

K. Kammhuber und S. Hagl

# Statistische Untersuchungen zur Korrelation von Hopfenölkomponenten

Am Hopfenforschungsinstitut in Hüll wurde in den letzten Jahren eine große Datensammlung über die ätherischen Öle des Hopfens mit der Headspace-Gaschromatographie geschaffen. In dieser Arbeit werden statistische Untersuchungen zur Korrelation einzelner Hopfenölkomponenten vorgestellt. Besonders interessant war die Frage, ob die Substanz Linalool, welche als Indikator für ein ausgezeichnetes Hopfenaroma angesehen wird, mit anderen Ölkomponenten korreliert ist.

BC 12 Hopfen

(Deskriptoren: Hopfenöle, Hopfenaroma, Hopfenölkomponenten.

Descriptors: Hop oil, hop aroma, hop oil fractions).

## 1 Allgemeines

Ätherische Öle sind eine wichtige Gruppe von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Unter sekundären Pflanzeninhaltsstoffen versteht man Substanzen, die in ihrer Biosynthese vom Stoffwechsel der Kohlenhydrate, Fette und Aminosäuren abgeleitet sind (1). Die ätherischen Öle, die ihren Namen ihrer hohen Flüchtigkeit verdanken, gehören zur Stoffklasse der Terpene, insbesondere zu den Mono- und Sesquiterpenen, oder zu den Phenolen. Hinzu kommen verschiedene Begleitstoffe wie Alkohole, Ester, Aldehyde und Ketone.

## 2 Die ätherischen Öle des Hopfens

Die ätherischen Öle sind nach den Bitterstoffen die zweite wichtige Gruppe von Hopfeninhaltsstoffen. Die Biosynthese der ätherischen Öle findet in den Lupulindrüsen statt. Abbildung 1 zeigt eine solche Lupulindrüse (2).

Die ätherischen Öle des Hopfens bestehen aus rund 300 verschiedenen Einzelkomponenten (3, 4, 5). Sie bestimmen das Aroma und den Geruch des Hopfens. Die Qualität des Aromas ist ein wesentliches Kriterium für die kommerzielle Bewertung von Hopfen. Für die Beurteilung des Hopfens gibt es bis jetzt noch keine allgemeinen objektiven und analytischen Parameter. Die Aromabewertung erfolgt sehr subjektiv. In neuerer Zeit wird der Linaloolgehalt als ein geeigneter Indikator für ein gutes Hopfenaroma im Bier angesehen (6). Die Zusammensetzung der Hopfenöle ist genetisch determiniert und ein geeignetes Hilfsmittel um

Sorten, sowohl bei Doldenhopfen als auch bei Hopfenverarbeitungsprodukten wie Pellets und Extrakten, zu unterscheiden. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob zwischen den einzelnen Hopfenölkomponenten Korrelationen bestehen. Dies ist für die Sortenunterscheidung wichtig, da hochkorrelierte Inhaltsstoffe für die Sortenunterscheidung von geringerer Bedeutung sind als nicht korrelierte. Auf der anderen Seite sollte gezeigt werden, mit welchen Inhaltsstoffen Linalool korreliert ist, da diese Substanz als Indikator für ein gutes Hopfenaroma angesehen wird.

## 3 Experimentelle Durchführung

Zur Analyse der Hopfenöle wurde das Verfahren der Headspace-Gaschromatographie eingesetzt. 1 g Probe und 0,5 µl interner Standard (Oenanthsäureethylester) werden in ein Probefläschchen gasdicht eingeschlossen und 80 Minuten auf 115 °C erwärmt. Der Headspace wird dann in den Gaschromatographen injiziert. Folgende gaschromatographische Bedingungen wurden angewandt:

