

A. Forster, B. Beck, R. Schmidt, C. Jansen und A. Mellenthin

Über die Zusammensetzung von niedermolekularen Polyphenolen in verschiedenen Hopfensorten und zwei Anbaugebieten

Das Arbeitsgebiet über niedermolekulare Polyphenole in der Pflanzenwelt und in Lebensmitteln wird derzeit intensiv erforscht. Im vorliegenden Beitrag haben sich zwei Teams systematisch mit der Zusammensetzung niedermolekularer Polyphenole im Brauereirohstoff Hopfen befasst. Mehr als 100 Einzelkomponenten können mittels HPLC getrennt werden. Die meisten davon sind mittels DAD-Spektren und HPLC-MS-Koppelung charakterisierbar. Anhand zweier Ernten werden 11 wichtige europäische Hopfensorten in ihren Zusammensetzungen der niedermolekularen Polyphenole beschrieben. Es resultieren teils deutliche Unterschiede. Beim Vergleich der Anbaugebiete Hallertau und USA sind bei den untersuchten Sorten Perle und Nugget einige abgesicherte Differenzierungen in drei Ernten ableitbar. Damit glückte erstmalig der Nachweis, dass sich Anbaugebiete auf die chemische Zusammensetzung von Hopfen auswirken können. Je nach Polyphenol-Philosophie einer Brauerei sind Möglichkeiten aufgezeigt, den Rohstoff Hopfen bewusster nach Sorte und Anbaugebiet auszuwählen.

BC 12 Hopfen

(Deskriptoren: Polyphenole in Hopfen, HPLC-MS von Hopfenpolyphenolen, Hopfensorten, Hopfenanbaugebiete.

Descriptors: Hop-polyphenols, HPLC-MS, hop-varieties, hop growing-areas, analysis).

1 Einleitung

Polyphenole und hier besonders die niedermolekularen aus Hopfen erfreuen sich in der jüngsten Zeit größerer Aufmerksamkeit, was ihren vermuteten physiologisch positiven Eigenschaften zuzuschreiben ist. Die Firma NATECO₂ befasst sich seit 1993 mit der Analytik von Hopfenpolyphenolen (1, 2, 3). Die Arbeitsgruppe an der Universität Bonn untersucht in mehreren Projekten Polyphenole in Bier und Braurohstoffen mittels HPLC/MS (4).

Über den Einfluss verschiedener Hopfensorten auf die Zusammensetzung niedermolekularer Polyphenole hat *van Sumere* (5) erstmalig berichtet. Allerdings stellte er nur einige Ergebnisse von Einzelproben vor, was zwangsläufig zu keinen abgesicherten Schlussfolgerungen führen konnte.

In diesem Beitrag werden systematische Untersuchungen über die unterschiedliche Zusammensetzung von niedermolekularen Polyphenolen in 11 Hopfensorten dargestellt. Zusätzlich erfolgt erstmalig eine Bearbeitung der Fragestellung, ob sich generell unterschiedliche Anbaugebiete wie USA oder die Hallertau auf die Gehalte an niedermolekularen Polyphenole auswirken können.

2 Material und Methoden

2.1 Probenmaterial

Tabelle 1 enthält eine Aufstellung der untersuchten Hopfensorten. Aus 2 Ernten (1997 und 1998) wurden jeweils 5 Hopfenpartien einer jeden Sorte ausgewählt, wobei man lediglich darauf achtete, dass die Proben ähnlich frisch waren. Beim Vergleich der beiden Anbaugebiete wurden die beiden Sorten Nugget und Perle über drei Jahrgänge (1996 – 1998) untersucht.

Als Standards für die Peakidentifizierung standen die nachfolgend aufgeführten Substanzen zur Verfügung, vertrieben durch Firma Roth: Protocatechusäure (Peak 50 in Abb. 1 bzw. Abb. 2), Catechin (71), Chlorogensäure (90), p-Cumarsäure (170), Ferulasäure (190), Quercetin-3-galaktosid (221), Quercetin-3-glucosid (230), Quercetin-3-rutinosid (231), Kämpferol-3-glucosid (270), durch Firma Sigma-Aldrich: Prodelphinidin B3 (45), Procyanidin B3 (61), 4-Hydroxybenzoesäure (69), Sinapinsäure (195), und durch Firma Phytochem: Xanthohumol.

Tabelle 1 Untersuchte Hopfensorten

CZ-SA	=	Tschechischer Saazer	aus Saaz
T TE	=	Tettnanger	aus Tettnang
H SE	=	Spalter Select	aus der Hallertau
H HA	=	Hallertauer mittelfrüh	aus der Hallertau
H HT	=	Hallertauer Tradition	aus der Hallertau
H HE	=	Hersbrucker	aus der Hallertau
H PE	=	Perle	aus der Hallertau
H NB	=	Northern Brewer	aus der Hallertau
H NU	=	Nugget	aus der Hallertau
H TU	=	Hallertauer Taurus	aus der Hallertau
H HM	=	Hallertauer Magnum	aus der Hallertau

Peak	Substanz	1	2	3	4	5	6	7	Ø	s	Vk
71	Catechin	81	79	83	84	85	81	81	82	± 2.08	2.5
130	Epicatechin	19	20	19	21	23	20	19	20	± 1.46	7.3
170	p-Cumarsäure	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.2	1.1	1.1	± 0.08	7.4
230/231	Quercetinglucosid/-rutosid	68	66	75	71	69	69	69	70	± 2.82	4.1
270	Kämpferolglucosid	50	47	49	46	46	49	50	48	± 1.77	3.7
290	Kämpferolmalonylhexosid	72	60	47		65	62	62	63	± 5.14	8.2

2.2 Analytik der niedermolekularen Polyphenole

Es sollen hier nur die wichtigsten Schritte wiedergegeben werden. Eine repräsentative, gemahlene Hopfenprobe (3,5 g) wird mit einem Aceton-Wassergemisch 75 : 25 (100 ml) extrahiert. Die Lösung wird zentrifugiert und anschließend 75 ml davon mit Chloroform (30 ml) von unpolaren Bitterstoffen durch Ausschüteln gereinigt. Die überstehende Lösung (ca. 20 ml) wird von Aceton befreit, auf 50 ml aufgefüllt und 10 ml davon auf eine Polyamidkartusche überführt. Die Polyphenole werden in 2 Schritten ausgewaschen, nämlich eine 1. Fraktion mit 75 ml Methanol und eine 2. Fraktion mit 20 ml alkalischem Methanol.

Beide Lösungen werden getrennt durch Verdampfen aufkonzentriert und anschließend membranfiltriert.

