

DOI: 10.18832/kp201839

Factors affecting the polyphenol compounds and antiradical activity of hops: Long-term study of Czech hop varieties

Faktory ovlivňující polyfenolové látky a antiradikálovou aktivitu chmele: Dlouhodobá studie českých odrůd chmele

Alexandr MIKYŠKA^{1,2*}, Tomáš VRZAL^{1,3}, Martin DUŠEK¹, Marie JURKOVÁ¹¹Research Institute of Brewing and Malting, Lípová 15, 120 44 Praha 2, Czech Republic
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Lípová 15, CZ 120 44 Praha²Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of AgriSciences, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic
Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ 613 00, Brno³Faculty of Science, Charles University, Albertov 6, CZ 128 43 Praha 2, Czech Republic
Přírodovědecká fakulta, Karlova univerzita, Albertov 6, CZ 128 43 Praha 2

* Corresponding author: e-mail mikyska@beerresearch.cz

Reviewed paper / Recenzovaný článek

Mikyška, A., Vrzal, T., Dušek, M., Jurková M., 2018: Factors affecting the polyphenol compounds and antiradical activity of hops: Long-term study of Czech hop varieties. Kvasny Prum., 64(6): 323–330

Hops is a source of a number of polyphenol substances important in terms of both brewery and health benefits. Many of these are antioxidants with a preventative effect on life-style diseases, cardiovascular and cancer diseases. A five-year study of the content of polyphenol substances of Czech hop varieties by group methods (total polyphenols, anthocyanogens, flavonoids, prenylflavonoids) has shown that the content and profile of polyphenols is varietal-specific, but also depends on the harvest year and other factors. The ratio of the content of polyphenols in the head mass and the alpha acids alongside the variety strongly depends on the vintage year, which affects the number of polyphenols in the hopping dose. The dependence of the DPPH antiradical activity on all polyphenol groups except prenylflavonoids has been demonstrated.

Mikyška, A., Vrzal, T., Dušek, M., Jurková M., 2018: Faktory ovlivňující polyfenolové látky a antiradikálovou aktivitu chmele: Dlouhodobá studie českých odrůd chmele. Kvasny Prum., 64(6): 323–330

Chmel je zdrojem řady polyfenolových látek významných z hlediska pivovarského i zdravotní prospěšnosti. Řada z nich jsou antioxidanty s preventivním účinkem na civilizační choroby, kardiovaskulární a nádorová onemocnění. Pětiletá studie obsahu polyfenolových látek českých odrůd chmele skupinovými metodami (celkové polyfenoly, anthokyanogany, flavonoidy, prenylflavonoidy) prokázala, že obsah a profil polyfenolových látek je odrůdově specifické, ale významně závisí i na ročníku sklizně a dalších faktorech. Poměr obsahu polyfenolů situovaných v hmotě hlávky a alfa kyselin kromě odrůdy silně závisí na ročníku, což se projeví na množství polyfenolů ve chmelení. Byla prokázána závislost antiradikálové aktivity DPPH na všech skupinách polyfenolů vyjma prenylflavonoidů.

Keywords: hop (*Humulus Lupulus L.*), polyphenols, prenylflavonoids, DPPH antiradical activity, hop varieties**Klíčová slova:** chmel (*Humulus Lupulus L.*), polyfenoly, prenylflavonoidy, antiradikálová aktivita DPPH, odrůdy chmele

1 INTRODUCTION

The influence of polyphenol substances on the quality of beer and its colloidal and sensory stability has been investigated for many decades with often controversial knowledge (derdelinckx). It is a very diversified group of substances whose individual components are characterized by different properties in terms of chemical structure, antioxidant capabilities, haze properties and hence an influence of the beer stability. Hops is a specific raw material that has been investigated for the last few decades from the point of view of pharmaceutical use (Karabin et al., 2016).

Secondary metabolites formed in the cones of hop during the flowering and ripening, bitter acids, essential oils and polyphenols are sensorially active and have antioxidant and antimicrobial properties. Hop polyphenolic is very diverse group of biologically active compounds that comprise 3% to 6% of the dry weight of hop cones (Moir, 2000). The majority of polyphenols are located in the strig and bract ("leaf associated polyphenols"), the prenylflavonoids are secreted from lupulin glands together with the bitter acids and essential oils (Almaguer et al., 2014). Hop polyphenols are usually split into groups of flavonols, flavan-3-ols (catechis), phenolic carboxylic acids (groups of benzoic acid and cinnamic acid derivatives) and other phenolic compounds (prenylflavonoids, stilbenoids) (Biendl, 2009).

The analytical methods used for the determination of polyphenols are governed by the purpose of their use. Group methods are based on the specific reactivity of a particular group of polyphenols and are included in the brewing analytics. This is in particular the determination of total polyphenols, flavonoids and anthocyanogens. For a detailed description of the profile of a particular group of polyphenol

1 ÚVOD

Vliv polyfenolových látek na kvalitu piva, jeho koloidní a senzoric-kou stálost je zkoumán mnoho desítek let s mnohdy kontroverzními poznatky. Jedná se o velmi diverzifikovanou skupinu látek, jejíž jednotlivé složky se vyznačují různými vlastnostmi z hlediska chemické struktury, antioxidačních schopností, zákalotvorných vlastností, a tedy vlivu na stabilitu piva. Specifickou surovinou je chmel, který je v posledních několika desetiletích studován i z pohledu farmaceutického využití (Karabin et al., 2016).

Sekundární metabolity tvořené v chmelových hlávkách během kvetení a zrání, hořké kyseliny, silice a polyfenoly jsou senzoric-ky aktivní, mají antioxidační a antimikrobiální vlastnosti. Chmelové polyfenoly jsou velmi diverzifikovanou skupinou biologicky aktivních látek, která tvoří 3 až 6% sušiny chmelových hlávek (Moir, 2000). Hlavní část polyfenolů je situována v listenech a větenu chmelové hlávky („listové polyfenoly“), prenylflavonoidy jsou vylučovány z lupulinových žláz spolu s hořkými kyselinami a silicemi (Almaguer et al., 2014). Chmelové polyfenoly se obvykle dělí na skupiny flavonolů, flavan-3-olů (katechinů), fenolických karboxylových kyselin (deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové) a dalších fenolických sloučenin (prenylflavonoidy, stilbenoidy) (Biendl, 2009).

Analytické metody používané pro stanovení polyfenolů se řídí účelem jejich použití. Skupinové metody jsou založeny na specifické reaktivitě určité skupiny polyfenolů, jsou zahrnuty v pivovarských analytikách. Jedná se zejména o stanovení celkových polyfenolů, flavonoidů a anthokyanofenů. Pro detailní popis profilu určité skupiny polyfenolových látek jsou pak ve výzkumu aplikovány postupy založené na dělení vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií

substances, the procedures based on a high performance liquid chromatography with a mass detector detection are applied in the research (Olšovská et al., 2013; Kavalier et al., 2011; Inui et al., 2017).

Hop polyphenols can act as antioxidants with beneficial effects on civilization diseases, tumors, atherosclerosis, diabetes, Alzheimer's disease and Parkinson's disease that threaten a substantial part of the human population. Antioxidant effects of polyphenols are characterized by their ability to scavenge reactive oxygen (ROS) or nitrogen species in the radical reactions chains in living cells (Ross and Kasum, 2002; Nemzer et al., 2011), by their ability to suppress some specific enzymes involved in the generation of reactive oxygen species (Pietta, 2000; Stoclet et al., 2004), and they have chelating effect on trace metals ions (copper and iron), having crucial roles in the suppressing of atherosclerosis (Quinones et al., 2013). Some polyphenols are particularly antimicrobial active and exert an inhibitory effect on a wide range of pathogenic bacteria (Daglia, 2012; Sendamangalam et al., 2011; Čermák et al., 2014).

These properties of polyphenols are also manifested in the brewing process, antiradical and metal chelating activity helps to protect sensitive sensory active substances and improve sensory stability of beer by suppressing the formation of stale flavor aldehydes (Mikyška et al., 2011; Boivin, 2008).