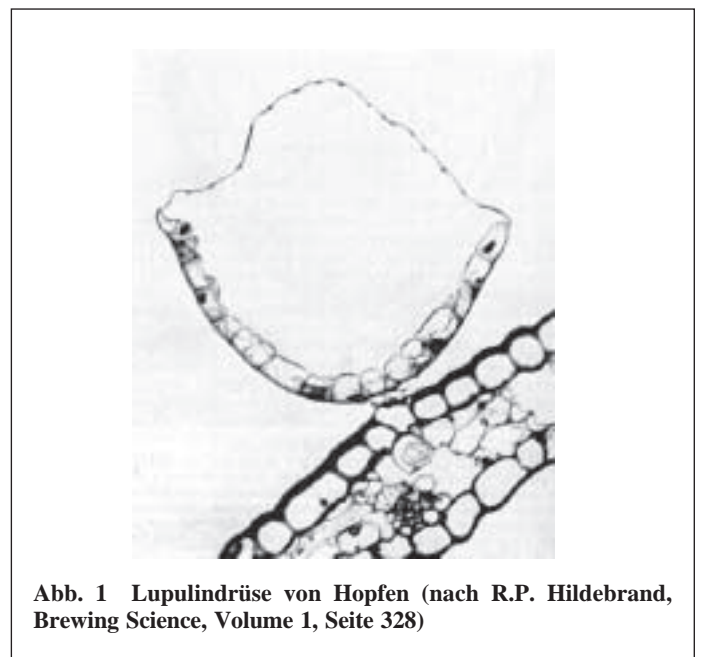
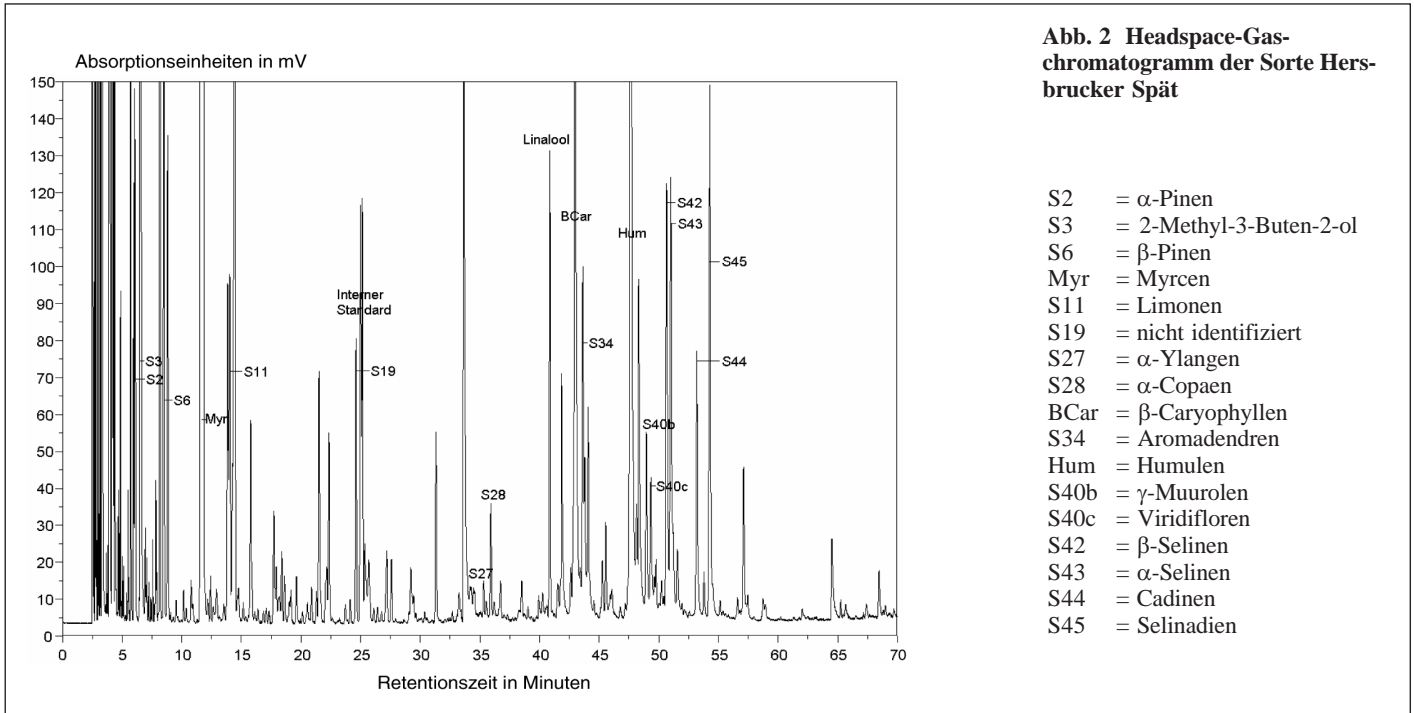


Abb. 1 Lupulindrüse von Hopfen (nach R.P. Hildebrand, *Brewing Science*, Volume 1, Seite 328)



Gerät: Dani 8500 Gaschromatograph + FID  
 Temperaturprogramm: 60 °C 10 Minuten  
 2 °C / Minute auf 170 °C  
 6 °C / Minute auf 200 °C  
 200 °C, 20 Minuten  
 Injektortemperatur: 200 °C  
 Detektortemperatur: 210 °C  
 Trägergas: He; 1,2 ml / Minute  
 Split: 1 : 25  
 Säule: 50 m x 0,25 mm, Polyethylenglykol,  
 fused silica, cross bonded

Die Abbildung 2 zeigt ein typisches Gaschromatogramm der Sorte Hersbrucker Spät.

