

# Schnelle Analytik von Bier

## Qualitätssicherung von Bier jenseits des Reinheitsgebots von 1516

Bier gilt als Nationalgetränk und gehört bei Feiern oder als Freizeitgetränk zur deutschen Trinkkultur – besonders während der warmen Tage. Den saisonalen Absatzanstieg des Bierkonsums weist auch das Statistische Bundesamt aus [1]. Allerdings zeichnet sich übergeordnet zu dieser saisonalen Schwankung ein deutlicher Trend bei Absatz und Konsum von alkoholhaltigem Bier ab: Er sinkt, wie seit dem Start der Auswertung 1993 nachgewiesen wird.

In den vergangenen Jahren haben sich die Trinkgewohnheiten der Bevölkerung geändert und es wird weniger alkoholhaltiges Bier konsumiert. Dieser Trend lässt sich auf unterschiedliche Ursachen zurückführen:

- das Produktsortiment von alkoholfreiem Bier und Biermischgetränken ist umfangreicher geworden und die Verkaufszahlen wachsen [2].
- immer neue Biersorten drängen in den Markt, die unter bestimmten Kriterien nicht als „Bier“ im klassischen Sinne in die deutschen Statistiken eingehen.

In Deutschland gilt die Definition, dass Bier dem Reinheitsgebot von 1516 entsprechen muss und

nur mit den Zutaten Hopfen, Malz, Hefe und Wasser hergestellt werden darf. Damit wurde vor mehr als 500 Jahren erstmalig ein Qualitätsstandard für die Produktion des Getränks gesetzt. Seitdem ist sein Herstellungsprozess stetig fortgeschritten, und bei der Qualitätssicherung und Produktweiterentwicklung werden analytische Messtechniken genutzt.

Ist die Zutatenliste für Bier zwar überschaubar, so sind die analytischen Techniken zur Qualitätssicherung und zur weiteren Verfeinerung der Produkte vielfältig. Angefangen bei der Untersuchung der Anionen im Brauwasser durch Ionenchromatographie (IC), über Hopfenaromen-Analytik per Gaschromatographie (GC) bis hin

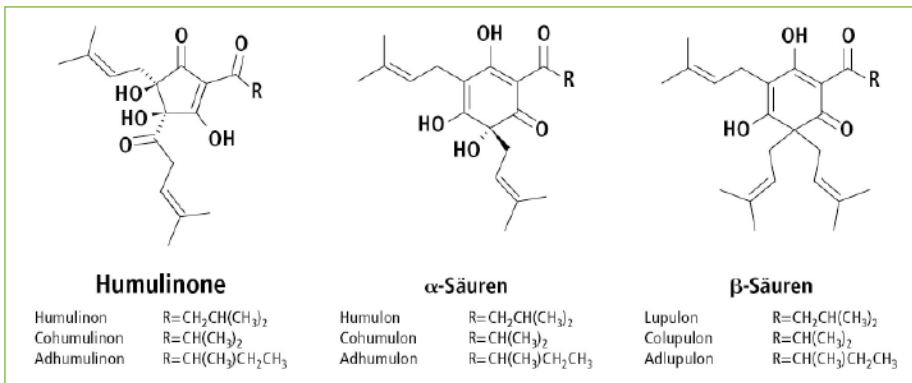
zur Bestimmung von Zuckern im Braugut oder Bittersäuren in Hopfen durch Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC), können immer mehr analytische Werkzeuge eingesetzt werden. Gerade durch den Boom von Craft-Bieren in den letzten Jahren ist letztere Applikation zu einer wichtigen Methode beim Design von neuen Bieren geworden.

### Neue Applikation mit schneller Trennung

Eine neue Applikation für die Trennung und gleichzeitige Analyse von Bittersäuren und Iso-Bittersäuren wird in diesem Artikel vorgestellt. Sie ermöglicht eine schnelle Trennung in unter 5 Minuten und tiefgreifende Rückschlüsse auf Bittersäuren und Iso-Bittersäuren sowie dem IBU (International Bitterness Unit). Der IBU-Wert wird klassisch auf der Grundlage einer Lösungsmittelextraktion der Bitterstoffe im Bier und anschließender spektrophotometrischer Messung bei 275 nm bestimmt, die nahe am Wellenlängenmaximum der Iso- $\alpha$ -Säuren liegt. Obwohl eine einfache Methode, ist eine Überin-



■ Abb. 1: Indian Pale Ale (IPA) entwickelte sich in England im 18. Jahrhundert aus dem Oktoberbier. Die wegen des hohen Alkohol- und Hopfengehaltes besonders ausgeprägte Haltbarkeit eignete es zum Export in die indischen Kronkolonien des Empires.



