

Differenzierung und Klassifizierung des Welthopfensortiments mit Hilfe der niedermolekularen Polyphenole



Ergebnisse der Erntejahre
2009, 2010, 2011

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Abschlussbericht
September 2012

Auftraggeber: Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten

Projektbezeichnung: Differenzierung und Klassifizierung des Welthopfensortiments mit Hilfe der niedermolekularen Polyphenole

Federführendes Institut: Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Hopfenforschungszentrum Hüll

Laufzeit des Projektes: 1. Januar 2010 – 30. Juni 2012

Beteiligte Institutionen: Dr. Coelhan, M., Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität der TU München

Projektleitung: Dr. Kammhuber, K., Hopfenforschungszentrum Hüll

Mitwirkende: Neuhof-Buckel, E., Sperr, B., Wyschkon, B. (Hopfenforschungszentrum Hüll), Dr. Coelhan, M., Plapperer, R.; Strohmeier, J., Tischliar, M., (Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität)

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Zusammenfassung.....	5
Summary	5
1 Einführung und Problemstellung.....	7
1.1 Die wertgebenden Inhaltsstoffe des Hopfens	7
1.2 Bisherige Methoden der Sortenunterscheidung	9
2 Zielsetzung.....	10
3 Bisheriger Stand der Polyphenolanalytik	11
4 Material und Methoden.....	13
4.1 Welthopfensortiment (Sortengarten in Hüll).....	13
4.2 Probenvorbereitung	13
4.3 HPLC-Methode	13
4.4 Identifikation von Einzelsubstanzen	15
5 Ergebnisse und Auswertung	16
5.1 Hauptkomponentenanalyse	22
5.1.1 Methodik und Durchführung.....	22
5.1.2 Diskussion und Interpretation der Daten.....	31
5.2 Clusteranalyse	31
6 Fazit und zukünftige Arbeiten	35
7 Literaturverzeichnis:	36

Abbildungen

	Seite
Abb. 1: Chemische Strukturen der wichtigsten Hopfenpolyphenole	9
Abb. 2: Hopfendolden <i>mit</i> deutlich sichtbaren Deckblättern und HPLC Chromatogramm der Bitterstoffe	10
Abb. 3: Gaschromatogramm der ätherischen Öle des Hopfens	10
Abb. 4: Biosyntheseweg der Polyphenole.....	11
Abb. 5: Albert Szent-Györgyi Nagyropolt und die Struktur von Flavon.....	12
Abb. 6: Chemische Strukturen der Multifidole	12
Abb. 7: Chromatogramm der Flavonoide bei 280 nm	14
Abb. 8: HPLC-Chromatogramme der Flavonidglykoside von Opal, Hersbrucker Spät, Herkules und Zeus bei 350 nm.....	15
Abb. 9: Chemische Strukturen der identifizierten Substanzen (englische Bezeichnung).....	16
Abb. 10: Darstellung der ersten zwei Hauptkomponenten des Welthopfen- sortiments	28
Abb. 11: Hauptkomponentendarstellung Welthopfensortiment nach Ländern (Teil 1).....	28
Abb. 12: Hauptkomponentendarstellung Welthopfensortiment nach Ländern (Teil 2).....	29
Abb. 13: Hauptkomponentendarstellung Welthopfensortiment nach Ländern (Teil 3).....	30
Abb. 14: Euklidische Distanz für zwei Merkmale	32
Abb. 15: Clusterbildung über das „Centroid linkage“-Verfahren.....	32
Abb. 16: Clusterdarstellung in der Hauptkomponentenanalyse.....	35

Tabellen

	Seite
Tab. 1: Die Zusammensetzung der Hopfenpolyphenole und deren Konzentrationen im Hopfen	8
Tab. 2: Der Polyphenolgehalt von Hopfen im Vergleich zu anderen Pflanzen.....	8
Tab. 3: Gradientenprogramm und Detektionswellenlängen.....	14
Tab. 4: Messergebnisse der Erntejahre 2009, 2010, 2011	17
Tab. 5: Korrelationsmatrix	22
Tab. 6: Eigenwerte und Varianzen	22
Tab. 7: Mittelwerte der Ernten 2009-2011 und die ersten 3 Hauptkomponenten	23
Tab. 8: Abstände der ersten 10 Hopfensorten (alphabetisch geordnet).....	33
Tab. 9: Einteilung des Welthopfensortiments in 20 Cluster (Ähnlichkeit der Flavonoidzusammensetzung)	34

Zusammenfassung

Schlagworte: Welthopfsortiment, Polyphenole, Flavonoide, Sortendifferenzierung, Quercetin-, Kämpferol-glykoside, Multifidole, multivariate Statistik

Neben den morphologischen Merkmalen, der Bitterstoff- und Ölzusammensetzung sowie der DNA-Analytik sind auch die niedermolekularen Polyphenole für die Sortenunterscheidung geeignet. Der Fokus wurde dabei sowohl auf die Quercetin- und Kämpferol-glykoside als auch auf das Multifidolderivat 1-(2-Methylpropanoyl)phloroglucinol-glucopyranosid gelegt, da diese Verbindungen in höheren Konzentrationen im Hopfen vorkommen. Zuerst musste eine geeignete Methode zur Probenvorbereitung und dann eine HPLC-Methode erarbeitet werden. Mit diesen Methoden wurde fast das gesamte Welthopfsortiment, das im Hüller Zuchtgarten angebaut wird, über drei Erntejahre (2009, 2010, 2011) untersucht. Viele Sorten sind in ihrer Flavonoidzusammensetzung sehr ähnlich, da sie von den europäischen Landsorten abstammen und deren Struktur aufweisen. Einige Sorten besitzen jedoch ein ganz typisches individuelles Flavonoidmuster und sind deshalb auch sehr gut abgrenzbar. Diese Sorten kommen vor allem aus den USA, Japan, China und Neuseeland. Dann wurden die Daten mit multivariaten statistischen Methoden wie der Hauptkomponenten- und Clusteranalyse ausgewertet, um sowohl Unterschiede und Ähnlichkeiten als auch mögliche Strukturen herauszuarbeiten. Mit der Darstellung der ersten zwei Hauptkomponenten können die Ergebnisse sehr gut graphisch interpretiert werden. Auch die Clusteranalyse kam zu ähnlichen Resultaten. Das Welthopfsortiment wurde in 20 Cluster eingeteilt. Die meisten Sorten sind in den Clustern 1 und 2 zu finden, was den typischen Mustern der Landsorten entspricht. Den Clustern 15-20 wird jeweils nur eine Sorte zugeordnet. Dieses Projekt hat zusätzliche Möglichkeiten zur Sortenunterscheidung geschaffen und zukünftige neue Sorten können nun sehr schnell in die vorhandenen Daten eingeordnet werden.

Summary

Key words: world hop collection, polyphenols, flavonoids, variety differentiation, quercetin-, kaempferol-glycosides, multifidols, multivariate data analysis

In addition to the morphological features, the composition of the bitter substances and the essential oils as well as the DNA-analytics also the low molecular weight polyphenols are suitable for variety differentiation. For this project the focus was on the quercetin- and kaempferolglycosides as well as on the multifidol derivative 1-(2-methylpropanoyl)-phloroglucinol-glucopyranoside, because these compounds are occurring in hops in higher concentrations. First convenient methods for sample preparation and HPLC analysis had to be worked out. Then with these methods nearly the whole available world hop collection, which is grown in a hop yard in Hüll, from three harvest years (2009, 2010, 2011) was analysed. Many varieties are very similar in their flavonoid composition, because they are originating in the European land races and therefore they have the same structure. Some varieties however possess a very typically individual flavonoid pattern and they are very good distinguishable from each other. These varieties come especially from the USA, Japan, China and New Zealand. Then the data were evaluated by multivariate data analyses to work out differences and similarities as well as possible structures. The results can very good graphically interpreted by plotting the first two principal components. The cluster analysis also leads to similar results. The world hop collection was divided into 20

clusters. The most varieties are in the cluster 1 and 2, what conforms to the typical land races. The clusters 15-20 are in each case filled with one variety. This project created an additional possibility for the differentiation of varieties and in the future new varieties can very quickly be classified in the available data.

Danksagung:

Der Dank gilt allen, die an diesem Projekt mitgearbeitet haben. Von der Arbeitsgruppe IPZ 5d in Hüll sind dies Frau Neuhof-Buckel, Frau Sperr und Frau Wyschkon. Für die Bereitstellung des Probenmaterials möchte ich mich bei Herrn Lutz und Frau Kneidel von der Hopfenzüchtung IPZ 5c bedanken. Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. Coelhan und seinem Team Herrn Plapperer, Herrn Strohmeier und Herrn Tischliar von der TUM Weihenstephan für die massenspektrometrische Strukturaufklärung einiger Flavonoide. Und schließlich sei auch noch dem Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten für die finanzielle Unterstützung recht herzlich gedankt. Ohne diese Unterstützung wäre das Projekt nicht durchführbar gewesen.

1 Einführung und Problemstellung

1.1 Die wertgebenden Inhaltsstoffe des Hopfens

Der Hopfen ist ein unverzichtbarer Rohstoff für das Bierbrauen. Im Jahr 2011 wurden weltweit 48 528 Hektar und in Deutschland 18 228 Hektar angebaut [1]. Fast die gesamte Hopfenproduktion wird zum Bierbrauen eingesetzt, lediglich 2-5 % finden für alternative Anwendungen Verwendung.

Der Hopfen hat drei Gruppen von wertgebenden Inhaltsstoffen. Dies sind in der Reihenfolge ihrer Bedeutung die Bitterstoffe, die ätherischen Öle und die Polyphenole. Die Bitterstoffe bestehen aus den α - und β -Säuren, wobei der α -Säuregehalt als das primäre wirtschaftliche Qualitätsmerkmal des Hopfens gilt, da er ein Maß für das Bitterpotential darstellt. Die α -Säuren geben dem Bier die typische Hopfenbittere, sorgen für dessen biologische Stabilität und auch für eine gute Schaumstabilität. Die β -Säuren sind wegen ihrer antimikrobiellen Eigenschaften für alternative Anwendungen des Hopfens interessant, z.B. als Konservierungsmittel in der Lebensmittelindustrie. In der Zuckerindustrie und auch bei der Ethanolherstellung werden β -Säuren bereits erfolgreich eingesetzt, um Formalin zu ersetzen.

Die ätherischen Öle sind für den Geruch und das Aroma verantwortlich. Insbesondere in der Craft Brewers Szene erlangen sie immer mehr Bedeutung, da die Craft Brewers Hopfen mit besonderen und teilweise hopfenuntypischen Aromen wünschen. Diese werden unter dem Begriff „Flavor Hops“ zusammengefasst. Wegen der beruhigenden Wirkung der ätherischen Öle werden aus Hopfen in Kombination mit Baldrian pharmazeutische Präparate hergestellt, wobei der Hopfen wie das Schlafhormon Melatonin und der Baldrian wie Adenosin wirkt.

Polyphenole kommen als bioaktive Substanzen in fast allen Pflanzen vor. Sie haben biologische Funktionen als Geschmacks- und Farbstoffe, außerdem können sie Pflanzen vor Fraßfeinden und Pilzen schützen [2]. In höherer molekularer Form wirken sie als Gerbstoffe. Über die positiven Wirkungen von Polyphenolen für die Gesundheit gibt es eine Vielzahl von Veröffentlichungen [3], da Polyphenole starke Antioxidantien sind und freie Radikale einfangen können [4]. Hopfen ist eine Pflanze mit einem sehr hohen Polyphenolgehalt. Insbesondere Xanthohumol erlangte in den letzten Jahren wegen seines großen antikanzerogenen Potentials viel öffentliche Aufmerksamkeit. In der Leber reichert sich Xanthohumol an und wirkt daher sehr effektiv gegen Leberkrankheiten. Im Blutplasma ist relativ wenig zu finden [5].

Die Substanz 8-Prenylnaringenin, die im Hopfen in Spuren vorkommt, gilt als eines der stärksten Phytoöstrogene und verleiht dem Hopfen eine leicht östrogene Aktivität. Dies war bereits seit Jahrhunderten bekannt, doch die dafür verantwortliche Substanz wurde erst vor 10 Jahren entdeckt. Die Tabelle 1 zeigt die Zusammensetzung der Hopfenpolyphenole und die Tabelle 2 einen Vergleich der Polyphenolgehalte des Hopfens zu anderen Pflanzen. Hopfen hat vor allem sehr hohe Gehalte an Quercetin- und Proanthocyanidinen. Diese Substanzgruppen zeichnen sich durch eine besonders hohe antioxidative Kapazität aus. Antioxidative Substanzen schützen Zellen vor oxidativen Prozessen und damit verbundenen Krankheiten wie z.B. Atherosklerose und Krebs. Man sollte daher viel polyphenolreiche Nahrungsmittel (Obst und Gemüse) essen. Auf Grund seiner hohen Polyphenolgehalte könnte Hopfen auch für den Bereich Gesundheit, Wellness, Nahrungs-

ergänzungsmittel und Functional Food interessant werden. In der Abbildung 1 sind die chemischen Strukturen der wichtigsten Hopfenpolyphenole zusammengestellt.