Der Nachweis erfolgt über eine Gradienten-HPLC-Anlage mit Dioden-Array-Detektor (DAD). Als Eluenten A und B dienen ein Wasser-Ameisensäuregemisch = A (95 : 5) und ein Methanol-Acetonitril-Ameisensäuregemisch = B (95 : 5 : 5), wobei in mehreren Schritten vom Eluenten A (100 %) zum Eluenten B (100 %) gewechselt wird. Eine geeignete Säule ist z.B. die ODS

Ultrasphere von Beckman (eine C18 Phase). Über den DAD können permanent die Spektren der einzelnen Peaks aufgezeichnet werden, was ihre Identifikation erleichtert. Über die Charakteristika der UV-Spektren wurden die detektierten Verbindungen zu den folgenden 7 Substanzklassen zusammengefasst:

- Hydroxybenzoesäuren
- Hydroxyzimtsäuren
- Flavanele
- Proanthocyanidine
- Quercetinflavonoide
- Kämpferolflavonoide
- Sonstige Flavonoide.

Zur Zeit können etwa 40 Einzelkomponenten zugeordnet und quantifiziert werden. Tabelle 2 zeigt beispielhaft für 6 Komponenten eine typische Reproduzierbarkeitsserie aus 6 bzw. 7 Einzelbestimmungen. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen Chromatogramme der beiden Fraktionen bei verschiedenen Wellenlängen.

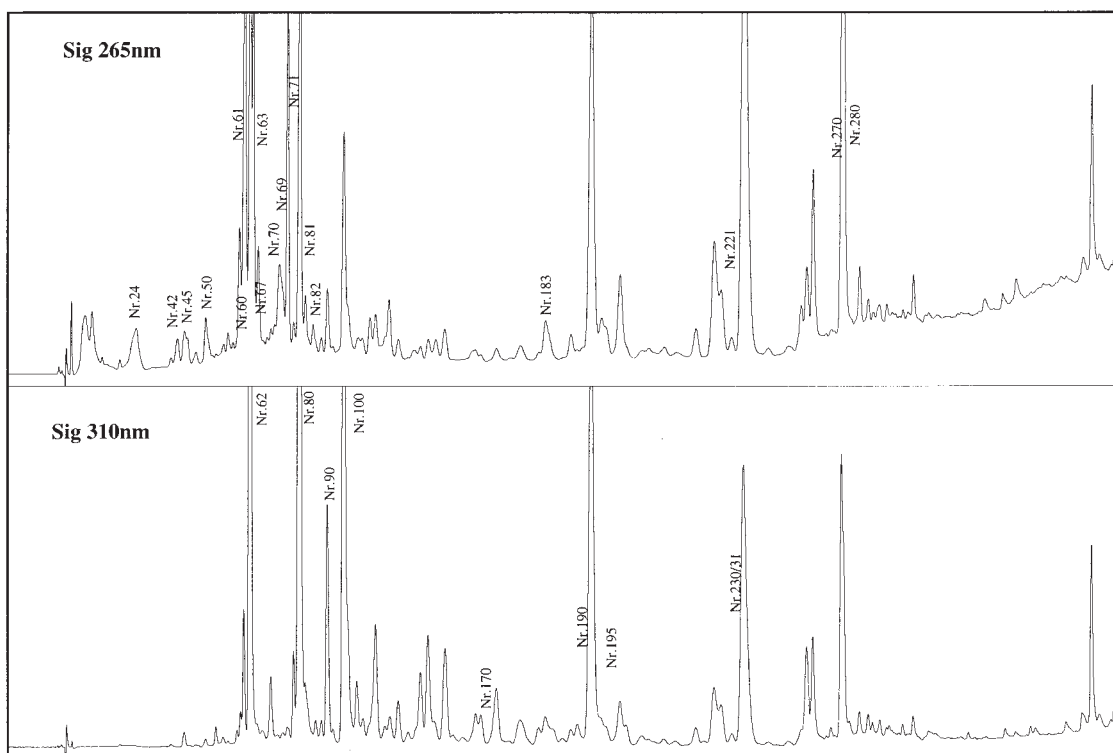


Abb. 1 Polyphenolbestimmung HPLC-DAD Hopfen – 1. Fraktion

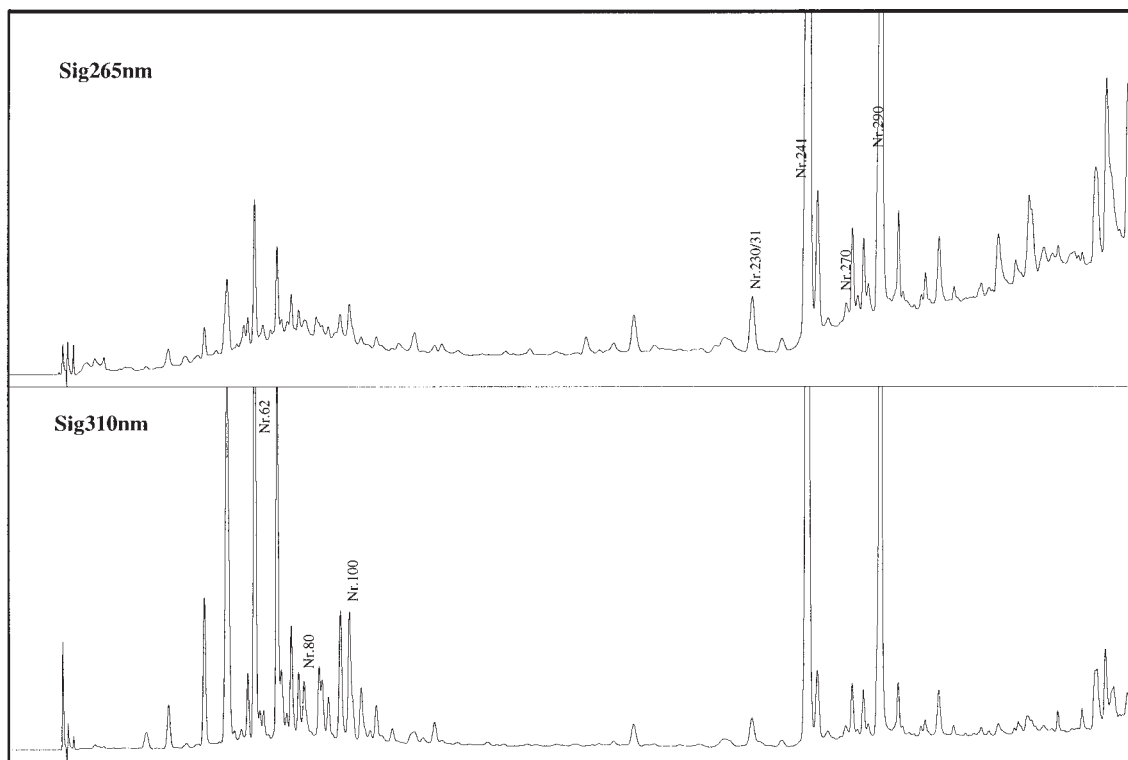


Abb. 2 Polyphenolbestimmung HPLC-DAD Hopfen – 2. Fraktion

Die Ergebnisse der Bestimmungen wurden in folgende Datensätze zusammengefasst:

- Quantitative Bestimmung der Einzelkomponenten;
- Zusammenfassung der Einzelsubstanzen in den 7 Substanzgruppen;
- Summe aller mit HPLC auswertbarer niedermolekularer Polyphenole.

