

EVALUATIE VAN DE KWALITEIT EN TOEPASSING IN DE BROUWERIJ VAN GEAVANCEERDE HOPPRODUCTEN, GEBASEERD OP BITTERSTOFFEN EN AROMA'S

A. BOEYKENS⁽¹⁾, M. DE RIDDER⁽¹⁾, H. OVERMEIRE⁽¹⁾, L. DE COOMAN⁽¹⁾,
G. AERTS⁽¹⁾, D. DE KEUKELEIRE⁽²⁾

⁽¹⁾ KaHo St.-Lieven, Dep. Industrieel Ingenieur, Onderwijseenheid Biochemie, Gebroeders Desmetstraat 1, B-9000 Gent; ⁽²⁾ Universiteit Gent, Fac. Farmaceutische Wetenschappen, Vakgroep Geneesmiddelenleer, Laboratorium voor Farmacognosie en Fytochemie, Harelbekestraat 72, B-9000 Gent.

ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus* L.) are essential for the production of beer. All brewers use hops in their brewing process because hops have a unique effect on the flavour and physical appearance of the final product. The most important hop fractions are the unique hop acids and the hop oil, which are both found in the lupulin glands of the female hop cones. The hop acids consist of the alpha (α)- and the beta (β)-acids. Among the hop acids, only the α -acids or humulones have an essential brewing value. During wort boiling, the α -acids are converted to the iso- α -acids, which are largely responsible for the fine bitterness of beer, but equally important for a good foam stability. On the other hand, it is generally accepted that the hop essential oil contributes to the hoppy aroma and flavour of beer, through an array of sensory impressions.

The traditional use of unprocessed raw hops has several major disadvantages, such as the low bulk density of the hop cones, the stickiness of the lupulin glands, the heterogeneity with regard to the α -acid and hop oil content, the extreme sensitivity of these important brewing constituents to oxidation, and, in particular, the poor efficiency in terms of utilisation of both the α -acids and the essential oil. As a consequence, a wide range of hop products are available today for the production of consistent high-quality beers.

Hop products are classified in two groups, known as (1) *conventional hop products* (i.e. various forms of hop pellets and kettle hop extracts to replace whole hops in the kettle), and (2) *advanced hop products* with specific formulations (f. i. isomerised hop extracts, reduced isomerised hop extracts, and various advanced hop oil preparations). In particular the advanced hop products are used increasingly, especially by large breweries, to attain improved flavour consistency of existing brands and to develop new beers with specific organoleptic properties. In contrast, small and medium-sized breweries remain largely deprived of this new hop technology, nowadays also called 'High Tech Hopping'.

In this study which was carried out in the context of the HOBU-Project 970117, the application of various advanced hop products was evaluated in comparison with hop pellets Type 90 as reference material. The emphasis was put on the use of isomerised hop extracts, reduced isomerised hop extracts and pure hop oils. The advanced hop preparations were added at different stages in the

brewing process of both lager and top-fermented beers. The experimental brews with the hop products and the corresponding reference beers were evaluated by physico-chemical analyses, quantitative chromatographic profiling (HPLC) of the bitter acids, and sensory analysis by a trained taste panel.

In the final stage of the project, the new hop technology was implemented successfully in several medium-sized Flemish breweries through brewing trials on the industrial scale. The principal findings of this study are summarized in this paper.

INLEIDING

Hop (*Humulus lupulus* L.) is een onmisbare grondstof voor de bierbereiding. De brouwtechnisch belangrijkste hopfracties zijn de alpha(α)-zuren en de hopolie, die zich bevinden in de lupulineklieren van de vrouwelijke hopbellen. Bij de traditionele bierbereiding worden hopbellen toegevoegd op bepaalde stadia tijdens het wortkoken. Hierbij worden de α -zuren (resp. cohumulon, humulon en adhumulon), omgezet in de typische bierbitterstoffen, de iso- α -zuren (De Keukeleire, 1993). Tijdens de thermische isomerisatie ontstaan uit elk α -zuur twee iso- α -zuren, nl. een *trans*- en een *cis*-isomeer. In totaal worden dus zes belangrijke iso- α -zuren teruggevonden in bier. De iso- α -zuren zijn verder essentieel voor de schuimstabiliteit van bier (De Keukeleire, 1996), maar anderzijds ook verantwoordelijk voor de vorming van de zeer onaangename lichtsmak (Hughes, 1999). Daarnaast levert de hopolie, via een complex geheel van sensoriele impressies, een specifieke bijdrage tot het aroma en het hoppig karakter van bier (Peacock & Deinzer, 1981; Chapman, 1988; Deinzer & Yang, 1994).