Tab. 1: Die Zusammensetzung der Hopfenpolyphenole und deren Konzentrationen im Hopfen

Substanzen und Substanzgruppen	Konzentrationen
Phenolische Carbonsäuren	
1) Benzoesäure-Derivate	< 0,01 %
3) Zimtsäure-Derivate	0,01 – 0,03 %
Flavonoide	
4) Xanthohumol	0,20 – 1,70 %
5) 8,6-Prenylnaringenin	< 0,01 %
6) Quercetinglykoside	0,05 – 0,23 %
7) Kämpferolglykoside	0,02 – 0,24 %
7) Catechine und Epicatechine	0,03 – 0,30 %
8) Oligomere Proanthocyanidine	0,20 – 1,30 %
9) Acylphloroglucinol-Derivate (Mul-	0,05 – 0,50 %
Höhermolekulare Substanzen	
10) Catechingerbstoffe und Tannine	2,00 – 7,00 %

Tab. 2: Der Polyphenolgehalt von Hopfen im Vergleich zu anderen Pflanzen

Frucht	Polyphenol-gehalt (gesamt)	Quercetin	Catechin + Epicatechin	Proanthocyanidine	Literatur
Hopfen	2 - 8 %	50 - 230	30 - 300	320-1640	
Apfel		2,0 – 44	1,00 – 14,00	128	6, 10
Birne			0,94 – 4,21	42	10
Brokkoli		3,0 - 3,7			6
Brombeere		4,5	0,84 – 6,30	23	6, 10
Erdbeere			2,52 – 5,47	145	10
Heidelbeere		7,4 - 15,8	2,07 – 5,58	329	6, 10
Kakao	6 %		2200	1573	7
Kirsche		3,2	3,46 – 6,37		6, 10
Moosbeere			5,53 – 8,59	418	10
Pflaume			6,38 – 14,94	247	10
Salat (grün)		0,1 – 9,0			9
Tee	25 - 35 %	1,4 – 1,7	20000 – 30000		11
Tomate		0,5 – 3,0	0	0	9, 10
Weintraube		1,5 – 3,7	0,44 – 2,14	81	8, 10
Zimt				8108	10
Zwiebel		34,2 - 48,6			6

Gesamtpolyphenolgehalt in %, Quercetin, Catechin, Epicatechin, Proanthocyanidine in mg/100 g

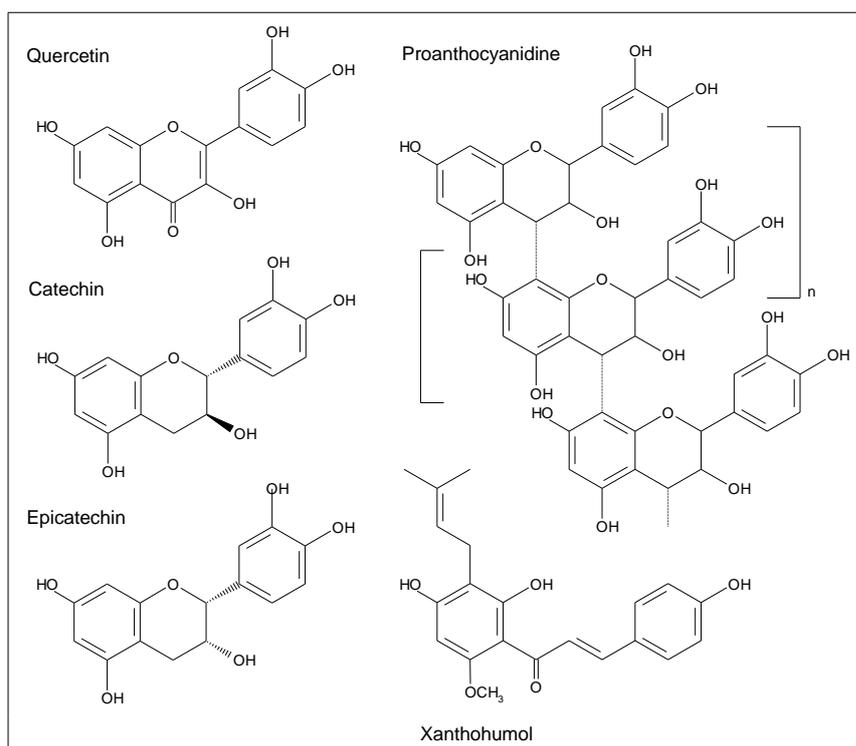


Abb. 1: Chemische Strukturen der wichtigsten Hopfenpolyphenole

1.2 Bisherige Methoden der Sortenunterscheidung

Zur Sortenunterscheidung von Hopfen hat man prinzipiell vier Möglichkeiten

- Morphologische Merkmale
- Bitterstoffzusammensetzung
- Zusammensetzung der ätherischen Öle
- DNA-Analytik

Hopfendolden können an Hand ihrer morphologischen Eigenschaften optisch teilweise sehr gut, manchmal aber auch sehr schwierig unterschieden werden. Hopfendolden haben unterschiedliche Formen und Größen, vor allem die Deckblätter sind sehr verschieden ausgeprägt (Abbildung 2) und sortentypisch. Bei Pellets und Extrakten sind diese Merkmale nicht mehr verfügbar.

In Hüll wird bei der Sortenbestimmung zunächst optisch bonitiert und aussortiert, dann werden chemische Methoden eingesetzt. Jede Hopfensorte hat eine typische Bitterstoffzusammensetzung. Der Cohumulonanteil und das alpha-/β-Säurenverhältnis ist charakteristisch für eine Sorte (Abbildung 2). Mehr Informationen liefern die ätherischen Öle (Abbildung 3). Auch hier gilt, dass einige Sorten gut und andere sehr schwierig zu unterscheiden sind. Die Bitterstoffe und ätherischen Öle eignen sich auch zur Sortenbestimmung bei Pellets und Extrakten. Die DNA-Analytik wird bei Sonderfällen herangezogen (Dr. Seefelder, IPZ 5c). In Extrakten ist jedoch keine DNA vorhanden. In diesem Projekt sollte erarbeitet werden, ob die niedermolekularen Polyphenole eine zusätzliche Möglichkeit darstellen, um Sorten zu unterscheiden.

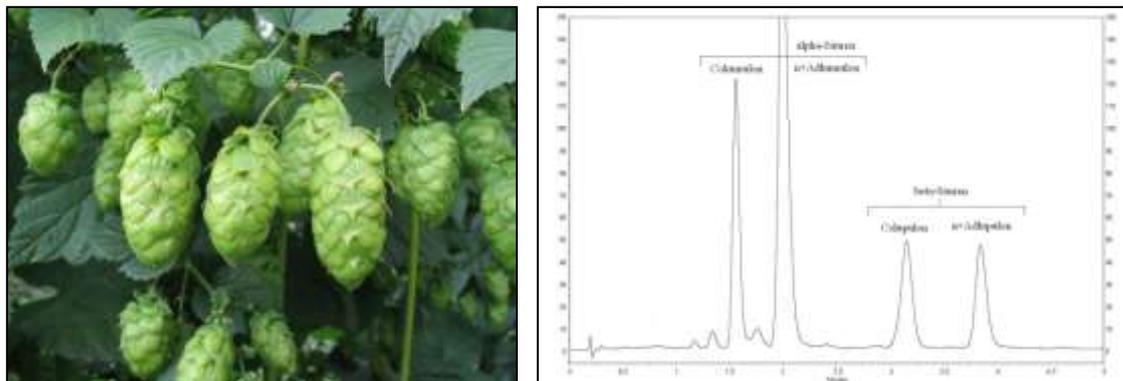


Abb. 2: Hopfendolden mit deutlich sichtbaren Deckblättern und HPLC Chromatogramm der Bitterstoffe

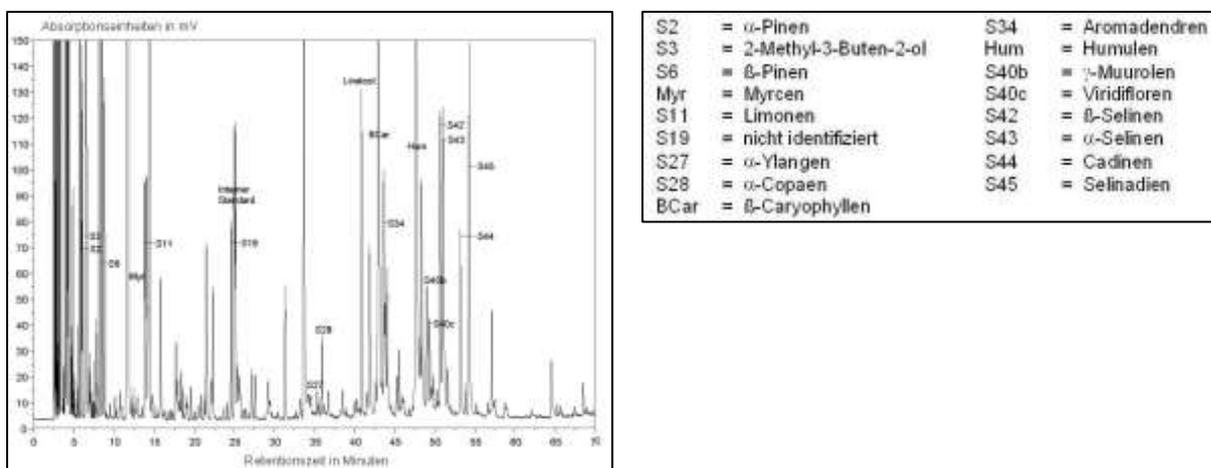


Abb. 3: Gaschromatogramm der ätherischen Öle des Hopfens

2 Zielsetzung

Etwa 80 % der Hopfenpolyphenole setzen sich aus höher molekularen Verbindungen wie den Catechingerbstoffen und den Tanninen (Gerbstoffen) zusammen. Ca. 20 % der Hopfenpolyphenole bestehen aus monomeren Substanzen wie den phenolischen Carbonsäuren sowie den Flavonoiden und deren Glykosiden (Tabelle 1). Die niedermolekularen Stoffe können mit HPLC analysiert werden.

Das erste Ziel des Projektes war eine geeignete Methode für die Probenvorbereitung und HPLC-Analytik zu erarbeiten. Dann sollte das ganze in Hüll verfügbare Welthopfensortiment der Erntejahre 2009, 2010 und 2011 untersucht werden. Das zweite Ziel war die gewonnenen Daten mit multivariaten statistischen Methoden auszuwerten, um zu sehen, ob eine Gruppierung oder Klassifizierung möglich ist.

3 Bisheriger Stand der Polyphenolanalytik

Die Polyphenole sind zwar eine sehr heterogene Stoffgruppe, sie haben jedoch als ein gemeinsames Strukturelement einen aromatischen Ring mit mindestens 2 Hydroxylgruppen. Alle Polyphenole teilen sich Elemente eines gemeinsamen Biosyntheseweges (Abbildung 4). Der Schlüsselschritt ist die Umwandlung der Aminosäure Phenylalanin in Zimtsäure. Diese Reaktion wird von dem Enzym PAL Phenylalaninammoniumlyase katalysiert. Dieses Enzym kann durch Nitrat blockiert werden. Das ist auch der Grund, dass eine Überdüngung mit Stickstoff zu einer geringeren Polyphenolkonzentration in der Pflanze führt und damit auch zu einer geringeren Widerstandskraft gegenüber Krankheiten.

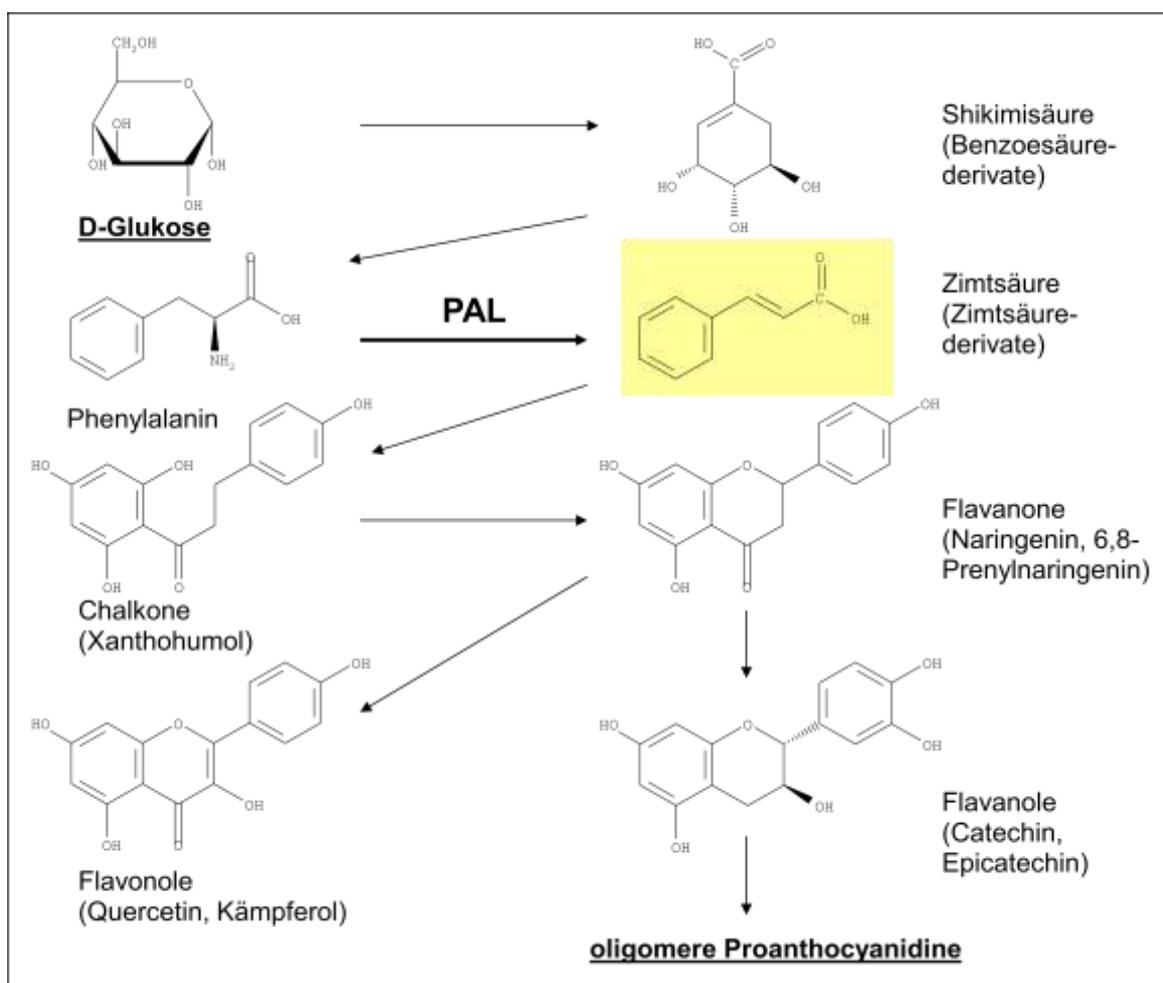


Abb. 4: Biosyntheseweg der Polyphenole

Die Flavonoide sind eine Untergruppe der Polyphenole und wurden in den neunzehnhundertdreißiger Jahren von dem Medizinnobelpreisträger Albert Szent-Györgyi Nagyropolt entdeckt. Er bezeichnete sie zuerst als Vitamin P, da diese die Permeabilität von Blutgefäßen beeinflussen konnten. Später bekamen sie den Namen Flavonoide, da sie sich von der Struktur Flavon ableiten. (Abbildung 5) [12].