© Shimadzu Deutschland GmbH

Abb. 2: Chemische Strukturformeln von Humulinonen,  $\alpha$ -Bittersäuren (Humulone) und  $\beta$ -Bittersäuren (Lupulone) in Hopfen.

terpretation bzw. Überschätzung der IBU denkbar, wenn die Probe andere Stoffe mit Absorption bei 275 nm aufweisen. Die Trennung und UV-Detektion mittels HPLC ist also eine deutlich präzisere Messmethode für Qualitätssicherung und Produktentwicklung.

## Methode

Der als Rohstoff für Bier verwendete Hopfen enthält Humulinone (Abb. 2, links),  $\alpha$ -Säuren (Humulone) und  $\beta$ -Säuren (Lupulone).  $\alpha$ -Säuren (Abb. 2, Mitte) werden durch Isomerisierung während des Brauprozesses in Iso- $\alpha$ -Säuren (Isohumulone) umgewandelt und erzeugen so die leicht bittere Note. Die  $\beta$ -Säuren (Abb. 2, rechts) spielen als Bitterstoff nur eine untergeordnete Rolle. Es wird vielmehr angenommen, dass sie das Gleichgewicht der Bitterkeit beeinflussen.

Für die Analyse der Zusammensetzung von Humulinonen,  $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren im Brauprodukt kann die HPLC eingesetzt werden, und typische Analysenmethoden nach European Brewery Convention (EBC) Richtlinie dauern über 30 Minuten. Das ist eine lange Methodenzeit, die einer kostengünstigen Analyse von hohen Probenaufkommen entgegensteht. Mit einer neuen Applikation von Shimadzu ist es möglich, diese Analysenzeiten deutlich zu reduzieren, auf unter fünf Minuten. Die Leistungsfähigkeit dieser Methode wird im direkten Vergleich bei einer Messung von Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren als Standardgemisch in Abb. 2 gezeigt. Für diese Methoden konnte jeweils eine Reproduzierbarkeit der Messergebnisse mit unter 1% Abweichung ( $n=5$ ) ermittelt werden.

## Analyse von Bierproben

Für die Analyse wurde die Bierprobe (50 ml) zusammen mit 1-Oktanol (10  $\mu$ l) im Ultraschallbad entgast. Diese Lösung (10 ml) wurde zusammen mit Methanol (10 ml) geschüttelt und zentrifugiert. Abschließend wurde der Überstand direkt für die HPLC-Analytik verwendet.

Die Messungen nach EBC 9.47 Methode und Hochdurchsatzmethode wurden beide auf einem Nexera XR UHPLC-System durchgeführt. Für die EBC 9.47 Methode wurde eine Shim-pack GIST C8 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5  $\mu$ m) Säule verwendet (Mobile Phase A: Acetonitril/1% Zitronensäure Puffer (pH 7.0) = 30:70; Mobile Phase B: Methanol). Für die Hochdurchsatzmethode wurde eine Shim-pack Velox C18 (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.8  $\mu$ m) Säule eingesetzt (Mobile Phase A: 10 mmol/L (Natrium) Phosphatpuffer (pH 2.6) + 0.2 mmol/L EDTA-2Na aq.; Mobile Phase B: Acetonitril).

Mit diesen Methoden wurde die Zusammensetzung der Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren in drei unterschiedlichen Bieren (Lager, Ale und Indian Pale Ale) bestimmt. In Abbildung 4 sind auf der linken Seite die Chromatogramme der EBC 9.47 Methode abgebildet, während die Ergebnisse der Hochdurchsatzmethode auf der rechten Seite gezeigt werden.

Wiederfindungstests für die Hochdurchsatzmethode wurden über Spikes der gezeigten Proben mit Standards durchgeführt und ergaben sehr gute Ergebnisse mit Abweichungen von < 8% zum Sollwert ( $n=5$ ). Zudem zeigte ein Test auf Reproduzierbarkeit eine relative Standardabweichung von < 2,5% für die Peakfläche von fünf aufeinander folgenden Injektionen.

In den in Abbildung 4 gezeigten Chromatogrammen sind die Unterschiede zwischen dem

	EBC 9.47 Methode			Hochdurchsatzmethode		
	Humulinone	Iso- $\alpha$ -Säuren	$\alpha$ -Säuren	Humulinone	Iso- $\alpha$ -Säuren	$\alpha$ -Säuren
Lager	1,0 mg/l	23,0 mg/l	0,7 mg/l	1,2 mg/l	21,0 mg/l	0,7 mg/l
Ale	7,5 mg/l	22,1 mg/l	4,3 mg/l	6,4 mg/l	19,7 mg/l	3,6 mg/l
Indian Pale Ale	17,1 mg/l	40,1 mg/l	18,6 mg/l	14,9 mg/l	36,8 mg/l	18,7 mg/l

Tabelle: Konzentration der Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren bestimmt nach EBC 9.47 Methode (links) und Hochdurchsatzmethode (rechts).