Previous studies have suggested some links between the content and composition of polyphenols, antiradical activity and the origin of hops. The content of polyphenols can depend on soil climatic conditions, weather conditions during vegetation and ripening, hop plant age and harvest time (Kavalier et al., 2011; Jelínek et al., 2012; Inui et al., 2017). The polyphenols in the cone mass are formed in the earlier stages of the vegetation of the hop plant, the metabolites of the lupulin glands are mainly formed during the maturation (Kavalier et al., 2011). The content of polyphenols depends on the hop variety, aroma cultivars contain a higher amount of polyphenols than bitter hops, because an increase in α -acid content can only be obtained at the expense of the polyphenol content (Kammhuber, 2005), and polyphenols extracted from hops using hot water are in a good relation with antiradical activity (Krofta et al., 2008).

These findings were obtained under various conditions. The aim of our five-year study was to specify the relationship between the hops origin, polyphenol content and antiradical activity.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Hops

Samples of freshly harvested dried hops of the most widespread Czech cultivars Žatecký poloraný červeňák (Saaz), Sládek, Premián, Agnus, Kazbek and Saaz Late were obtained from the Chmelařství družstvo Žatec. Samples came from all three growing areas, Žatec, Úštěk and Tršice and were selected from a wider collection to cover the growing regions. In the five consecutive harvests of 2012 – 2016, a total of 275 hops were analyzed for total polyphenols, anthocyanogens, flavonoids and antiradical potential.

2.2 Analyses

The finely ground hops were extracted with a mixture of acetone and water (80:20 v/v) in an amount of 3.2g of hops dry (matter per 1 l). The solid was then separated by centrifugation for 15 minutes at 6,000 RPM.

Total polyphenols (EBC Analysis Committee, 2010 method 7.14): The Determination is based on the reaction of polyphenols with ferric ions (ferric ammonium citrate) in an alkaline medium to produce a red color complex (photometry at 600 nm).

Anthocyanogens (MEBAK, 2011, Method 2.16.2): Anthocyanogens (leukocyanidins, the standard is delphinidin chloride) react under acidic conditions to form red oxonium salts (photometry at 550 nm).

Flavonoids (catechins, proanthocyanidins, the standard catechin) react in an acidic environment with chromogen (p-dimethylcinnamaldehyde) to give a green coloration (photometry at 640 nm).

Determination of antioxidant activity: Antioxidant (anti-radical) activity was determined using the DPPH free radical according to a previously developed procedure (Krofta et al., 2008). The method particularly measures slowly reducing substances, especially polyphenols. The following parameters are determined:

ARA1 (%) – antiradical activity 1, decrease of DPPH value after 1 minute of reaction

ARA2 (%) – antiradical activity 2, decrease of DPPH value after 10 minutes of reaction

ARP (%) – integrated decrease of DPPH value 0-10 minutes of reaction.

ve spojení s hmotnostním detektorem (Olšovská et al., 2013; Kavalier et al., 2011; Inui et al., 2017).

Chmelové polyfenoly mohou působit jako antioxidanty s příznivými účinky na civilizační choroby, nádorová onemocnění, aterosklerózu, cukrovku, Alzheimerovu chorobu a Parkinsonovu chorobu, které ohrožují podstatnou část lidské populace. Antioxidační účinky polyfenolů jsou charakterizovány jejich schopností vychytávat reaktivní formy kyslíku (ROS) nebo dusíku v radikálových reakčních řetězcích v živých buňkách (Ross a Kasum, 2002; Nemzer, 2011), jejich schopností potlačovat činnost některých enzymů podílejících se na tvorbě reaktivních forem kyslíku (Pietta, 2000; Stoclet et al., 2004) a mají chelatační účinek na ionty kovů (měď a železo), které hrají zásadní roli při potlačení aterosklerózy (Quinones et al., 2013). Některé polyfenoly jsou antimikrobiálně aktivní, mají inhibiční účinek na širokou škálu patogenních bakterií (Daglia, 2012; Sendamangalam et al., 2011; Čermák et al., 2014).

Tyto vlastnosti polyfenolů se projevují v procesu výroby piva, antiradikálová a chelatační aktivita pomáhá chránit citlivé senzory aktivní látky a zlepšit senzoryckou stabilitu piva potlačováním tvorby aldehydů staré chuti (Mikyška et al., 2011, Boivin, 2008).

Předchozí studie naznačují určité vazby mezi obsahem a složením polyfenolů, antiradikálovou aktivitou a původem chmele. Obsah polyfenolů může záviset na půdně-klimatických podmínkách, povětrnostních podmínkách během vegetace a zrání, stáří chmelové rostliny a době sklizně (Kavalier et al., 2011; Jelínek et al., 2012; Inui et al., 2017). Polyfenoly v hlávce se vytvářejí v raných fázích vegetace chmelové rostliny, metabolity lupulinových žláz se tvoří hlavně během dozrávání (Kavalier et al., 2011). Obsah polyfenolů závisí na odrůdě chmele, aromatické odrůdy obsahují vyšší množství polyfenolů než hořké chmele, protože zvýšení obsahu α -kyselin je možno získat pouze na úkor obsahu polyfenolů (Kammhuber, 2005). Polyfenoly extrahované z chmele použitím horké vody jsou v dobrém vztahu s antiradikálovou aktivitou (Krofta et al., 2008).

Tyto poznatky byly získány za různých podmínek. Cílem naší pětileté studie bylo blíže specifikovat vztahy mezi původem chmele, obsahem polyfenolů a antiradikálovou aktivitou.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Chmele

Vzorky čerstvě sklizených sušených chmelů nejrozšířenějších českých kultivarů Žatecký poloraný červeňák, Sládek, Premián, Agnus, Kazbek a Saaz Late byly získány od Chmelařství družstvo Žatec. Vzorky pocházely ze všech tří pěstebních oblastí, Žatecké, Úštěcké a Tršické a byly vybrány z širší kolekce tak, aby pokrývaly pěstební regiony. V pěti po sobě následujících sklizních 2012 – 2016 bylo analyzováno celkem 275 chmelů na obsah celkových polyfenolů, anthokyanogenů, flavonoidů a antiradikálový potenciál.

2.2 Analýzy

Jemně mleté chmele byly extrahovány směsí acetonu s vodou 80:20 (v/v) v množství 3,2g sušiny chmele/ 1l. Poté byl pevný podíl separován odstředěním 15 minut při 6 000 min⁻¹.

Celkové polyfenoly (EBC Analysis committee, 2010, metoda 7.14.): Stanovení je založeno na reakci polyfenolů s železitými ionty (citrát železitoamonný) v alkalickém prostředí za vzniku červeného barevného komplexu (fotometrie při 600 nm).

Anthokyanogeny (MEBAK, 2011, metoda 2.16.2): Anthokyanogeny (leukokyanidiny, standard delphinidinchlorid) reagují v kyselém prostředí za vzniku červených oxoniových solí (fotometrie při 550 nm).

Flavonoidy (EBC Analysis committee, 2010: metoda 9.12): Flavonoidy (katechiny, proanthokyanidiny, standard katechin) reagují v kyselém prostředí s chromogenem (p-dimethylcinnamaldehyd) za vzniku zeleného zbarvení (fotometrie při 640 nm).

Stanovení antioxidační aktivity: Antioxidační (antiradikálová) aktivita byla stanovena pomocí volného radikálu DPPH podle dříve vypracovaného postupu (Krofta et al., 2008). Metoda měří zejména pomalu redukující látky, především polyfenoly. Stanovují se následující parametry:

ARA1 (%) – antiradikálová aktivita 1, úbytek hodnoty DPPH po 1 minutě reakce

ARA2 (%) – antiradikálová aktivita 2, úbytek hodnoty DPPH po 10 minutách reakce

ARP (%) – integrovaný úbytek hodnoty DPPH 0-10 minut reakce.

