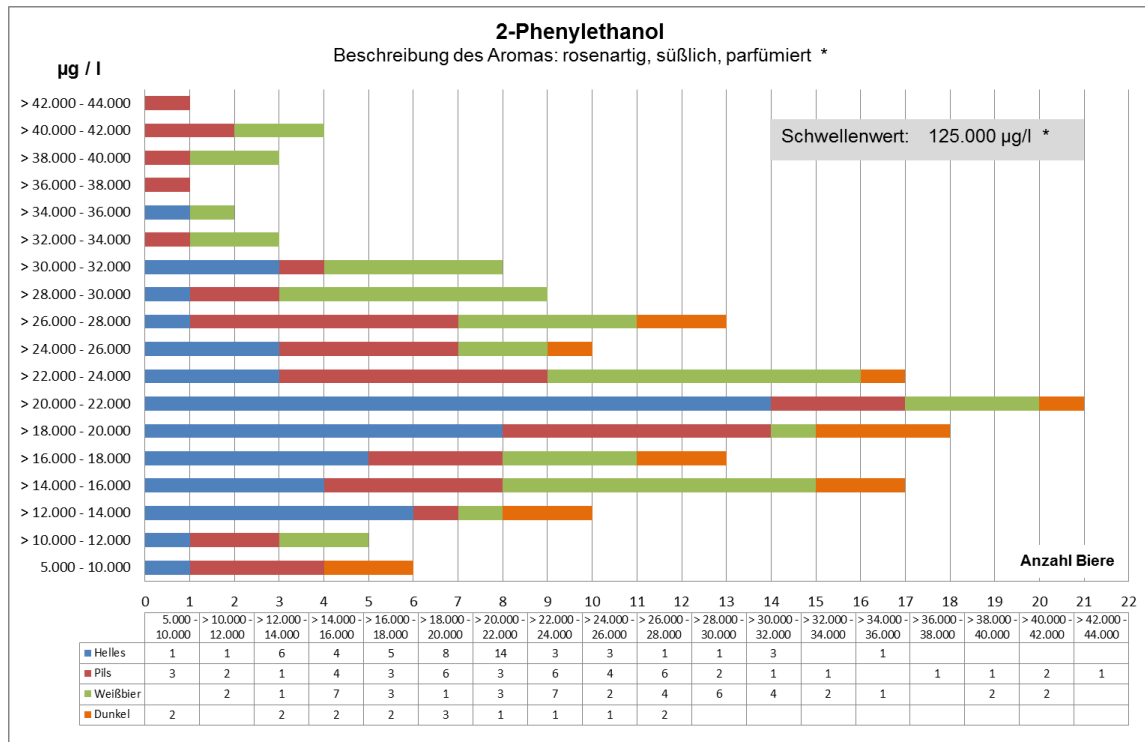


Abbildung A61: 2-Phenylethanol Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

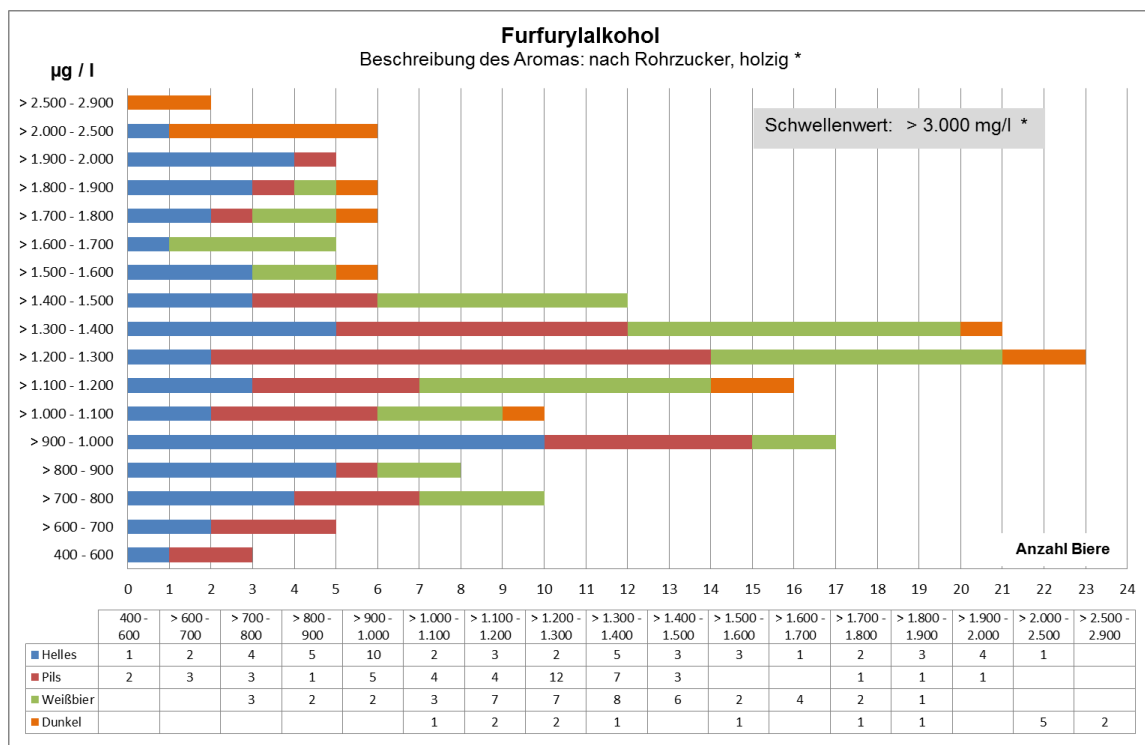


Abbildung A62: Furfurylalkohol Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