Um festzustellen, ob sich die Daten verschiedener Sorten signifikant unterscheiden, wurde jeweils das Konfidenzintervall nach der folgenden Formel berechnet:

$$\mu = m \pm t_f \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} = m \pm a$$

- μ = wahrer Wert
- m = Mittelwert des Probenblockes
- t_f = t-Verteilung bei 95 %, wobei f = Freiheitsgrade = n-1
- s = Standardabweichung
- n = Umfang der Stichprobe
- a = Konfidenzintervall

Nur wenn sich die Konfidenzintervalle nicht überlappen, liegt ein statistisch gesicherter Mengenunterschied der jeweiligen Substanz bei den verglichenen Probenblöcken vor.

2.3 Massenspektrometrische Charakterisierung unbekannter Substanzen

Für viele der detektierten Hopfeninhaltsstoffe sind keine Standardsubstanzen erhältlich. Die Charakterisierung der unbekann-

ten Verbindungen in den einzelnen Substanzklassen wurde deshalb über die massenspektrometrische Detektion vorgenommen. Es wurde ein Ionenfallen-Massenspektrometer (LCQ, ThermoFinnigan, Egelsbach, Deutschland) mit Elektrosprayinterface verwendet, das eine stufenweise Fragmentierung der Substanzen ermöglicht. Über die Fragmentierungsmuster kann auf die Struktur der Moleküle zurückgeschlossen werden. Auf diese Weise kann z.B. die Sequenz der Flavanolbausteine in Proanthocyanidinen ermittelt werden (4) oder Aussagen über Aglykon und Zuckerbausteine in Flavonolglykosiden gemacht werden (6). Eine Differenzierung von Isomeren ist nur möglich, wenn sie sich in ihrem Fraktionierungsmuster unterscheiden. Die Flavanole Catechin und Epicatechin oder isomere Zuckerbausteine können nicht unterschieden werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Ergebnisse der Substanzcharakterisierung

Unter den Substanzen mit Hydroxyzimtsäure-UV-Spektren der Fraktion 1 treten Chinasäureester der p-Cumarsäure (Peak 80), der Kaffeesäure (Peaks 62 und 90) und der Ferulasäure (Peaks 100 und 171) hervor. Die phenolischen Säuren und ihre Ester lassen sich in der Ionenquelle nur schwer ionisieren. Deshalb ist ihre Charakterisierung trotz deutlicher Peaks im UV-Spektrum schwierig.

Im gleichen Zeitraum eluieren eine Reihe von Proanthocyanidinen. Bei den meisten handelt es sich um Procyanidine, die nur aus Catechin bzw. Epicatechin-Einheiten (c) aufgebaut sind, darunter mehrere Dimere (Peaks 61, 63, 70, 81 und 82) und Trimere (Peaks 24, 60, 67 u.a.). Außerdem wurden zwei Prodelphinidin-Dimere identifiziert (Peaks 42 und 45), die im oberen bzw. im unteren Molekülteil eine Gallocatechin- oder Epigallocatechin-Einheit (gc) tragen.

Tabelle 3 Summe der niedermolekularen Polyphenole in den Ernten 1997 und 1998 (Werte in mg/100 g lfr.)

	CZ-SA	TTE	HSE	HHT	HHA	HHE	HPE	HNB	HTU	HNU	HHM
Ernte 1997	2047	1590	1701	1456	1504	1275	943	1023	845	692	523
Ernte 1998	1542	1269	1187	1206	1106	834	797	775	645	544	441
98 : 97% rel.	75	80	70	83	73	65	85	76	75	79	84
Position 1997	1	3	2	5	4	6	8	7	9	10	11
Position 1998	1	2	4	3	5	6	7	8	9	10	11

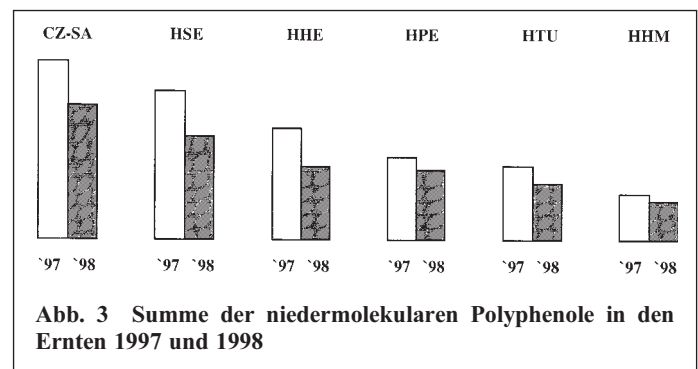
In der zweiten Hälfte des Chromatogrammes werden vor allem Glykoside der Flavonole Quercetin und Kämpferol detektiert. In der ersten Fraktion lassen sich das Quercetinglucosid (Q-glc Peak 230) und Kämpferolglucosid (K-glc Peak 270) über Standardsubstanzen identifizieren. Direkt vor den Glucosiden eluieren zwei weitere Hexoside Q-hex und K-hex, bei denen es sich um die Galactoside handeln könnte. Auf das Quercetinglucosid folgt direkt das entsprechende Rutinosid (Q-glc-rham Peak 231), auf das Kämpferolglucosid folgt ebenfalls ein Kämpferoldiglykosid, das analog dem Quercetinrutinosid bei der Fragmentierung zuerst eine Desoxyhexose (dohex) und dann eine Hexose (hex) abspaltet (K-hex-dohex Peak 280). Dabei könnte es sich also um das Kämpferolrutinosid handeln. Man findet noch 2 weitere Diglykoside Q-hex-dohex und K-hex-dohex mit Molekülmassen analog den Rutinosiden, 2 Quercetindiglykoside Q-hex-hex mit je 2 Hexoseresten (z.B. Peak 183) sowie 3 Triglykoside Q-hex-dohex-dohex, K-hex-dohex-dohex, Q-hex-dohex-hex.

In der zweiten Fraktion finden sich neben den Glucosiden zwei Glykosidpeaks, deren Fragmentierung auf Malonsäureester der Monohexoside schließen lässt (Q-hex-malonat Peak 241 und K-hex-malonat Peak 290). Eine ausführliche Beschreibung der Peakidentifizierung soll an anderer Stelle erfolgen. *Sägesser* und *Deinzer* (7) haben bei ihren Hopfenanalysen entsprechende Beobachtungen gemacht.