Stanovení prenylflavonoidů: Prenylflavonoidy byly analyzovány metodou vypracovanou na našem ústavu. Příprava vzorků je provedena metodou QuEChERS, prenylflavonoidy (xanthohumol, isoxan-

Table 1 The content of alpha-acids, polyphenolic compounds and antiradical activity values in the harvest of hops 2016
Tab. 1 Obsah alfa-kyselin, polyfenolových látek a hodnoty antiradikálové aktivity chmelů ve sklizni 2016

Variety	ZPC		SLA		PRE		AGN		KAZ		SAL	
	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
ALFA g/100g	3.39	25.4	7.33	16.8	7.33	16.8	8.73	6.6	4.53	2.1	5.29	7.5
CP mg/g	35.0	16.0	24.1	9.6	25.7	17.5	26.7	13.1	26.2	5.7	32.2	13.3
ANT mg/g	42.5	11.7	32.7	11.7	36.5	13.1	37.3	5.6	34.4	6.9	41.4	11.3
FLA mg/g	9.4	16.8	7.3	11.6	6.7	14.6	7.2	11.8	6.9	7.1	8.7	16.0
ARP %/g	13.6	9.7	15.9	7.9	12.6	13.8	15.9	5.7	12.9	14.3	15.1	6.7
ARA1 %/g	9.7	11.5	13.2	10.4	9.9	15.0	13.4	10.0	10.1	17.6	11.7	7.7
ARA2 %/g	17.1	9.6	19.1	6.5	15.5	13.5	19.3	6.1	15.8	13.3	18.6	6.3
IX mg/g	0.043	24.1	0.086	14.1	0.056	29.9	0.117	16.3	0.039	13.3	0.045	28.5
X mg/g	3.04	9.7	6.01	10.6	4.11	12.4	7.83	5.0	2.76	9.7	3.55	8.5
8-PN mg/g	0.011	22.3	0.014	16.2	0.009	21.1	0.015	11.9	0.017	13.9	0.011	45.5
6-PN mg/g	0.086	27.1	0.086	13.7	0.068	22.9	0.105	11.2	0.091	18.9	0.046	29.2

ZPC – Saaz; SLA – Sládek; PRE – Premiant; AGN – Agnus; KAZ – Kazbek; SAL – Saaz Late

ALFA – alpha-acids / *alfa-kyseliny*; CP – total polyphenols / *celkové polyfenoly*; ANT – anthocyanogens / *anthokyanogeny*; FLA – flavonoids / *flavonoidy*; ARP – antiradical potential / *antiradikálový potenciál*; ARA – antiradical activity / *antiradikálová aktivita*; IX – iso-xanthohumol; X – xanthohumol; 8-PN – 8-prenyl naringenin; 6-PN – 6-prenyl naringenin

Determination of prenylflavonoids: Prenylflavonoids were analyzed using in-house method developed at our institute in the past. Sample preparation is done by the QuEChERS method, prenylflavonoids (xanthohumol, isoxanthohumol, 8-prenyl naringenin, 6-prenyl naringenin) are determined by HPLC with Q-Exact – hybrid LC-MS / MS detection.

Statistical analysis: Data treatment and graphs were performed using R 3.4.2 software by *mixOmics* and *heatmap* packages (Rohart et al., 2017). After that, the data were scaled by z-score and visualized by heatmap (the columns were clustered by hierarchical clustering based on Euclidean distances and Ward method). The significance of the factors was tested by the ANOVA methodology.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Polyphenol substances in hops are dual in terms of localization. Phenolic acids and flavonoids are contained in the matrix of hop cones, prenylflavonoids together with the resins and oils are in lupulin glands. For this study, a gentle extraction with an organic solvent,

thohumol, 8-prenyl naringenin, 6-prenyl naringenin) jsou stanoveny HPLC s detekcí Q-Exactiv – hybridní LC-MS/MS.

Statistická analýza: Zpracování dat a tvorba grafů byly prováděny pomocí softwaru R 3.4.2 pomocí balíčků *mixOmics* a *heatmap* (Rohart et al., 2017). Poté byly údaje škálovány pomocí z-skóre a vizualizovány pomocí heatmap (sloupce byly klastrovány hierarchickým klastrováním založeným na euklidovských vzdálenostech a Wardově metodě). Významnost faktorů byla testována metodou ANOVA.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Polyfenolové látky chmele jsou z hlediska lokalizace dvojího druhu. Fenolové kyseliny a flavonoidy jsou obsaženy v hmotě hlávky, prenylflavonoidy se nacházejí spolu s pryskyřicemi a silicemi v lupulinových zrnech. Pro tuto studii byla zvolena šetrná extrakce organickým rozpouštědlem, vodným acetonem, která eliminuje změny polyfenolů, ke kterým dochází při extrakci horkou vodou. Ročníkové průměry hodnot studovaných skupin polyfenolových látek, prenylflavonoidů a antiradikálové aktivity ve chmelech jsou shrnuty v *tab. 1 až 5*.

Table 2 The content of alpha-acids, polyphenolic compounds and antiradical activity values in the harvest of hops 2015
Tab. 2 Obsah alfa-kyselin, polyfenolových látek a hodnoty antiradikálové aktivity chmelů ve sklizni 2015

Variety	ZPC		SLA		PRE		AGN		KAZ		SAL	
	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
ALFA g/100g	2.05	19.3	4.60	24.5	6.96	13.5	11.05	4.4	4.59	3.6	2.17	19.7
CP mg/g	42.0	10.2	25.6	14.7	30.1	10.9	27.3	2.8	37.1	5.5	37.2	14.3
ANT mg/g	44.2	10.6	23.9	11.3	36.0	12.4	28.8	2.2	36.4	5.5	34.7	21.8
FLA mg/g	11.5	12.1	4.7	28.8	6.7	11.9	4.3	31.8	8.4	6.9	8.5	23.6
ARP %/g	14.5	7.0	10.5	7.7	13.7	8.9	13.8	2.4	13.7	3.8	11.7	15.9
ARA1 %/g	10.7	8.5	7.8	10.3	10.9	13.1	11.2	3.0	10.6	4.4	8.1	17.7
ARA2 %/g	17.9	6.6	13.1	7.3	16.5	6.8	16.4	1.7	16.9	3.6	14.8	15.5
IX mg/g	0.044	29.1	0.071	16.0	0.038	24.3	0.100	10.0	0.035	14.3	0.027	35.4
X mg/g	2.41	12.5	4.64	19.9	3.01	35.5	6.84	3.3	3.62	7.2	2.42	35.3
8-PN mg/g	0.015	33.3	0.026	18.8	0.020	33.3	0.025	20.0	0.025	20.0	0.010	57.7
6-PN mg/g	0.070	19.2	0.131	16.9	0.113	21.2	0.145	10.3	0.128	16.0	0.050	36.5

ZPC – Saaz; SLA – Sládek; PRE – Premiant; AGN – Agnus; KAZ – Kazbek; SAL – Saaz Late

ALFA – alpha-acids / *alfa-kyseliny*; CP – total polyphenols / *celkové polyfenoly*; ANT – anthocyanogens / *anthokyanogeny*; FLA – flavonoids / *flavonoidy*; ARP – antiradical potential / *antiradikálový potenciál*; ARA – antiradical activity / *antiradikálová aktivita*; IX – iso-xanthohumol; X – xanthohumol; 8-PN – 8-prenyl naringenin; 6-PN – 6-prenyl naringenin

Table 3 The content of alpha-acids, polyphenolic compounds and antiradical activity values in the harvest of hops 2014
Tab. 3 Obsah alfa-kyselin, polyfenolových látek a hodnoty antiradikálové aktivity chmelů ve sklizni 2014