Hopbellen vormen echter geen efficiënte grondstof. Ze zijn steeds heterogeen van samenstelling en onderhevig aan snelle oxidatieve afbraak. Ook is de benutting aan α -zuren en hopolie laag en variabel. Deze ongunstige eigenschappen geven aanleiding tot oncontroleerbare fluctuaties in geur, aroma en smaak van bier. Vandaar dat momenteel ca. 80% van de hopoogst verwerkt wordt tot consistentere hopproducten (Benitez en medew., 1997). Een twintigtal verschillende typen hopproducten zijn actueel beschikbaar. Men onderscheidt (1) conventionele hopproducten, ter vervanging van hopbellen in de kookketel (verschillende typen hoppellets en niet-geïso-

meriseerde hopextracten) en (2) geavanceerde hoppreparaten met zeer specifieke formuleringen.

De geavanceerde hopproducten zijn zuivere preparaten van bitterstoffen of hopoliën onder nauwkeurig gedoseerde vorm (bv. iso- α -zurenextracten, gereduceerde iso- α -zurenextracten, zuivere hopoliën, hopessences). Ze zijn veel beter gestabiliseerd tegen ontbinding dan hopbellen en kunnen ook toegevoegd worden tijdens verschillende stadia van het brouwproces, zelfs na de gisting. Op deze wijze kunnen belangrijke biercomponenten exact gedoseerd worden en kunnen gegeerde eigenschappen naar wens aangepast worden.

Grote brouwerijen maken reeds geruime tijd gebruik van de voordelen van deze beschikbare technologie (zogenaamde 'high tech hopping'), voornamelijk met het oog op (1) een betere beheersing van de bierflavour, (2) de ontwikkeling van speciale bieren met specifieke sensorische eigenschappen. Daartegenover blijven de Vlaamse KMO brouwerijen grotendeels verstoken van deze innovatieve ontwikkelingen. De objectieven van dit toegepast gericht onderzoek in het kader van het HOBUPROJECT 970117, zijn daarom als volgt te resumeren.

- (1) De Vlaamse (KMO) brouwers informeren over de karakteristieken, de specifieke voordelen en toepassingsmogelijkheden van hopproducten ('technologieverkenning').
- (2) Het verwerven van duidelijke inzichten en praktische kennis van de nieuwe hopproducten door de toepassing ervan in proefbrouwsels op pilotschaal ('technologievertaling').
- (3) Implementatie van 'high tech hopping' in de (KMO) brouwerijen ('technologieverspreiding').

Het accent werd gelegd op de evaluatie en toepassing van diverse geavanceerde bitterstofextracten, aangevuld met zuivere hopoliën. Iso- α -zurenextracten worden reeds veelvuldig gebruikt voor partiële bittering of het bijbitteren van bier. Bij de gereduceerde bitterstoffen wordt onderscheid gemaakt tussen:

- dihydro-iso- α -zuren, geschikt voor het bitteren van lichtstabiele bieren;
- tetrahydro-iso- α -zuren, componenten met intense bitterheid én een gunstig effect op de schuimstabiliteit van bier.

Voor meer informatie betreffende de eigenschappen en toepassingsmogelijkheden van hopproducten wordt verwezen naar de recente 'EBC Manual of Good Practice - Hops and Hop Products' (Benitez en medew., 1997), alsook naar enkele overzichtsaankelen (Hughes & Simpson, 1993; Gardner, 1997; Combes, 1998; De Cooman en medew., 1998; Held, 1998).

RESULTATEN EN BESPREKING

Technologieverkenning

Op basis van literatuurstudie werd in eerste instantie een praktisch georiënteerde informatiebrochure in verband met hopproducten opgesteld (De Cooman en medew., 1999).

Hierin worden het belang van hop met betrekking tot de bierbereiding, het brouwtechnisch nut van de voornaamste hopfracties, en alle huidig beschikbare hopproducten, in detail behandeld.