A 6.2: Konzentrationsverteilungs-Diagramm ausgewählter Ester

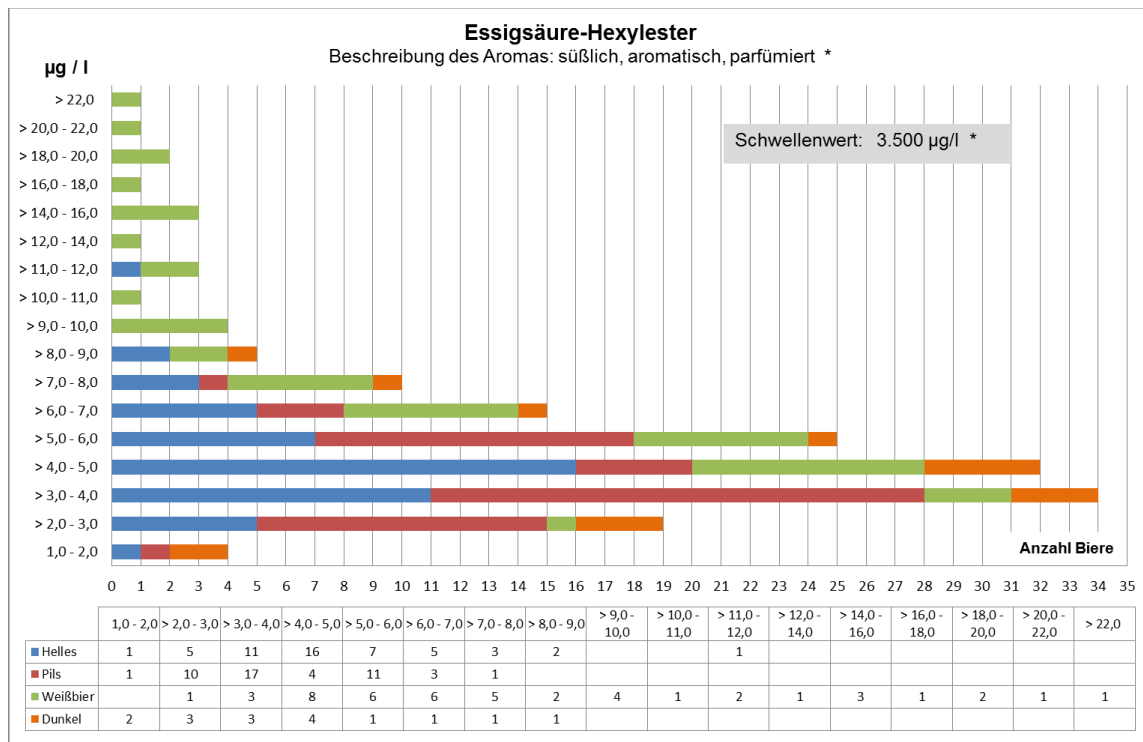


Abbildung A63: Essigsäure-Hexylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