Variety	ZPC	SLA		PRE		AGN		KAZ		
Odrůda	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
ALFA g/100g	3.05	20.4	5.67	21.7	7.46	21.1	9.69	5.7	4.32	8.6
CP mg/g	38.4	13.5	28.4	15.5	28.1	12.7	28.3	7.4	31.8	13.7
ANT mg/g	36.1	13.2	30.9	16.8	31.9	13.6	29.0	13.2	32.0	15.0
FLA mg/g	10.3	17.6	6.0	20.2	6.6	14.0	6.2	8.4	7.5	26.8
ARP %/g	15.6	18.0	15.3	7.7	15.7	11.8	15.8	9.3	11.7	18.9
ARA1 %/g	11.2	23.3	12.4	8.7	13.9	23.5	12.9	11.5	8.4	20.2
ARA2 %/g	20.3	15.6	19.1	6.8	19.4	9.9	19.6	7.5	15.5	19.0
IX mg/g	0.027	27.2	0.051	23.4	0.028	32.5	0.065	21.9	0.026	20.4
X mg/g	2.26	28.6	4.21	23.7	3.08	37.1	6.74	9.5	2.43	24.4
8-PN mg/g	0.019	25.7	0.028	31.8	0.023	36.9	0.026	18.3	0.029	16.5
6-PN mg/g	0.086	25.1	0.123	33.8	0.099	32.9	0.113	17.2	0.133	21.9

ZPC – Saaz; SLA – Sládek; PRE – Premiant; AGN – Agnus; KAZ – Kazbek; SAL – Saaz Late

ALFA – alpha-acids / *alfa-kyseliny*; CP – total polyphenols / *celkové polyfenoly*; ANT – anthocyanogens / *anthokyanogeny*; FLA – flavonoids / *flavonoidy*; ARP – antiradical potential / *antiradikálový potenciál*; ARA – antiradical activity / *antiradikálová aktivita*; IX – iso-xanthohumol; X – xanthohumol; 8-PN – 8-prenyl naringenin; 6-PN – 6-prenyl naringenin

aqueous acetone, was chosen to eliminate the changes in polyphenols that can occur during a hot water extraction. The annual mean values of the studied groups of polyphenols, prenylflavonoids and antiradical activities in hops are summarized in Tables 1 to 5.

The highest content of polyphenol substances localized in the mass of hop cones, total polyphenols, anthocyanogens and flavonoids was determined in the Saaz and Saaz Late varieties, other hops had a lower content. This corresponds to the results obtained in the past when the extraction of hops was carried out with hot water (Krofta et al., 2008). The average content of total polyphenols for Saaz, Sládek, Premiant, Agnus, Kazbek and Saaz Late cultivars was 36.7, 24.3, 26.4, 26.8, 32.2 and 34.7 mg/g respectively. The data show the fluctuations in the mean values among the harvests as well as the considerable variability within the variety in the definite harvest. The variability of the polyphenol substances values for the variety in the harvest ranged from about 5 to 25% rel.

The study was focused on clarifying the effect of variety, vintage and growing locality on polyphenols and the antiradical activity of hops, data from the whole set, except of prenylflavonoids, were processed using Principal Component Analyse. It is clear from the PCA

Nejvyšší obsah polyfenolových látek lokalizovaných v hmotě chmelové hlávky, celkových polyfenolů, anthokyanogenů a flavonoidů byl stanoven v ŽPČ a Saaz Late, ostatní chmele měly obsah nižší. To koresponduje s výsledky získanými v minulosti, kdy byla extrakce chmelů prováděna horkou vodou (Krofta et al., 2008). Průměrný obsah celkových polyfenolů pro chmele ŽPČ byl 36,7 mg/g, pro chmele Sládek 24,3 mg/g, Premiant 26,4 mg/g, Agnus 26,8 mg/g, Kazbek 32,2 mg/g a Saaz Late 34,7 mg/g. Z tabelovaných dat je zřejmé kolísání průměrných hodnot ve sklizních i nemalá variabilita v rámci odrůdy v dané sklizni. Variabilita hodnot polyfenolových látek pro odrůdu v dané sklizni se pohybovala v rozmezí zhruba 5 až 25% rel.

Studie byla zaměřena na objasnění vlivu odrůdy, ročníku a pěstební lokality na polyfenoly a antiradikálovou aktivitu chmelů, data z celého souboru, kromě prenylflavonoidů, byla zpracována metodou hlavních komponent. Z PCA plotu (*obr. 1*) je patrné, že odrůdy chmele se odlišují, kromě obsahu alfa kyselin, obsahem všech hodnocených skupin polyfenolů, celkových polyfenolů (CP), anthokyanogenů (ANT) a flavonoidů (FLA). Na základě těchto parametrů se vytvořily dvě skupiny chmelů. Prvá skupina zahrnuje odrůdy Agnus,

Table 4 The content of alpha-acids, polyphenolic compounds and antiradical activity values in the harvest of hops 2013
Tab. 4 Obsah alfa-kyselin, polyfenolových látek a hodnoty antiradikálové aktivity chmelů ve sklizni 2013

Variety	ZPC	SLA		PRE		AGN		KAZ		
Odrůda	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
ALFA g/100g	3.10	22.8	6.17	21.9	8.53	15.0	11.00	6.3	5.16	30.6
CP mg/g	30.6	11.7	20.7	22.8	23.7	14.1	23.2	6.8	33.6	6.3
ANT mg/g	34.2	10.0	24.6	20.4	30.0	15.6	27.7	6.2	39.9	6.9
FLA mg/g	8.9	11.8	5.6	28.7	6.1	13.2	6.1	8.0	10.0	5.0
ARP %/g	11.0	9.4	9.0	15.1	10.8	11.7	12.5	10.3	12.5	13.1
ARA1 %/g	7.6	11.8	7.0	13.9	8.4	15.6	10.3	11.7	9.3	17.8
ARA2 %/g	14.7	8.7	11.5	16.1	13.8	9.3	15.4	8.9	16.1	10.2
IX mg/g	0.075	64.8	0.125	20.7	0.063	20.4	0.133	8.9	0.051	9.8
X mg/g	2.56	13.9	5.21	8.0	3.54	15.9	7.72	12.7	2.92	16.5
8-PN mg/g	0.021	21.5	0.033	19.8	0.029	20.9	0.033	4.5	0.015	100.0
6-PN mg/g	0.080	20.2	0.139	27.6	0.103	18.2	0.137	3.8	0.100	30.0

ZPC – Saaz; SLA – Sládek; PRE – Premiant; AGN – Agnus; KAZ – Kazbek; SAL – Saaz Late

ALFA – alpha-acids / *alfa-kyseliny*; CP – total polyphenols / *celkové polyfenoly*; ANT – anthocyanogens / *anthokyanogeny*; FLA – flavonoids / *flavonoidy*; ARP – antiradical potential / *antiradikálový potenciál*; ARA – antiradical activity / *antiradikálová aktivita*; IX – iso-xanthohumol; X – xanthohumol; 8-PN – 8-prenyl naringenin; 6-PN – 6-prenyl naringenin

Table 5 The content of alpha-acids, polyphenolic compounds and antiradical activity values in the harvest of hops 2012
Tab. 5 Obsah alfa-kyselin, polyfenolových látek a hodnoty antiradikálové aktivity chmelů ve sklizni 2012

Variety		ZPC		SLA		PRE		AGN	
Odrůda		R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
ALFA	g/100g	4.07	20.1	7.00	29.5	8.76	14.9	11.96	12.5
CP	mg/g	37.6	8.2	22.7	16.8	24.7	11.4	25.5	14.2
ANT	mg/g	39.3	11.2	28.8	15.8	36.6	8.4	33.7	9.0
FLA	mg/g	10.2	12.2	5.8	18.0	6.4	17.0	5.2	17.2
ARP	%/g	12.5	10.7	11.7	11.4	12.4	16.8	14.1	5.4
ARA1	%/g	8.2	19.9	9.2	14.0	9.6	20.0	11.2	6.6
ARA2	%/g	17.0	9.5	14.9	10.5	15.9	15.3	17.9	4.7
IX	mg/g	0.096	23.3	0.211	22.7	0.158	27.7	0.237	21.5
X	mg/g	3.42	12.6	5.34	7.3	4.18	21.2	6.25	18.0
8-PN	mg/g	0.035	24.5	0.047	18.7	0.032	17.9	0.043	18.9
6-PN	mg/g	0.114	15.6	0.174	17.7	0.143	15.5	0.188	19.5

ZPC – Saaz; SLA – Sládek; PRE – Premiant; AGN – Agnus; KAZ – Kazbek; SAL – Saaz Late

ALFA – alpha-acids / *alfa-kyseliny*; CP – total polyphenols / *celkové polyfenoly*; ANT – anthocyanogens / *anthokyanogeny*; FLA – flavonoids / *flavonoidy*; ARP – antiradical potential / *antiradikálový potenciál*; ARA – antiradical activity / *antiradikálová aktivita*; IX – iso-xanthohumol; X – xanthohumol; 8-PN – 8-prenyl naringenin; 6-PN – 6-prenyl naringenin

plot (Fig. 1) that the hop varieties differ, in addition to the alpha acid content, in all evaluated groups of substances, total polyphenols (CP), anthocyanogen (ANT) and flavonoids (FLA). Based on these parameters, two groups of hops were created. The first group included Agnus, Premiant and Sládek variety, the second group included Saaz and Saaz Late, which are genetically very close. Kazbek lies between these groups. Furthermore, it is clear from the PCA plot that the individual hops across the given variety differ in the parameters of the antioxidant activity (ARP, ARA1 and ARA2).