Voor de kwantitatieve profilering van de bittercomponenten van bier (iso- α -zuren, dihydro-iso- α -zuren en tetrahydro-iso- α -zuren), werd hoge-druk vloeistofchromatografie ('High Performance Liquid Chromatography', HPLC) toegepast. Het gebruik van speciale gedemineraliseerde HPLC-kolommen is noodzakelijk, wegens de hoge reactiviteit van bitterstoffen voor metalen (Verzele & De Keukeleire, 1991). Onder geoptimaliseerde chromatografische condities, in analogie met Hay en medew. (1994), werden hoogefficiënte scheidingen van iso- α -zuren en gereduceerde iso- α -zuren verkregen. Voor kwantitatieve bepaling van de verschillende bitterstoftypes, werden specifieke uitwendige bitterstofstandaarden gehanteerd. De HPLC methode werd vervolgens toegepast voor kwaliteitscontrole van geavanceerde bitterstofextracten en analytische evaluatie van de brouwsels. Voor details in verband met de extractieprocedure van de bierbitterstoffen en de chromatografische analysemethode, wordt verwezen naar De Cooman en medew. (2000).

In figuur 1 wordt een HPLC-chromatogram van een commercieel iso- α -zurenextract weergegeven. Een volledige scheiding tussen de zes belangrijke iso- α -zuren kan afgeleid worden, nl. *trans*-isocohumulon (**1a**), *cis*-isocohumulon (**2a**), *trans*-isohumulon (**1b**), *cis*-isohumulon (**2b**), *trans*-isoadhumulon (**1c**) en *cis*-isoadhumulon (**2c**). De HPLC methode is ook zeer geschikt voor de scheiding en kwantitatieve evaluatie van dihydro-iso- α -zurenextracten (zie Fig. 2) en tetrahydro-iso- α -zurenextracten (zie Fig. 3).

Na het op punt stellen van de verschillende facetten van het brouwproces en de fysico-chemische analyses voor evaluatie van tussen- en eindproducten, werd een eerste verkennende studie van de nieuwe hopproducten via proefbrouwsels ondernomen.

Verscheidene pilsbieren werden bereid op de KaHo St.-Lieven (schaal: 2 hL) met als doel een vergelijkende studie tussen referentiebrouwsels, gehopt met pellets cv. Hallertauer Magnum, en proefbrouwsels, bekomen met geselecteerde hopproducten (resp. niet-geïsomereerd hopextract, iso- α -zurenextract en dihydro-iso- α -zurenextract). Telkens werd een sensorische bitterheid, overeenkomstig met 25 ppm iso- α -zuren, beoogd.

Uit de fysico-chemische en chromatografische analysesresultaten kon duidelijk afgeleid worden dat vergelijkbare bieren verkregen werden, dankzij het reproduceerbaar brouwen in combinatie met nauwkeurige hopping. Reeds in dit stadium van het onderzoek werden de organoleptische eigenschappen van de proefbrouwsels met hopextracten, via vergelijking met de referentiebieren, gunstig onthaald door het degustatiepanel, bestaande uit de leden van de gebruikerscommissie van het reeds vermelde HOBUPROJECT. De sensorische waarnemingen waren ook goed in overeenstemming te brengen met het type van hoptoediening en de analytische gegevens.

