

## BILDUNG UND WEITERREAKTION VON ACYLVORSTUFEN DER HOPFENBITTERSTOFFE\*

F. DRAWERT und J. BEIER

Institut für Chemisch-technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie der Technischen Universität  
München, D-8050 Freising-Weißenstephan, Germany

(Received 23 January 1974)

**Key Word Index**—*Humulus lupulus*; hop bitter compounds; biosynthesis; humulone; lupulone.

**Abstract**—Isobutyric acid is incorporated into desoxycohumulone, cohumulone and colupulone and isovaleric acid is incorporated into desoxyhumulone, humulone and lupulone. The compound 1-isobutyryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucinol (CoX) can be considered as an intermediate for the first three components of the hop resins while isovaleryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucinol (X) is an intermediate in the biosynthesis of the parent compounds.

**Zusammenfassung**—Isobuttersäure bzw.  $^{14}\text{C}$ -Isovaleriansäure werden von der Hopfenpflanze in Desoxycohumulon, Cohumulon, Colupulon bzw. in Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon eingebaut. Als Zwischenstufen sind dabei für die Cokomponenten die Verbindung CoX (1-Isobutyryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin und für die Stammverbindungen entsprechend Precursor X (1-Isovaleryl-3-(3,3-dimethylallyl)-phloroglucin anzunehmen.

### EINLEITUNG

DIE BITTERSTOFFE des Hopfens beanspruchen ein erhebliches theoretisches und praktisches Interesse. Die Struktur der Hauptvertreter Humulon, Lupulon, Colupulon und Desoxyhumulon wurde zwar von Riedl u. Mitarb.<sup>1-5</sup> durch Totalsynthese sichergestellt, indessen ist die Biosynthese der Bitterstoffe bis heute weitgehend in Dunkel gehüllt.

Betrachtet man die Strukturformel der Hopfenbitterstoffe (Schema 1), so kann man drei charakteristische Strukturelemente unterscheiden: (a) Der Kern ist ein aus sechs Kohlenstoffatomen bestehender Ring, der in der aromatischen bzw. in der Cyclohexadien-Form vorliegt und mehrere Sauerstoff-Funktionen trägt; (b) Bei allen drei Bitterstoffgruppen sind die terpenoiden Seitenketten gleich und als Prenylrest (3,3-Dimethylallyl-Rest, 3-Methylbuten-2-yl-) zu bezeichnen. Die Desoxyhumulone und Humulone besitzen an den C-Atomen 3 und 5 je eine Prenylgruppe, während die Lupulone am C-Atom 3 noch einen zusätzlichen Prenylrest aufweisen; und (c) Durch Variation der Acylseitenkette erhält man innerhalb einer Bitterstoffgruppe (z. B. Lupulone) die einzelnen Komponenten dieser Gruppe (z. B. Isobutyryl:Colupulon; Isovaleryl:Lupulon; 2-Methyl-butyryl:Adlupulon).

Wir stellten uns vor, daß die Biosynthese der Bitterstoffe des Hopfens durch eine Kondensation der die Acylseitenketten bildenden Fettsäuren mit Acetateinheiten eingeleitet

\* Mitt. III: "Über die Biosynthese der Hopfenbitterstoffe". Mitt. II: DRAWERT, F. und BEIER, J. (1974) *Chromatographia* im Druck.

Auszug aus der Dissertation von J. Beier, TU München 1973.

<sup>1</sup> RIEDL, W. (1951) *Brauwiss.* **4**, 81.