3.2 Unterscheidung von Hopfensorten

3.2.1 Summe der niedermolekularen Polyphenole

In Tabelle 3 sind die Mittelwerte der Summe aller niedermolekularen Polyphenole für die beiden Ernten 1997 und 1998 sortendifferenziert aufgeführt. Die Unterschiede lassen sich in Abbildung 3 mit 6 Sorten noch deutlicher erkennen und wie folgt ableiten:

**Abb. 3** Summe der niedermolekularen Polyphenole in den Ernten 1997 und 1998

- In der Ernte 1998 waren deutlich weniger Polyphenole bestimmbar als in der Vorjahresernte. Das Verhältnis zwischen den beiden betrachteten Ernten ähnelt sich bei allen Sorten (65 – 85 %). Die Reihenfolge der Gesamtmengen je nach Sorte verschiebt sich zwischen den Erntejahren nur geringfügig.
- Der Gehalt an Polyphenolen schwankt bei Aromahopfen zwischen Saazer (1,5 bis 2,0 Gew.-%) und Hersbrucker (1,0 bis 1,3 Gew.-%). Neuere Aromasorten wie Spalter Select und Hallertauer Tradition zeigen ein ähnliches Niveau an Polyphenolen wie klassische Aromahopfen.
- Bitterhopfen liegen im Gehalt niedermolekularer Polyphenole deutlich niedriger.

3.2.2 Substanzgruppen

Die Resultate der Auswertung nach den 7 Substanzgruppen sind nach Sorte und Jahrgang getrennt in Tabelle 4 enthalten. Interessant ist, dass sich eine klare Jahrgangsabhängigkeit nicht bei allen

Tabelle 4 Substanzgruppen niedermolekularer Polyphenole (Werte in mg/100 g lfr.)

	Klassische Aromahopfen								Neuere Aromahopfen						Bitterhopfen							
	CZ-SA		TTE		HHA		HHE		HSE		HHT		HPE		HNB		HTU		HNU		HHM	
	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998	1997	1998
Hydroxyzimtsäuren	223	195	168	154	181	136	181	133	211	162	182	172	151	288	146	119	59	107	108	182	68	59
Hydroxybenzoesäuren	10	7	9	9	9	7	6	4	2	2	6	4	1	1	5	3	2	1	<1	<1	5	3
Flavonole	191	193	137	129	99	103	110	87	145	137	113	130	109	133	66	76	56	41	100	94	32	38
Proanthocyanidine	599	413	448	280	330	227	366	220	540	361	372	295	209	181	239	182	192	102	162	111	108	91
Quercetinflavonoide	226	246	185	223	206	210	126	130	165	168	132	157	88	118	102	109	99	102	101	125	68	82
Kämpferflavonoide	304	262	235	240	264	232	183	172	233	206	197	191	101	91	150	132	93	88	55	60	71	70
Andere Flavonoide	4	6	5	7	10	12	10	11	7	8	8	8	3	1	9	10	8	10	3	1	8	10

Tabelle 5 Konfidenzintervalle für Substanzgruppen und deren Sorteneinfluss in der Ernte 1997 (mg/100 g lfr.)

	CZ-SA	TTE	HSE	HHT	HHA	HHE	HNB	HHM	Sorteneinfluss
Hydroxyzimtsäuren	184 – 264	149 – 188	172 – 249	174 – 191	155 – 208	160 – 201	130 – 161	65 – 72	schwach – mittel
Hydroxybenzoesäuren	8 – 12	8 – 11	2 – 3	6 – 7	7 – 10	4 – 7	5 – 6	4 – 5	schwach
Flavanole	159 – 224	123 – 151	111 – 179	100 – 125	83 – 116	86 – 133	59 – 74	29 – 35	sehr deutlich
Proanthocyanidine	505 – 691	415 – 503	448 – 633	329 – 415	275 – 385	289 – 444	206 – 272	100 – 116	sehr deutlich
Quercetinflavonoide	202 – 249	150 – 219	127 – 203	125 – 139	162 – 251	115 – 137	88 – 116	64 – 73	deutlich
Kämpferolflavonoide	264 – 343	191 – 279	198 – 267	188 – 206	218 – 309	166 – 200	135 – 165	66 – 76	mittel – deutlich
Andere Flavonoide	3 – 4	3 – 4	6 – 9	5 – 10	8 – 11	9 – 11	8 – 11	7 – 8	schwach

Tabelle 6 Konfidenzintervalle für Substanzgruppen und deren Sorteneinfluss in der Ernte 1998 (mg/100 g lfr.)

	CZ-SA	TTE	HSE	HHT	HHA	HHE	HNB	HHM	HTU	Sorteneinfluss
Hydroxyzimtsäuren	165 – 220	137 – 171	155 – 169	162 – 182	107 – 165	119 – 148	109 – 129	52 – 66	68 – 86	mittel
Hydroxybenzoesäuren	4 – 10	8 – 9	2 – 4	3 – 7	5 – 9	2 – 5	3 – 5	2 – 4	0	schwach
Flavanole	163 – 223	106 – 151	121 – 153	105 – 154	81 – 125	79 – 95	67 – 85	31 – 44	25 – 36	sehr deutlich
Proanthocyanidine	376 – 449	245 – 314	328 – 394	240 – 351	179 – 284	190 – 250	161 – 203	69 – 112	57 – 87	sehr deutlich
Quercetinflavonoide	216 – 277	196 – 250	157 – 180	147 – 166	153 – 257	118 – 142	100 – 117	74 – 90	94 – 109	deutlich
Kämpferolflavonoide	233 – 290	217 – 263	197 – 215	182 – 200	190 – 274	151 – 193	114 – 156	65 – 75	63 – 73	deutlich
Andere Flavonoide	4 – 8	5 – 9	7 – 10	7 – 9	9 – 15	10 – 12	9 – 11	9 – 11	6 – 14	schwach

Substanzgruppen gleichermaßen feststellen läßt. Zwischen starkem und keinem Einfluss ergibt sich ein Gefälle von Hydroxyzimtsäuren über Proanthocyanidine, Flavanole und Hydroxybenzoesäuren bis zu den Flavonoiden.

Aus den Tabellen 5 und 6 lassen sich die Konfidenzintervalle für die Substanzgruppen in den Ernten 1997 bzw. 1998 entnehmen. Bei den Proanthocyanidinen und Flavanolen zeigt sich der Einfluss der Hopfensorte auf die Gehalte dieser Substanzgruppen am stärksten. Die Abbildungen 4 und 5 veranschaulichen dies noch einmal graphisch. Auch bei den Kämpferol- und Quercetinderivaten zeigt sich noch ein deutlicher Sorteneinfluss. Die Gehalte an Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren werden dagegen von der Hopfensorte weniger bestimmt. Insgesamt überlappen die

Konfidenzintervalle der nach Substanzgruppen zusammengefassten niedermolekularen Polyphenole noch so stark, dass eine sichere Unterscheidung aller Hopfensorten über diese Werte alleine nicht möglich ist.

