

HOP PELLETS AS AN INTERESTING SOURCE OF ANTIOXIDANT ACTIVE COMPOUNDS

Andrea Holubková, Silvia Mošovská, Barbora Baloghová, Ernest Šturdík

ABSTRACT

Hop is a plant used by humankind for thousands of years. This plant is one of the main and indispensable raw materials for the beer production. It is used for various dishes preparation in the cuisine. Hop is also used to inhibit bacterial contamination. The hop extracts are used for its sedative, antiseptic and antioxidant properties in medicine, as a part of many phytopharmaceuticals. The present paper have focused on the extraction of polyphenolic compounds from 4 samples of hop pellets varieties of Aurora, Saaz, Lublin and Saphir, on the analyzing of bioactive substances (polyphenolics and flavonoids) in prepared extracts and on the determination of antioxidant activity. The highest content of polyphenolic substances was determined in the sample Lublin (153.06 mg gallic acid (GAE)/g) and Saaz (151.87 mg GAE/g). The amount of flavonoids in the samples was descending order Saaz > Saphir > Aurora > Lublin. Hops, as plant, is known by high content of antioxidant active substances. Antioxidant activity was determined using three independent spectrophotometric methods, radical scavenging assays using 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and ferric reducing antioxidant power (FRAP). The sample Aurora showed the highest ability to scavenge of ABTS radical cation. Antioxidant activity continued to decline in a row Saphir > Lublin > Saaz. The same trend was also observed by using the FRAP assay. The most effective DPPH radical scavenging activity had the sample Saaz a Saphir ($p > 0.05$).

Keywords: hop; extraction; polyphenols; flavonoids; antioxidant activity

ÚVOD

Za pôvodcu mnohých civilizačno-degeneratívnych ochorení ako je napr. rakovina, ateroskleróza, ateros cerebrovaskulárne ochorenia, diabetes, reumatoidná artritída, neurodegeneratívne ochorenia a ďalšie sa považuje oxidačný stres (Fang et al., 2002; Pšenáková et al., 2010).

Pod pojmom oxidačný stres sa rozumie porušenie rovnováhy oxidant-antioxidant, ktoré je spôsobené relatívnym alebo absolútnym nedostatkom antioxidantov v organizme a nadbytkom voľných radikálov (Avignon et al., 2012). Oxidačný stres spôsobuje chronické poškodenie buniek, fyziologické disfunkcie a patologické zmeny, ktoré v organizme môžu vyústiť do vyššie spomínaných ochorení a v najhoršom prípade vedú až k smrti. Oxidačný stres spôsobuje oxidačné zmeny v molekulách DNA, bielkovín, proteínov a sacharidov (Avignon et al., 2012; Slavin, 2000).

V súvislosti s oxidačným stresom je potrebné zadefinovať taktiež pojem antioxidant a voľný radikál. Voľné radikály, označované aj ako reaktívne formy kyslíka (ROS), sú definované ako molekuly, ktoré majú vo svojej valenčnej vrstve nespárený elektrón, preto sú veľmi reaktívne a krátkožijúce intermediáty. Pôsobia ako iniciátory oxidačných reťazových reakcií (Palmieri a Sblendorio, 2007). Prehľad jednotlivých ROS spolu s ich

prirodzenými ochrannými antioxidantnými mechanikami je zhrnutý v Tab. 1. Z chemického hľadiska sa za antioxidant môže považovať každá látka, ktorá zabráni oxidácii inej zlúčeniny reaktívnym metabolitom (oxidantom) tým, že sa sama prednostne oxiduje. Chráni organizmus pred účinkom voľných radikálov (Gulcin a Hujut, 2010).

Z biologického hľadiska je antioxidant taká zlúčenina, ktorá v malej koncentrácii v reakcii s reaktívnym metabolitom tvorí relatívne stabilné a netoxické produkty. Tým zabráni oxidácii cieľovej molekuly. Produkt reakcie oxidanta a antioxidanta by nemal spúšťať ďalšie radikálové reakcie, pri ktorých by sa tvorili nové voľné radikály a oxidované substráty (Mohammad et al., 2009; Ďuračková, 1998).

V súčasnosti sa pozornosť upriamuje najmä na prírodné antioxidanty ktoré sa do ľudského organizmu dostávajú prostredníctvom potravy, konkrétne ovocia, zeleniny, čajov prípadne rôznym rastlinných extraktov (Holst a Williamson, 2008). Do tejto skupiny patria kyselina askorbová, tokoferoly, karotenoidy a široké spektrum fytochemikálií, ako sú polyfenolové látky (flavonoidy a fenolové kyseliny) (Avignon et al., 2012).

Chmeľ (*Humulus lupulus*) je významným prírodným zdrojom antioxidantov. Je to dvojdomá rastlina (Obr. 1). Botanicky sa zaraďuje do čeľade konopovitých.