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm SAS 6.12 verwendet.

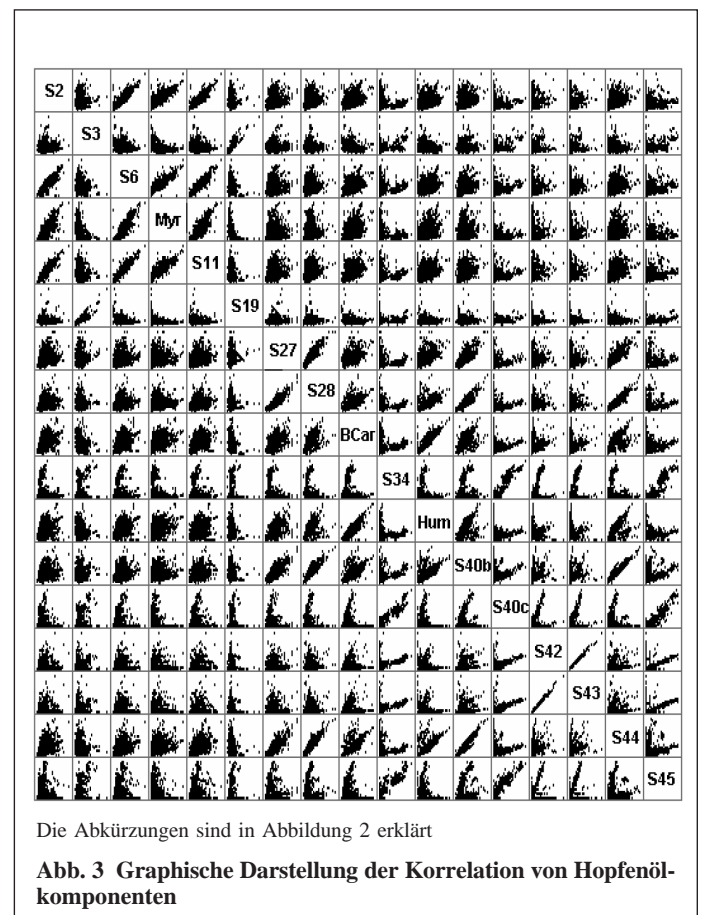
#### 4 Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse ist ein statistisches Verfahren zur Ermittlung von Zusammenhängen zwischen verschiedenen Variablen. Die Stärke des Zusammenhangs kann mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson ausgedrückt werden, der mit R symbolisiert wird. Die Formel für R lautet:

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

Der Korrelationskoeffizient R kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Einem positiven R entspricht ein Punkteplot, bei dem die Punkte aufsteigend angeordnet sind. Die Werte einer Variablen steigen mit steigenden Werten der anderen Variablen. Werte

für R um Null weisen auf eine Streuung der Daten ohne erkennbaren Zusammenhang hin, während große positive / negative R-Werte Plots entsprechen, die einen eindeutigen Aufwärts- / Abwärtstrend aufweisen. Zur Ermittlung der Korrelationskoeffizienten wurden 700 Hopfenölanalysen und 56 ÖlkompONENTEN ausgewertet. Die Abbildung 3 zeigt die graphische Darstellung von