3.2.3 Einzelkomponenten

Von den 70 ausgewerteten Substanzen sind in Tabelle 7 neun aufgeführt, die sich je nach Sorte differenzieren. Die Konfidenzintervalle sind hier der Übersicht halber nur für die Ernte 1998 dargestellt. Die Konfidenzintervalle der Einzelkomponenten sind kleiner als die der Substanzgruppen, so dass sich weniger Überlappungen und damit mehr signifikante Unterschiede zwischen

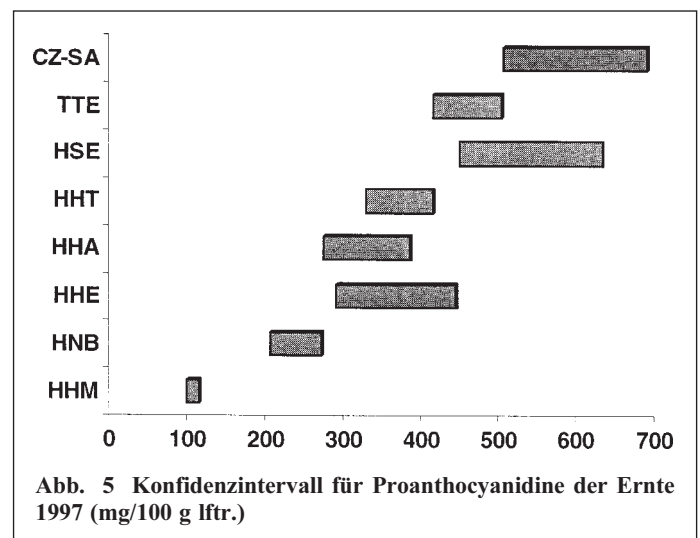
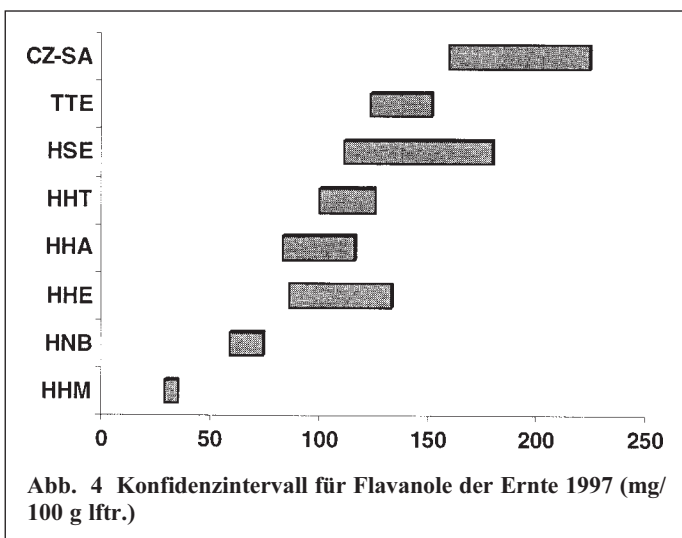


Tabelle 7 Konfidenzintervalle einiger Einzelkomponenten Ernte 1998 (mg/100 g lfr.)

Peak	Substanz	CZ-SA	TTE	HSE	HHT	HHA	HHE	HPE	HNB	HNU	HTU	HHM
61	Procyanidin B3	79 – 95	52 – 72	71 – 82	50 – 70	44 – 54	38 – 55	41 – 50	35 – 42	29 – 36	11 – 15	20 – 26
63	Procyanidin B1	90 – 131	65 – 82	91 – 108	59 – 88	41 – 72	57 – 69	45 – 55	37 – 47	31 – 39	7 – 16	16 – 24
67	Procyanidin-Trimer	30 – 44	12 – 18	20 – 31	13 – 20	5 – 14	12 – 19	6 – 8	7 – 10	2 – 4	1 – 4	2 – 6
71	Catechin	139 – 178	88 – 119	102 – 120	86 – 127	68 – 92	59 – 76	101 – 116	52 – 66	62 – 79	11 – 15	22 – 30
100	Hydroxyzimtsäure	29 – 38	23 – 32	27 – 34	31 – 38	20 – 33	23 – 27	22 – 25	19 – 21	16 – 19	11 – 15	10 – 12
189	?	69 – 83	75 – 102	38 – 48	113 – 131	45 – 63	6 – 11	90 – 106	70 – 86	18 – 22	49 – 67	34 – 43
241	Quercetinmalonylhexosid	139 – 159	119 – 148	86 – 101	78 – 99	81 – 157	40 – 51	49 – 57	48 – 59	56 – 68	39 – 43	24 – 32
250	Kämpferoltriglycosid	2 – 3	4 – 8	10 – 14	10 – 13	8 – 14	5 – 9	8 – 10	12 – 16	0 – <1	4 – 5	7 – 10
290	Kämpferolmalonylhexosid	161 – 199	140 – 174	120 – 131	105 – 125	104 – 174	61 – 77	42 – 49	59 – 77	29 – 37	26 – 31	18 – 23

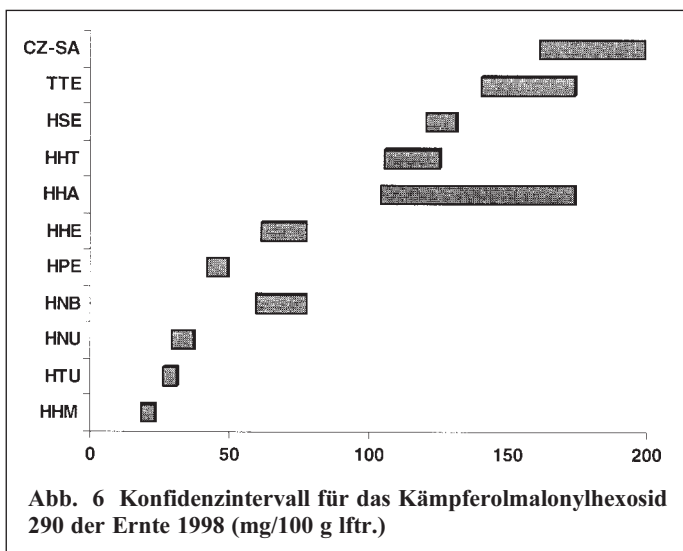
den Hopfensorten ergeben. Abbildung 6 zeigt dies beispielhaft für das Kämpferolmalonylhexosid (Peak 290). Kleinere Peaks sind in der Tabelle nicht aufgeführt. Einige dieser Komponenten sind signifikant für spezifische Sorten. Dennoch ist es nicht möglich, die Sortenunterscheidung anhand einer einzelnen Indikatorsubstanz vorzunehmen. Dazu müssen mehrere Substanzen gleichzeitig betrachtet werden. Niedermolekulare Polyphenole können also helfen, Hopfensorten voneinander abzugrenzen.

3.3 Unterscheidung von 2 Anbaugebieten

Es wurden die beiden Anbaugebiete USA und Hallertau verglichen. Dazu wurden 2 Hopfensorten (Perle und Nugget) ausgewählt und die Gehalte niedermolekularer Polyphenole über drei Erntejahre hinweg verfolgt.