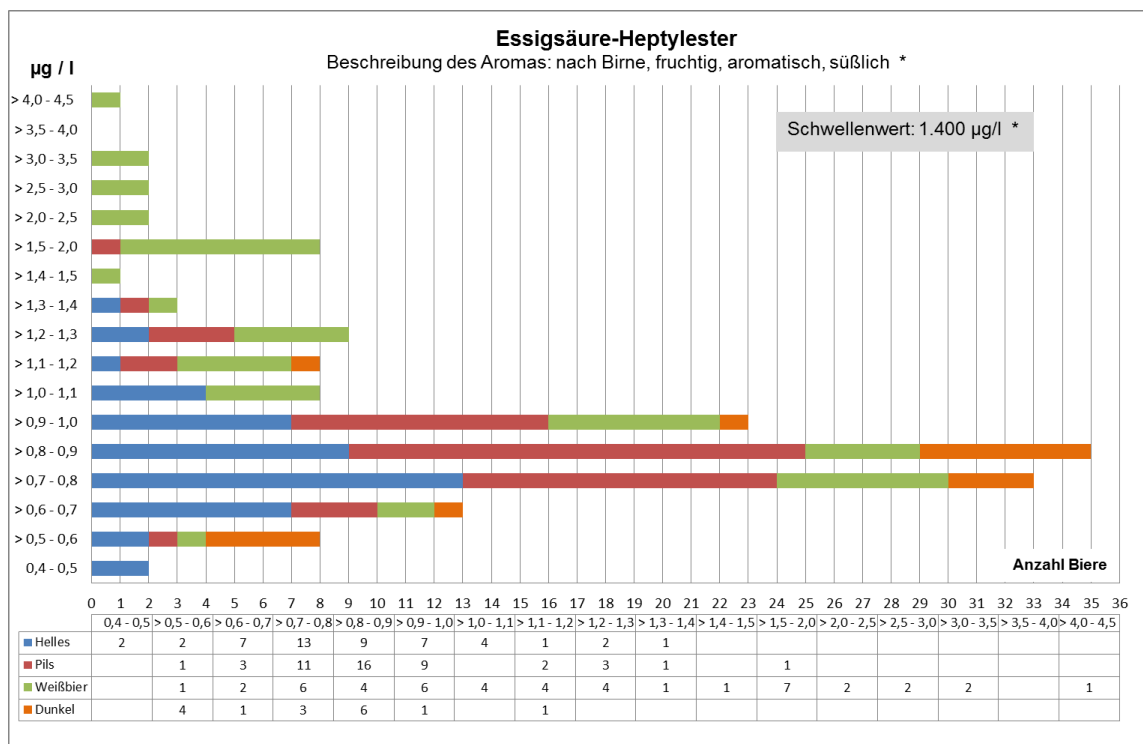


Abbildung A64: Essigsäure-Heptylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

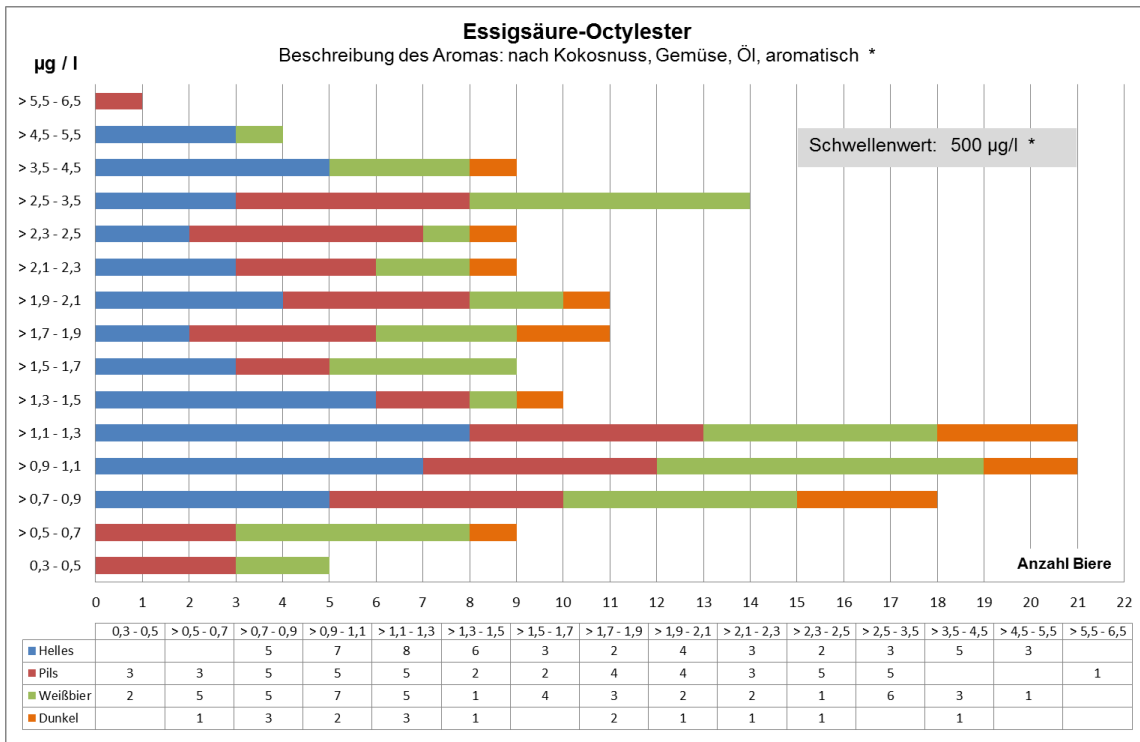


Abbildung A65: Essigsäure-Octylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