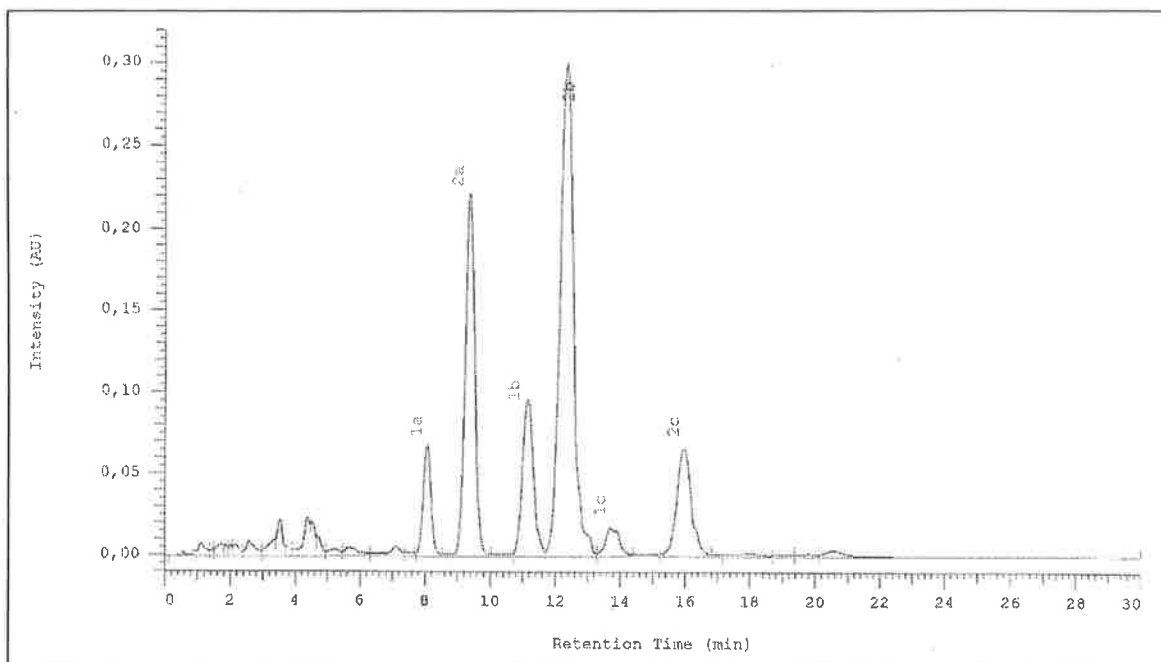
Technologievertaling

De effecten van het vervangen van ruwe hop door (gereduceerde) iso- α -zurenextracten, ev. aangevuld met zuivere hopolie, werden in detail bestudeerd via proefbrouwsels op pilotschaal (2 hL), nl.:

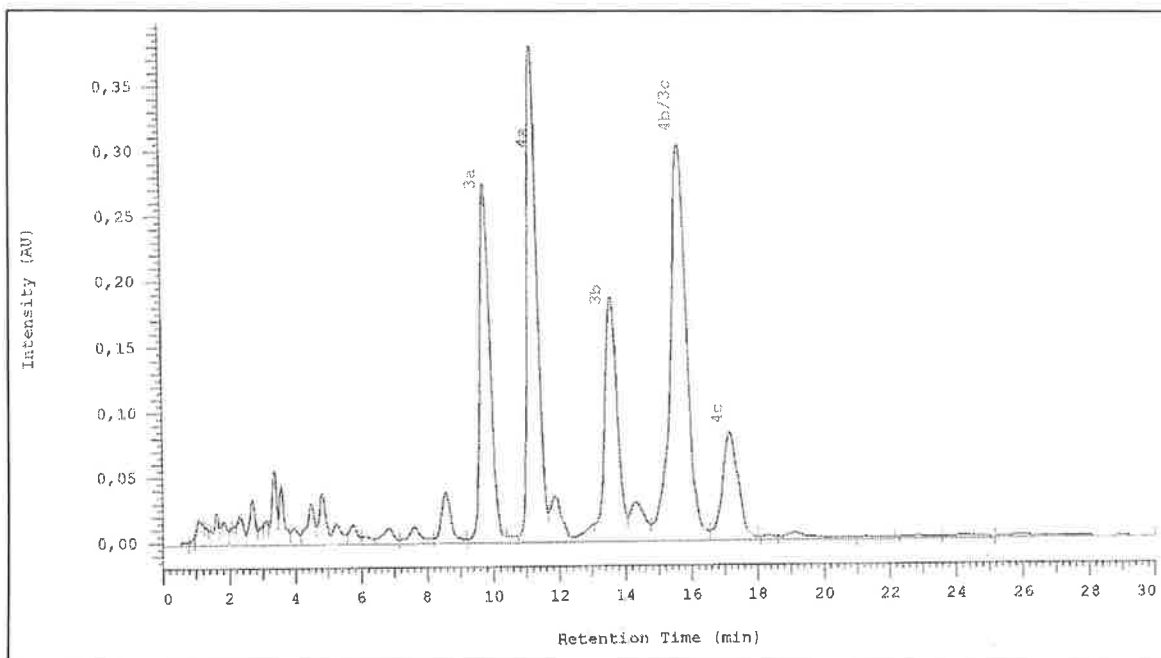
(1) proefbieren gebaseerd op hopping met iso- α -zurenextracten, aangevuld met tetrahydro-iso- α -zuren en ev. hopolie;

(2) proefbieren gebaseerd op hopping met lichtstabele dihydro-iso- α -zurenextracten, aangevuld met tetrahydro-iso- α -zuren en ev. hopolie.