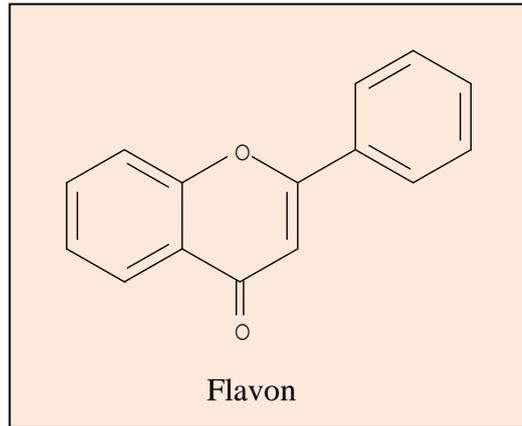


Abb. 5: Albert Szent-Györgyi Nagyropolt und die Struktur von Flavon

I. McMurrough und C. F. Sumere [13, 14] waren die ersten, die niedermolekulare Polyphenole des Hopfens mit HPLC analysierten und grundlegende Arbeiten über diese Substanzgruppe durchführten. Quercetin und Kämpferol kommen in Hopfen nicht in freier Form, sondern nur glykosidisch gebunden vor. Die Zucker können durch Hydrolyse entfernt und Quercetin und Kämpferol quantitativ bestimmt werden. Mit dieser Methode wurde bereits das ganze Welthopfensortiment analysiert [15]. In dieser Arbeit sollten jedoch auch die Glykoside Berücksichtigung finden. Eine weitere Substanzgruppe, die auch pharmakologisch wegen ihrer entzündungshemmenden Eigenschaften interessant ist, sind die Acylphloroglucinol-Derivate (Multifidole [16]). Der Name leitet sich von der tropischen Pflanze *Jatropha multifida* ab, da diese Verbindungen in deren Milchsaft vorkommen. Die Abbildung 6 zeigt die chemischen Strukturen. Das eigentliche Multifidolglukosid hat die Struktur A. Im Hopfen ist hauptsächlich die Verbindung B vorhanden, aber auch A und C in geringeren Konzentrationen.

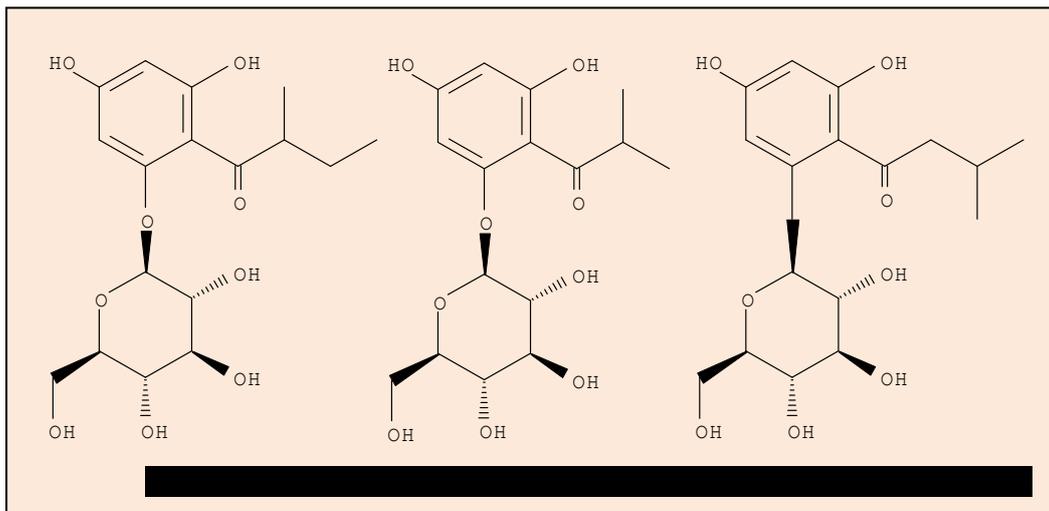


Abb. 6: Chemische Strukturen der Multifidole

Die exakten chemischen Bezeichnungen lauten:

A = 1-(2-Methylbutyryl)phloroglucinol-glukopyranosid (Multifidol)

B = 1-(2-Methylpropanoyl)phloroglucinol-glukopyranosid

C = 1-(3-Methylbutyryl)phloroglucinol-glukopyranosid

Bisher wurden im Hüller Labor der Gesamtpolyphenol- und der Gesamtgehalt der Proanthocyanidine in Anlehnung in die EBC-Methoden 9.10 und 9.12 für Bier untersucht.

4 Material und Methoden

4.1 Welthopfensortiment (Sortengarten in Hüll)

In Hüll gibt es einen Sortengarten, in dem fast das gesamte verfügbare Welthopfensortiment angebaut wird. Jedes Jahr werden die Bitterstoffe und ätherischen Öle analysiert. Ziel ist die Bestimmung der qualitäts- und sortenspezifischen Inhaltsstoffe der verfügbaren in- und ausländischen Hopfensorten bei Anbau unter den Standortbedingungen in Hüll. Die Ergebnisse werden jedes Jahr im Jahresbericht des Hopfenforschungszentrums veröffentlicht.

Für das Polyphenolprojekt wurden dieselben Proben verwendet. Die Ernten der Jahre 2009, 2010 und 2011 fanden für die Analytik Berücksichtigung.

4.2 Probenvorbereitung

Der erste Arbeitsschwerpunkt war die Ausarbeitung einer geeigneten Probenvorbereitung und einer optimalen HPLC-Trennung. Zur Probenvorbereitung werden 5 g gemahlener Hopfen mit 50 ml Aceton/Wasser (3:1) 15 Min. im Ultraschallbad extrahiert. Dann wird filtriert und die Lösung mit 50 ml Hexan in einem Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die unpolaren Substanzen verbleiben in der Hexanphase. Zur Aceton/Wasser Phase wird 1 ml interner Standard (250 mg Flavon in 25 ml Aceton) hinzugegeben. Zum Schluss wird noch einmal mit einem Spritzenfilter (Rotilabo, Nylon Membran, 0,20 µm) filtriert und die Lösungen zur HPLC-Analyse in Analysenfläschchen abgefüllt.

4.3 HPLC-Methode

Als Trennsäule hat sich die Säule EC 125/2 NUCLEODUR Sphinx RP, 3 µm von Macherey und Nagel als sehr günstig erwiesen. Als HPLC-System wurde die UHPLC-Anlage ACCELA von Thermo Scientific eingesetzt. Für die Trennung der Polyphenole wurde das Gradientenprogramm in Tabelle 3 gefahren. Die verschiedenen Detektionswellenlängen für die einzelnen Substanzgruppen sind ebenfalls in Tabelle 3 zusammengefasst.

Eluent A: 100 ml Methanol, 3 ml 85% H₃PO₄ auf 1 l mit Wasser auffüllen

Eluent B: 700 ml Methanol, 3 ml 85 % H₃PO₄ auf 1 l mit Wasser auffüllen

Eluent C: Methanol

Tab. 3: Gradientenprogramm und Detektionswellenlängen

Linearer Gradient:	Detektionswellenlängen:
0 Min.: 100 % A	Benzoessäure-Derivate: 250 nm
5 Min.: 100 % A	Zimtsäure-Derivate: 280 nm
30 Min.: 70 % A, 30 % B	Catechine: 280 nm
55 Min.: 10 % A, 90 % B	Quercetinglykoside: 350 nm
56 Min.: 100 % C	Kämpferolglykoside: 350 nm
60 Min.: 100 % C	Multifidolglukoside: 280 nm
61 Min.: 100 % A	

Zur Sortenunterscheidung sind vor allem die Quercetin- und Kämpferolglykoside geeignet, die anderen phenolischen Komponenten sind weniger sortenspezifisch ausgeprägt. Die Quercetin- und Kämpferolglykoside haben ein Absorptionsmaximum bei 350 nm und die Multifidolglukoside bei 280 nm. Deshalb wurde entschieden, bei den Wellenlängen 350 nm und 280 nm zu messen, um die beste Selektivität und Empfindlichkeit zu erhalten. Die Abbildung 7 zeigt ein Chromatogramm bei der Wellenlänge 280 nm, die für die Messung der Multifidolglukoside optimal ist. In Abbildung 8 sind die Chromatogramme der Sorten Opal, Hersbrucker Spät, Herkules und Zeus bei 350 nm dargestellt, die sich deutlich in der Zusammensetzung ihrer Flavonoide unterscheiden.

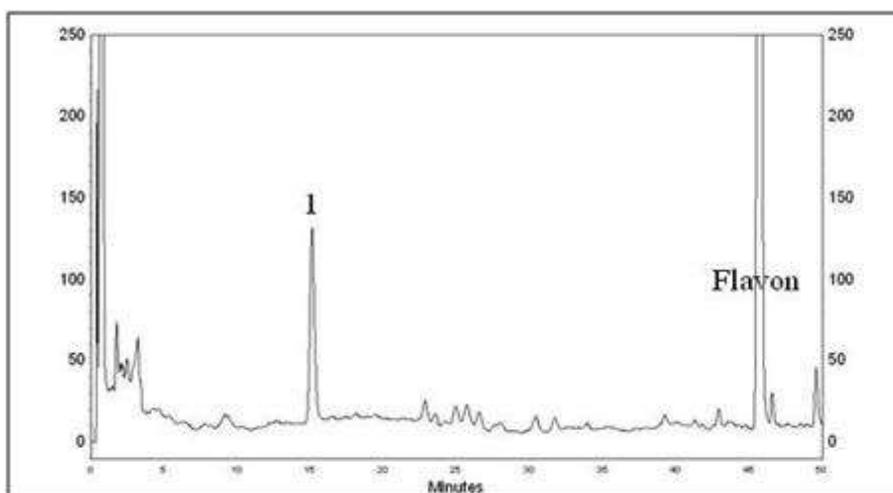


Abb. 7: Chromatogramm der Flavonoide bei 280 nm

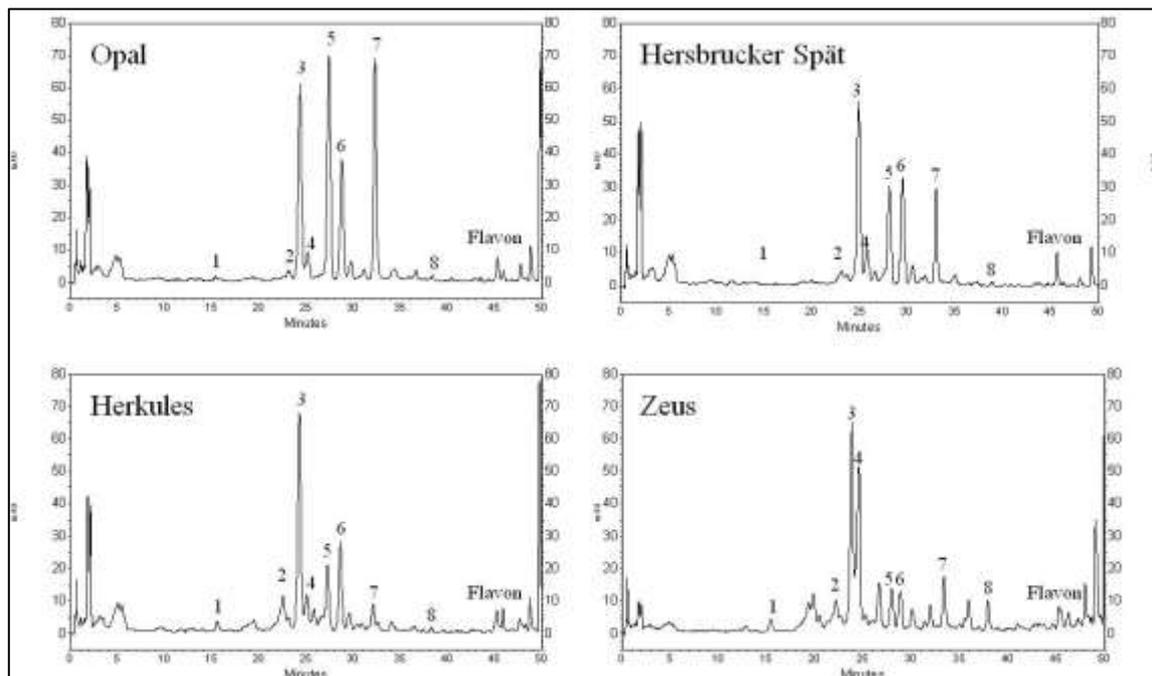


Abb. 8: HPLC-Chromatogramme der Flavonidglykoside von Opal, Hersbrucker Spät, Herkules und Zeus bei 350 nm

Die Substanz Flavon (Abbildung 5) dient als Standard, da Flavon im Hopfen nicht vorkommt und die polaren von den unpolaren Substanzen abgrenzt. Die unpolaren Bitterstoffe, Xanthohumol und die prenylierten Naringenine eluieren erst nach Flavon. In dieser Arbeit waren vor allem diejenigen Substanzen interessant, die polarer als Flavon sind.

4.4 Identifikation von Einzelsubstanzen

Alle Hauptsubstanzen konnten in Zusammenarbeit mit der TUM (Dr. Coelhan) aufgeklärt werden. Dr. Coelhan isolierte die Substanzen mit präparativer HPLC und ermittelte die chemischen Strukturen mit einem Massenspektrometer, wobei mit dieser Methode die absoluten Strukturen nicht bestimmbar sind [17].

Die Substanzen Quercetin-3-galaktosid, Quercetin-3-glukosid (Isoquercitrin) und Kämpferol-3-glukosid (Astragalin) wurden zusätzlich durch Reinsubstanzen verifiziert. Die Substanz 1 wurde eindeutig als 1-(2-Methylpropanoyl)phloroglucinol-glukopyranosid identifiziert. Die chemischen Strukturen sind in der Abbildung 9 zusammengestellt.