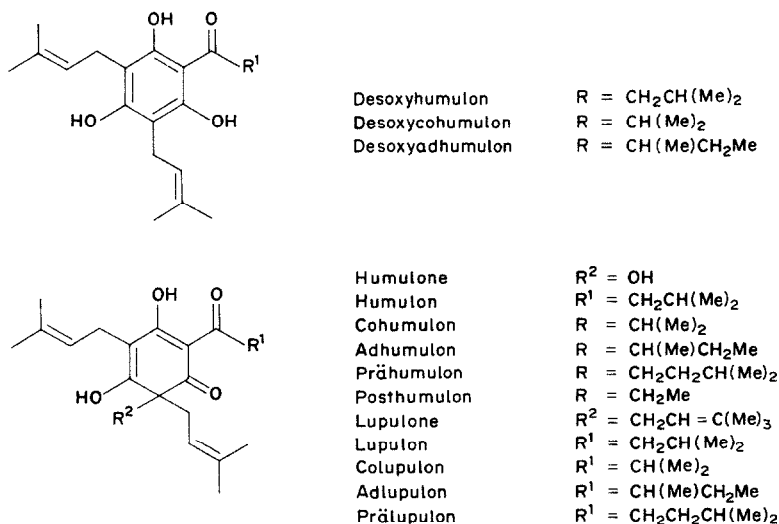
<sup>2</sup> RIEDL, W. (1952) *Chem. Ber.* **85**, 692.

<sup>3</sup> RIEDL, W. (1951) *Brauwiss.* **4**, 133.

<sup>4</sup> RIEDL, W. und RISSE, R. H. (1954) *Ann. Chem.* **585**, 209.

<sup>5</sup> RIEDL, W. und HÜBNER, H. (1957) *Chem. Ber.* **90**, 2870.

wird und führten zur Prüfung dieser Hypothese doldentragenden Trieben von Hopfenpflanzen bzw. ganzen Hopfenpflanzen  $^{14}\text{C}$ -markierte bzw. nicht markierte Fettsäuren zu. Wie nachfolgend gezeigt wird, baut die Hopfenpflanze diese in eine Reihe von Bitterstoffen ein.



SCHEMA 1. STRUKTUR DER HOPFENBITTERSTOFFE.

## ERGEBNISSE

Zunächst untersuchten wir die Möglichkeit Biogeneseuntersuchungen der Hopfenbitterstoffe mit leicht zu handhabenden und ganzjährig verfügbaren Keimlingen von *Humulus lupulus* durchzuführen. Zu diesem Zweck extrahierten wir Samen, Keimlinge und junge nicht-blühende Hopfenpflanzen mit Methanol; der Methanolextrakt wurde zur Trockene eingedampft, der Rückstand trimethylsilyliert und die Proben gaschromatographisch analysiert.<sup>6</sup>

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß in Samen und Keimlingen von *H. lupulus* keine Hopfenbitterstoffe enthalten sind. Ebenso wenig sind Bitterstoffe und deren Bildung in Stengeln, Blättern und Wurzeln von jungen Hopfenpflanzen nachweisbar. Demzufolge ist es notwendig, Biogeneseuntersuchungen über Hopfenbitterstoffe innerhalb der 6–8 Wochen zwischen der Blüte des Hopfens und der Hopfenernte mit der gesamten Hopfenpflanze oder mit Trieben, die Dolden tragen, durchzuführen. Aufgrund der eingangs erwähnten Hypothese, daß Fettsäuren als Precursoren für die Acylseitenkette der Hopfenbitterstoffe in Frage kommen und der erste Schritt der Biosynthese in einer Kondensation von Fettsäuren mit Acetateinheiten besteht, untersuchten wir den Einfluß der Zufuhr eines Überschußes an Isovaleriansäure, Propionsäure und Essigsäure bei ganzen Hopfenpflanzen auf den Gehalt an Bitterstoffen. Die nichtmarkierten Carbonsäuren (Tabelle 1) wurden intakten Hopfenpflanzen in ihrer natürlichen Umgebung mittels einer Infusionsmethode<sup>7</sup> verabreicht. Nach der Ernte untersuchte man die getrockneten Hopfendolden mittels der Wöllmer-Analyse<sup>8,9</sup> und zum anderen erfolgte die Bestimmung von Cohumu-

<sup>6</sup> DRAWERT, F. und BEIER, J. *Chromatog.* im Druck.

<sup>7</sup> WRIGHT, D. und HOWARD, G. A. (1961) *J. Inst. Brew.* **67**, 236.