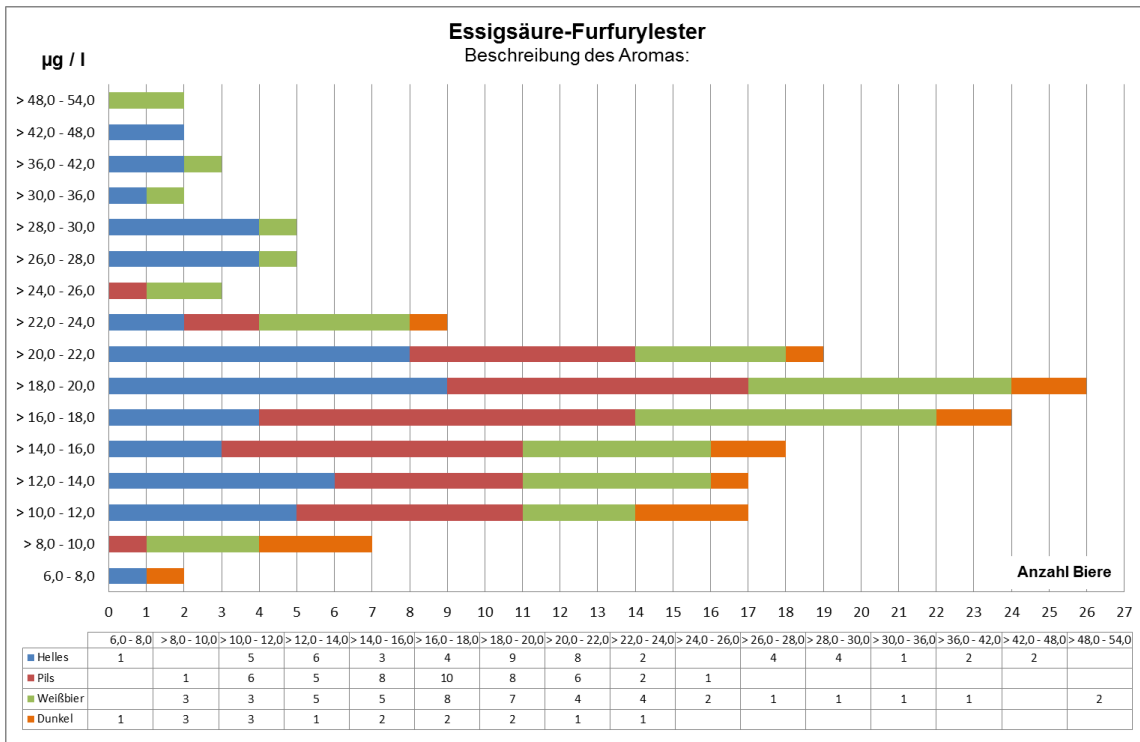


Abbildung A66: Essigsäure-Furfurylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