3.3.1 Summe der niedermolekularen Polyphenole

Tabelle 8 gibt zunächst nur die Mittelwerte der Gehalte aller ausgewerteten niedermolekularen Polyphenole wieder. Es ist aus dieser Übersicht ersichtlich, dass beide Sorten in allen drei Ernten im Anbaugbiet Hallertau ein höheres Niveau an niedermolekularen Polyphenolen im Vergleich zu den USA aufweisen.



3.3.2 Substanzgruppen

Die Tabellen 9 und 10 enthalten die jeweiligen Summen der Gehalte, getrennt nach den Polyphenolgruppen. Während bei beiden Flavonoidgruppen auf den ersten Blick keine relevanten Unterschiede auffallen, ist dies bei den anderen Substanzgruppen durchaus der Fall.

Tabelle 8 Summe der quantifizierten Polyphenole (mg/100 g lfr.)

	USA				Hallertau			
	'96	'97	'98	Ø	'96	'97	'98	Ø
Perle	835	860	735	810	984	960	974	973
Nugget	555	561	530	549	872	702	651	742

Tabelle 9 Substanzgruppen – Perle (mg/100 g lfr.)

	USA				Hallertau			
	'96	'97	'98	Ø	'96	'97	'98	Ø
Hydroxyzimtsäuren	264	255	206	242	336	288	288	304
Flavane	86	89	80	85	93	109	133	112
Proanthocyanidine	165	154	108	142	200	209	181	197
Quercetinflavonoide	96	102	117	105	106	88	118	104
Kämpferolflavonoide	82	115	108	101	76	94	91	87

Tabelle 10 Substanzgruppen – Nugget (mg/100 g lfr.)

	USA				Hallertau			
	'96	'97	'98	Ø	'96	'97	'98	Ø
Hydroxyzimtsäuren	144	150	122	139	259	197	182	213
Flavane	73	80	80	78	115	100	94	103
Proanthocyanidine	122	106	93	107	216	162	111	163
Quercetinflavonoide	98	99	114	104	140	105	125	123
Kämpferolflavonoide	42	57	49	49	52	55	60	56

Tabelle 11 Konfidenzintervalle von Einzelpolyphenolen – Nugget (mg/100 g Iftr.)

Peak	1996		1997		1998	
	Hallertau	USA	Hallertau	USA	Hallertau	USA
24 Procyanidin-Trimer	2 – 4	0.4 – 1.1	9 – 12	0.8 – 3	2 – 5	0.5 – 4
61 Procyanidin B3	62 – 75	33 – 39	45 – 50	26 – 31	29 – 36	18 – 23
62 Kaffeylchinasäure	102 – 125	44 – 53	63 – 74	42 – 51	51 – 68	28 – 36
63 Procyanidin B1	55 – 71	32 – 41	46 – 55	33 – 41	32 – 40	27 – 34
70 Procyanidin-Dimer	45 – 51	23 – 25	27 – 29	15 – 17	20 – 23	13 – 16
71 Catechin	73 – 92	46 – 53	72 – 84	54 – 63	60 – 81	51 – 68
82 Procyanidin B2	66 – 76	30 – 38	48 – 58	31 – 40	42 – 58	27 – 38
100 Hydroxyzimtsäure	42 – 48	27 – 31	36 – 41	29 – 35	37 – 46	23 – 29
170 p-Cumarsäure	1.5 – 1.7	1.0 – 1.2	1.2 – 1.3	0.6 – 0.8	1.5 – 1.8	0.9 – 1.3
189 ?	25 – 29	13 – 16	15 – 18	10 – 12	18 – 22	12 – 15
192 Quercetinflavonoid	2.8 – 3.5	1.5 – 2.2	2.1 – 2.7	1.4 – 1.7	2.0 – 2.7	0.9 – 1.9
241 Quercetinmalonylhexosid	62 – 72	35 – 42	57 – 64	48 – 55	55 – 70	43 – 54
242 Quercetinmalonylhexosid	5.1 – 6.0	2.6 – 3.3	2.8 – 3.3	2.3 – 2.7	3.9 – 5.1	3.0 – 3.8
290 Kämpferolmalonylhexosid	29 – 33	19 – 24	30 – 33	26 – 27	30 – 37	19 – 23

Tabelle 12 Konfidenzintervalle von Einzelpolyphenolen – Perle (mg/100 g)

Peak	1996		1997		1998	
	Hallertau	USA	Hallertau	USA	Hallertau	USA
10 ?	1.3 – 2.0	0	0.2 – 1.1	0	0.8 – 2.4	0
42 Prodelphinidin-Dimer	23 – 29	9 – 18	29 – 34	19 – 25	23 – 28	8 – 15
61 Procyanidin B3	64 – 70	46 – 53	51 – 58	40 – 48	41 – 50	19 – 30
63 Procyanidin B1	45 – 54	41 – 54	49 – 56	32 – 48	45 – 55	23 – 40
70 Procyanidin-Dimer	30 – 33	21 – 25	22 – 24	12 – 15	20 – 23	8 – 13
71 Catechin	65 – 78	57 – 71	82 – 94	56 – 80	97 – 122	40 – 82
170 p-Cumarsäure	1.7 – 1.9	1.0 – 1.2	1.4 – 1.6	0.5 – 1.0	1.3 – 1.7	0.7 – 1.1
189 ?	104 – 118	68 – 79	94 – 108	63 – 76	90 – 106	48 – 76
220 Quercetinflavonoid	9 – 11	4 – 5	5 – 6	2 – 3	7 – 8	2 – 4
230/231 Quercetinglucosid/-rutinosid	27 – 31	32 – 41	17 – 20	28 – 34	30 – 34	35 – 54
250 Kämpferoltriglycosid	9 – 11	6 – 7	9 – 11	6 – 8	8 – 10	4 – 8
270 Kämpferolglucosid	12 – 14	16 – 22	16 – 19	30 – 39	20 – 23	26 – 43

3.3.3 Einzelkomponenten

Die Tabellen 11 und 12 weisen die Konfidenzintervalle einiger ausgewählter Einzelsubstanzen aus der Gruppe der niedermolekularen Polyphenole aus, bei denen in mindestens zwei Jahrgängen und mehr keine Überlappungen anzutreffen sind und somit statistisch abgesicherte Unterschiede vorliegen. Dabei wurden nur quantitativ sicher auswertbare Peaks ausgewählt. Beim Nugget resultieren daraus 14 und bei der Perle 12 Substanzen, was etwa einem Drittel aller gut quantifizierbaren Substanzen entspricht.

In den Tabellen 13 und 14 sind die Beobachtungen der nicht

überlappenden Konfidenzintervalle in den jeweiligen Erntejahren zusammengefasst. Die letzte Spalte gibt an, für wie viele Ernten dies der Fall ist. Bei den folgenden Einzelkomponenten zeigen sich bei beiden Sorten statistisch abgesicherte Unterschiede zwischen den Anbaugebieten, unabhängig vom Erntejahr: Procyanidin B3, Procyanidin-Dimer 70, p-Cumarsäure und Peak 189.