<sup>8</sup> WÖLLMER, W. (1930) *Wschr. Brauerei* **47**, 521.

<sup>9</sup> MAIER, J. (1971) *Deutsche Brauwirt., Sonderbeilage* **80**, 20.

lon, Adhumulon und Humulon nach einer modifizierten Methode von Roberts (Pyrolyse des Bleihumulats)<sup>9,10</sup> im Rahmen der jährlichen Hopfenanalysen des Hans-Pfälf-Instituts für Hopfenforschung in Hüll.

TABELLE 1. WÖLLMER-ANALYSE DER BIOGENESE-UNTERSUCHUNGEN MIT INAKTIVEN VORSTUFEN AN HOPFENPFLANZEN

Nr.*	Erntedatum (1970)	Applizierte Lösung (wässrige Lösungen von)	Gesamtharz	Gehalt (‰)			
				Weichharz	Hartharz	$\alpha$ -Säure	$\beta$ -Fraktion
1	17-9	Kaliumpropionat 2 l, 0,1% ig	23,3	20,1	3,2	10,1	10,0
V 1	17-9		18,0	16,0	2,0	7,5	8,5
2	31-8	Kaliumpropionat 2 l, 0,1% ig	17,6	15,7	1,9	5,7	10,0
3	31-8	Kaliumpropionat 2 l, 1,0% ig	18,6	16,3	2,3	6,4	9,9
4	31-8	Natriumacetat 2 l, 3,0% ig	16,1	13,8	2,3	5,4	8,4
5	31-8	Natriumacetat 2 l, 3,0% ig	11,6	10,5	1,1	3,2	7,3
V 2	2-9		17,7	15,3	2,4	5,6	9,7
6	7-8	Kaliumisovalerat 2 l, 1,4% ig	13,3	11,4	1,9	4,0	7,4
V 3	13-8		16,6	14,7	1,9	4,9	8,8

\* Nr. 1 Hopfen der Sorte Brewers Gold; Nr. 2-6 Hopfen der Sorte Hallertauer Pflanze Nr. 6 ist am 7.8.1970 abgestorben; V 1, V 2 und V 3 zugehörige Vergleichs-Pflanzen.

Die Pflanzen Nr. 1, 2 und 3 (Applikation von Kaliumpropionat) weisen eine deutliche Erhöhung des Gehaltes an Weichharz ( $\alpha$ -Säure +  $\beta$ -Fraktion),  $\alpha$ -Säure (Humulone) und  $\beta$ -Fraktion (Lupulone) auf. In der Humulonfraktion ist bei diesen drei Pflanzen der Gehalt an Co- und Ad-humulon erniedrigt und der Humulon-Gehalt erhöht.

Bei den anderen Pflanzen sind die Werte der Wöllmer-Analyse entweder gleich groß oder niedriger als die der Vergleichspflanzen. Pflanze Nr. 5 (Natriumacetat) enthält mehr Humulon und weniger Co- und Ad-humulon. Pflanze Nr. 6 hat höhere Humulon- und Cohumulon-Gehalte und einen niedrigeren Adhumulon-Gehalt.

Da diese Ergebnisse einen Einfluß von zugeführten Fettsäuren auf die Hopfenbitterstoffe erkennen ließen, gingen wir dazu über, radioaktiv markierte Carbonsäuren in Verbindung mit reaktions-radio-gaschromatographischen Methoden einzusetzen. Die Applikation der <sup>14</sup>C-markierten Carbonsäuren erfolgte in der Weise, daß die wässrigen Lösungen bzw. Emulsionen vom Hopfentrieb durch die Schnittfläche aufgesogen wurden. Nach Beendigung der Versuche extrahierte man den gesamten Trieb durch Homogenisieren mit Methanol und entfernte durch Abkühlen auf 0° und Filtrieren die Hopfenwachse. Der Methanolextrakt wurde nach Eindampfen sorgfältig getrocknet, danach in Dimethylformamid aufgenommen und mit Hexamethyldisilazan silyliert; einen anderen Teil des getrockneten Methanolextraktes extrahierte man mit Pentan. Der Pentanextrakt wurde gleichermaßen getrocknet und silyliert. Eine Differenzierung in Methanol- bzw. Pentan-Extrakt hat sich im Hinblick auf die nachfolgende Analyse als zweckmäßig erwiesen; der Methanolextrakt enthält u. a. Kohlenhydrate, Säuren und N-Verbindungen, der Pentanextrakt weitgehend nur lipophile Verbindungen wie Bitterstoffe und Terpene. Die beiden so