A heat map was processed from the same data (Fig. 2). It is obvious that the hops form two groups similar to those in the PCA. Both groups form other subgroups that are characterized by different parameters of the antiradical activity of ARP, ARA1 and ARA2

From the data from all years, the effects of variety, year and location on the content of total polyphenols, anthocyanogens and flavonoids in hops were evaluated using the ANOVA method. At a 95%

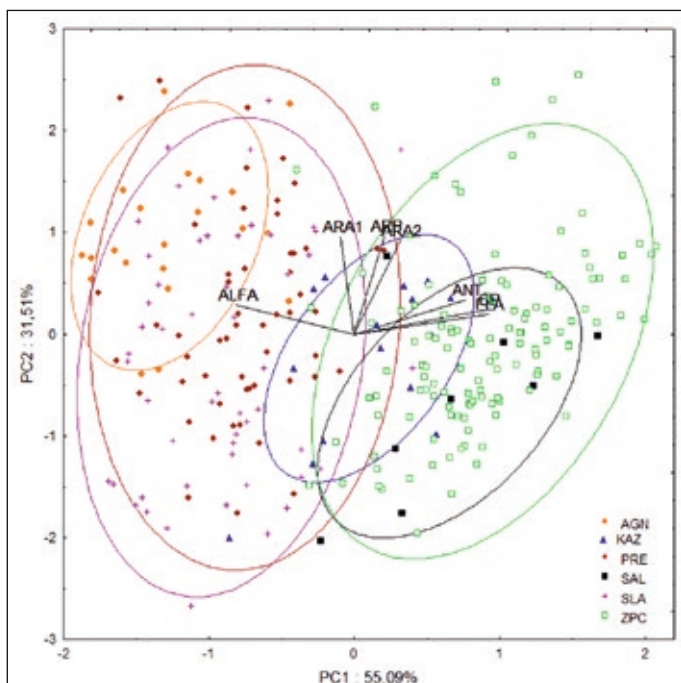


Fig. 1 Results of PCA analysis of the content of total polyphenols, anthocyanogens, flavonoids, alpha acids and antiradical activity of hops
Obr. 1 Výsledky PCA analýzy obsahu celkových polyfenolů, anthokyanogenů, flavonoidů, alfa kyselin a antiradikálové aktivity chmelů

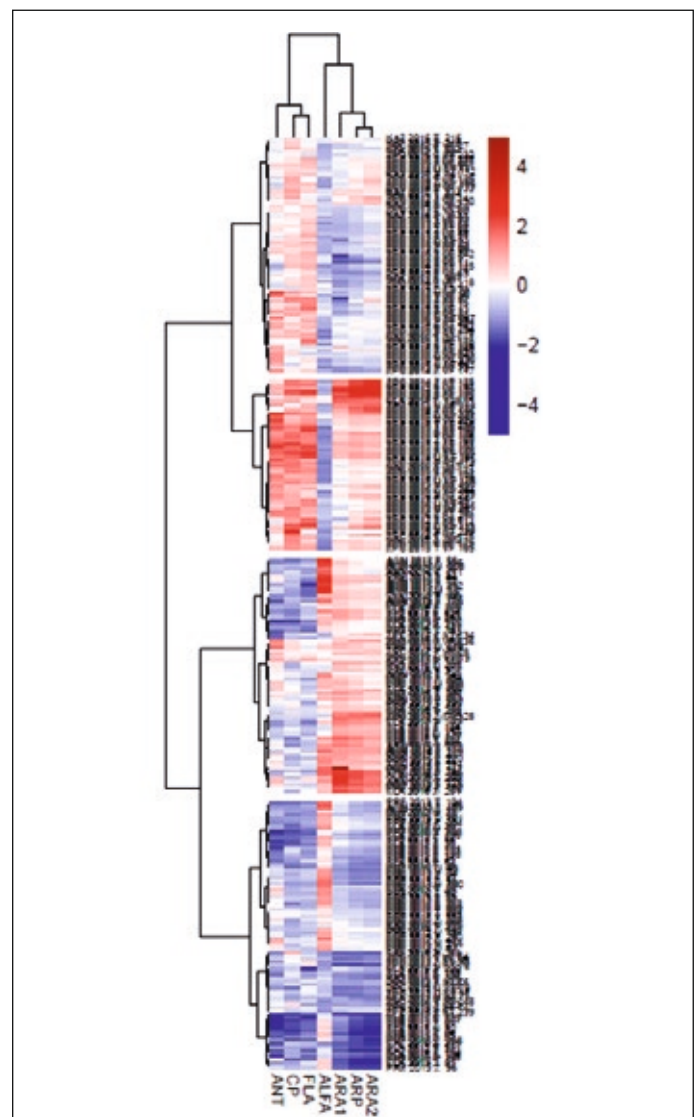


Fig. 2 Heat map of the content of total polyphenols, anthocyanogens, flavonoids, alpha acids and antiradical activity of hops
Obr. 2 Heat mapa obsahu celkových polyfenolů, anthokyanogenů, flavonoidů, alfa kyselin a antiradikálové aktivity chmelů