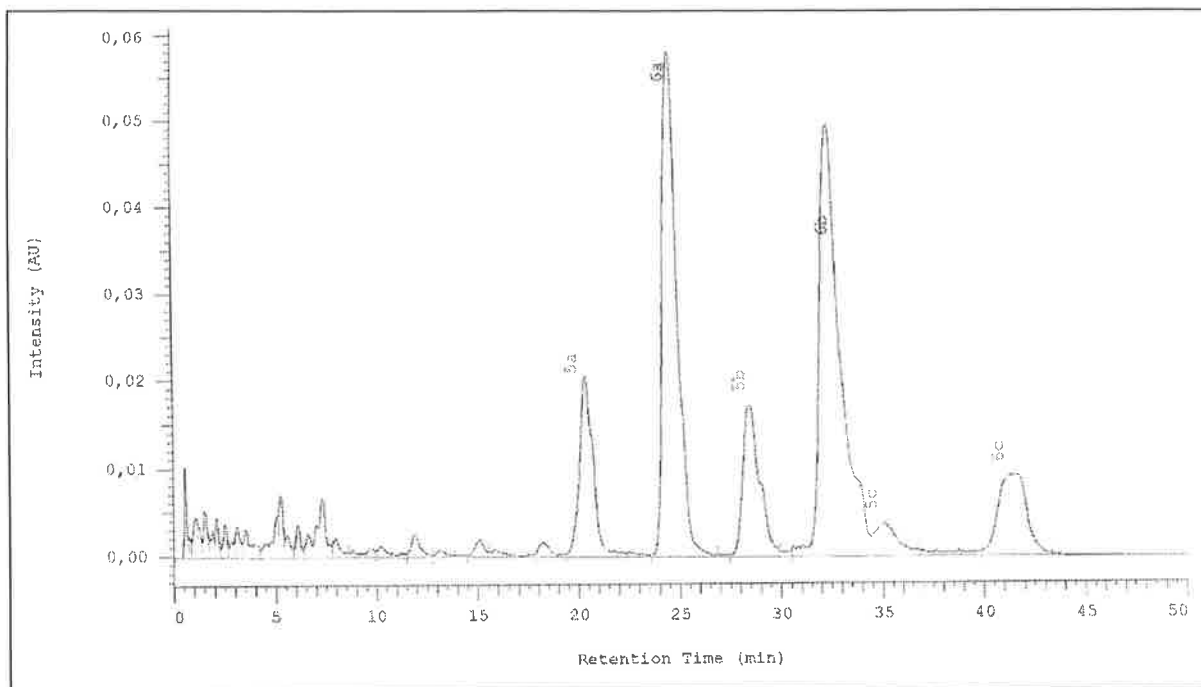
Figuur 4 toont het HPLC scheidingsprofiel van een bier gebitterd met $\frac{3}{4}$ iso- α -zuren en $\frac{1}{4}$ tetrahydro-iso- α -zuren. Ook bij gecombineerde bittering wordt, via de geoptimaliseerde HPLC methode, een volledige scheiding tussen de verschillende bitterstofcomponenten bekomen.