<sup>10</sup> ROBERTS, J. B. (1961) *J. Inst. Brew.* **67**, 337.

erhaltenen silylierten Extrakte analysierten wir mit Hilfe der Reaktions-Radio-Gaschromatographie. Die Methoden der Applikation, Extraktion, Derivatisierung, Gaschromatographie und Reaktions-Radio-Gaschromatographie sind von uns bereits ausführlich beschrieben worden. Es sei hervorgehoben, daß reaktions-radio-gaschromatographische Untersuchungen nur in einem Allglas-system (Trennsäule, Injektor, Detektor) möglich sind.<sup>6</sup> Angeboten wurden die in Tabelle 2 aufgeführten <sup>14</sup>C-markierten Carbonsäuren.

TABELLE 2. APPLIZIERTE RADIOAKTIV MARKIERTE CARBONSÄUREN

Substanz	Spezifische Aktivität (μCi/mmol)	Zugf. Akt. (μCi)	Aufg. Akt. (μCi)	Versuchsdauer (Std.)
1- <sup>14</sup> C-Isobuttersäure	7,5	300	243	4*
1- <sup>14</sup> C-Isovaleriansäure	4,8	100	100	4*
1- <sup>14</sup> C-Ölsäure	50	10	9	8
1- <sup>14</sup> C-Linolensäure	50	50	27	8

\* Der Versuch mußte wegen schlechter Witterung nach 4 Std. beendet werden.

Aus 1-<sup>14</sup>C-Isobuttersäure stammende Aktivität wird in den Methanol-extrakten in Isobuttersäure, Saccharose, Essigsäure, 2-Methylbutyl-iso-butyrate, Isobutyrylessigsäure, Desoxycohumulon und in einigen nicht identifizierten Verbindungen nachgewiesen (Tabelle 3). Der Einbau von Isobuttersäure in eine Verbindung, die wir *CoX* nannten, liegt

TABELLE 3. EINBAU VON 1-<sup>14</sup>C]ISOBUTTERSÄURE UND 1-<sup>14</sup>C]ISOVALERIANSÄURE IN HOPFENINHALTSSTOFFE AUS DEM METHANOL-EXTRAKT

Nr.	Verbindung	Isob	Einbau (%)‡	Isov
1	Essigsäure	< 0,5		< 0,5
2	Propionsäure	—		< 0,5
3	Isobuttersäure	10,9		—
4	Isovaleriansäure	—		6,0
5	2-Methylbutyl- isobutyrate	0,5		—
6	Acetessigsäure	—		3,9
7	Isobutyrylessigsäure†	20,0		—
8	*	—		< 0,5
9	*	—		< 0,5
10	*	< 0,5		—
11	*	< 0,5		—
12	*	< 0,5		—
13	<i>CoX</i>	7,9		—
14	*	1,3		—
15	<i>X</i>	—		11,9
16	*	—		< 0,5
17	Desoxycohumulon	< 0,5		—
18	*	< 0,5		—
19	Saccharose	4,5		4,0
20	*	< 0,5		—
21	*	< 0,5		—

\* Nicht identifiziert; — nicht nachweisbar.

† Starkes Tailing; Peak enthält evtl. mehrere radioaktiv markierte Verbindungen.