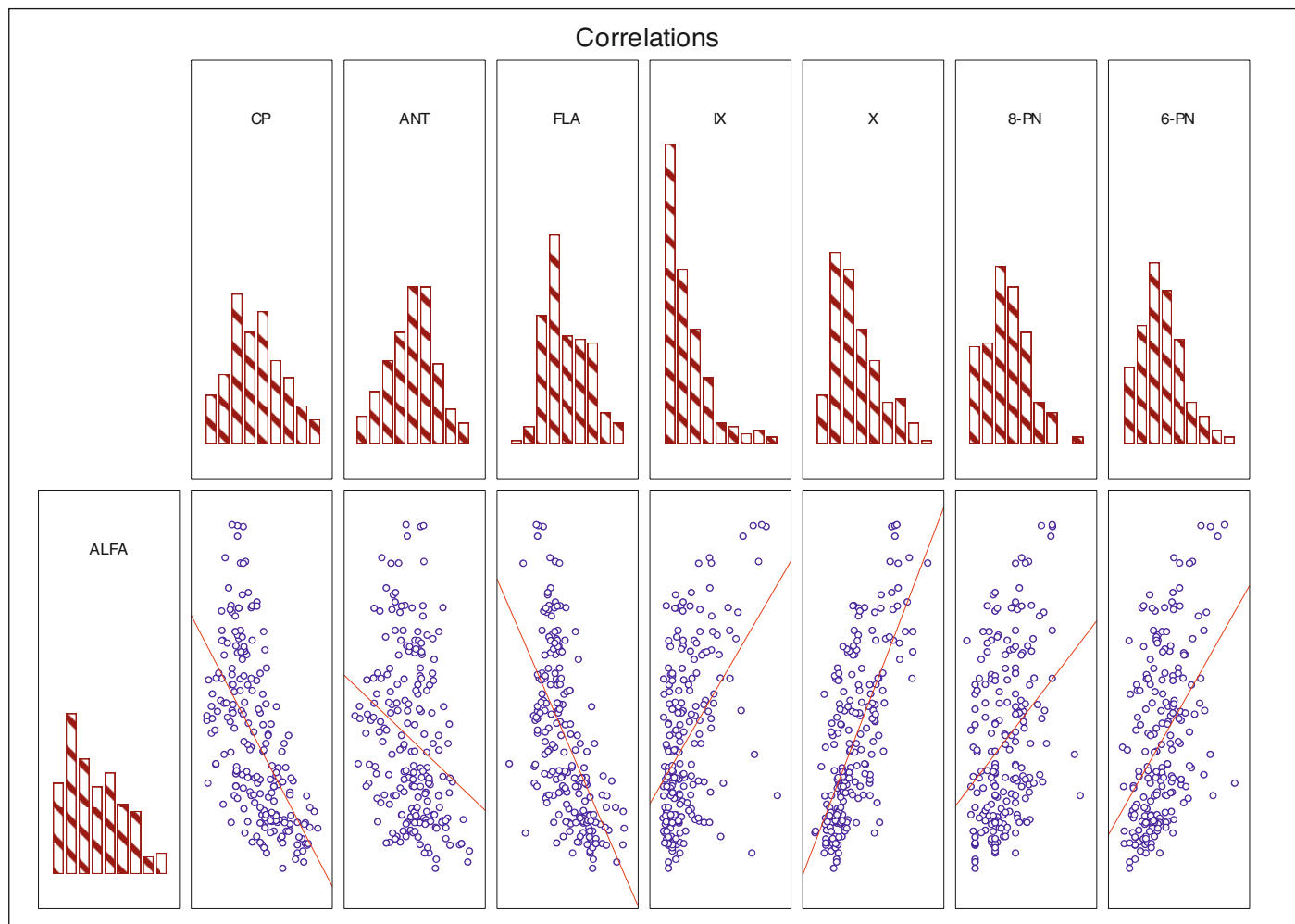


Fig. 3 Relationship of evaluated polyphenol compounds and alpha-acids in hops
Obr. 3 Vztah hodnocených polyfenolových látek a alfa-kyselin ve chmelech

probability level, the effect of the variety and the harvest year on all groups of polyphenols was found. The most important factor was the variety (CP – 66%, ANT – 46%, FLA – 67% variability), the effect of the year was weaker (CP – 36%, ANT – 22%, FLA 8% variability). The locality in this case represented a set of all other influences, a specific growing site, the age of the hop plant, and others. The results show that these sources of variability are significant for flavonoids and anthocyanogens. The variability in the content of polyphenols within a given variety and harvest caused by the „locality“ is also apparent from the relative standard deviations of the averages in

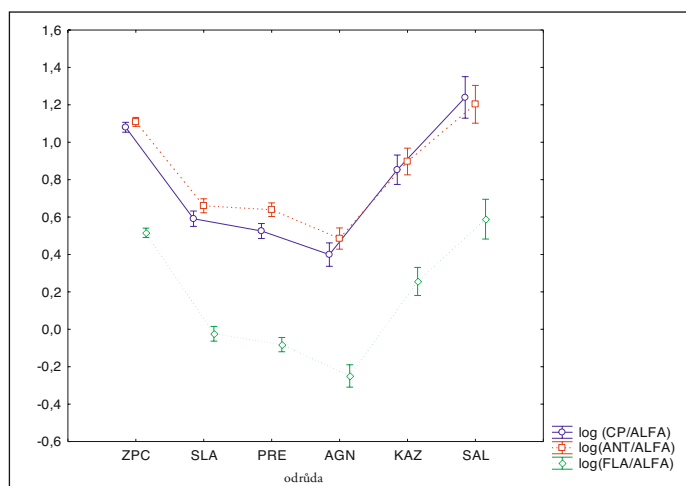


Fig. 4 Influence of the variety on the ratio of polyphenols and alpha-acids in hops
Obr. 4 Vliv odrůdy na poměr polyfenolových látek a alfa-kyselin ve chmelu

Premiant a Sládek, ve druhé skupině jsou geneticky velmi blízké odrůdy Žatecký poloraný červeňák a Saaz Late, Kazbek leží mezi těmito skupinami. Dále je z PCA plotu zřejmé, že jednotlivé chmely napříč danou odrůdou se liší v parametrech antioxidační aktivity (ARP, ARA1 a ARA2).

Ze stejných dat byla zpracována heat mapa (obr. 2). Je zřejmé, že chmely tvoří dvě skupiny obdobné jako v PCA. Obě skupiny tvoří další podskupiny, které jsou charakteristické rozdílnými parametry antiradikálové aktivity ARP, ARA1 a ARA2.

Z dat ze všech let byly metodou ANOVA hodnoceny vlivy odrůdy, roku a lokality na obsah celkových polyfenolů, anthokyanogénů a flavonoidů v chmelu. Na hladině pravděpodobnosti 95% byl nalezen vliv odrůdy i roku sklizně na všechny skupiny polyfenolů. Faktorem s největším vlivem byla odrůda (CP – 66%; ANT – 46%; FLA – 67% variability), vliv ročníku byl slabší (CP – 36%; ANT – 22%; FLA 8% variability). Lokalita v tomto případě reprezentovala soubor všech dalších vlivů, konkrétního pěstební místa, stáří chmelové rostliny a další. Výsledky ukazují, že tyto zdroje variability jsou významné u flavonoidů a anthokyanogénů. Variabilita obsahu polyfenolových látek v rámci určité odrůdy a sklizně daná lokalitou je patrná i z relativních směrodatných odchylek průměrů v tab. 1 až 5. Hodnoty pro diskutované skupiny polyfenolů jsou zpravidla nižší než variabilita obsahu alfa kyselin.

Prenylflavonoidy jsou lokalizovány v lupulinových zrnech. Majoritní látkou ve chmelu je xanthohumol (X), jehož termickou izomerací vzniká iso-xanthohumol (IX). Fytoestrogeny 8-prenylnaringenin (8-PN) a 6-prenylnaringenin (6-PN) jsou v sušených chmelech obsaženy v nízkém množství, stovkách $\mu\text{g/g}$. Na hladině pravděpodobnosti 95% byl nalezen nejen vliv odrůdy, což je při spektru sledovaných odrůd očekávatelné, ale i roku sklizně na obsah IX, X, 8-PN, 6-PN.

Všechny studované polyfenolové látky byly korelovány s obsahem alfa kyselin ve chmelech. Průkazná nepřímo úměrná závislost byla zjištěna pro celkové polyfenoly ($r = -0,621$), anthokyanogeny ($r = -0,270$) a flavonoidy ($r = -0,601$), nejslabší vztah byl pro anthokyanogeny. Přímo úměrný vztah byl prokázán pro xanthohumol ($r = 0,461$),

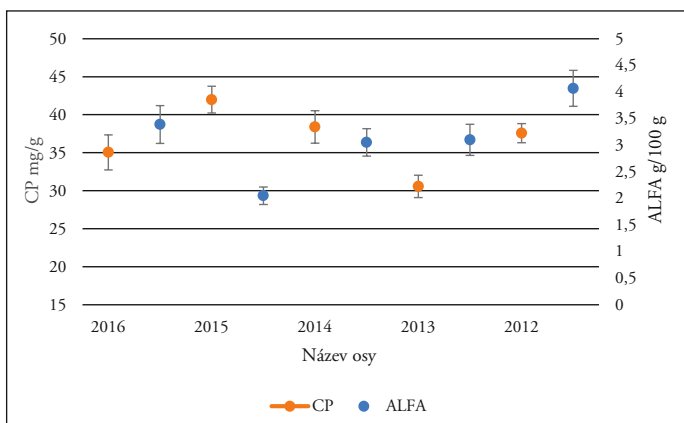


Fig. 5 Influence of year on the ratio of polyphenols and alpha-acids in Saaz hops
Obr. 5 Vliv ročníku na poměr polyfenolových látek a alfa-kyselin ve chmelu Žatecký poloraný červeňák

Tables 1 to 5. The values for the groups of polyphenols discussed are generally lower than the alpha acid content variability.