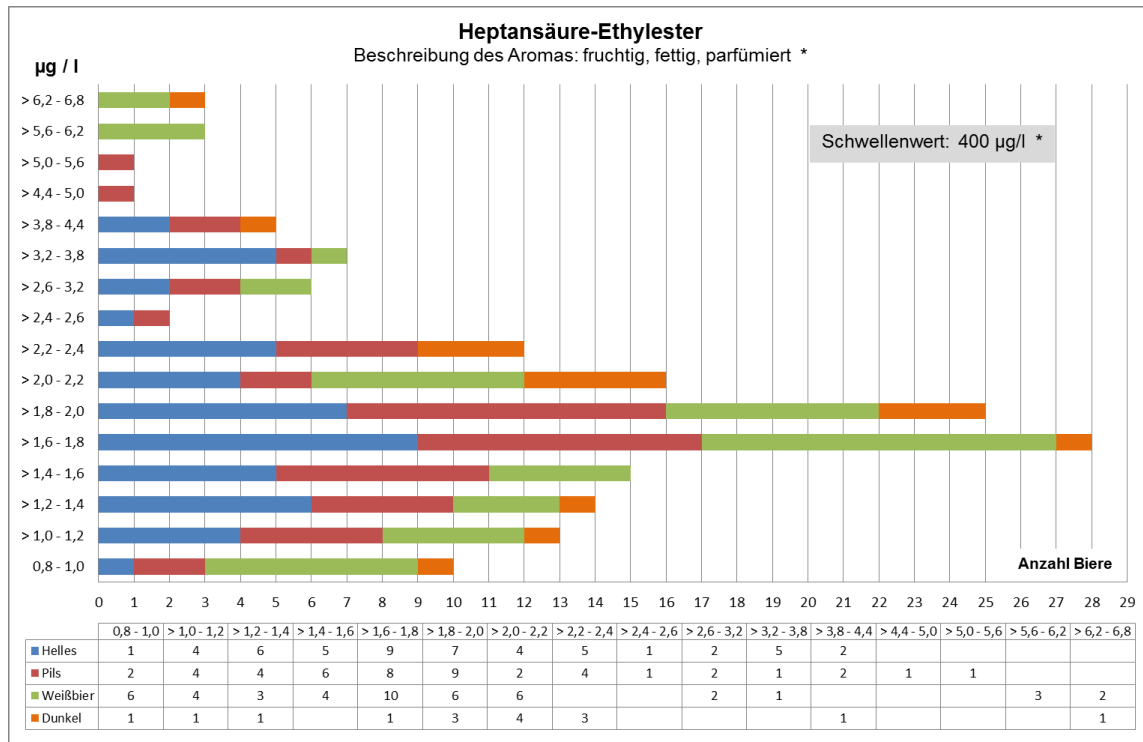


Abbildung A67: Heptansäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

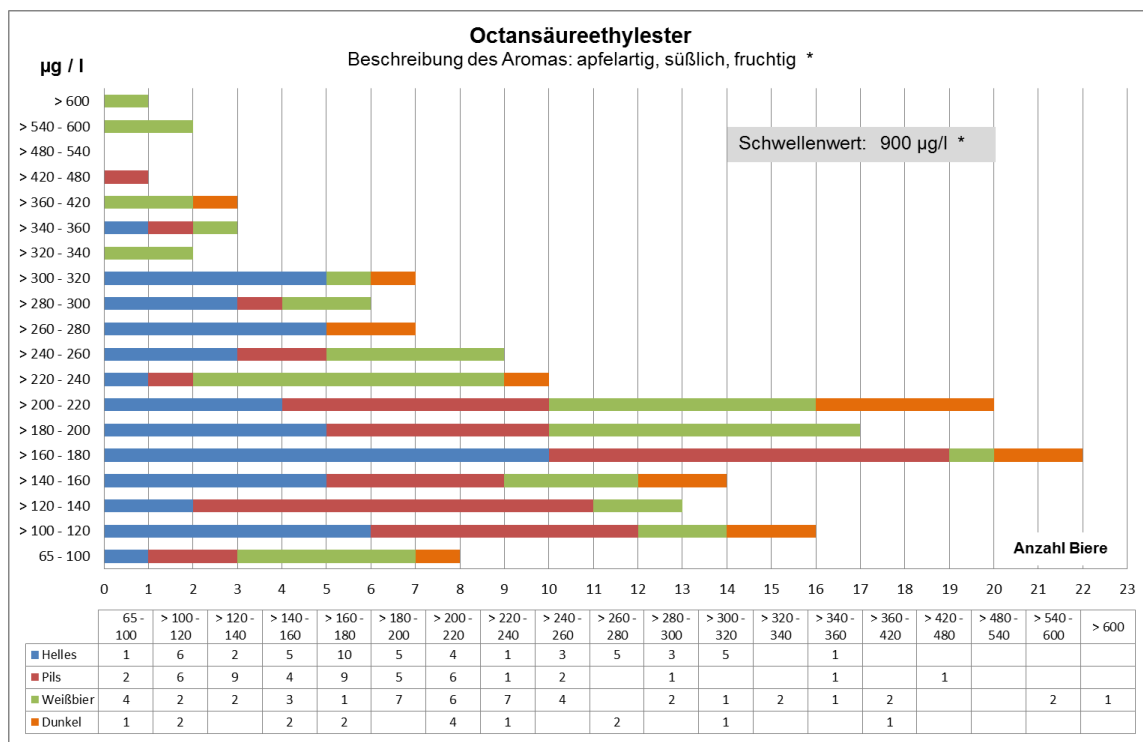


Abbildung A68: Octansäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