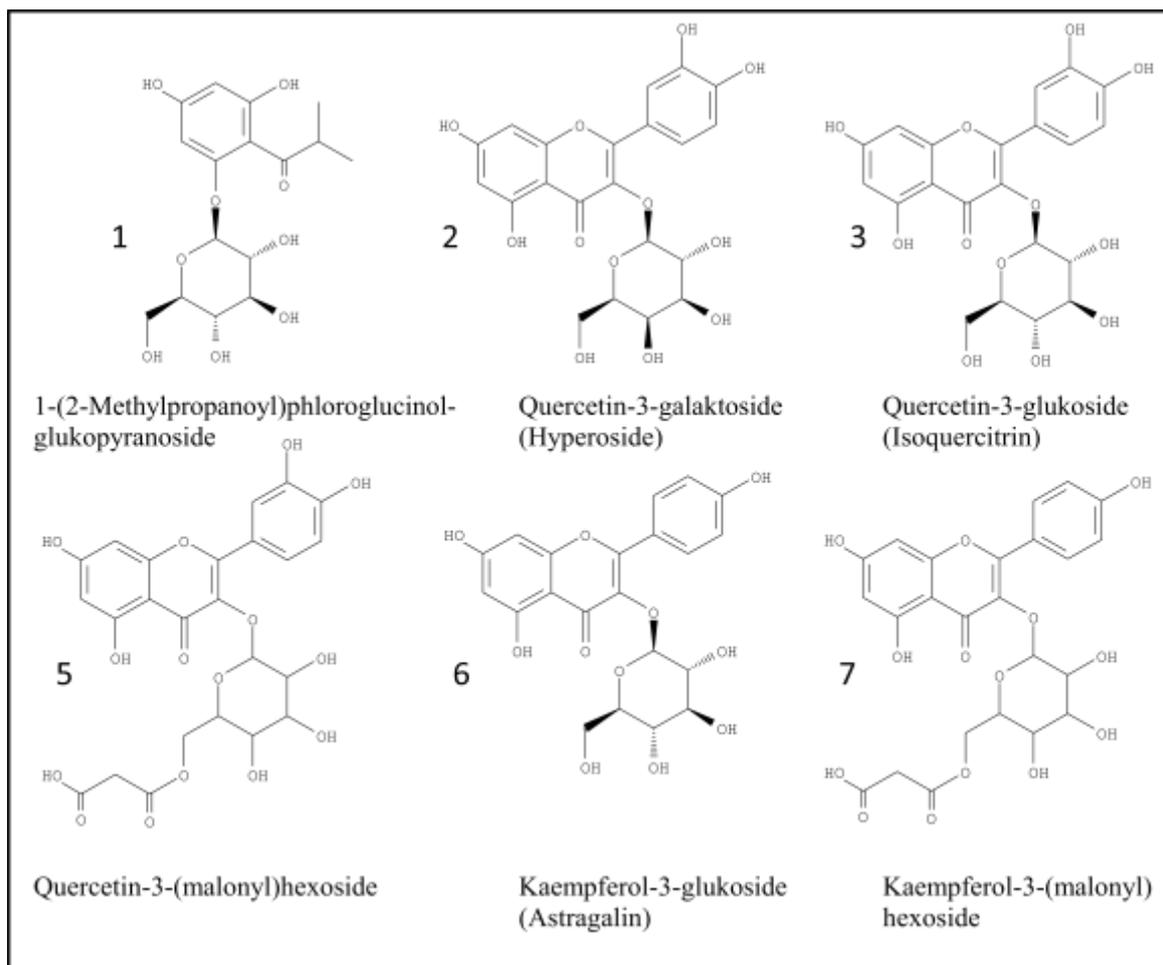


Abb. 9: Chemische Strukturen der identifizierten Substanzen (englische Bezeichnung)

5 Ergebnisse und Auswertung

Mit den erarbeiteten Methoden wurde fast das ganze in Hüll verfügbare Welthopfenortiment (121 verschiedene Sorten aus 17 Ländern) der Erntejahre 2009, 2010 und 2011 untersucht. Die Tabelle 4 zeigt die Messergebnisse. In der Tabelle 4 sind die bezeichneten Peaks (Abbildung 9) in Prozent relativ zu einander angegeben. Die Summe der Peaks ergibt jeweils 100. Über die drei Erntejahre hinweg schwankt die Flavonoidzusammensetzung nur sehr gering und auch Proben der gleichen Sorte an verschiedenen Standorten zeigten dieselben Muster. Die Flavonoidzusammensetzung ist auf alle Fälle genetisch determiniert und damit sortenspezifisch.

Tab. 4: Messergebnisse der Erntejahre 2009, 2010, 2011

Sorte	Land	Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6			Peak 7			Peak 8			Multifidol		
		2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
Admiral	England	15	19	13	4	2	5	25	19	21	6	10	9	16	12	14	3	9	8	31	29	30
Agnus	Tschechien	17	11	12	4	2	3	16	20	19	10	13	11	11	17	13	5	10	9	37	27	33
Ahil	Slowenien	16	12	14	0	2	1	13	17	17	4	8	10	12	6	11	3	6	7	52	49	40
Alliance	England	18	26	22	8	4	4	33	29	27	11	15	17	27	21	23	1	4	5	2	1	2
Alpharoma	Neuseeland	27	23	19	1	5	2	21	25	22	16	20	19	22	24	25	4	1	3	9	2	10
Apolon	Slowenien	23	31	24	6	2	2	26	22	20	6	2	5	2	6	5	2	5	4	35	32	40
Aquila	USA	18	20	22	33	37	32	9	5	4	6	9	8	14	10	11	0	2	3	20	17	20
Aromat	Tschechien	19	11	13	1	7	3	25	29	27	9	3	7	17	19	18	2	2	3	27	29	29
Atlas	Slowenien	37	31	30	3	5	2	8	9	7	16	20	19	5	6	7	2	1	2	29	28	33
Aurora	Slowenien	14	18	16	6	2	3	24	23	21	10	11	12	25	22	24	3	5	4	18	19	20
Backa	Serbien	17	19	18	21	17	16	21	19	18	4	6	5	5	7	6	4	6	5	28	26	32
Belgischer Spalter	Belgien	23	21	19	2	4	7	16	20	17	11	9	10	13	15	13	3	4	4	32	27	30
Blisk	Slowenien	24	18	23	2	6	3	6	10	9	15	13	12	9	7	8	3	4	3	41	42	42
Boadicea	England	23	31	24	11	7	6	22	18	21	9	13	12	12	10	13	2	1	1	21	20	23
Bobek	Slowenien	11	13	10	4	2	1	20	16	19	7	10	10	19	24	25	6	3	4	33	32	31
Bor	Tschechien	14	18	13	2	5	2	20	14	18	8	11	13	14	10	12	4	7	5	38	35	37
Bramling Cross	England	47	49	46	5	1	3	11	7	12	12	16	15	4	6	7	1	3	2	20	18	15
Braustern	Deutschland	15	11	12	2	3	4	15	19	20	5	9	10	22	18	19	4	2	3	37	38	32
Brewers Gold	England	20	17	22	7	11	10	15	17	19	5	3	4	7	11	12	4	8	7	42	33	26
Brewers Stand	England	32	30	29	11	14	13	5	3	6	24	17	20	4	8	7	2	5	6	22	23	19
Buket	Slowenien	17	21	18	2	4	5	30	25	26	9	12	11	21	23	22	6	4	4	15	11	14
Bullion	England	15	17	15	15	16	14	14	16	17	10	12	9	10	11	11	4	6	5	32	22	29
Cascade	USA	17	13	18	10	13	11	16	19	17	10	7	8	11	15	12	4	1	2	32	32	32
Chang Bei 1	China	22	28	23	8	4	6	30	26	28	10	12	13	19	18	20	2	3	2	9	9	8

Fortsetzung Tabelle 4

Sorte	Land	Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6			Peak 7			Peak 8			Multifidol		
Chang Bei 2	China	25	29	24	9	6	5	28	31	29	10	14	10	17	15	18	2	1	1	9	4	13
College Cluster	England	38	42	43	10	4	7	11	14	12	22	26	23	10	7	8	1	2	1	8	5	6
Columbus	USA	27	23	25	16	21	17	8	4	5	5	7	8	2	1	2	4	8	5	38	36	38
Comet	USA	20	22	18	6	8	9	27	18	21	6	9	7	4	8	6	3	5	4	34	30	35
Crystal	USA	36	38	34	8	5	6	17	20	18	18	21	19	16	14	13	1	0	1	4	2	9
Density	England	47	45	41	2	5	4	7	11	8	16	12	13	5	4	6	1	1	0	22	22	28
Diva	England	15	19	21	3	7	5	22	25	23	14	12	14	19	15	17	2	3	2	25	19	18
Early Choice	England	20	22	19	4	2	3	26	24	27	10	9	11	17	15	16	1	2	1	22	26	23
Eastern Gold	Japan	33	37	34	35	30	31	5	9	8	12	8	9	3	1	3	2	1	2	10	14	13
Eastwell Golding	England	20	22	19	2	6	3	23	20	22	11	15	11	15	19	16	4	2	2	25	16	27
Emerald	Deutschland	10	12	14	3	5	3	15	16	14	5	3	6	10	8	10	1	3	4	56	53	49
Eroica	USA	33	29	28	19	23	18	10	6	9	4	5	6	2	4	5	3	1	2	29	32	32
Estera	Polen	32	28	34	2	4	3	14	18	12	13	19	14	15	10	14	1	3	5	23	18	18
First Gold	England	18	14	12	2	3	2	18	21	19	9	15	10	16	19	18	1	3	2	36	25	37
Fuggle	England	31	27	25	4	5	3	17	18	18	12	15	13	11	15	14	3	6	4	22	14	23
Galena	USA	21	19	23	17	20	18	8	4	5	4	2	5	4	7	9	1	3	2	45	45	38
Ging Dao Do Hua	China	34	38	35	30	34	28	10	6	7	9	7	10	4	1	5	1	2	1	12	12	14
Glacier	USA	17	19	22	7	3	4	24	28	25	12	8	13	19	21	20	1	3	4	20	18	12
Golden Star	Japan	35	37	32	36	30	31	8	9	10	6	11	10	1	4	5	1	1	2	13	8	10
Granit	Ukraine	17	15	13	18	24	19	12	16	13	16	11	12	15	17	18	4	2	4	18	15	21
Green Bullet	Neuseeland	18	16	14	9	13	10	15	19	16	21	15	16	26	28	29	1	3	5	10	6	10
Hall. Gold	Deutschland	14	16	15	1	5	2	24	20	23	10	8	9	15	19	18	4	1	2	32	31	31
Hall. Magnum	Deutschland	12	14	11	14	18	13	16	12	15	4	6	7	8	6	7	6	10	8	40	34	39
Hall. Merkur	Deutschland	21	19	24	11	15	10	24	19	22	5	8	6	4	6	6	7	3	6	28	30	26
Hall. Taurus	Deutschland	19	21	23	2	6	3	15	12	14	4	8	3	5	3	4	7	3	4	48	47	49

Fortsetzung Tabelle 4

Sorte	Land	Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6			Peak 7			Peak 8			Multifidol		
Hall. Tradition	Deutschland	9	7	8	4	1	2	12	16	13	2	5	4	15	10	16	1	4	2	57	57	55
Hallertauer Mfr.	Deutschland	17	13	12	1	3	2	25	31	29	10	7	9	24	20	23	1	3	3	22	23	22
Harmony	Tschechien	14	20	16	6	2	3	15	19	18	11	5	10	13	18	19	5	4	7	36	32	27
Herald	England	13	15	14	5	2	1	17	20	23	6	10	9	20	17	18	2	1	3	37	35	32
Herkules	Deutschland	24	20	19	2	6	4	5	9	11	12	9	13	1	3	4	5	2	4	51	51	45
Hersbrucker Pure	Deutschland	22	18	17	5	1	2	24	28	29	7	11	12	16	20	19	5	2	4	21	20	17
Hersbrucker Spät	Deutschland	33	36	34	8	4	7	21	16	20	18	20	21	18	17	15	1	2	1	1	5	2
Horizon	USA	20	24	26	2	4	5	32	28	33	13	9	15	11	13	12	5	3	6	17	19	3
Hüller Anfang	Deutschland	17	15	18	2	2	4	28	32	33	9	5	10	21	23	22	1	1	3	22	22	10
Hüller Aroma	Deutschland	17	17	20	1	3	4	28	24	29	7	11	12	19	23	25	4	1	2	24	21	8
Hüller Bitter	Deutschland	25	19	21	6	10	8	12	16	17	13	17	14	19	15	17	4	2	3	21	21	20
Hüller Fortschritt	Deutschland	23	15	16	2	3	4	25	29	28	10	13	14	22	26	27	4	2	2	14	12	9
Hüller Start	Deutschland	17	13	10	1	5	4	26	30	28	11	7	10	26	28	29	2	1	4	17	16	15
Japan C 730	Japan	25	21	19	11	13	12	27	29	30	13	9	12	12	14	15	6	2	5	6	12	7
Japan C 845	Japan	13	7	8	3	7	8	9	13	10	9	6	8	11	9	10	2	1	4	53	57	52
Kirin 1	Japan	36	42	38	28	30	29	8	4	9	9	5	7	3	1	4	1	2	2	15	16	11
Kirin 2	Japan	41	35	36	32	36	35	5	7	8	10	6	9	1	3	4	1	2	1	10	11	7
Kitamidori	Japan	18	12	14	5	9	8	10	14	13	12	10	11	12	11	13	3	1	3	40	43	38
Kumir	Ukraine	17	19	15	5	1	2	18	20	19	11	7	10	17	19	18	4	6	5	28	28	31
Lubelski	Polen	14	10	11	3	5	4	21	25	24	8	4	9	16	19	18	5	2	4	33	35	30
Malling	Österreich	38	34	33	2	6	3	16	20	21	18	15	17	12	11	13	1	3	3	13	11	10
Marynka	Polen	44	40	38	3	6	4	7	9	10	14	18	19	6	2	5	2	4	3	24	21	21
Mt. Hood	USA	22	24	19	2	4	3	34	30	35	7	10	12	10	14	15	5	2	4	20	16	12
Neoplanta	Jugoslawien	23	25	20	6	2	4	26	30	31	13	7	12	19	23	22	3	2	3	10	11	8
Neptun	Deutschland	22	16	23	1	2	5	23	25	26	4	8	10	9	5	8	15	17	14	26	27	14