Prenylflavonoids are located in lupulin glands. The major substance in the hops is xanthohumol (X), whose thermal isomerization produces iso-xanthohumol (IX). The 8-prenylaringenin (8-PN) and 6-prenylaringenin (6-PN) phytoestrogens are contained in low amounts in dried hops in hundreds of µg/g. At a 95% probability level, not only the influence of the variety was found, which is expected for the spectrum of the monitored varieties but also the harvest year for the contents IX, X, 8-PN, 6-PN.

All studied polyphenol compounds were correlated with the alpha-acid content in hops. An inversely proportional dependence was found for the total polyphenols ($r = -0.621$), anthocyanogens ($r = -0.270$) and flavonoids ($r = -0.601$), the weakest relationship was for anthocyanogens. For xanthohumol ($r = 0.461$), isoxanthohumol ($r = 0.700$), 6-PN ($r = 0.333$) and 8-PN ($r = 0.444$) a directly proportional relationship was demonstrated (Fig. 3). These relationships reflect the fact that the content of "leaf polyphenols" does not increase with the content of resins in hops, and the higher alpha acid varieties have a lower content of polyphenols. Within one variety, the ratio of polyphenols and alpha acids depends on the year of the harvest, as shown below.

In a practical assessment of the contribution of hop polyphenols to their content in beer it is necessary to take into account the content of alpha-acids, which determines the dose of hops in the wort boiling. At a 95% probability level, the varietal specificity of CP, ANT, FLA to ALFA was found. From this point of view, the of Saaz and Saaz Late hops had clearly the highest values of the ratio of total polyphenols, anthocyanogens and flavonoids to alpha-acids followed by Kazbek, Sládek and Premiant hops, the lowest values were found for Agnus bitter hops (Fig. 4). Similarly, the varietal dependence of the ratio of xanthohumol to alpha acids has been demonstrated.

Within a given variety, the ratio of "leaf polyphenols" to alpha acids strongly depends on the vintage, temperature and rainfall profile during the vegetation. The results for Saaz variety in Fig. 5 clearly show the different dynamics of the formation of these polyphenols and alpha acids in the five harvests monitored. For example, in the 2015

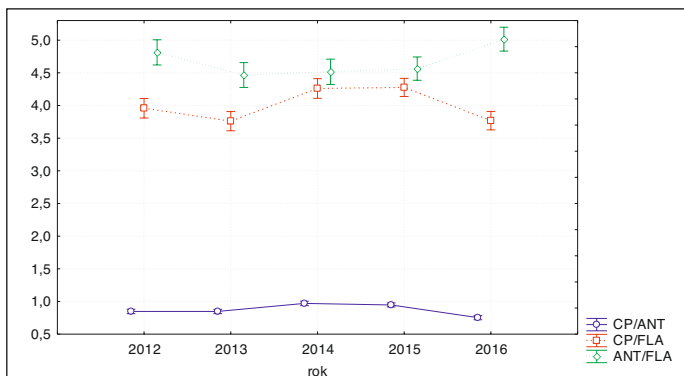


Fig. 7 Influence of the harvest year on the profile of polyphenols in hops
Obr. 7 Vliv ročníku sklizně na profil polyfenolových látek ve chmelu

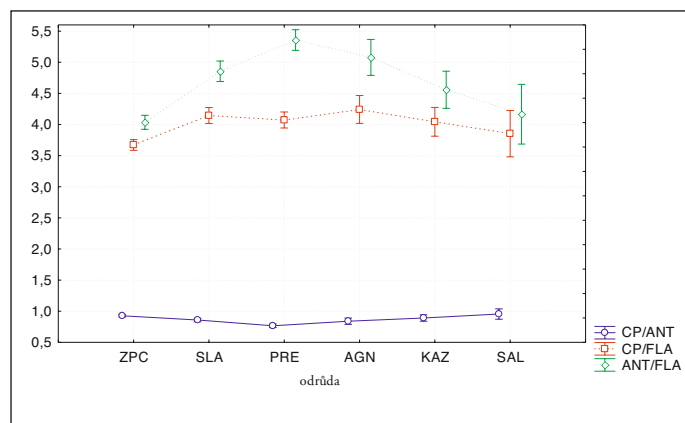


Fig. 6 Influence of the variety on the profile of polyphenols in hops
Obr. 6 Vliv odrůdy na profil polyfenolových látek ve chmelu

isoxanthohumol ($r = 0,700$), 6-PN ($r = 0,333$) a 8-PN ($r = 0,444$) (obr. 3). Tyto vztahy reflektují fakt, že obsah „listových polyfenolů“ nestoupá s obsahem pryskyřic ve chmelu a odrůdy s vyšším obsahem alfa kyselin mají spíše nižší obsah polyfenolů. V rámci jedné odrůdy závisí poměr polyfenolů a alfa kyselin zejména na ročníku sklizně, jak bude ukázáno dále.

Při praktickém hodnocení příspěvku polyfenolů chmele k jejich obsahu v pivu je nutno brát v úvahu obsah alfa kyselin, který určuje dávku chmele při chmelovaru. Na hladině pravděpodobnosti 95% byla nalezena odrůdová specifita poměrů CP, ANT, FLA vůči ALFA. Z tohoto pohledu měly chmele ŽPC a Saaz Late jednoznačně nejvyšší hodnoty poměru celkových polyfenolů, anthokyanogenů i flavonoidů k alfa-kyselinám, následoval chmel Kazbek, Sládek, Premiant a nejnižší hodnoty byly pro hořký chmel Agnus (obr. 4). Obdobně byla prokázána i odrůdová závislost poměru xanthohumolu k alfa-kyselinám.

V rámci jedné odrůdy poměr „listových polyfenolů“ k alfa kyselinám silně závisí na ročníku sklizně, teplotním a srážkovým profilu v průběhu vegetace. Výsledky pro Žatecký poloraný červeňák na obr. 5 zřetelně ukazují různou dynamiku tvorby těchto polyfenolů a alfa kyselin ve sledovaných pěti sklizních. Například ve sklizni 2015 postižené suchem a s nejnižším obsahem alfa-kyselin byl stanoven nejvyšší obsah celkových polyfenolů.

Na odrůdě a klimatických podmínkách závisí nejen obsah polyfenolů a jejich poměr k alfa-kyselinám, ale i jejich profil, v této studii hodnocený vzájemným poměrem měřených skupin polyfenolů. Na hladině pravděpodobnosti 95% byl nalezen vliv odrůdy a roku sklizně na poměry CP/ANT, CP/FLA, ANT/FLA (obr. 6, 7). Například Žatecký červeňák a Saaz Late ukazují nejnižší poměr CP/FLA a ANT/FLA a zároveň nejvyšší poměr CP/ANT, což znamená, že

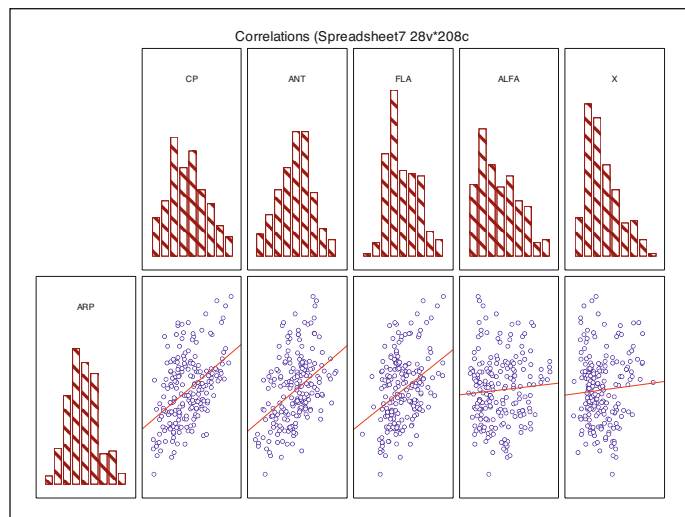


Fig. 8 Relationship of evaluated polyphenol compounds and anti-radical potential (ARP)
Obr. 8 Vztah hodnocených polyfenolových látek a antiradikálního potenciálu (ARP)

harvest affected by a drought and with the lowest alpha acid content, the highest content of total polyphenols was determined.