Es zeigt sich, dass die niedermolekularen Polyphenole durch das jeweilige Anbauggebiet mit seinen klimatischen Bedingungen deutlich geprägt werden. Es gibt Peaks, die nur in dem einen Anbaugebiet gefunden werden können. Mengenmäßige Unterschiede sind bei vielen Komponenten über mehrere Jahrgänge feststellbar.

Tabelle 13 Übersicht für die Sorte Nugget

US = HAL: kein statistisch abgesicherter Unterschied
 HAL > US: Gehalt dieser Komponente im Hallertauer Probenblock höher
 US > HAL: Gehalt dieser Komponente im US Probenblock höher
 n aus 3: Anzahl der Ernten, in denen z.B. HAL > US gilt

Peak		1996	1997	1998	n aus 3
24	Procyanidin-Trimer	HAL > US	HAL > US	HAL = US	2
61	Procyanidin B3	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
62	Kaffeoylchinasäure	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
63	Procyanidin B1	HAL > US	HAL > US	HAL = US	2
70	Procyanidin-Dimer	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
71	Catechin	HAL > US	HAL > US	HAL = US	2
82	Procyanidin B2	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
100	Hydroxyzimtsäure	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
170	p-Cumarsäure	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
189	?	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
192	Quercetinflavonoid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
241	Quercetinmalonylhexosid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
242	Quercetinmalonylhexosid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
290	Kämpferolmalonylhexosid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3

Tabelle 14 Übersicht für die Sorte Perle

US = HAL: kein statistisch abgesicherter Unterschied
 HAL > US: Gehalt dieser Komponente im Hallertauer Probenblock höher
 US > HAL: Gehalt dieser Komponente im US Probenblock höher
 n aus 3: Anzahl der Ernten, in denen z.B. HAL > US gilt

Peak		1996	1997	1998	n aus 3
10	?	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
42	Prodelphinidin-Dimer	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
61	Procyanidin B3	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
63	Procyanidin B1	HAL = US	HAL > US	HAL > US	2
70	Procyanidin-Dimer	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
71	Catechin	HAL = US	HAL > US	HAL > US	2
170	p-Cumarsäure	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
189	?	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
220	Quercetinflavonoid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
230/231	Quercetinglucosid/-rutinosid	US > HAL	US > HAL	US > HAL	3
250	Kämpferoltriglycosid	HAL > US	HAL > US	HAL > US	3
270	Kämpferolglucosid	US > HAL	US > HAL	US > HAL	3

3.3.4 Prenylflavonoide

Zusätzlich wurden in diesen Serien auch die Gehalte an Prenylflavonoiden (Xanthohumole) ermittelt. Die Analytik hierzu wurde 1997 (8) beschrieben. Abbildung 7 zeigt ein HPLC-Chromatogramm eines Hopfens mit den Xanthohumolpeaks. Die Xanthohumole wurden als Summe ausgewertet, da neben dem wichtigsten Xanthohumol die anderen Vertreter keine eigenen Interpreta-

tionen zulassen. Tabelle 15 enthält die Konfidenzintervalle der Xanthohumole für beide Sorten und Anbauggebiete in den jeweiligen Ernten. Da für die Proben der Ernte 1998 eine neue Kalibrier-substanz eingesetzt werden musste, die sich im Niveau von der vorherigen Kalibrierung unterschied, ist eine Verrechnung aller Ernten als jeweils ein Probenblock nicht möglich.

In allen drei betrachteten Jahrgängen zeigt sich ein statistisch

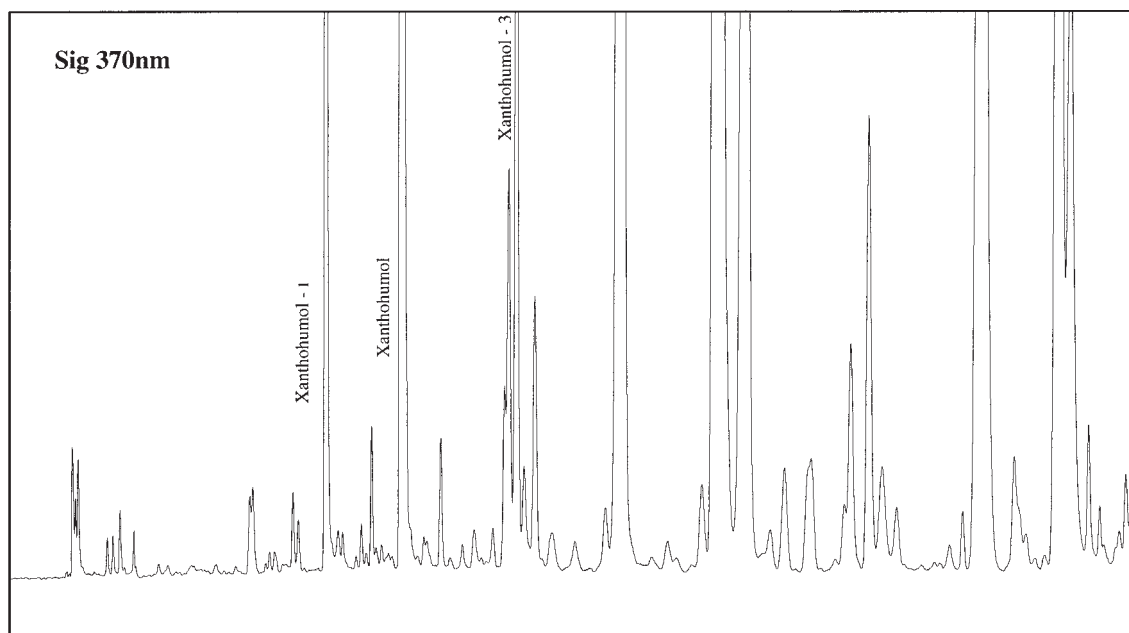


Abb. 7 Xanthohumolbestimmung HPLC-DAD Hopfen

Tabelle 15 Konfidenzintervalle der Xanthohumole (Werte in g/100 g lfr.)

		1996		1997		1998*		n aus 3
		US	HAL	US	HAL	US	HAL	
Nugget	% rel.	0.48 – 0.50	0.53 – 0.56	0.46 – 0.49	0.61 – 0.63	0.68 – 0.75	0.87 – 0.91	3
Perle	% rel.	0.30 – 0.33	0.44 – 0.46	0.28 – 0.31	0.46 – 0.50	0.35 – 0.52	0.63 – 0.66	3

* Analytischer Bruch zu den Vorjahren (neue Kalibriersubstanz)

abgesichertes höheres Niveau der Xanthohumole in Proben des Anbaugesbietes Hallertau bei beiden Sorten. Die Bildung des Xanthohumols wird ähnlich wie die der anderen niedermolekularen Polyphenole durch das insgesamt gemäßigte Klima in der Hallertau gegenüber USA angeregt.