Fortsetzung Tabelle 4

Sorte	Land	Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6			Peak 7			Peak 8			Multifidol		
New Zealand Hallertauer	Neuseeland	32	35	31	2	4	4	19	16	18	16	12	17	10	7	9	1	2	4	20	24	17
Northern Brewer	England	13	9	15	2	3	6	13	15	17	8	4	9	15	18	17	4	2	3	45	49	33
Nugget	USA	25	29	26	4	8	7	31	33	34	12	14	15	11	7	10	4	2	4	13	7	4
Olympic	USA	32	24	25	5	7	8	30	34	35	9	13	14	10	12	14	2	1	1	12	9	3
Opal	Deutschland	21	15	16	2	5	7	23	27	28	7	9	10	25	19	24	1	3	3	21	22	12
Orion	Deutschland	16	12	15	1	5	6	13	17	18	9	6	7	12	11	14	4	2	3	45	47	37
Pacific Gem	Neuseeland	35	37	36	5	1	4	18	22	23	21	17	20	11	15	16	1	5	4	9	3	-3
PCU 280	Polen	15	17	16	5	2	5	21	25	26	8	4	9	14	11	15	2	4	4	35	37	25
Perle	Deutschland	8	7	9	4	1	2	11	13	15	2	5	6	10	7	12	1	3	2	64	64	54
Phoenix	England	21	23	25	7	3	8	29	33	32	10	5	9	18	16	18	4	2	2	11	18	6
Pilgrim	England	15	21	23	6	2	7	21	18	20	9	13	12	20	17	21	1	3	3	28	26	14
Pilot	England	24	28	29	6	3	5	21	25	24	18	15	17	13	11	14	1	3	5	17	15	6
Pioneer	England	16	16	18	1	5	6	21	17	18	9	11	12	18	15	19	1	3	2	34	33	25
Premiant	Tschechien	11	7	12	1	3	2	8	12	11	2	6	7	7	5	8	9	7	8	62	60	52
Pride of Kent	England	18	20	22	6	3	2	32	29	33	8	12	13	23	27	28	4	2	3	9	7	-1
Pride of Ringwood	Australien	23	27	21	13	10	9	7	11	12	26	22	25	11	15	16	4	1	4	16	14	13
Progress	England	30	32	28	16	12	13	3	7	9	22	19	23	5	9	10	5	3	4	19	18	13
Rubin	Tschechien	22	16	17	3	8	8	22	26	28	14	18	17	25	21	24	2	3	2	12	8	4
Saazer	Tschechien	16	19	17	4	6	5	33	29	30	5	9	10	18	20	21	5	2	4	19	15	13
Saphir	Deutschland	12	16	15	5	1	4	24	18	25	9	11	12	16	22	23	1	3	3	33	29	18
Serebrianker	Russland	18	22	21	3	1	5	37	33	34	6	10	9	18	22	17	5	2	4	13	10	10
Sirem	Tschechien	10	15	17	4	2	6	21	26	27	7	5	7	19	16	17	1	4	3	38	32	23
Sladek	Tschechien	18	12	14	1	4	7	14	18	19	9	6	8	17	15	16	3	1	2	38	44	34
Smaragd	Deutschland	20	18	16	3	5	4	28	32	33	12	10	13	21	26	20	3	2	2	13	7	12
Spalter	Deutschland	14	11	12	2	4	3	27	23	28	8	4	9	15	18	16	3	1	2	31	39	30

Fortsetzung Tabelle 4

Sorte	Land	Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6			Peak 7			Peak 8			Multifidol		
Spalter Select	Deutschland	15	13	12	1	4	2	23	28	29	11	6	12	16	21	17	7	4	6	27	24	22
Sterling	USA	30	32	28	8	4	5	30	34	35	12	8	13	9	13	10	2	3	4	9	6	5
Sticklebracket	Neuseeland	33	35	31	8	4	6	8	12	14	26	22	25	10	11	13	2	2	3	13	14	8
Strisselspalter	Frankreich	40	36	37	4	8	5	19	15	17	19	23	21	14	11	11	2	1	3	2	6	6
Super Alpha	Neuseeland	25	23	21	9	13	10	15	11	14	21	18	22	16	20	15	3	2	3	11	13	15
Talisman	USA	14	15	13	5	1	4	15	18	19	7	5	8	18	15	17	3	1	4	38	45	35
Tettnanger	Deutschland	15	17	14	4	2	4	30	26	27	5	9	10	17	20	19	5	2	4	24	24	22
Toyomidon	Japan	16	11	12	5	8	7	21	17	18	3	6	5	4	7	9	7	3	6	44	48	43
Urozani	Russland	18	22	19	7	3	5	28	25	24	8	10	11	19	16	15	3	5	4	17	19	22
USDA 21055	USA	47	43	41	13	19	16	4	7	5	15	11	14	3	2	4	1	3	4	17	15	16
Vojvodina	Jugoslawien	20	16	17	1	6	5	26	30	27	7	12	13	25	20	21	2	3	4	19	13	13
WFG	England	13	14	12	1	5	4	22	26	23	8	5	6	18	15	16	2	5	4	36	30	35
Williamette	USA	31	37	32	5	2	3	16	12	13	19	22	23	13	10	11	1	2	3	15	15	15
Wye Northdown	England	17	13	12	1	5	4	20	18	19	6	10	11	11	16	12	4	2	3	41	36	39
Wye Target	England	18	12	11	2	6	7	18	22	19	5	10	11	12	7	8	6	9	8	39	34	36
Wye Viking	England	20	23	18	3	7	8	27	24	25	10	7	12	14	18	15	3	5	4	23	16	18
Yeoman	England	22	17	18	3	6	7	23	26	24	11	7	10	19	17	16	3	2	4	19	25	21
Zatecki	Tschechien	28	33	29	5	3	4	14	17	15	16	12	17	10	13	11	3	2	4	24	20	20
Zenith	England	20	18	19	1	6	7	20	25	21	14	8	13	25	29	26	4	2	3	16	12	11
Zeus	USA	25	30	24	23	20	22	3	7	8	7	5	8	2	5	3	8	6	7	32	27	28
Zitic	Ukraine	14	11	12	2	6	7	14	19	15	8	5	7	9	13	10	5	2	4	48	44	45
Zlatan	Tschechien	12	17	14	6	2	5	23	28	24	8	4	7	17	22	18	5	2	4	29	25	28

5.1 Hauptkomponentenanalyse

5.1.1 Methodik und Durchführung

Mit den bezeichneten sieben Substanzen (Abbildung 8) und deren Mittelwerten der Erntejahre 2009, 2010, 2011 wurde eine Hauptkomponentenanalyse berechnet, um Ähnlichkeiten und Unterschiede sichtbar zu machen. Als Software wurde SAS 9.1 verwendet und die Berechnung erfolgte auf Basis der Korrelationsmatrix (Tabelle 5).

Tab. 5: Korrelationsmatrix

	Multifidol	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Peak 8
Multifidol	1,0000	-0,5666	-0,1952	-0,3604	-0,6012	-0,2994	0,2393
Peak 3	-0,5666	1,0000	0,3535	-0,3410	0,5770	-0,4710	-0,3000
Peak 4	-0,1952	0,3535	1,0000	-0,5077	-0,0820	-0,4839	-0,0752
Peak 5	-0,3604	-0,3410	-0,5077	1,0000	-0,1380	0,6476	0,0555
Peak 6	-0,6012	0,5770	-0,0820	-0,1380	1,0000	0,0929	-0,2934
Peak 7	-0,2994	-0,4710	-0,4839	0,6476	0,0929	1,0000	-0,1676
Peak 8	0,2393	-0,3000	-0,0752	0,0555	-0,2934	-0,1676	1,0000

Bei der Hauptkomponentenanalyse wird die ursprüngliche Datenmatrix auf kleinere Matrizen projiziert, wobei die Hauptkomponenten jeweils die maximale Varianz beschreiben (Tabelle 6).

Tab. 6: Eigenwerte und Varianzen

PCA	Eigenwert	Differenz	Varianz in %	kumulative Varianz in %
1	2,5327	0,3347	36,2	36,2
2	2,1980	1,3142	31,4	67,6
3	0,8838	0,0748	12,6	80,2
4	0,8090	0,3521	11,6	91,8
5	0,4569	0,3386	6,5	98,3
6	0,1183	0,1169	1,7	100
7	0,0014	0,3347		

Die erste Hauptkomponente beschreibt 36,2 %, die zweite 31,4 % und die dritte 12,2 % der Gesamtvarianz. Bei der kumulativen Darstellung sieht man, dass drei Hauptkomponenten bereits 80,2 % der Gesamtvarianz abdecken. In der Tabelle 7 ist das ganze Welthopfsortiment mit den ersten drei Hauptkomponenten dargestellt.

Tab. 7: Mittelwerte der Ernten 2009-2011 und die ersten 3 Hauptkomponenten

Sorte	Land	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Multifidol	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Admiral	England	16	4	22	8	14	7	5	25	2,04183	0,94175	1,69449
Agnus	Tschechien	13	3	18	11	14	8	6	26	2,24785	1,33353	2,28590
Ahil	Slowenien	14	1	16	7	10	5	4	43	1,96116	1,52735	-0,22146
Alliance	England	22	5	30	14	24	3	1	0	-0,38170	-2,72811	0,60409
Alpharoma	Neuseeland	23	3	23	18	24	3	2	5	-0,65776	-2,26668	0,84087
Apolon	Slowenien	26	3	23	4	4	4	5	31	1,14272	1,71109	0,77967
Aquila	USA	20	34	6	8	12	2	7	12	-0,96231	2,98401	1,52197
Aromat	Tschechien	14	4	27	6	18	2	1	27	1,10493	-1,11444	-1,36697
Atlas	Slowenien	33	3	8	18	6	2	2	28	-2,05435	0,72380	-0,48218
Aurora	Slowenien	16	4	23	11	24	4	2	19	0,91023	-1,36435	0,05024
Backa	Serbien	18	18	19	5	6	5	4	25	0,65960	2,18446	0,63811
Belgischer Spalter	Belgien	21	4	18	10	14	4	2	28	0,38071	0,12289	-0,36131
Blisk	Slowenien	22	4	8	13	8	3	3	39	-0,22409	1,45445	-0,73677
Boadicea	England	26	8	20	11	12	1	2	19	-0,93738	-0,31228	-0,53503
Bobek	Slowenien	11	2	18	9	23	4	3	29	1,73215	-0,51223	-0,28643
Bor	Tschechien	15	3	17	11	12	5	2	35	0,96097	0,53709	-0,50771
Bramling Cross	England	47	3	10	14	6	2	1	17	-2,99209	0,40742	-0,26983
Braustern	Deutschland	13	3	18	8	20	3	2	33	1,28631	-0,38741	-1,11421
Brewers Gold	England	20	9	17	4	10	6	4	29	1,34915	1,83555	0,64214
Brewers Stand	England	30	13	5	20	6	4	3	19	-2,28517	1,52733	0,77956
Buket	Slowenien	19	4	27	11	22	5	2	11	0,75996	-1,49028	0,80786
Bullion	England	16	15	16	10	11	5	2	25	0,14002	1,07304	-0,12315
Cascade	USA	16	11	17	8	13	2	2	30	0,22194	0,46694	-1,17152
Chang Bei 1	China	24	6	28	12	19	2	3	6	-0,24690	-1,55693	0,86758
Chang Bei 2	China	26	7	29	11	17	1	2	7	-0,69786	-1,65797	0,18394

Fortsetzung Tabelle 7

Sorte	Land	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Multifidol	PCA 1	PCA 2	PCA 3
College Cluster	England	41	7	12	24	8	1	2	5	-3,82735	-0,52455	0,76948
Columbus	USA	25	18	6	7	2	6	4	33	-0,21336	3,60828	0,47866
Comet	USA	20	8	22	7	6	4	3	30	0,65837	1,18686	-0,04438
Crystal	USA	36	6	18	19	14	1	1	4	-2,80028	-1,45026	0,18509
Density	England	44	4	9	14	5	1	2	22	-2,76180	0,79104	-0,39323
Diva	England	18	5	23	13	17	2	1	20	-0,19095	-1,28221	-0,77179
Early Choice	England	20	3	26	10	16	1	1	23	0,02238	-1,36078	-1,15919
Eastern Gold	Japan	35	32	7	10	2	2	2	11	-3,32473	2,56387	-0,06658
Eastwell Golding	England	20	4	22	12	17	3	2	20	0,14067	-0,84732	-0,12258
Emerald	Deutschland	12	4	15	5	9	3	2	51	1,54828	1,42179	-2,05440
Eroica	USA	30	20	8	5	4	2	2	29	-1,46287	2,46127	-1,14963
Estera	Polen	31	3	15	15	13	3	1	18	-1,43458	-0,48900	-0,25895
First Gold	England	15	2	19	11	18	2	2	31	0,67613	-0,67343	-1,07277
Fuggle	England	28	4	18	13	13	4	3	17	-0,46297	0,01115	0,80670
Galena	USA	21	18	6	4	7	2	2	40	-0,39551	2,51721	-1,91454
Ging Dao Do Hua	China	36	31	8	9	3	1	1	12	-3,52078	2,10132	-0,78549
Glacier	USA	19	5	26	11	20	3	2	15	0,37478	-1,38294	0,11672
Golden Star	Japan	35	32	9	9	3	1	1	10	-3,51414	2,03026	-0,69983
Granit	Ukraine	15	20	14	13	17	3	2	16	-0,71857	0,23842	-0,21029
Green Bullet	Neuseeland	16	11	17	17	28	3	2	6	-0,52002	-1,80941	0,43583
Hall. Gold	Deutschland	15	3	22	9	17	2	2	30	0,86406	-0,63794	-1,03808
Hall. Magnum	Deutschland	12	15	14	6	7	8	5	32	1,81580	2,98347	1,30195
Hall. Merkur	Deutschland	21	12	22	6	5	5	2	26	0,35002	1,35109	-0,06421
Hall. Taurus	Deutschland	21	4	14	5	4	5	3	45	1,13888	2,30451	-0,68785
Hall. Tradition	Deutschland	8	2	14	4	14	2	2	54	2,02716	0,92631	-2,61546