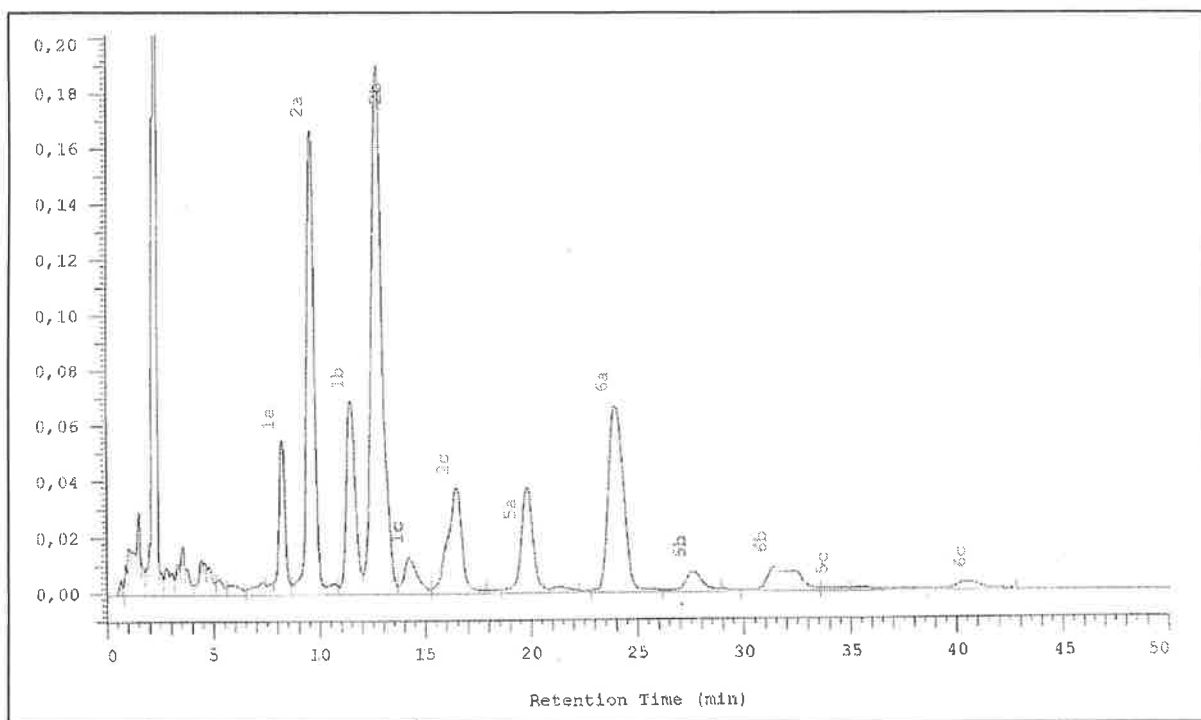
Figuur 1. HPLC-chromatogram van een iso- α -zurenextract (**1a**: trans-isocohumulon; **2a**: cis-isocohumulon; **1b**: trans-isohumulon; **2b**: cis-isohumulon; **1c**: trans-isoadhumulon; **2c**: cis-isoadhumulon).



Figuur 2. HPLC-chromatogram van een dihydro-iso- α -zurenextract (**3a**: dihydro-isocohumulon; **4a**: dihydro-isocohumulon; **3b**: dihydro-isohumulon; **4b/3c**: dihydro-isohumulon / dihydro-isoadhumulon; **4c**: dihydro-isoadhumulon).



Figuur 3. HPLC-chromatogram van een tetrahydro-iso- α -zurenextract (**5a**: trans-tetrahydro-isocohumulon; **6a**: cis-tetrahydro-isocohumulon; **5b**: trans-tetrahydro-isohumulon; **6b**: cis-tetrahydro-isohumulon; **5c**: trans-tetrahydro-isoadhumulon; **6c**: cis-tetrahydro-isoadhumulon).



Figuur 4. HPLC-chromatogram van een proefbrouwsel gebitterd met $\frac{3}{4}$ iso- α -zuren en $\frac{1}{4}$ tetrahydro-iso- α -zuren (**1a**: trans-isocohumulon; **2a**: cis-isocohumulon; **1b**: trans-isohumulon; **2b**: cis-isohumulon; **1c**: trans-isoadhumulon; **2c**: cis-isoadhumulon; **5a**: trans-tetrahydro-isocohumulon; **6a**: cis-tetrahydro-isocohumulon; **5b**: trans-tetrahydro-isohumulon; **6b**: cis-tetrahydro-isohumulon; **5c**: trans-tetrahydro-isoadhumulon; **6c**: cis-tetrahydro-isoadhumulon).

De brouwproeven werden telkens opgesplitst in lage en hoge gistingsbieren. De onderzoeksresultaten kunnen als volgt samengevat worden.

- Uit de fysico-chemische analyses volgt dat steeds reproduceerbaar gebrouwen werd.
- De hoptoevoegingen werden adequaat uitgevoerd. In nagenoeg alle bieren werd een goede benadering van

de beoogde eindbitterheid, overeenkomstig met 25 ppm iso- α -zuren, bekomen. Aansluitend hierbij werden ook bevredigende benuttingen van de bitterstoffen opgetekend. In tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de experimenteel vastgestelde benuttingen aan resp. iso- α -zuren, dihydro-iso- α -zuren en tetrahydro-iso- α -zuren bij pilsbieren in functie van het tijdstip van toediening.

Tabel 1. Overzicht van de benuttingen aan iso- α -zuren, dihydro-iso- α -zuren en tetrahydro-iso- α -zuren bij pilsbieren, in functie van het tijdstip van toevoeging.