**Tabelle 1 Korrelationskoeffizienten**

	S2	S3	S6	Myr	S11	S19	S27	S28	BCar	S34	Hum	S40b	S40c	S42	S43	S44	S45
S2	1,0000	-0,0981	0,8810	0,8149	0,8981	-0,1284	0,2382	0,2859	0,3811	-0,1698	0,3149	0,2426	-0,2075	0,0051	-0,0050	0,3331	-0,1778
S3	-0,0981	1,0000	-0,1943	-0,4220	-0,2421	0,8397	0,0971	-0,0327	-0,3387	0,3126	-0,2658	0,0523	0,3586	0,1180	0,1141	-0,1359	0,3166
S6	0,8810	-0,1943	1,0000	0,8773	0,9233	-0,3271	0,1533	0,2317	0,4319	-0,0358	0,3580	0,2863	-0,0666	0,0487	0,0355	0,3585	-0,0365
Myr	0,8149	-0,4220	0,8773	1,0000	0,8696	-0,4396	0,0945	0,1970	0,4914	-0,1645	0,4087	0,1949	-0,2125	-0,0235	-0,0314	0,3268	-0,1883
S11	0,8981	-0,2421	0,9233	0,8696	1,0000	-0,2863	0,2349	0,3087	0,4917	-0,1104	0,3793	0,3115	-0,1434	0,0511	0,0388	0,4101	-0,1063
S19	-0,1284	0,8397	-0,3271	-0,4396	-0,2863	1,0000	0,1614	0,0119	-0,2879	0,1512	-0,2446	0,0448	0,1791	0,0554	0,0557	-0,0961	0,1648
S27	0,2382	0,0971	0,1533	0,0945	0,2349	0,1614	1,0000	0,9055	0,5410	-0,2366	0,5505	0,7809	-0,2434	-0,0267	-0,0583	0,8229	-0,2045
S28	0,2859	-0,0327	0,2317	0,1970	0,3087	0,0119	0,9055	1,0000	0,6012	-0,1378	0,5721	0,8801	-0,1616	0,0644	0,0262	0,9142	-0,0896
BCar	0,3811	-0,3387	0,4319	0,4914	0,4917	-0,2979	0,5410	0,6012	1,0000	-0,2005	0,8765	0,5946	-0,2472	-0,0411	-0,0672	0,7041	-0,2775
S34	-0,1698	0,3126	-0,0358	-0,1645	-0,1104	0,1512	-0,2366	-0,1378	-0,2005	1,0000	-0,3044	0,0931	0,9471	0,5277	0,5118	-0,1411	0,9041
Hum	0,3149	-0,2658	0,3580	0,4087	0,3793	-0,2446	0,5505	0,5721	0,8765	-0,3044	1,0000	0,5508	-0,3431	-0,2531	-0,2761	0,6575	-0,3965
S40b	0,2426	0,0523	0,2863	0,1949	0,3115	0,0448	0,7809	0,8801	0,5946	0,0931	0,5508	1,0000	0,0790	0,1863	0,1401	0,9359	0,1370
S40c	-0,2075	0,3586	-0,0666	-0,2125	-0,1434	0,1791	-0,2434	-0,1616	-0,2472	0,9471	-0,3431	0,0790	1,0000	0,5223	0,5095	-0,1713	0,9317
S42	0,0051	0,1180	0,0487	-0,0235	0,0511	0,0554	-0,0267	0,0644	-0,0411	0,5277	-0,2531	0,1863	0,5223	1,0000	0,9958	0,0937	0,5212
S43	0,0050	0,1141	0,0355	-0,0314	0,0388	0,0557	-0,0583	0,0262	-0,0672	0,5118	-0,2761	0,1401	0,5095	0,9958	1,0000	0,0543	0,5153
S44	0,3331	-0,1359	0,3585	0,3268	0,4101	-0,0961	0,8229	0,9142	0,7041	-0,1411	0,6575	0,9359	-0,1713	0,0937	0,0543	1,0000	-0,0964
S45	-0,1778	0,3166	-0,0365	-0,1883	-0,1063	0,1648	-0,2045	-0,0896	-0,2775	0,9041	-0,3065	0,1370	0,9317	0,5312	0,5153	-0,0964	1,0000

Die Abkürzungen sind in Abbildung 2 erklärt

- S6 « S11 (R<sup>2</sup> = 0,8525)
- S34 « S40c (R<sup>2</sup> = 0,8970)
- S44 « S28 (R<sup>2</sup> = 0,8358)
- S27 « S28 (R<sup>2</sup> = 0,8199)
- S34 « S45 (R<sup>2</sup> = 0,8174)
- S44 « S40b (R<sup>2</sup> = 0,8759)
- S28 « S44 (R<sup>2</sup> = 0,8358)
- S42 « S43 (R<sup>2</sup> = 0,9916)
- S45 « S40c (R<sup>2</sup> = 0,8681)