‡ Reaktions-Radio-Gaschromatographie. Isob = 1-<sup>14</sup>C]Isobuttersäure angeboten; Isov = 1-<sup>14</sup>C]Isovaleriansäure angeboten.

bei knapp 8%. Ungefähr 12% der als 1-<sup>14</sup>C-Isovaleriansäure aufgenommenen Aktivität werden in Verbindung X eingebaut, ca. 6% finden wir in Isovaleriansäure wieder. Acetessigsäure und Saccharose besitzen je ca. 4% der Aktivität. Einbau unter 0,5% stellen wir bei Essigsäure, Propionsäure und drei nicht identifizierten Verbindungen fest (Tabelle 3).

Die Pentan-Extrakte liefern den Beweis, daß Isobuttersäure in Isobutyrylessigsäure, CoX, Desoxycohumulon, Cohumulon und Colupulon incorporiert wird (Tabelle 4).

1-<sup>14</sup>C-Isovaleriansäure wird in Verbindung X, Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon eingebaut, dagegen nicht in Desoxycohumulon, Cohumulon und Colupulon (Tabelle 4).

TABELLE 4. EINBAU VON 1-[<sup>14</sup>C]ISOBUTTERSÄURE UND 1-[<sup>14</sup>C]ISOVALERIANSÄURE IN HOPFENINHALTSTOFFE AUS DEM PENTAN-EXTRAKT

Nr.	Verbindung	Einbau (%)†	
		Isob	Isov
1	*	—	<0,5
2	Isobuttersäure	0,6	—
3	Isovaleriansäure	—	1,8
4	*	—	<0,5
5	Isobutyrylessigsäure	0,5	—
6	CoX	0,6	—
7	*	<0,5	—
8	X	—	0,8
9	Desoxycohumulon	<0,5	—
10	Desoxyhumulon	—	<0,5
11	Cohumulon	<0,5	—
12	Humulon	—	<0,5
13	Colupulon	<0,5	—
14	Lupulon	—	<0,5
15	*	<0,5	—

\* Nicht identifiziert; — : nicht nachweisbar.

† Reaktions-Radio-Gaschromatographie. Isob = 1-[<sup>14</sup>C]Isobuttersäure angeboten; Isov = 1-[<sup>14</sup>C]Isovaleriansäure angeboten.

Die Methanol-Extrakte von 1-<sup>14</sup>C-Ölsäure liefern Radiogramme ohne Radioaktivitäts-Peaks, während in dem Pentan-Extrakt die angebotene Ölsäure als kleiner Radioaktivitätspeak nachgewiesen wird. Bei 1-<sup>14</sup>C-Linolensäure enthält im Methanolextrakt die Essigsäure 1% und die Linolensäure 1,6% der eingesetzten Aktivität. In den Pentan-Extrakten fanden wir nur Linolensäure mit geringer Aktivität.

#### DISKUSSION

Isovaleriansäure wird spezifisch in Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon eingebaut; ein Einbau in Desoxycohumulon, Cohumulon und Colupulon läßt sich nicht nachweisen. Wir nehmen an, daß der Einbau als Isovaleryl-Seitenkette in die genannten Verbindungen erfolgt. Die Gründe hierfür sind: Der Einbau der Isovaleriansäure als Prenyl-Seitenkette (Isovaleriansäure → 3-Hydroxy-3-methyl-glutarsäure → Mevalonsäure → Desoxyhumulon, Humulon bzw. Lupulon) erscheint sehr unwahrscheinlich, da wir keine Aktivität in Desoxycohumulon, Cohumulon, Colupulon oder einem anderen Bitterstoff nachweisen konnten. Dies hätte aber zumindest beim Colupulon der Fall sein müssen, da