**LÖDIGE**  
PROCESS TECHNOLOGY

Besuchen Sie uns vom 27.-29. September auf der **Powtech 22** in Nürnberg **Stand 3-249 Halle 3**

Ihr Solution Provider für:

- Mischen
- Granulieren
- Trocknen
- Coaten
- Reagieren

MADE IN GERMANY since 1938 MADE IN GERMANY

Lödige Process Technology  
Elsener Str. 7-9  
D-33102 Paderborn  
[www.loedige.de](http://www.loedige.de)

**ALWAYS THE RIGHT MIX**

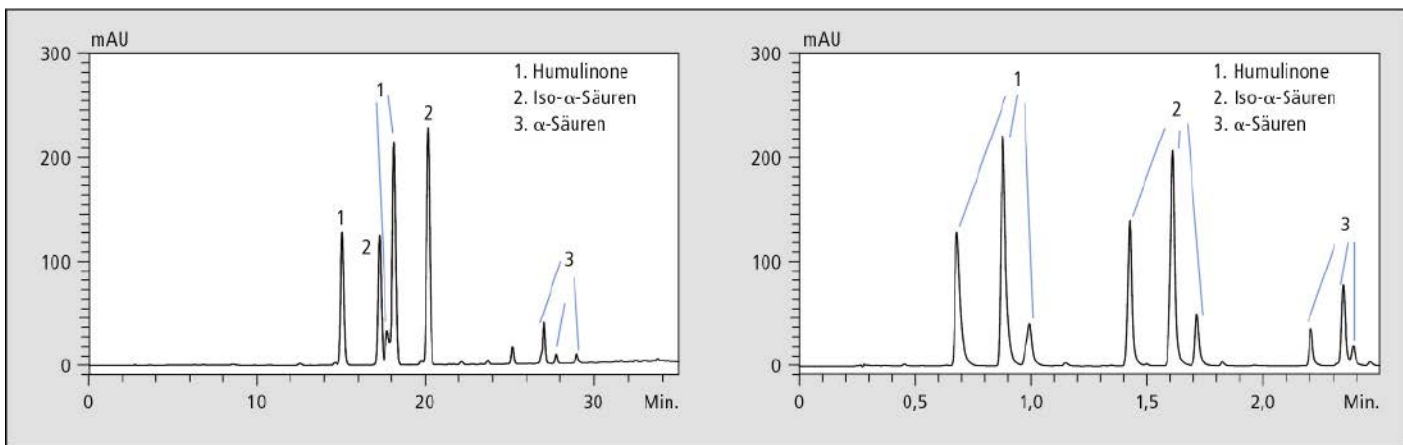


Abb. 3: Trennung von Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren als Standardgemisch nach EBC 9.47 Richtlinie (links) und mit der neuen Hochdurchsatzmethode (rechts). UV-Detektion bei 270 nm.

Lager, Ale und Indian Pale Ale (IPA) Bieren deutlich zu erkennen. Die Zusammensetzung und relativen Peakflächen der Humulinone, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren zeigen für das eher leichte Lager-Bier ein weniger komplexes Muster und vor allem Iso- $\alpha$ -Säuren dominieren.

Beim Ale Bier nehmen die Peakflächen von Humulinonen und  $\alpha$ -Säuren deutlich zu, und beim IPA ist ein sehr komplexes Gemisch der

Bitterstoffe zu beobachten. Dies spiegelt auch die geschmackliche Besonderheit von IPA-Bieren im Vergleich zu Lagern und dem Ale wider. Das IPA weist einen deutlichen bitteren Geschmack auf, der durch eine große Menge an Hopfen beim Brauprozess erreicht wird. Dies lässt sich auch anhand der bestimmten Konzentrationen zu Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren in der Tabelle 1 (siehe Seite xx) festmachen.

**Fazit**

Dieser Artikel stellt eine Analyse von Iso- $\alpha$ -Säuren,  $\alpha$ -Säuren und Humulinonen in drei Bierproben mit dem Nexera XR UHPLC-System vor. Die Analysen wurden unter zwei Bedingungen durchgeführt (EBC 9.47-konforme und Hochgeschwindigkeits-Analysebedingungen), und im Wesentlichen wurden die gleichen quantitativen Werte erhalten. Die Analysezeit kann unter den Hochgeschwindigkeits-Bedingungen um etwa 90 % verkürzt werden, so dass eine Analyse in nur fünf Minuten durchführbar ist. Beim Vergleich der drei Biere (Lager, Ale und IPA) stach vor allem das IPA mit hohem Mengen an Bitterstoffen hervor. Dies ist typisch für diese Bierart, da große Mengen an Hopfen eingesetzt werden.