Die Anbaugesbiete USA und Hallertau lassen also bei den betrachteten Hopfensorten Perle und Nugget statistisch gesicherte Unterschiede in der Zusammensetzung der niedermolekularen Polyphenole erkennen. Damit ist erstmalig ein Nachweis erbracht, dass die Zusammensetzung von Hopfeninhaltsstoffen durch das Anbaugesbiet geprägt wird. Beide Sorten werden in den jeweiligen neuen Anbaugesbieten (d. h. Nugget in der Hallertau und Perle in den USA) bisher noch keine zehn Jahre großtechnisch angebaut und somit noch keiner langwährenden Adaption unterworfen.

4 Zusammenfassung

Der Nachweis niedermolekularer Polyphenole erfolgt nach einer aufwendigen Probenaufbereitung mittels HPLC und DAD. Damit lassen sich derzeit über 100 Einzelsubstanzen aus Hopfen auftrennen, von denen wiederum die quantitativ interessanten mittels HPLC-MS-Kopplung charakterisiert wurden. Die MS-Experimente zeigten, dass Hopfen eine Vielzahl niedermolekularer Polyphenole enthält, für die kommerziell keine Standardsubstanzen erhältlich sind. Unter den Proanthocyanidinen wurden überwiegend Procyanidine, weniger Prodelphinidine gefunden. Hopfen enthält Chinasäureester der p-Cumar-, Kaffee- und Ferulasäure.

Neben den Glucosiden von Quercetin und Kämpferol finden sich weitere Mono- bis Triglykoside, außerdem Malonsäureester der Monohexoside.

11 Hopfensorten der Ernten 1997 und 1998 wurden anhand von jeweils 5 Einzelproben miteinander verglichen. Eine statistische Auswertung von Unterschieden erfolgte über die Berechnung der Konfidenzintervalle. Ferner wurden zwei sowohl in USA wie in der Hallertau kommerziell angebaute Hopfensorten (Perle und Nugget) untersucht, um auch der Frage nach dem Einfluss von Anbaugesbieten nachzugehen.

Die Resultate können wie folgt zusammengefasst werden:

- Aromahopfen weisen deutlich höhere Werte an niedermolekularen Polyphenolen auf als Bitterhopfen.
- Einige Substanzgruppen reagieren deutlicher auf den Jahrgang, andere weniger stark.
- Substanzgruppen sind teilweise deutlich unterschiedlich in den betrachteten Hopfensorten vertreten.
- Einige niedermolekulare Einzelpolyphenole unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung je nach Hopfensorte.
- Zwei untersuchte Hopfensorten zeigen deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Polyphenole je nach dem Anbaugesbiet USA oder Hallertau. Generell weisen die Hallertauer Hopfen höhere Gehalte auf als amerikanische, demons-

triert an den Sorten Perle und Nugget. Unterschiede ergeben sich bei den Substanzgruppen, aber auch bei Einzelsubstanzen.

- Bei 6 Komponenten decken sich die signifikanten Unterschiede der beiden Sorten Perle und Nugget zwischen den Anbaugebieten.

Aus diesen Ergebnissen dürfen folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

- Je nach Polyphenol-Philosophie einer Brauerei kann die Wahl einer Hopfensorte etwas bewusster erfolgen.
- Der Einfluss des Anbaugesbietes konnte bei den großen klimatischen Unterschieden zwischen USA und der Hallertau gesichert nachgewiesen werden. Auch das mag für manchen Brautechnologen eine Entscheidungshilfe sein.

5 Summary

Forster, A., Beck, B., Schmidt, R., Jansen, C., and Mellenthin, A.: On the composition of low molecular polyphenols in different varieties of hops and from two growing areas — Monatsschrift für Brauwissenschaft 55, No 5/6, 98 – 108, 2002

BC 12 Hops

The working field covering low molecular polyphenols in the plant world and in foods is being researched intensively at the present point in time. In the contribution to hand two teams have systematically covered the composition of low molecular polyphenols in hops as raw brewery material. More than 100 single components could be separated by means of HPLC. The majority of these can be characterised by means of DAD spectra and HPLC-MS coupling. Based on two harvests the composition with low molecular polyphenols of 11 significant European varieties of hops has been determined and described. To some extent the results reveal clear differences. In a comparison study of the Pearl and Nugget varieties from the growing areas in Hallertau, Germany, and USA some safeguarded differences could be deduced in three harvests. As a result, one has been successful in evidencing that the growing areas can influence the chemical composition of hops for the first time. Depending on the polyphenol philosophy of a brewery the possibilities are shown for selecting hops as raw material more conscientiously according to variety and growing area.

Forster, A., Beck, B., Schmidt, R., Jansen, C., et Mellenthin, A.: Composition de polyphénols de faible poids moléculaire de différentes variétés de houblon et de deux lieux de cultures — Monatsschrift für Brauwissenschaft 55, No 5/6, 98 – 108, 2002

BC 12 Houblon

L'étude des polyphénols à faible poids moléculaire dans le domaine végétal et dans les aliments est actuellement intensément étudié. Dans le présent travail, deux équipes ont systématiquement étudié les polyphénols de faible poids moléculaire dans la matière première brassicole houblon. On a séparé plus de cent composés individuels par HPLC. La majorité de ces composés ont été identifiés par spectre DAD et HPLC-SM. A partir de deux récoltes on a décrit 11 variétés importantes de houblon européens quant à leur composition en polyphénols de faible poids moléculaire. On a observé souvent d'importantes différences. Dans la comparaison des lieux de culture Hallertau et USA pour les variétés Perle et Nugget on a trouvé une différence significative sur trois récoltes. C'est la première fois qu'il a été possible de prouver une différence entre lieux de culture par la composition chimique du houblon. Suivant la « philosophie des polyphénols » d'une brasserie on a montré la possibilité de choisir avec une meilleure connaissance la matière première houblon suivant la variété et le lieu de culture.

6 Literatur

1. Forster, A., Beck, B., Schmidt, R.: EBC Proceedings of the 25th Congress, Brussels, 143 – 150, 1995.
2. Forster, A., Beck, B., Schmidt, R.: Hopfenrundschaу International, 68 – 74, 1999.
3. Forster, A.: Chmelarstvi Internationale Ausgabe, 45 – 51, 1999.
4. Friedrich, W., Eberhardt, A., Galensa, R.: Eur. Food Res. Technol. 211, 56 – 64, 2000.
5. van Sumere, C.F., Vande Castele, K., Hutsebaut, W., Everaert, E., De Cooman, L., Meulemans, W.: EBC Symposium on hops Freising, Monograph XIII, 146 – 175, 1987.
6. Gil-Izquierdo, A., Mellenthin, A.: Eur. Food Res. Technol. 213, 12 – 17, 2001.
7. Sägerser, M., Deinzer, M.: Am. Soc. Brew. Chem. 54, 129 – 134, 1996.
8. Forster, A., Beck, B., Köberlein, A., Schmidt, R.: Text zum Poster: 26. EBC-Kongress, Maastricht, 1997.

(Manuskripteingang: 30. 1. 2002)