dieses in der verwendeten Hopfensorte in größerer Menge als Lupulon gebildet wird.<sup>11</sup> Weiterhin konnten wir keinen Hinweis auf den Einbau von Isovaleriansäure in im Hopfen enthaltene Terpene oder Phytosterine entdecken. So hätten wir einen Einbau in Squalen nachweisen müssen, für den Fall, daß aus der Carbonsäure Mevalonsäure gebildet wird, da unter den experimentellen Bedingungen Mevalonsäure bevorzugt in Squalen eingebaut wird.<sup>12</sup> Hieraus geht hervor, daß auch die aus Isovaleriansäure stammende Acetessigsäure bzw. Essigsäure als Vorstufen des Prenylrestes in Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon nicht in Frage kommen. Acetessigsäure und Essigsäure könnten aber auch in den Ring der Bitterstoffe eingebaut werden. Da der C<sub>6</sub>-Ring allen Bitterstoffen gemeinsam ist, müßten wir für diesen Fall außer radioaktiv markiertem Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon noch andere radioaktiv markierte Bitterstoffe (wenigstens Colupulon s. o.) nachweisen. Da dies nicht der Fall ist, kann der *spezifisch* in Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon erfolgende Einbau von Isovaleriansäure zwanglos durch die Tatsache erklärt werden, daß er in die Acyl-Seitenkette als Isovaleryl-Rest erfolgt. Wenn unsere Argumentation richtig ist, dann muß Isobuttersäure spezifisch in Desoxycophumulon, Cohumulon und Colupulon eingebaut werden. Aus den Ergebnissen (Tabelle 4) geht hervor, daß dies tatsächlich der Fall ist. Somit kann man annehmen, daß die Acylseitenkette von Desoxyhumulon, Humulon und Lupulon aus Isovaleriansäure und von Desoxycophumulon, Cohumulon und Colupulon aus Isobuttersäure entsteht.

Auf den Radiogrammen des <sup>14</sup>C-Isobuttersäure- bzw. -Isovaleriansäure-Incorporations-Versuches entdeckten wir je einen Radioaktivitätsspeak mit hohem Einbau. Die Differenz der Retentionswerte der beiden Peaks, sowie die spezifische Incorporation von Isobuttersäure bzw. Isovaleriansäure weisen darauf hin, daß sich die beiden Moleküle nur durch den Acylrest unterscheiden, so daß wir in Analogie zu den Bitterstoffen (Schema 1) die mutmaßliche Isobutyryl-Verbindung CoX und die Isovaleryl-Verbindung X nannten. Aus einem Vergleich der Retentionswerte von Verbindung CoX, Desoxycophumulon und Colupulon sowie Verbindung X, Desoxyhumulon und Lupulon zogen wir den Schluß, daß es sich bei Verbindung CoX bzw. X eventuell um Deprenyl-desoxycophumulon bzw. Deprenyl-desoxyhumulon handeln könnte. Über die Identität der Verbindungen CoX und X sowie deren Bedeutung für die Biosynthese der Hopfenbitterstoffe wird in Zusammenhang mit weiteren Einbauversuchen berichtet werden.

#### EXPERIMENTELLES

*Extraktion von Hopfensamen.* 50 Samenkörner\* wurden von Hand von der äußerlich lose anhaftenden Schale befreit, an der deutlich sichtbar Lupulin klebte. Die Samenkörner wurden nach dem Abwiegen in einem Mörser mit 2 ml MeOH übergossen und so lange gemörsert, bis eine breiige Masse entstanden war. Abnutschen in ein Enzymfläschchen, nochmals mit 2 ml MeOH mörsern und abermals abnutschen. Diese Operation wurde noch einmal wiederholt.

*Extraktion von Hopfenkeimlingen.* Jeweils 120 von der äußerlich lose anhaftenden Schale befreite Samenkörner brachte man in Petrischalen auf Filterpapier nach Befeuchten mit je 1 ml H<sub>2</sub>O pro Schale bei Raumtemperatur und Tageslichteinwirkung zum Keimen. Das H<sub>2</sub>O enthielt 0.1% Methylenblau. Falls erforderlich wurde nachbefeuchtet. Innerhalb einer Versuchszeit von 30 Tagen sind nach je 3 Tagen 50 Keimlinge wie bei Samen beschrieben extrahiert worden.