Not only the content of polyphenols and their ratio to alpha acids depends on the variety and climatic conditions but also their profile, which was evaluated in this study by the relative ratio of the measured groups of polyphenols. At a 95% probability level the effect of variety and harvest year on the CP / ANT, CP / FLA, ANT / FLA ratios was found. (Fig. 6, 7). For example, the Saaz and Saaz Late varieties show the lowest CP / FLA and ANT / FLA ratio and the highest CP / ANT ratio, which means that the hops have a lower relative proportion of anthocyanogens, potential haze-forming substances, and in the total polyphenols, these hops have a higher proportion of flavan-3 ols (catechins) in the total polyphenols value. The profile of polyphenol substances also depends on the year, for example, in the years 2014 and 2015 the CP / ANT and CP / FLA ratios were higher, indicating a higher proportion of phenolic acids and other substances (eg flavonols) in hops.

The content of polyphenols was correlated with antioxidant (anti-radical) potential. The correlation of total polyphenols ($r = 0.455$), anthocyanogens ($r = 0.423$) and flavonoids ($r = 0.362$) against the ARP was evaluated as significant therefore, it can be assumed that all three groups of polyphenol substances affect the antioxidant activity of hops expressed as the ARP. The contribution of different groups of polyphenols to anti-radical potential is difficult to define. It is likely to depend on the polyphenol variety profile. Unlike the entire hops group, the stronger the ARP correlation with total polyphenols ($r = 0.591$) and flavonoids ($r = 0.480$) than with anthocyanogens ($r = 0.400$) was found for the Saaz variety with a higher proportion of catechins. The relationship of xanthohumol ($r = 0.064$) to the ARP was not significant (Fig. 8). The ARA1 (fast reductones) and the ARA2 (final loss of signal of a free radical DPPH) parameters revealed similar relationships with the polyphenol groups as the ARP.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, institutional support MZE-RO1918.

REFERENCES / LITERATURA

- Almaguer, C., Schonberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K., Becker, T., 2014: Humulus lupulus—a story that begs to be told. A review. J. Inst. Brew., 120(4): 289–314.
- Biendl, M., 2009: Hops and health, Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am., 46: 1–7.
- Boivin, P., 2008: Relationship between polyphenols and beer flavour stability. Cerevisia, 33 (4): 188–195.
- Cermak, P., Paleckova, V., Houska, M., Strohalm, J., Novotna, P., Mikyska, A., Jurkova, M., Sikorova, M., 2015: Inhibitory effects of fresh hops on *Helicobacter pylori* strains. Czech J. Food Sci., 33(4): 302–7.
- Daglia, M., 2012: Polyphenols as antimicrobial agents. Curr. Opin. Biotech., 23(2): 174–81.
- EBC Analysis committee, 2010: Analytica-EBC. Nürnberg, Fachverlag Hans Carl, 2010, 794 p. ISBN 978-3-418-00759-5
- Inui, T., Okumura, K., Matsui, H., Hosoya, T., Kumazawa, S., 2017: Effect of harvest time on some in vitro functional properties of hop polyphenols. Food Chemistry, 225: 69–76.
- Jelínek, L., Dolečková, M., Karabín, M., Hudcová, T., Kotlíková, B., Dostálek, P., 2012: Influence of growing area, plant age, and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. Czech J. Food Sci., 30: 541–547.
- Kammhuber, K., 2005: Differentiating between the world range of hop varieties according to bitter compounds and polyphenols. Hopfenrundschaue Int. 2005/2006: 42–46.
- Karabín, M., Hudcová, T., Jelínek, L., Dostálek, P., 2016: Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Vol. 00: 1–26.
- Kavaliar, A. R., Litt, A., Ma, C., Pitra, N. J., Coles, M. C., Kennelly, E. J., Matthews, P. D., 2011: Phytochemical and Morphological Characterization of Hop (*Humulus lupulus* L.) Cones over Five Developmental Stages Using High Performance Liquid Chromatography Coupled to Time-of-Flight Mass Spectrometry, Ultrahigh Performance Liquid Chromatography Photodiode Array Detection, and Light Microscopy Techniques. J. Agric. Food Chem., 59: 4783–4793.
- Krofta, K., Mikyška, A., Hašková, D., 2008: Antioxidant characteristics of hops and hop products. J. Inst. Brew., 114 (2): 160–166.
- ve chmelech je nižší relativní zastoupení anthokyanogenů, látek se zákalotvorným potenciálem a v celkových polyfenolech je vyšší zastoupení flavon-3 olů, katechinů. Naproti tomu chmele Sládek, Premiant a Agnus mají vyšší relativní obsah anthokyanogenů a nižší podíl katechinů v celkových polyfenolech. Profil polyfenolových látek závisí i na ročníku, například v letech 2014 a 2015 byly zaznamenány vyšší poměry CP/ANT a CP/FLA, což naznačuje vyšší zastoupení fenolických kyselin a případně dalších látek (např. flavonolů) ve chmelech.
- Obsah polyfenolových látek byl korelován s antioxidačním (antiradikálovým) potenciálem. Korelace celkových polyfenolů ($r = 0,455$), anthokyanogenů ($r = 0,423$) a flavonoidů ($r = 0,362$) proti ARP byly vyhodnoceny jako významné, proto lze předpokládat, že všechny tyto tři skupiny polyfenolových látek mají vliv na antioxidační aktivitu chmele vyjádřenou jako ARP. Příspěvek různých skupin polyfenolů k antiradikálovému potenciálu je obtížně definovatelný a je pravděpodobné, že bude záviset na odrůdovém profilu polyfenolů. Na rozdíl od celého souboru chmelů byly pro Žatecký poloraný červeňák s vyšším podílem katechinů zjištěny silnější korelace ARP s celkovými polyfenoly ($r = 0,591$) a flavonoidy ($r = 0,480$), nežli s anthokyanogeny ($r = 0,400$). Vztah xanthohumolu ($r = 0,064$) k ARP byl neprůkazný (obr. 8). Pro parametry ARA1 (rychlé redukce) i ARA2 (finální úbytek signálu volného radikálu DPPH) byly zjištěny obdobné vztahy jako pro ARP.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství České republiky, institucionální podpora MZE-RO1918.

- MEBAK, 2011: Collection of Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), Freising-Weihenstephan, Germany. 2011. 341 p.
- Moir M., 2000: Hops—a millennium review. J. Am. Soc. Brew. Chem., 58(4):131–46.
- Mikyška, A., Krofta, K., Hašková, D., Čulík, J., Čejka, P., 2011: The influence of hopping on formation of carbonyl of carbonyl compounds during storage of beer. J. Inst. Brew., 117(1): 47–54.
- Nemzer, B.V., Rodriguez, L.C., Hammond, L., DiSilvestro, R., Hunter, J.M., Pietrzowski, Z., 2011: Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization. Nutr. J., 10(1): 1–11.
- Olšovská, J., Kameník, Z., Čejka, P., Jurková, M., Mikyška, A., 2013: Ultra-high-performance liquid chromatography profiling method for chemical screening of proanthocyanidins in Czech hops. Talanta, 116: 919–926.
- Pietta, P.G., 2000: Flavonoids as antioxidants. J. Nat. Prod., 63(7): 1035–42.
- Quinones, M., Miguel, M., Alexandre, A., 2013: Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. Pharmacol. Res., 68(1): 125–31.
- Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., Lê Cao, K-A., 2017: MixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. PLoS Computational Biology, 13.
- Ross, J.A., Kasum, C.M., 2002: Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. Annu. Rev. Nutr., 22: 19–34.
- Sendamangalam, V., Choi, O.K., Kim, D., Seo, Y., 2011: The anti-biofouling effect of polyphenols against *Streptococcus mutans*. Biofouling, 27(1): 13–9.
- Stoclet, J.C., Chataigneau, T., Ndiaye, M., Oak, M.H., El Bedoui, J., Chataigneau, M., Schini-Kerth, V. B., 2004: Vascular protection by dietary polyphenols. Eur. J. Pharmacol 500(1-3): 299–313.