Tijdstip van toediening	ISO-extract	DIHYDRO-extract	TETRA-extract
Einde wortkoken	60%	70%	-
Aanvang fermentatie	72%	83%	-
Transfer 'gisttank-lagering'	82%	86%	61%

De resultaten in tabel 1 zijn globaal gezien goed in overeenstemming te brengen met literatuurgegevens (Benitez en medew., 1997). Bij gebruik van geïsomeriseerd hopextract na de hoofdgisting, is de benutting aan iso- α -zuren nagenoeg het dubbele ten opzichte van de benutting aan α -zuren (ca. 35-40%) bij conventioneel hoppen met hoppellets of niet-geïsomeriseerd hopextract. Tevens kan afgeleid worden dat met geïsomeriseerd hopextract ook vóór de hoofdgisting behoorlijke rendementen mogelijk zijn (resp. 60% bij einde wortkoken en 72% bij aanvang hoofdgisting). Dit is een belangrijk gegeven, rekening houdend met de praktische mogelijkheden van de KMO brouwer.

Zoals verwacht nemen de benuttingen aan iso- α -zuren en dihydro-iso- α -zuren toe, naarmate het bier verder afgewerkt is. Met dihydro-iso- α -zuren worden significant

hogere rendementen bekomen. Daartegenover staat dat dihydro-iso- α -zuren beduidend minder bitter zijn dan iso- α -zuren, zodat het gebruik ervan zich veeleer beperkt tot het bitteren van lichtstabele bieren.

Voor de tetrahydro-iso- α -zuren werd een benutting van 61% genoteerd. Volgens Benitez en medew. (1997) bedraagt het rendement gewoonlijk ca. 60% bij gebruik na de hoofdgisting (50% à 80%, afhankelijk van de wijze en het tijdstip van toediening).

Ook bij de hoge gistingsbieren werden bevredigende benuttingen genoteerd (zie tabel 2). De relatief hoge rendementen tonen aan dat ook bovengistingsbieren op een reproduceerbare en economisch verantwoorde wijze gebitterd kunnen worden na fermentatie, bv. voor aanpassing tot de gewenste eindbitterheid (iso- α -zuren) of bijbittering én gelijktijdige verbetering van de schuimeigenschappen (tetrahydro-iso- α -zuren).

Tabel 2. Overzicht van de benuttingen aan iso- α -zuren, dihydro-iso- α -zuren en tetrahydro-iso- α -zuren, bekomen bij de hoge gistingsbieren (tijdstip toevoeging: transfer 'gisttank - lagering').

Extract	Benutting (%)
ISO	75
DIHYDRO	83
TETRA	64

- Proefbrouwsels bekomen met geavanceerde hopproducten zijn sensorisch moeilijk te differentiëren van conventioneel gehopte bieren.
- Het tijdstip van toediening van iso- α -zurenextract of dihydro-iso- α -zurenextract heeft een duidelijke invloed op de organoleptische eigenschappen van het eindproduct. Bieren die 100% gebitterd werden met iso- α -zuren of dihydro-iso- α -zuren bij einde wortkoking of aanvang hoofdgisting, werden sensorisch geprefereerd t.o.v. bieren die 100% gebitterd werden na de hoofdgisting.
- De bitterheid van bieren, bekomen met 100% dihydro-iso- α -zuren, werd gunstig geëvalueerd (zachte bitterheid). Bovendien kon de vorming van de lichtsmaak niet waargenomen worden na bestralingsexperimenten.
- Het bijbitteren met tetrahydro-iso- α -zuren heeft een gunstig effect op de schuimstabiliteit en geen negatieve invloed op de perceptie van de (na)bitterheid.

- Het toevoegen van zuivere hopolie bij aanvang hoofdgisting (introducieren van 'late' hoparoma) heeft een gunstig effect op het aroma en het hoppig karakter, zowel bij lage als hoge gistingsbieren.
- Bij hoge gistingsbieren, gebitterd met 100% (gereduceerde) iso- α -zurenextracten, werd het gebruik van zuivere hopolie tijdens de lagering ('dry' hopping) eveneens positief beoordeeld.
- Met iso- α -zurenextract (ev. aangevuld met tetrahydro-iso- α -zuren voor verbetering van de schuimstabiliteit) en zuivere hopolie, worden bieren met een zeer aangenaam flavourprofiel bekomen (zachte bitterheid en gewenst hoparoma).

Technologieverspreiding

Aan de effectieve implementatie van de onderzoeksresultaten namen zes van de negen brouwerijen van de gebruikerscommissie deel. De toepassingen waren van diverse aard, gaande van het deels vervangen van hoppellets door niet-geïsomeriseerd hopextract of tetrahydro-iso- α -zurenextract, tot volledige hopping met iso- α -zurenextract.