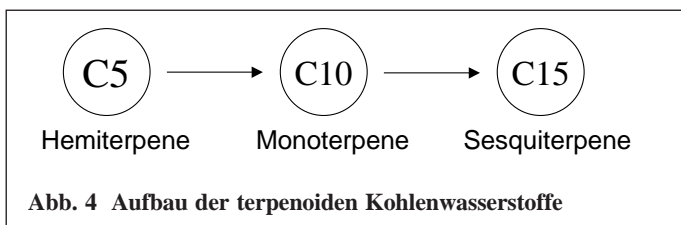
Ölkomponenten, die mit einer anderen Ölkomponente und einem Korrelationskoeffizienten von mindestens 0,80 korreliert sind. Die Substanzen sind jeweils gegeneinander aufgetragen. Wenn sie eine Gerade bilden, sind sie gut korreliert und der Korrelationskoeffizient geht gegen eins. Die Tabelle 1 zeigt die dazugehörigen Korrelationskoeffizienten.

In der Tabelle 1 sind Korrelationskoeffizienten, die größer als 0,90 sind, noch einmal hervorgehoben.

Das Quadrat des Korrelationskoeffizienten R<sup>2</sup> beschreibt die Größe der Korrelation in Prozent. Beträgt R<sup>2</sup> zwischen zwei Variablen z.B. 0,975, so werden 97,5 % der einen Variablen durch die Varianz der anderen Variablen erklärt. Dies bedeutet aber auch, dass 2,5 % der Varianz auf anderen Faktoren beruhen.

**5 Interpretation**

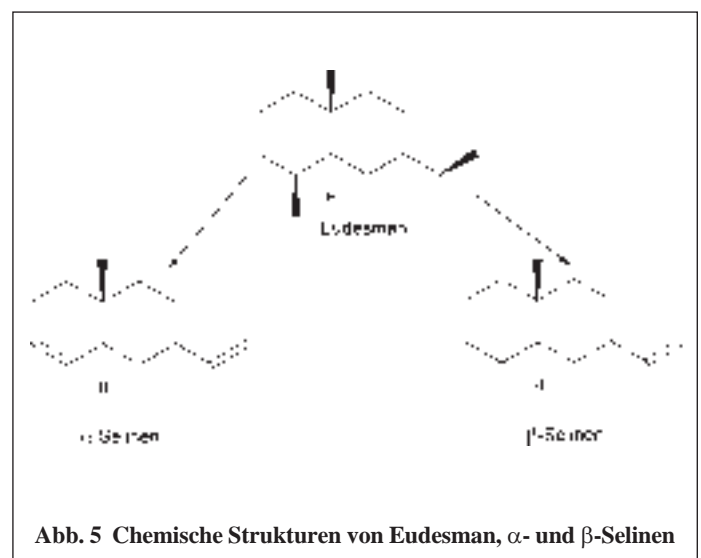
Wenn die Korrelationsanalyse einen Zusammenhang zwischen Substanzen ermittelt, kann daraus geschlossen werden, dass sie bei der Biosynthese gemeinsame Zwischenstufen durchlaufen oder ineinander umgewandelt werden können. Im ätherischen Öl



**Abb. 4 Aufbau der terpenoiden Kohlenwasserstoffe**

des Hopfens sind nur Substanzen miteinander korreliert, die zur Stoffgruppe der Terpene gehören. Die Terpene sind aus Isopren-Einheiten aufgebaut (7). Hemiterpene bestehen aus einer, Monoterpene aus zwei und Sesquiterpene aus drei Isopreneinheiten (Abb. 4).

Alle terpenoiden Kohlenwasserstoffe entstammen einer gemeinsamen biogenetischen Herkunft (8). Die am besten korrelierten Substanzen mit einem R<sup>2</sup> von 0,9916 sind die Stereoisomeren α- und β-Selinen (Abb. 5). Ihnen gemeinsam ist das Eudesman-Grundskelett.



**Abb. 5 Chemische Strukturen von Eudesman, α- und β-Selinen**

Die Indikator-Substanz Linalool ist zu keiner anderen Ölkomponente korreliert.

Es wurde auch untersucht, ob zwischen den Bitterstoffen und den Ölkomponenten Korrelationen bestehen. Hier wurden keine gefunden.