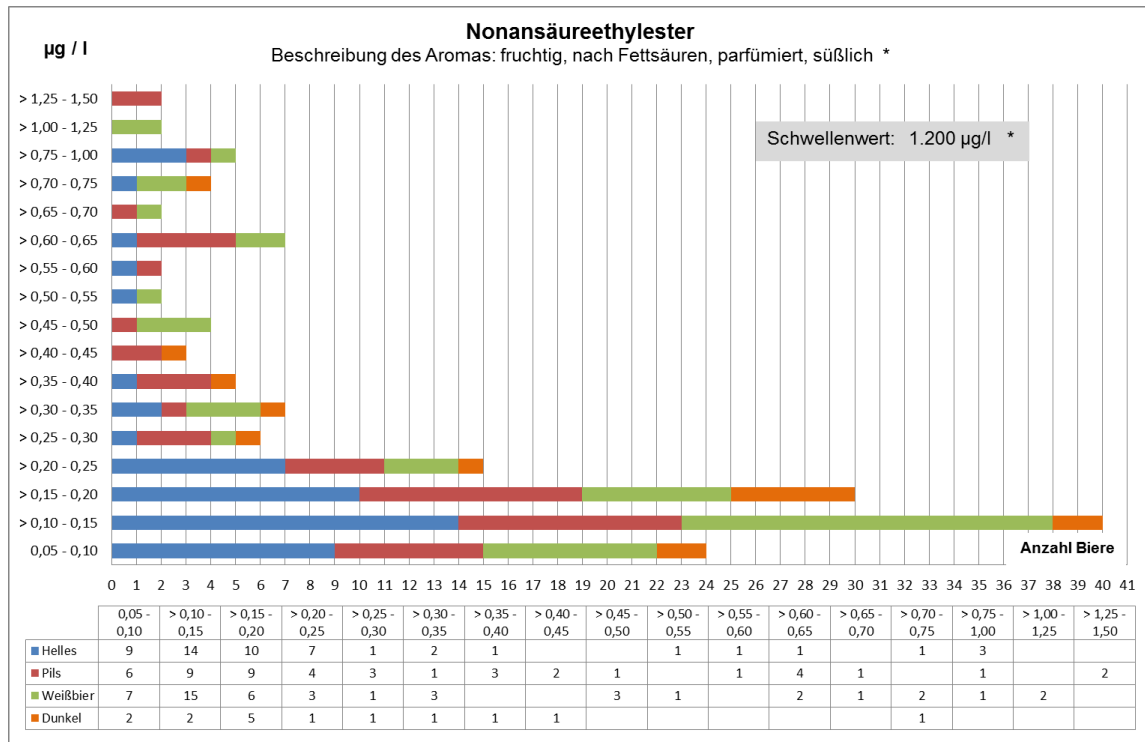


Abbildung A69: Nonansäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

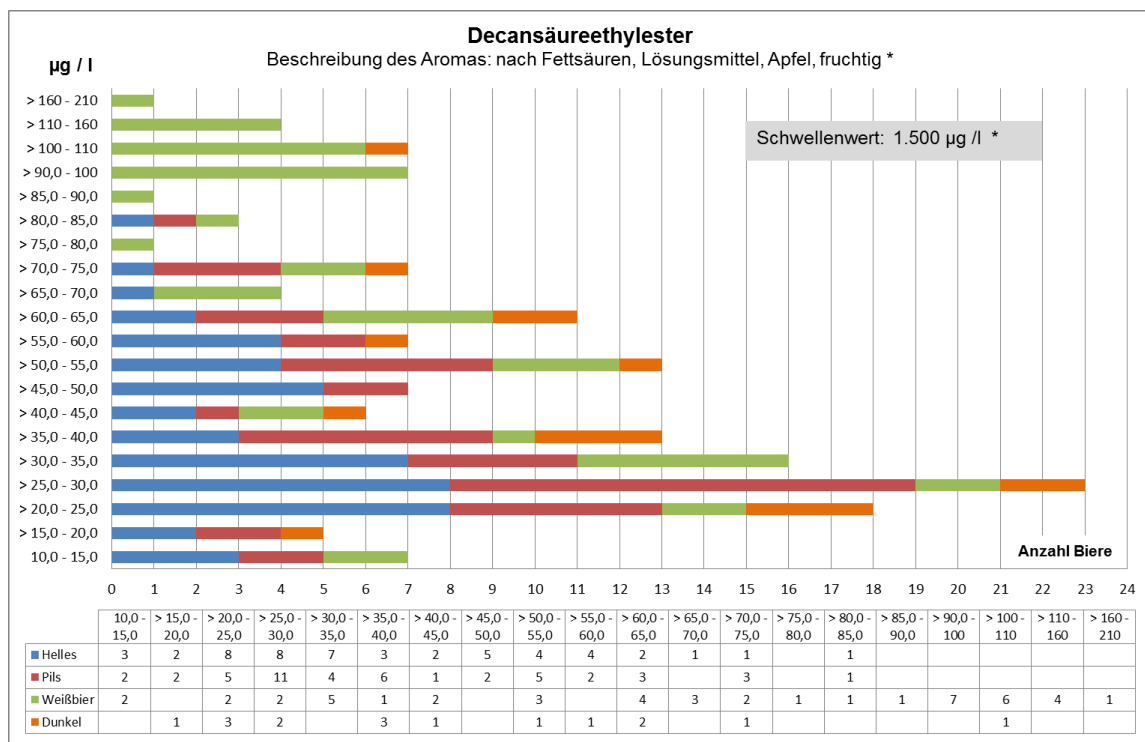


Abbildung A70: Decansäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

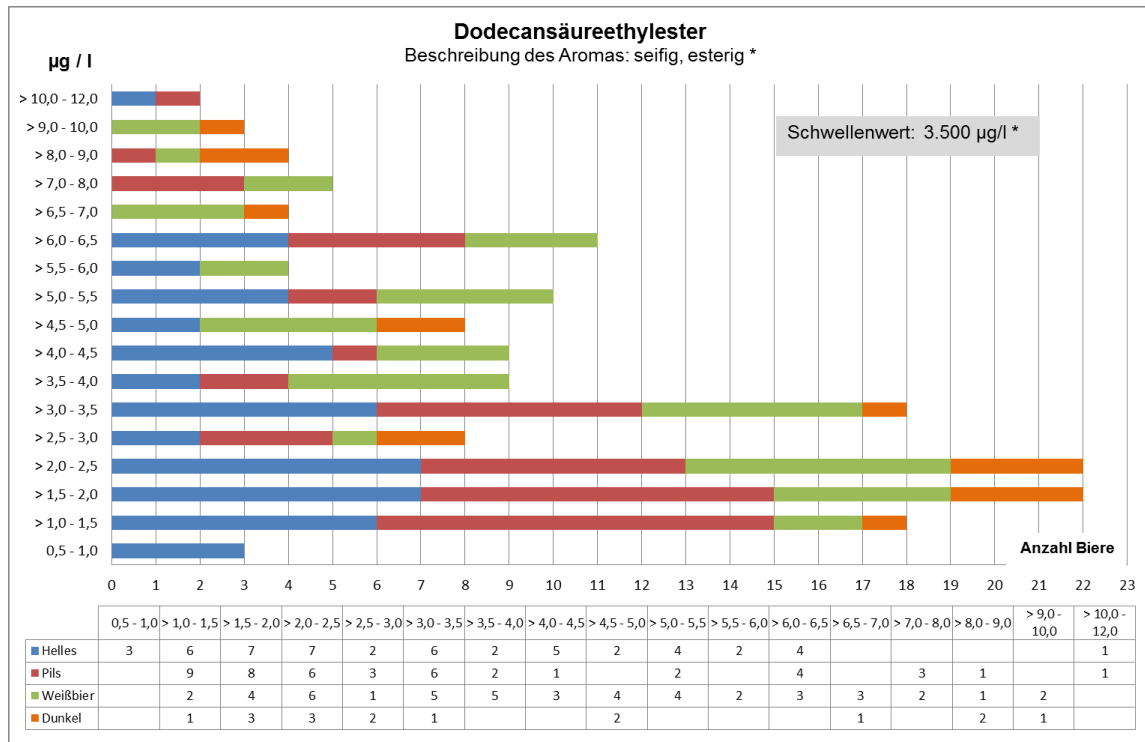