De industriële brouwproeven werden steeds positief beoordeeld, zowel op analytische, als op sensorische basis. Vooral het feit dat het flavourprofiel van de commerciële bieren goed benaderd werd met de nieuwe hopproducten is zeer belangrijk, in het kader van de valorisatie van het HOBU-project. Verdere verspreiding van de onderzoeksresultaten is gebeurd via een infodag 'High Tech Hopping' voor de Vlaamse brouwerijen (van Waesberghe, 2000).

REFERENTIES

Benitez J.L., Forster A., De Keukeleire D., Moir M., Sharpe F.R., Verhagen L.C. & Westwood K.T. *Hops and Hop Products*, EBC Manual of Good Practice. Nürnberg, Duitsland: Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 1997.

Chapman J. *Hop Products Contribution to Beer Flavour*. Ferment, **1**, 22, 1988.

Combes R.P. *Hop Products*. The Brewer, January, 29, 1998.

De Cooman L., Aerts G., Overmeire H. & De Keukeleire D. *Alterations of the Profiles of Iso- α -acids During Beer Ageing, Marked Instability of Trans-Iso- α -Acids and Implications for Beer Bitterness Consistency in Relation to Tetrahydroiso- α -Acids*. Journal of The Institute of Brewing, **106**, 2000.

De Cooman L., Aerts G., Overmeire H., De Rouck G., Samaey S. & De Keukeleire D. *Geavanceerde Hopproducten: Evaluatie en Toepassingsmogelijkheden in KMO Brouwerijen*. Cerevisia, **23** (2), 38, 1998.

De Cooman L., Overmeire H., Aerts G. & De Keukeleire D. *Hopproducten. Informatiebrochure HOBU-Project 970117 'Evaluatie van de Kwaliteit en Toepassing in de Brouwerij van Geavanceerde Hopproducten, Gebaseerd op Bitterstoffen en Aroma's'*, 47 pp., 1999.

Deinzer M. & Yang X. *Hop Aroma: Character Impact Compounds Found in Beer, Methods of Formation of Individual Compounds*. EBC Monograph XXII, EBC-Symposium on Hops, Zoeterwoude, Nederland, 1994. Nürnberg, Duitsland: Fachverlag Hans Carl, 181, 1994.

De Keukeleire D. *The effects of Hops on Flavour Stability and Beer Properties*. Cerevisia, **18** (4), 33, 1993.

De Keukeleire D. *Role of Isohumulones and Reduced Isohumulones in Head Retention*.

In: Post-Fermentation: The Final Touch. J. De Clerck Chair VII, Leuven, België, 1996.

Gardner D. *Advances in Brewing Technology - Hops*. The Brewer, April, 165, 1997.

Hay B.A., Homiski J.W. & Howie J.L. *Differences in Ultraviolet Absorbance of Tetrahydro-iso- α -acid Components*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, **52**, 54, 1994.

Held R. *Hop Products: Extracts, Pellets, and Modified Alpha, Beta Acids*. Technical Quarterly of the Master Brewers Association of the Americas, **35**, 133, 1998.

Hughes P.S. *The Lightstruck Flavour Problem*. Cerevisia, **24** (2), 21, 1999.

Hughes P.S. & Simpson W.J. *Production and Composition of Hop Products*. Technical Quarterly of the Master Brewers Association of the Americas, **30**, 146, 1993.

Peacock V.E. & Deinzer M.L. *Chemistry of Hop Aroma in Beer*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, **39**, 136, 1981.

van Waesberghe J.W.M. *High-tech hopping*. VMT, **8**, 22, 2000.

Verzele M. & De Keukeleire D. *Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids*. Amsterdam, Nederland: Elsevier, 1991.

DANKWOORD

Het IWT (Vlaams Instituut voor de Bevordering van het Wetenschappelijk-Technologisch Onderzoek in de Industrie, Bischoffsheimlaan 25, B-1000 Brussel) wordt bedankt voor de financiële steun in het kader van het HOBU Fonds - IWT Project 970117 'Evaluatie van de kwaliteit en toepassing in de brouwerij van geavanceerde hopproducten, gebaseerd op bitterstoffen en aroma's'. Ing. B. Van Hijfte (KaHo St.-Lieven, Dep. Industrieel Ingenieur, Gent) wordt bedankt voor de technische assistentie.