Fortsetzung Tabelle 7

Sorte	Land	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Multifidol	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Hallertauer Mfr.	Deutschland	14	2	28	9	22	2	2	21	1,13477	-1,72671	-0,54764
Harmony	Tschechien	17	4	17	9	17	5	3	29	1,18405	0,33871	0,10254
Herald	England	14	3	20	8	18	2	1	33	0,86354	-0,68715	-1,71095
Herkules	Deutschland	21	4	8	11	3	4	2	47	0,02822	2,12309	-1,33157
Hersbrucker Pure	Deutschland	19	3	27	10	18	4	3	16	0,90833	-0,93491	0,73297
Hersbrucker Spät	Deutschland	34	6	19	20	17	1	2	1	-2,50516	-1,70103	0,75162
Horizon	USA	23	4	31	12	12	5	2	11	0,21274	-0,91001	1,07888
Hüller Anfang	Deutschland	17	3	31	8	22	2	2	16	0,97139	-1,91889	-0,23639
Hüller Aroma	Deutschland	18	3	27	10	22	2	2	16	0,57925	-1,77810	-0,23225
Hüller Bitter	Deutschland	22	8	15	15	17	3	2	19	-0,71603	-0,40141	-0,07721
Hüller Fortschritt	Deutschland	18	3	27	12	25	3	1	10	0,32379	-2,37877	-0,07445
Hüller Start	Deutschland	13	3	28	9	28	2	2	14	1,18480	-2,38164	-0,30232
Japan C 730	Japan	22	12	29	11	14	4	3	6	-0,08667	-0,57252	1,34100
Japan C 845	Japan	9	6	11	8	10	2	1	53	0,95844	1,19259	-2,85173
Kirin 1	Japan	39	29	7	7	3	2	2	12	-3,11898	2,54900	-0,16420
Kirin 2	Japan	37	34	7	8	3	1	1	8	-3,76278	2,26708	-0,67160
Kitamidori	Japan	15	7	12	11	12	2	1	39	0,00573	0,51185	-1,98592
Kumir	Ukraine	17	3	19	9	18	5	2	27	1,09074	-0,18612	-0,19151
Lubelski	Polen	12	4	23	7	18	4	2	31	1,62961	-0,33753	-0,70151
Malling	Österreich	35	4	19	17	12	2	2	9	-2,00999	-0,84785	0,57431
Marynka	Polen	41	4	9	17	4	3	2	20	-2,58884	0,91816	0,26799
Mt. Hood	USA	22	3	33	10	13	4	2	14	0,51723	-1,12373	0,63901
Neoplanta	Jugoslawien	23	4	29	11	21	3	3	7	0,29516	-1,67254	1,03211
Neptun	Deutschland	20	3	25	7	7	15	12	11	4,13781	3,64201	7,39853
New Zealand Hallertauer	Neuseeland	33	3	18	15	9	2	2	18	-1,56715	-0,24337	0,04939

Fortsetzung Tabelle 7

Sorte	Land	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Multifidol	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Northern Brewer	England	12	4	15	7	17	3	2	40	1,36296	0,33631	-1,53893
Nugget	USA	27	6	33	14	9	3	4	4	-0,47255	-0,79810	1,94991
Olympic	USA	27	7	33	12	12	1	2	6	-0,90500	-1,55109	0,41600
Opal	Deutschland	17	5	26	9	23	2	2	16	0,64547	-1,65466	-0,32680
Orion	Deutschland	14	4	16	7	12	3	2	41	1,12376	0,74199	-1,49551
Pacific Gem	Neuseeland	36	3	21	19	14	3	3	0	-1,93674	-1,17812	1,77690
PCU 280	Polen	16	4	24	7	13	3	2	30	1,04204	-0,11165	-0,78807
Perle	Deutschland	8	2	13	4	10	2	2	59	1,97974	1,46174	-2,83497
Phoenix	England	23	6	31	8	17	3	3	9	0,46683	-1,13500	0,87954
Pilgrim	England	20	5	20	11	19	2	3	20	0,20876	-0,71615	-0,05841
Pilot	England	27	5	23	17	13	3	1	11	-1,33190	-1,20248	0,25126
Pioneer	England	17	4	19	11	17	2	2	29	0,37490	-0,52956	-0,93666
Premiant	Tschechien	10	2	10	5	7	8	5	53	2,98889	3,18519	0,22191
Pride of Kent	England	20	4	31	11	26	3	2	3	0,43860	-2,56218	0,74239
Pride of Ringwood	Australien	24	11	10	24	14	3	2	12	-2,25745	-0,36189	0,54530
Progress	England	30	14	6	21	8	4	3	13	-2,46649	1,13049	1,09132
Rubin	Tschechien	18	6	25	16	23	2	1	7	-0,55751	-2,37830	-0,06678
Saazer	Tschechien	17	5	31	8	20	4	3	13	1,27054	-1,23380	0,82692
Saphir	Deutschland	14	3	22	11	20	2	2	25	0,72312	-1,14376	-0,77558
Serebrianker	Russland	20	3	35	8	19	4	2	9	0,98084	-1,79311	0,74006
Sirem	Tschechien	14	4	25	6	17	3	2	29	1,41067	-0,49892	-0,82060
Sladek	Tschechien	15	4	17	8	16	2	2	36	0,84689	0,01732	-1,45927
Smaragd	Deutschland	18	4	31	12	22	2	2	8	0,29672	-2,29612	0,29408
Spalter	Deutschland	12	3	26	7	16	2	3	31	1,56961	-0,46461	-0,70530
Spalter Select	Deutschland	13	2	27	10	18	6	3	21	1,80298	-0,61059	0,90013

Fortsetzung Tabelle 7

Sorte	Land	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 6	Peak 7	Multifidol	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Sterling	USA	30	6	33	11	11	3	2	4	-0,71120	-1,21306	1,02883
Sticklebrack	Neuseeland	33	6	11	24	11	2	2	10	-2,90578	-0,54805	0,59901
Strisselspalter	Frankreich	38	6	18	21	13	2	1	3	-3,00219	-1,34995	0,62767
Super Alpha	Neuseeland	23	11	13	20	18	3	2	11	-1,60742	-0,69886	0,45123
Talisman	USA	14	3	17	7	17	3	3	36	1,44274	0,28638	-0,85607
Tettninger	Deutschland	15	3	28	8	19	4	3	21	1,54564	-0,86445	0,37306
Toyomidon	Japan	13	7	19	5	7	5	3	42	1,73308	1,75889	-0,61351
Urozani	Russland	20	5	26	10	17	4	3	17	0,71110	-0,65709	0,69946
USDA 21055	USA	44	16	5	13	3	3	2	14	-3,27366	1,92294	0,31517
Vojvodina	Jugoslawien	18	4	28	11	22	3	3	12	0,74209	-1,59669	0,68526
WFG	England	13	3	24	6	16	4	2	32	1,69272	-0,18858	-0,73742
Williamette	USA	33	3	14	21	11	2	2	13	-2,31667	-0,63407	0,41347
Wye Northdown	England	14	3	19	9	13	3	2	37	1,02772	0,20647	-1,16152
Wye Target	England	14	5	20	9	9	8	5	31	2,11202	1,77136	1,66728
Wye Viking	England	20	6	25	10	16	4	2	17	0,40314	-0,67542	0,25007
Yeoman	England	19	5	24	9	17	3	2	20	0,50739	-0,76036	-0,22969
Zatecki	Tschechien	30	4	15	15	11	3	2	19	-1,26367	-0,03387	0,10788
Zenith	England	19	5	22	12	27	3	2	11	0,27764	-1,89752	0,19763
Zeus	USA	26	22	6	7	3	7	3	26	-0,61988	3,46674	0,62154
Zitic	Ukraine	12	5	16	7	11	4	2	44	1,41942	1,08282	-1,39901
Zlatan	Tschechien	14	4	25	6	19	4	3	25	1,74055	-0,42084	0,01360

Die Abbildung 10 veranschaulicht die ersten zwei Hauptkomponenten graphisch.

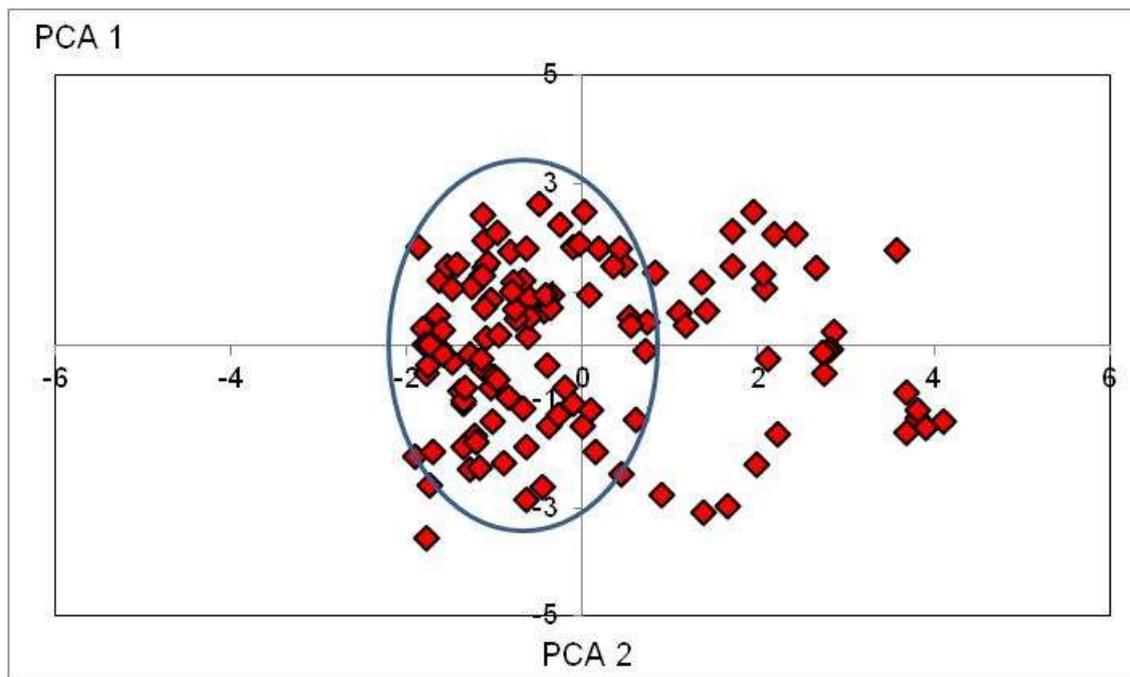
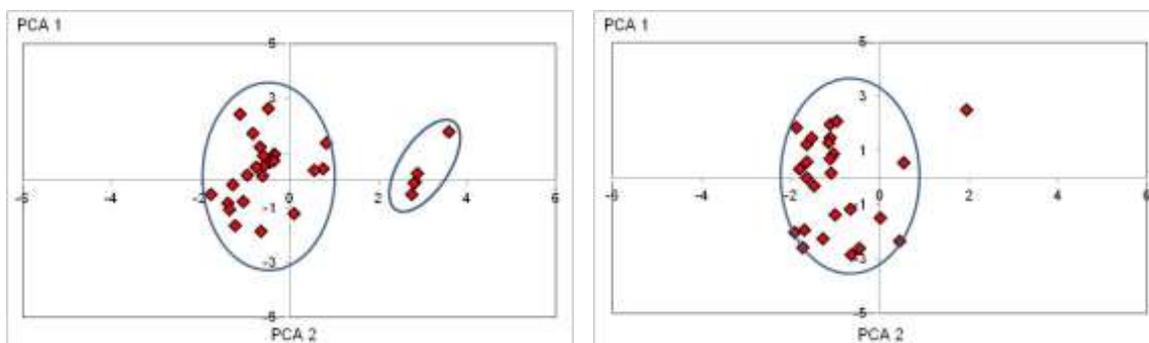


Abb. 10: Darstellung der ersten zwei Hauptkomponenten des Welthopfsortiments

Jeder Punkt in der Grafik repräsentiert eine Hopfensorte. Je näher die Punkte zusammen liegen, desto ähnlicher und je weiter die Punkte auseinander liegen, desto unterschiedlicher sind die Hopfensorten. Die meisten Sorten befinden sich innerhalb der eingezeichneten Ellipse.

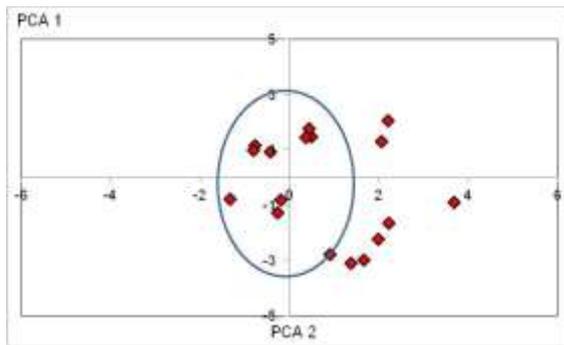
Die Abbildungen 11 bis 13 zeigen die Hauptkomponentendarstellungen gegliedert nach Ländern. Die Reihenfolge ist zuerst absteigend nach der Zahl der Sorten pro Land und dann alphabetisch geordnet.