## 6 Zusammenfassung

Bei Hopfenölanalysen, die mit der Headspace-Gaschromatographie durchgeführt wurden, wurde mittels Korrelationsanalyse untersucht, ob einzelne Hopfenölkomponenten miteinander korreliert sind. Dazu wurden insgesamt 700 Hopfenölanalysen und jeweils 56 einzelne Hopfenölkomponenten verrechnet. Die Korrelationen aller Hopfenölkomponenten, die zu einer anderen Ölkomponente mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von mindestens 0,80 korreliert sind, wurden graphisch dargestellt und die dazugehörigen Korrelationskoeffizienten in einer Tabelle zusammengefasst. Von allen Ölkomponenten sind nur terpenoide Kohlenwasserstoffe miteinander korreliert, da sie über einen gemeinsamen Biosyntheseweg gebildet werden. Die am besten korrelierten Substanzen sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Selinene. Linalool, das als Indikator für ein gutes Hopfenaroma angesehen wird, ist mit keiner anderen Hopfenölkomponente korreliert.

## 7 Summary

**Kammhuber, K., and Hagl, S.: Statistical investigations into the correlation of hop oil components** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 54, No. 5/6, 100 – 103, 2001

### BC 12 Hops

In this work examinations have been made, if correlations exist between the different components of the essential oils of hops analysed by headspace-gaschromatography. For that purpose the Pearson correlation-coefficients were calculated by statistical evaluation of 700 hop oil analyses and 56 different hop oil components. The correlation-coefficients, which amount at least to 0.80, are shown in a graphic representation and summarized in a table. From all oil components only the terpenoide hydrocarbons are correlated together, because they have a common biosynthesis pathway. The compounds  $\alpha$ - and  $\beta$ -Selinene show the best correlation. Linalool, which is considered to be an indicator for a good hop aroma, has no correlation with any other hop oil component.

**Kammhuber, K., et Hagl, S.: Examen statistique des corrélations de composés d'huiles essentielles du houblon** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 54, No. 5/6, 100 – 103, 2001

### BC 12 Houblon

On a effectué des analyses d'huiles essentielles du houblon par chromatographie en phase gazeuse, espace de tête, et recherché par des analyses de corrélations si les différentes huiles essentielles du houblon étaient corrélées entre elles. Dans ce calcul on a intégré au total 700 analyses d'huiles essentielles du houblon qui comprenaient chacune 56 composés individuels d'huiles essentielles du houblon. Les corrélations de toutes les huiles essentielles du houblon qui étaient liées à un autre composé d'huiles essentielles du houblon avec un coefficient de corrélation suivant Pearson d'au moins 0,80 étaient représentée graphiquement et les coefficients de corrélation correspondants résumés dans un tableau. De toutes les huiles essentielles du houblon, seules les hydrocarbures terpéniques étaient corrélés entre eux, ce fait est dû à une voie biosynthétique commune. Les substances les plus souvent corrélées sont les  $\alpha$  et les  $\beta$  sélénines, le linalol qui est reconnu comme bon arôme de houblon, mais qui n'est corrélé avec aucun autre composé d'huiles essentielles du houblon.

## 8 Literatur

1. Heß, D.: Terpenoide, Pflanzenphysiologie, 9. Auflage, 178 – 219, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1991.
2. Hildebrand, R. P.: Manufactured Products from Hops and their use in Brewing, Brewing Science, Volume, 1, 325-450, Academic Press, Cambridge, 1979.
3. Gresser, A.: Beiträge zur Kenntnis der Hopfenaromastoffe unter besonderer Berücksichtigung technologischer Verfahren, Dissertation, TU München-Weihenstephan, 1985.
4. Freundorfer, J. G.: Rechnergestützte Verfahren zur Sortenerkennung bei Hopfen und Hopfenprodukten auf der Basis der ätherischen Öle, Dissertation, TU München-Weihenstephan, 1990.
5. Moir, M.: Hop Aromatic Compounds, EBC Monograph XXII, Symposium on Hops, 165-180, Zoeterwoude, Verlag Hans Carl, Nürnberg, 1994.
6. Kaltner, D., Thum, D., Forster, C., Back, W.: Hopfen, Brauwelt, 18, 2000.
7. Breitmaier, E.: Terpene, Teubner Studienbücher, 12-13, Stuttgart, 1999.
8. Lynen, F.: Der Weg der „aktivierten Essigsäure“ zu den Terpenen und Fettsäuren, Angew. Chem. 77, 929, 1965

(Manuskripteingang: 7. 2. 2001)