Abbildung A71: Dodecansäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

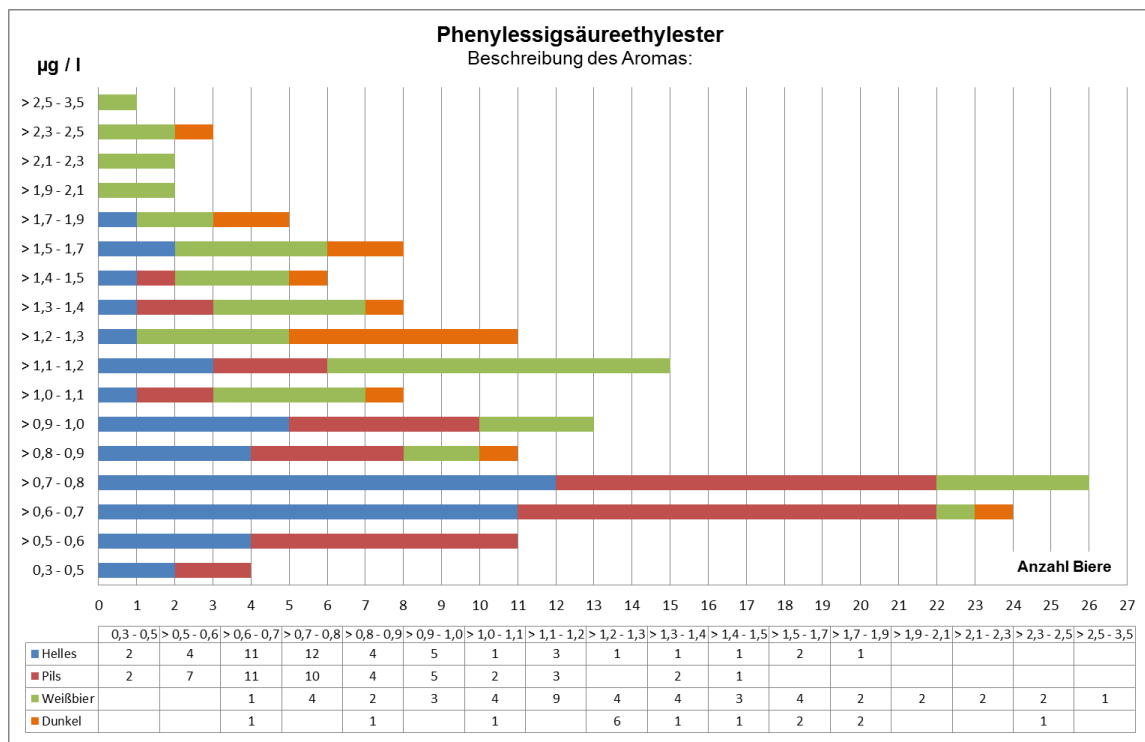


Abbildung A72: Phenyllessigsäureethylester Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [* Meilgard, 1975]