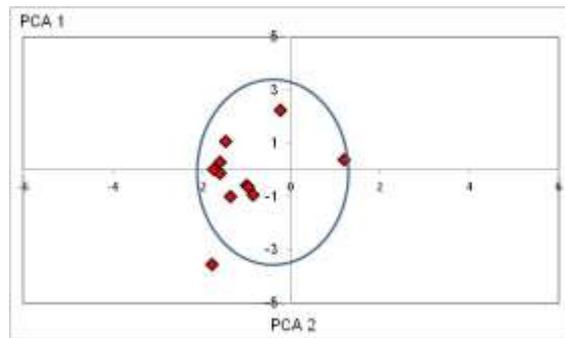
England (28)

Deutschland (26)

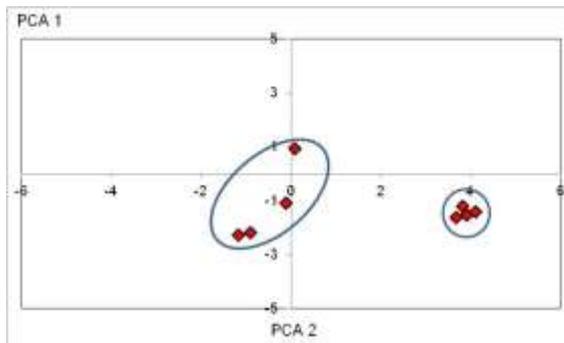
Abb. 11: Hauptkomponentendarstellung Welthopfsortiment nach Ländern (Teil 1)



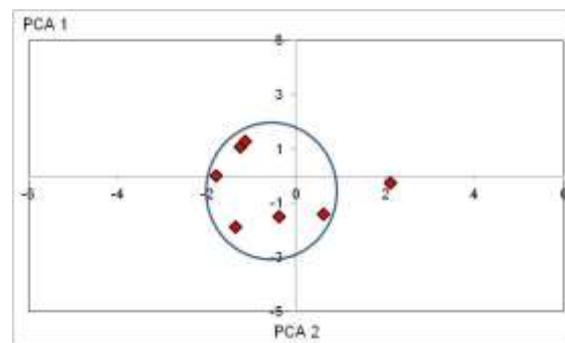
USA (17)



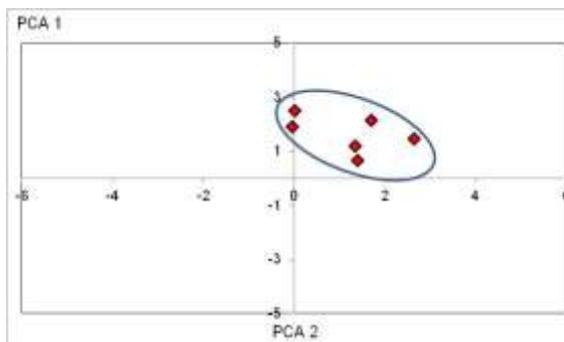
Tschechien (11)



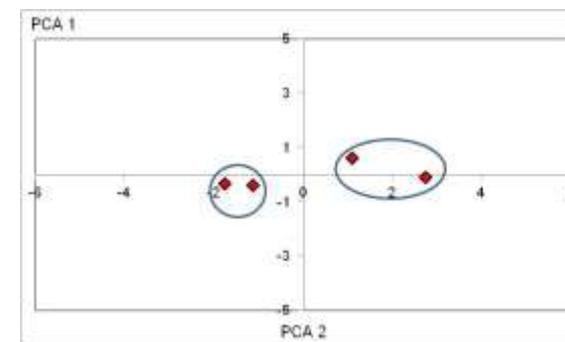
Japan (8)



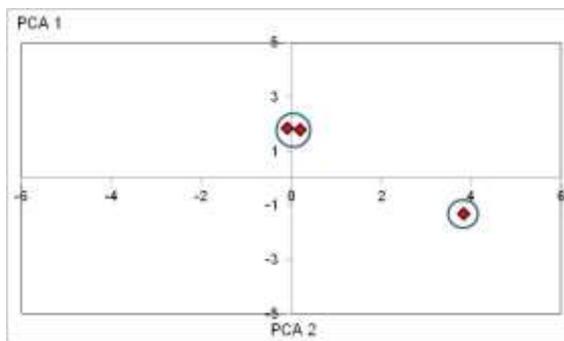
Slowenien (7)



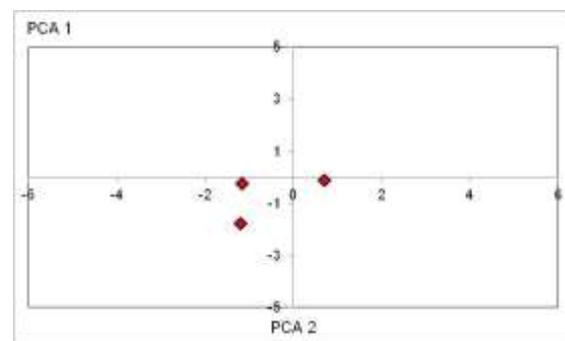
Neuseeland (6)



Polen (4)

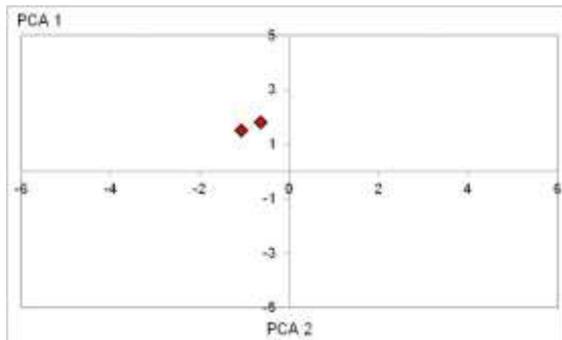


China (3)

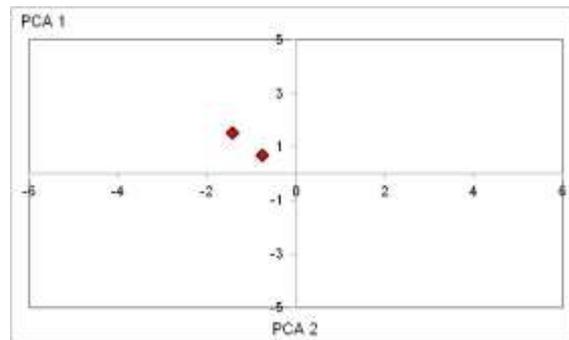


Ukraine (3)

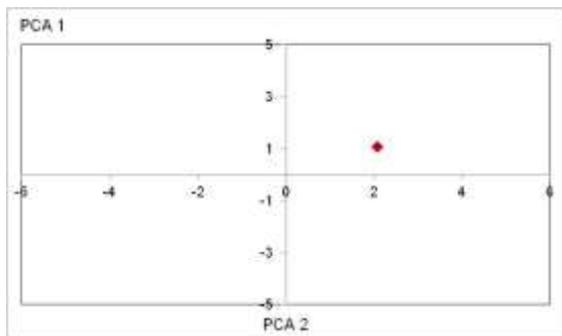
Abb. 12: Hauptkomponentendarstellung Welthopfensortiment nach Ländern (Teil 2)



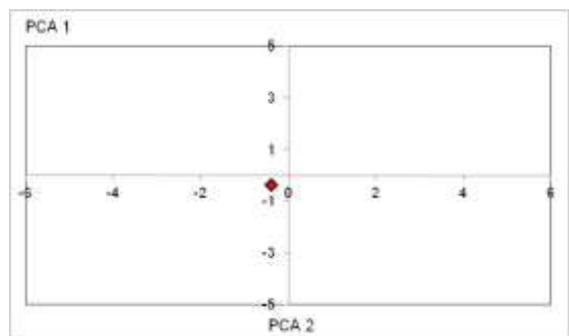
Jugoslawien (2)



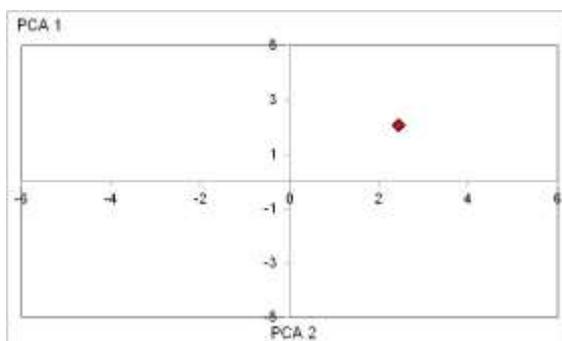
Russland (2)



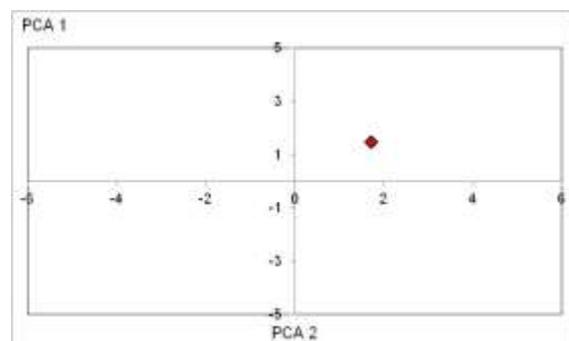
Australien (1)



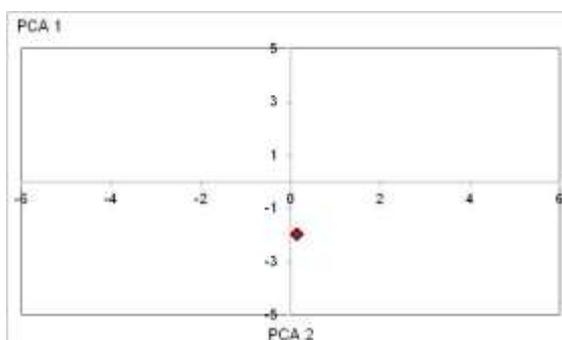
Belgien (1)



Frankreich (1)



Österreich (1)



Serbien (1)

Abb. 13: Hauptkomponentendarstellung Welthopfensortiment nach Ländern (Teil 3)

5.1.2 Diskussion und Interpretation der Daten

In dieser Arbeit wurden zum erstenmal die Flavonoidzusammensetzungen fast aller Sorten des Welthopfensortiments über drei Jahre untersucht. Die Resultate waren überraschend, da sich viele Sorten in ihrer Flavonoidstruktur doch als sehr ähnlich erwiesen haben. Die meisten Sorten besitzen eine Struktur, wie die des Opals (Abbildung 8). Das entspricht auch der typischen Struktur der alten europäischen Landsorten. In der Abbildung 10 ist klar ersichtlich, dass der Großteil der Sorten innerhalb der eingezeichneten Ellipse liegt. Einige Sorten besitzen jedoch eine ganz typische individuelle Flavonoidzusammensetzung und sind deshalb auch sehr gut abgrenzbar. Diese Sorten liegen außerhalb der eingezeichneten Ellipse. Zeus und Herkules in Abbildung 8 sind z.B. solche Sorten.

Die Aufgliederung nach Ländern erschließt auch einige wichtige neue Erkenntnisse. England ist mit 28 Sorten der Spitzenreiter noch vor Deutschland mit 26. Mit den englischen Sorten können zwei Gruppen gebildet werden. Die Mehrheit der englischen Sorten sind den europäischen Landsorten zuzuordnen, vier Sorten jedoch bilden eine eigene Gruppe (Abbildung 11). Die deutschen Sorten entsprechen den europäischen Landsorten. Die Sorten aus den USA streuen schon etwas mehr (Abbildung 12). Auch hier haben viele Sorten die Struktur der europäischen Landsorten, was darauf zurück zu führen ist, dass in diese Sorten auch europäisches Zuchtmaterial eingekreuzt wurde. Tschechien und Slowenien sind traditionelle europäische Anbauländer und die Sorten aus diesen Ländern sind vom europäischen Typ. Die acht japanischen Sorten können in zwei Gruppen eingeteilt werden, die relativ weit auseinander legen. Aus Neuseeland kommen sechs Sorten, die teilweise etwas außerhalb der Ellipse liegen und untereinander sehr ähnlich sind. Die vier Sorten aus Polen bilden zwei Paare. In Hüll sind auch drei Sorten aus China verfügbar, wobei zwei sehr ähnlich sind und die dritte sich deutlich unterscheidet. Von den übrigen Ländern sind jeweils nur ein bis maximal drei (Ukraine) Sorten vorhanden. Die Abbildung 13 zeigt deren Einordnung.

5.2 Clusteranalyse

Die Clusteranalyse ist eine weitere Methode, um Objekte an Hand der Ähnlichkeit ihrer Merkmale schrittweise zusammen zu fassen [18]. Es entstehen hierarchisch oder nicht hierarchisch geordnete Cluster. Die Ähnlichkeiten von Objekten werden durch Abstandsmaße ausgedrückt. Je geringer die Abstandsmaße, desto ähnlicher sind die Objekte. Ein gebräuchliches Abstandsmaß ist die „*Minkowski-Distanz*“ (Formel 1).

$$d_{ij} = \left[\sum_{k=1}^k |x_{ik} - x_{jk}|^p \right]^{1/p} \quad (\text{Formel 1})$$

Bei zwei Objekten mit zwei Merkmalen ($p=2$) entspricht die Minkowski-Distanz dem Euklidischen Abstand (Formel 2). Die Abbildung 14 veranschaulicht den Euklidischen Abstand graphisch.

$$d_{12} = [(x_{11} - x_{21})^2 + (x_{12} - x_{22})^2]^{1/2} \quad (\text{Formel 2})$$

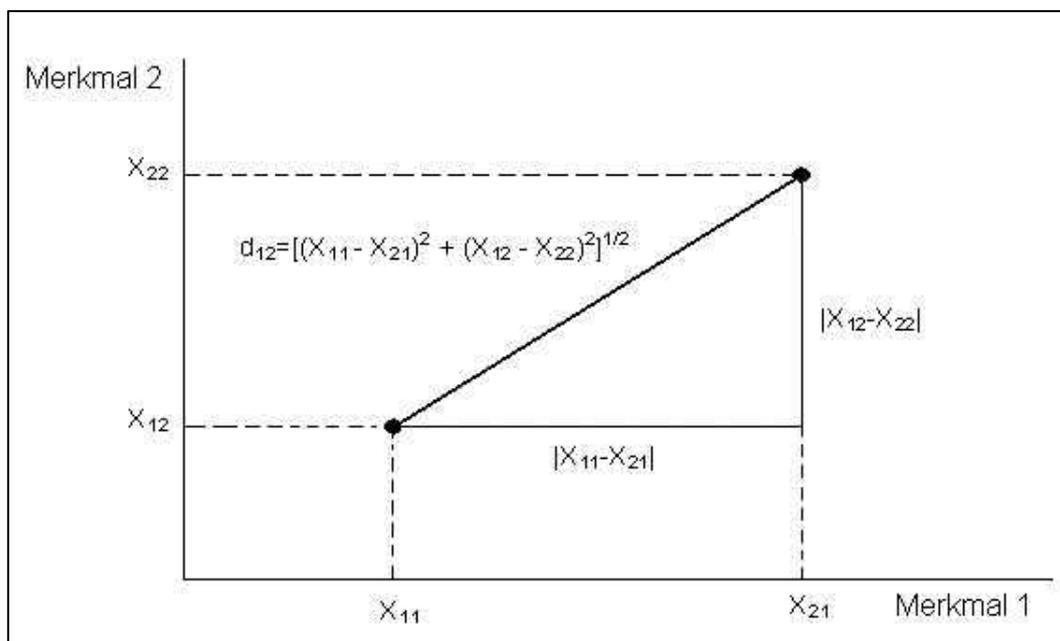


Abb. 14: Euklidische Distanz für zwei Merkmale

Ein Cluster beschreibt eine Gruppe von Objekten, die untereinander ähnlicher sind als gegenüber Objekten außerhalb dieser Gruppe. Als Keimzelle eines Clusters kann der Clusterschwerpunkt oder einzelne Objekte dienen. In dieser Arbeit wurde die „Centroid linkage“-Methode angewandt. Bei dieser Methode wird der über die Mittelwerte gebildete Schwerpunkt eines Clusters als Grundlage der Aggregation verwendet (Abbildung 15).