**Autoren:**

**Dr. Andreas Domröse,**  
**Produktspezialist HPLC,**  
**Dr. Christopher Kuhlmann,**  
**Produktspezialist HPLC,**  
**Shimadzu Deutschland**

**Kontakt:**

**Shimadzu Deutschland GmbH**  
 Duisburg  
 Dr. Andreas Domröse, Dr. Christopher Kuhlmann  
 Tel.: +49 203/76870  
 info@shimadzu.de  
 www.shimadzu.de

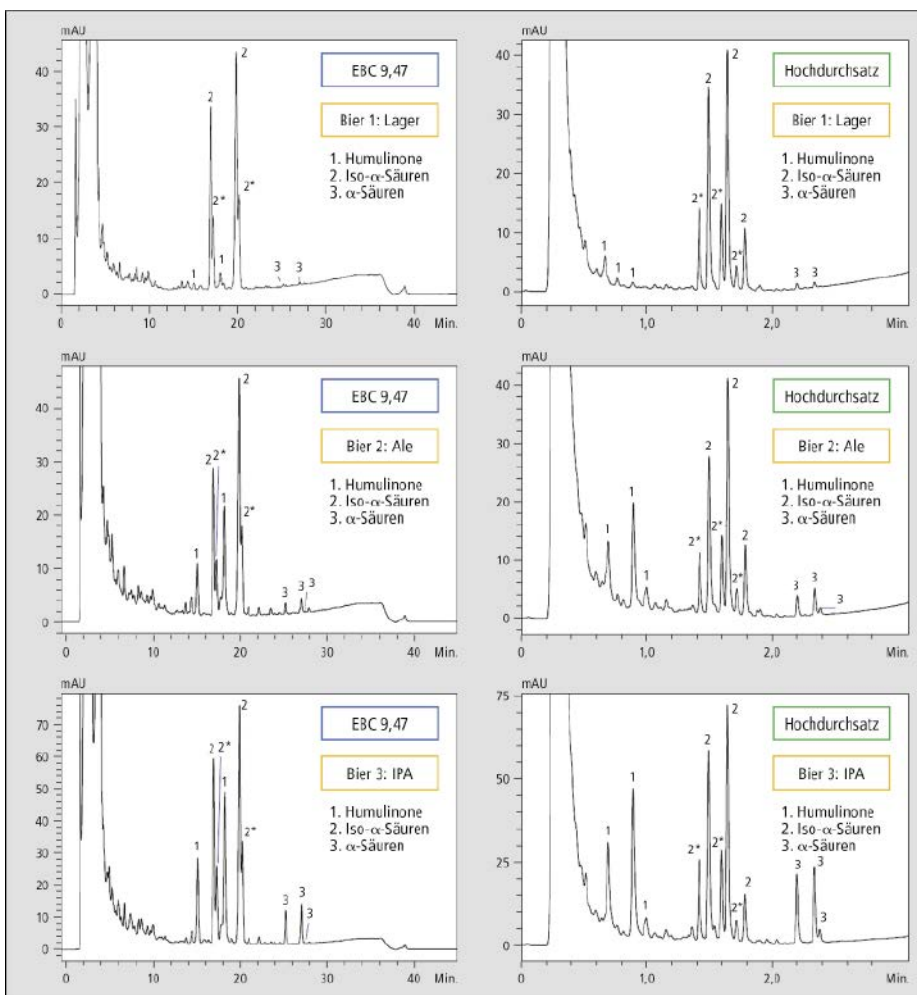


Abb. 4: Trennung von Humulinonen, Iso- $\alpha$ -Säuren und  $\alpha$ -Säuren nach EBC 9.47 Methode (l.) und Hochdurchsatzmethode (r.) in drei Bieren (1: Lager, 2: Ale und 3: Indian Pale Ale). 2\* = trans-Isomere der Iso- $\alpha$ -Säuren und 2 = cis-Isomere der Iso- $\alpha$ -Säuren.

**Quellen**

- [1] Absatz von Bier / Brauwirtschaft – Statistisches Bundesamt (destatis.de); Zugriff am 21.06.2022
- [2] Statistisches Bundesamt Deutschland – GENESIS-Online: Ergebnis 73421-0001 (destatis.de); Zugriff am 21.06.2022