*Extraktion von Wurzeln, Stengeln und Blättern.* Die verbliebenen Keimlinge setzten wir nach Beendigung der Versuchsreihe in Muttererde ein und kultivierten sie im Laboratorium. Nach jeweils 30 Tagen wurden 10 Pflanzen entfernt und die Wurzeln von der restlichen Pflanze abgetrennt. Extraktion von ca 5 g exakt abgewogenem Wurzelmaterial (aus 10 Wurzeln stammend). Der Rest der Pflanzen (ebenfalls ca 5 g genau abgewogen).

\* Wir danken Herrn Dr. J. Maier vom Hans Pfülf-Institut in Hüll/Hallertau für das Pflanzenmaterial.

<sup>11</sup> HOWARD, G. A. und TATCHELL, A. R. (1957) *J. Inst. Brew.* **63**, 138.

<sup>12</sup> DRAWERT, F. und BEIER, J., in Vorbereitung.

der bei der Untersuchung der Wurzeln anfiel, wurde ebenfalls sofort extrahiert. Die Untersuchung der Extrakte (Trocknung, Überführung in die Trimethylsilyl-Derivate und Gaschromatographie ist anderenorts von uns beschrieben worden.<sup>6</sup>

*Biogenesestudien mit inaktiven Vorstufen. Infusionsmethode nach Wright und Howard.<sup>7</sup>* In einer Hopfenrebe auf einem Versuchsfeld des Hans Pfülf-Institutes ist in einer Höhe von ca 1,20 m eine durchgehende Bohrung mit einem Durchmesser von 3 mm angebracht worden. In diese Bohrung wurde ein passendes Stahlrohr eingeführt (innerer Durchmesser 2,3 mm, äußerer Durchmesser 3,2 mm, Länge 8 cm), das senkrecht zur Rohrachse zwei sich gegenüberliegende Löcher mit einem Durchmesser von 1 mm besaß, die ca 2,5 cm von einem Rohrende entfernt waren. Die beiden Öffnungen wurden so angeordnet, daß sie parallel zu den Leitbahnen der Hopfenpflanze verliefen. Das eine herausragende Ende wurde mit Schlauch und Schlauchklemme verschlossen, das andere Ende mittels eines Schlauches mit dem Boden eines in ca 3,5 m Höhe befindlichen Vorratsbehälters verbunden. Die Lösung wurde in den Vorratsbehälter eingefüllt und nach Entfernen der Luft appliziert.

*Applizierte Lösungen* vgl. Tabelle 1.

*Analyse der Hopfendolden* nach Wöllmer und nach einer modifizierten Methode von Roberts.<sup>9</sup>

Die Biogeneseuntersuchungen mit radioaktiv markierten Verbindungen wurden nach folgendem Analysenschema durchgeführt, dessen Einzelheiten ausführlich behandelt worden sind.<sup>6</sup> (1) Applikation der radioaktiv markierten Substanz in einen Hopfentrieb und Exposition im Freiluftlabor. (2) Homogenisation des Triebes und Extraktion der Hopfeninhaltsstoffe mit Methanol. (3) Abtrennung der Hopfenwachse. (4) Extraktion der lipophilen Fraktion mit Pentan. (5) Derivatisierung der jeweils im Methanol- bzw. Pentan-Extrakt enthaltenen silylierbaren Verbindungen mit DMF/HMDS. (6) Gaschromatographische Analyse und reaktions-radio-gaschromatographische Analyse der aus beiden Extrakten gewonnenen DMF-Lösungen (Kombination eines Gaschromatographen Varian 1440 mit einer Umwandlungseinheit RGC 170 (Fa. Berthold) und Strahlungsmeßgerät mit Gasdurchfluß-Proportionalzählrohr (Fa. Berthold); Allglassystem bestehend aus Trennsäule, Split, Zuleitung Reaktor, Zuleitung FID; Trennsäule: 2% OV-101 auf Chromosorb W, AW, DMCS-behandelt, 100–120 mesh; Trägergas: 23,2 ml N<sub>2</sub>/min; Temperaturprogramm: 60–260° mit 4°/min).