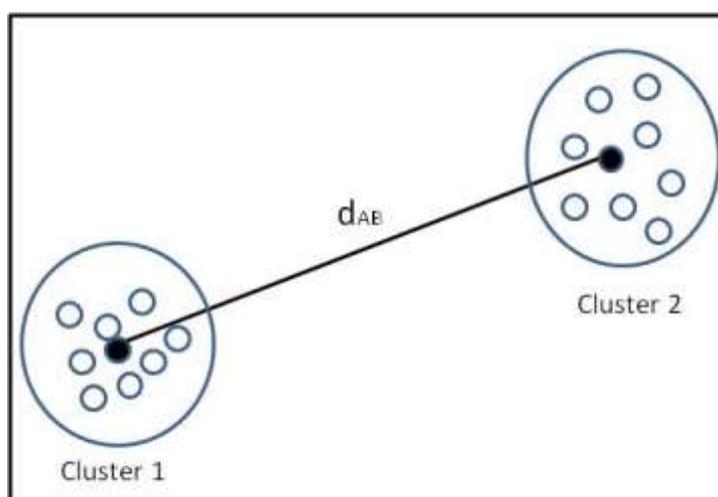


Abb. 15: Clusterbildung über das „Centroid linkage“-Verfahren

Die Abstände der ersten zehn Sorten des Welthopfensortiments werden in der Tabelle 8 dargestellt. Der Abstand zwischen zwei gleichen Sorten ist natürlich null.

Tab. 8: Abstände der ersten 10 Hopfensorten (alphabetisch geordnet)

Sorte	Admi- ral	Agnus	Ahil	Alli- ance	Alpha- roma	Apolon	Aquila	Aromat	Atlas	Aurora
Admiral	0,000									
Agnus	0,857	0,000								
Ahil	1,000	1,000	0,000							
Alliance	1,000	1,000	1,000	0,000						
Alpharoma	1,000	0,857	1,000	0,714	0,000					
Apolon	1,000	0,857	1,000	1,000	0,714	0,000				
Aquila	0,857	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,000			
Aromat	0,857	1,000	0,857	1,000	1,000	1,000	0,857	0,000		
Atlas	0,857	0,857	1,000	1,000	0,714	0,857	0,857	0,857	0,000	
Aurora	0,714	0,857	1,000	0,857	0,714	0,714	0,857	0,857	0,857	0,000

Bei der Clusterbildung werden die Objekte an Hand ihrer Abstände aggregiert. In diesem Projekt wurde das Welthopfensortiment in 20 Cluster eingeteilt. Diese Einteilung ist willkürlich. Man könnte auch 10 oder 30 Cluster auswählen. Tabelle 9 zeigt die Verteilung der verschiedenen Sorten in die einzelnen Cluster.

Die meisten Sorten sind in den Clustern 1 und 2 zu finden, was den typischen Mustern der Landsorten entspricht. Den Clustern 15-20 wird nur jeweils eine Sorte zugeordnet. Diese Sorten besitzen die schon erwähnten typischen individuellen Flavonoidmuster. In der Abbildung 16 sind die Cluster in der Hauptkomponentendarstellung veranschaulicht. In dieser Abbildung ist auch die Zuordnung der Cluster untereinander ersichtlich.

Tab. 9: Einteilung des Welthopfensortiments in 20 Cluster (Ähnlichkeit der Flavonoidzusammensetzung)

Cluster 1	Cluster 2	Golden Star	Japan C 730	Cluster 10	Cluster 14
Aromat	Admiral	Kirin 1	Mt. Hood	Alliance	Columbus
Aurora	Agnus	Kirin 2	Neoplanta	Alpharoma	Eroica
Buket	Belgischer Spalter		Nugget	Green Bullet	Galena
Diva	Bobek	Cluster 4	Olympic	Pride of Kent	Zeus
Early Choice	Bor	Boadicea	Phoenix	Rubin	
Eastwell Golding	Braustern	Estera	Serebrianker	Zenith	Cluster 15
Glacier	First Gold	Fuggle	Sterling		Atlas
Hallertauer Mittelfrüher	Hallertauer Gold	Hüller Bitter		Cluster 11	
Hersbrucker Pure	Harmony	New Zealand Hallertauer	Cluster 7	Emerald	Cluster 16
Hüller Anfang	Herald	Pilot	Ahil	Hallertauer Tradition	USDA 21055
Hüller Aroma	Kumir	Zatecki	Bliski	Japan C 845	
Hüller Fortschritt	Lubelski		Hall. Taurus	Perle	Cluster 17
Hüller Start	Northern Brewer	Cluster 5	Herkules	Premiant	Apolon
Opal	PCU 280	College Cluster	Kitamidori		
Pilgrim	Pioneer	Crystal	Orion	Cluster 12	Cluster 18
Saazer	Sirem	Hersbrucker Spät	Toyomidori	Pride of Ringwood	Aquila
Saphir	Sladek	Malling	Zitic	Super Alpha	
Smaragd	Spalter	Pacific Gem			Cluster 19
Spalter Select	Talisman	Sticklebract	Cluster 8	Cluster 13	Granit
Tettnanger	WFG	Strisselspalter	Brewers Stand	Backa	
Urozani	Wye Northdown	Williamette	Progress	Brewers Gold	Cluster 20
Vojvodina	Wye Target			Bullion	Neptun
Wye Viking		Cluster 6	Cluster 9	Cascade	
Yeoman	Cluster 3	Chang Bei 1	Bramling Cross	Comet	
Zlatan	Eastern Gold	Chang Bei 2	Density	Hall. Magnum	
	Ging Dao Do Hua	Horizon	Maryanka	Hall. Merkur	

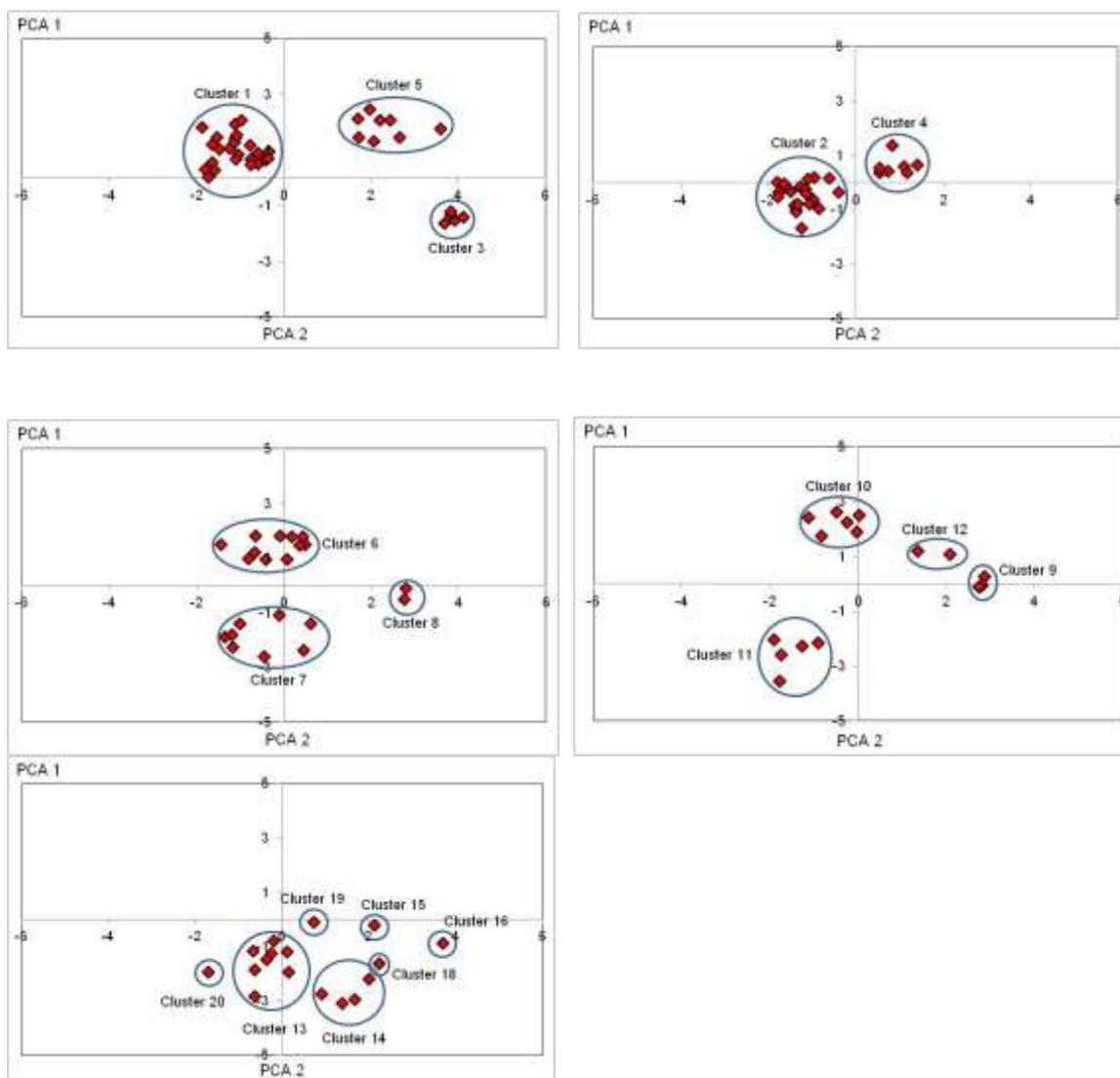


Abb. 16: Clusterdarstellung in der Hauptkomponentenanalyse

6 Fazit und zukünftige Arbeiten

Neben den morphologischen Merkmalen, der Bitterstoff- und Ölzusammensetzung sowie der DNA-Analytik bieten die Quercetin- und Kämpferol-glykoside eine fünfte Möglichkeit, um Sorten zu unterscheiden. In dieser Arbeit wurde zum erstenmal fast das gesamte Welthopfensortiment auf diese Stoffe über einen Zeitraum von drei Jahren untersucht. Viele Sorten, vor allem die Landsorten, weisen eine recht ähnliche Flavonoidstruktur auf. Einige Sorten besitzen jedoch ein sehr sortentypisches unterschiedliches Flavonoidmuster und sind sehr gut unterscheidbar. Auch konnte zu erstenmal ein Ranking hinsichtlich des Multifidol-Derivats 1-(2-Methylpropanoyl)phloroglucinol-glukopyranosid 1 (Abbildung 9) aufgestellt werden. Die Sorten Zitic, Ahil, Hall, Tradition, Emerald und Perle haben einen besonders hohen Gehalt dieser Substanz. Eine quantitative Bestimmung ist bis jetzt noch nicht möglich, da kein Standard verfügbar ist. Neue Sorten können jetzt sehr gut im Vergleich zu bekannten Sorten eingeordnet werden. In zukünftigen Arbeiten sollen auch die oligomeren Proanthocyanidine Berücksichtigung finden. Im Hopfen kommen die Pro-

cyanidine B1, B2, B3, B4 sowie zwei Prodelphinidine, darunter das Prodelphinidin B3, vor. Diese Substanzen sind sowohl quantitativ als auch von ihrer relativen Zusammensetzung sortencharakteristisch und sicher zur Sortendifferenzierung geeignet.

Ein Teil der vorgestellten Arbeit wurde bereits in *Brewing Science* [19] veröffentlicht und stieß auf positive Resonanz.

7 Literaturverzeichnis:

- 1) Barth-Bericht Hopfen, München, Juli 2012
- 2) Treutter, D.: Flavane in pflanzlichen Lebensmitteln, SuB 02/97, 1997, pp. V1-V5
- 3) Biendl, M.: Polyphenole-Pflanzeninhaltsstoffe mit Vermarktungspotential, Hopfenrundschaue International, 2005/2006, pp. 22-27
- 4) Lermusieau, G.; Liegeois, C.; Collin, S.: Reducing power of various hop varieties, *Cerevisia* 26(1), 2001, pp. 33-41
- 5) Hellerbrand, Cl.: Xanthohumol exhibits beneficial effects on liver disease, Vortrag Meeting of the Advisory Board of the Society of Hop Research, Hüll, 29.8.2012
- 6) Quercetin: <http://de.wikipedia.org/wiki/Quercetin>
- 7) Kakao: <http://de.wikipedia.org/wiki/Kakao>
- 8) Hollman, P., C., H., Arts, I., C., W.: Flavonols, flavones and flavonols-nature, occurrence and dietary burden, *J. Sci. Food Agric.* 80, 1081-1093, 2000
- 9) Duthie, G., G., Duthie, S., J., Kyle, J., A., M., (2000): Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants, *Nutrition Research Reviews* 13, 79-106, 2000
- 10) USDA Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods, 2004
- 11) Tee: www.teeverband.de/texte/download/wit2-2002_02.pdf
- 12) Albert Szent-Györgyi Nagypolt: http://de.wikipedia.org/wiki/Albert_von_Szent-Gy%C3%B6rgyi_Nagy%C3%A1polt
- 13) McMurrough, I.; Hennigan, G., P.; Loughrrey, J.: Quantitative Analysis of Hop Flavonols Using High Performance Liquid Chromatography, *J. Agric. Food Chemistry*, 1982, 30, pp. 1102-1106
- 14) Van Sumere, C., F.; VandeCastele, K; Hutsebaut, M.; Everaet, E.; De De Cooman, L.; Meulemann, W.: RP-HPLC Analysis of Flavonoids and the biochemical Identification of Hop Cultivars, *EBC-Monograph XIII*, 1987, pp. 146-175
- 15) Kammhuber, K.: Differenzierung des Welthopfensortiments nach Bitterstoffen und Polyphenolen, Hopfenrundschaue International, 2005/2006, pp. 42-46
- 16) Bohr, G.; Gerhäuser, C.; Knauff, J.; Zapp, J.; Becker, H.: Anti-inflammatory Acylphloroglucinol Derivatives from Hops (*Humulus lupulos*), *J. Nat. Prod.*, 2005, 68, pp. 1545-1548

-
- 17) Coelhan, M.; Plapperer, R.; Strohmeier, J.; Tischliar, M.: Forschungsbericht über HPLC-MS-Identifizierung von Hopfenpolyphenolen, Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, November 2011
 - 18) Otto, M.: Clusteranalyse, Chemometrie, VCH, Weinheim, 1997, pp. 169-180
 - 19) Kammhuber, K.: Differentiation of the World Hop Collection by Means of the Low Weight Molecular Polyphenols, *Brewing Science*, March/April 2012, Vol. 65, pp. 16-23