A 6.3: Konzentrationsverteilungs-Diagramm ausgewählter Terpene

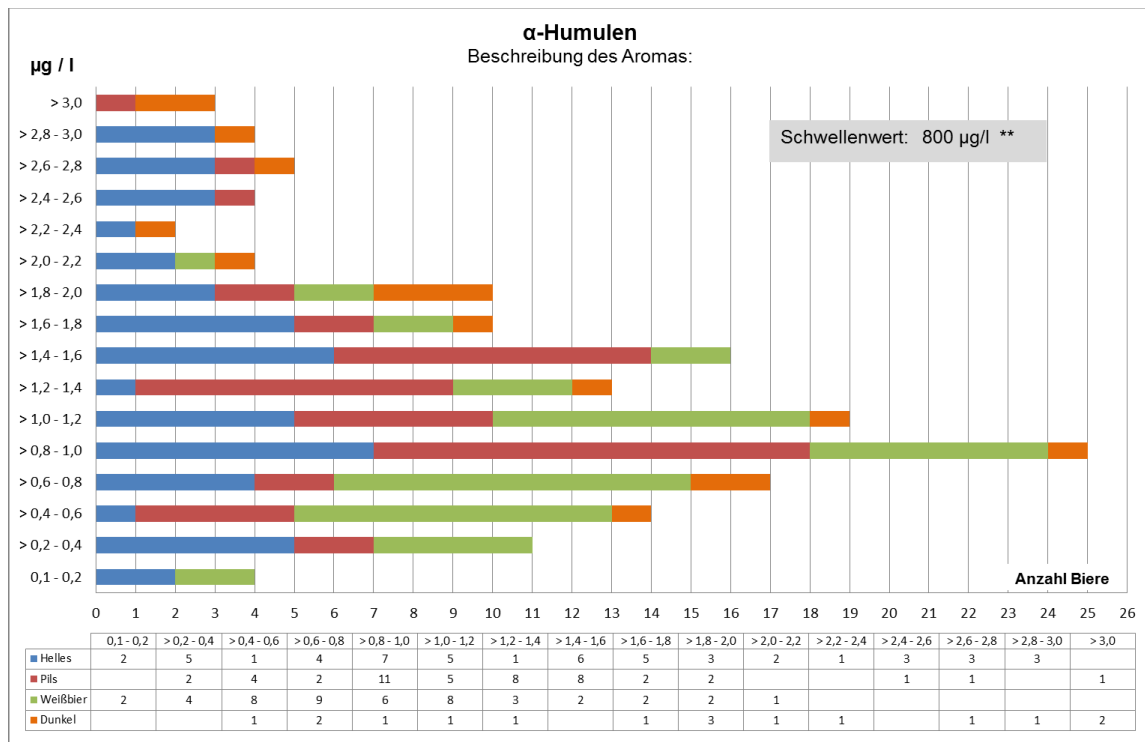


Abbildung A73: α-Humulonen Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [**Silbereisen, 1968]

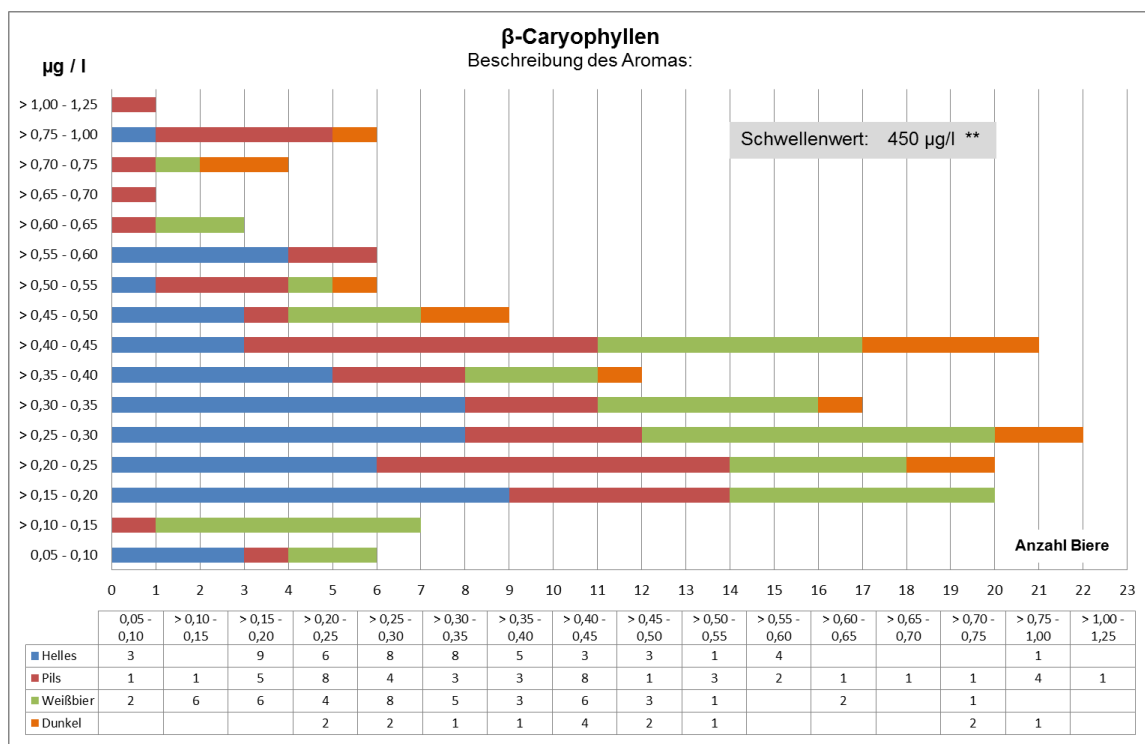


Abbildung A74: β-Caryophyllen Konzentrationen der analysierten Biere, mittels HS-Trap-GC-MS Analyse [** Silbereisen, 1968]