Tabuľka 1 Prehľad reaktívnych kyslíkových foriem a ich prirodzených antioxidantov (Houston, 2005)

Reaktívne formy kyslíka (ROS)	Antioxidačný ochranný mechanizmus
<i>Voľné radikály:</i>	<i>Enzymatické antioxidanty</i>
O ₂ ⁻	SOD-superoxiddismutáza
OH.	SOD
ROO.	2 O ₂ ⁻ + 2H ⁺ → H ₂ O ₂ + O ₂
RO.	KAT-kataláza
RS.	KAT
NO.	2 H ₂ O ₂ → O ₂ + H ₂ O
NO ₂ .	GTP-glutation peroxidáza
ONOO ⁻	GTP
CCl ₃ .	2GSHH ₂ O ₂ → GSSG + H ₂ O GSSG + NADPH + H ⁺ → 2GSH + NADP ⁺
	GR
	GR-glutation reduktáza
<i>Neradikálové ROS:</i>	<i>Neenzýmové antioxidanty</i>
H ₂ O ₂	Vitamin A
HOCl	Vitamin C
ONOO ⁻	Vitamin E
¹ O ₂	β-karotén, koenzým Q, flavonoidy

schopnosť pozitívnej regulácie krvného tlaku a hladiny glukózy v krvi (Pšenáková 2010; Piendl a Biendl, 2000).

Na potravinárske, resp. pivovarnícke účely sa používajú iba samičie rastliny, pričom sa využívajú chmelové hlávky. Jednotlivé odrody chmeľu sa líšia kvalitatívnymi vlastnosťami. Najdôležitejšími zložkami chmeľu sú chmelové živice, polyfenolové látky a silice (Tab. 2), ktoré sú rozhodujúce pre kvalitu chmeľu a jeho ďalšie technologické spracovanie. Všetky odrody sú však známe z hľadiska vysokého obsahu chmelových živíc, z ktorých významné sú predovšetkým α- a β-horké kyseliny. α-horké kyseliny sa skladajú z troch hlavných zložiek – humulon, adhumulon a kohumulon. Analógmi β-horkých kyselín sú lupulon, adlupulon a kolupulon. V jednotlivých odrodách je podiel α- a β-horkých kyselín rôzny a sú značné aj rozdiely v obsahu a zložení silíc a polyfenolov (Zanoli a Zavatti, 2008).

Tabuľka 2 Priemerné chemické zloženie sušených chmelových hlávok (Kosař a Procházka, 2000)

Látka	Obsah (%)
Voda	8-12
Celkové živice	15-20
Polyfenolové látky	2-6
Silice	0,2-2,5
Lipidy a vosky	1-3
Dusíkaté látky	12-15
Sacharidové látky	40-50
Minerálne látky	6-8



Obrázok 1 Chmeľ otáčavý (*Humulus lupulus*)

Biologicky aktívne zlúčeniny chmeľu vykazujú širokú škálu pozitívnych účinkov, ku ktorým možno zaradiť: antimutagénne, antikarcinogénne, antimikrobiálne, protizápalové a antitrombotické vlastnosti. Majú taktiež

Chmelové silice sú zmesou organických látok prevažne terpenického charakteru. Rozlišuje sa uhlíková frakcia prevažujúca v čerstvom chmeli, kyslíková frakcia vznikajúca počas zrenia, spracovania a skladovania chmeľu a frakcia sírnych zlúčenín prítomná len v nepatrnom množstve. V uhlíkovodíkovej frakcii prevažujú terpenické uhlíkovodíky myrcen, humulen, karyofylen a niektorých odrôd aj farnasen. Prchavé zložky uhlíkovodíkovej frakcie silíc sú pôvodcom chmeľovej arómy (Kosař a Procházka, 2000).

Polyfenolové látky chmeľu zahŕňajú bohatú zmes s prevažným podielom flavonových glykozidov (kempferol, kvercetín, rutín), antokyanogénov, katechínov a voľných fenolových kyselín. Zo skupiny fenolových kyselín chmeľ obsahuje najmä deriváty kyseliny hydroxybenzoovej, prevažne kyselinu kávovú, ferulovú, kumarovú, škoricovú, vanilovú, chlorogenovú a gentisovú. Tieto prispievajú ku tvorbe farby piva (Gerhäuser, 2005).

Chmeľ je veľmi významným zdrojom prenylflavonoidov. Xantohumol je štrukturálne jednoduchý prenylovaný chalkón, ktorý sa vyskytuje iba v rastline chmeľu. Na xantohumol a aj ďalšie prenylované flavonoidy sa upriamuje pozornosť v oblasti medicíny a zdravotníctva (Stevens a Page, 2004). Výsledky mnohých in vitro štúdií poukazujú na významné biologické účinky týchto látok: inhibíciu rastu karcinogénnych buniek prsníka, inhibíciu cytochrómom P450 sprostredkovanej aktivácie prokarcinogénov, indukciu činnosti karcinogén-detoxifikačných enzýmov, antimikrobiálnu aktivitu. Ďalším významným prenylflavonoidom vyskytujúcim sa

v chmeli je 8-prenylaringenin, ktorý predstavuje doposiaľ najsilnejší izolovaný fytoestrogén (He et al., 2005).

Chmeľ sa kvôli predĺženiu a zjednodušeniu skladovateľnosti upravuje rôznymi mechanickými postupmi. Najrozšírenejšími produktmi tejto skupiny sú granulované prípravky vyrobené zo sušeného hlávkového chmeľu tzv. chmeľové pelety. Chmeľové pelety typu 90 a 45 predstavujú najväčší podiel chmeľových výrobkov. Chmeľové pelety tohto typu sa vyrábajú z predsušeného rozomletého hlávkového chmeľu tlakovou granuláciou pri zvýšenej teplote. Typ 45 znamená že zo 100 kg chmeľu sa vyrobí 45 kg granulí. Ďalej sú známe aj chmeľové produkty vyrobené inými fyzikálnymi úpravami. Do tejto skupiny sa zaraďujú etanolové extrakty, CO₂ extrakty, preparáty z chmeľových silíc. Existuje aj 3. skupina, a to produkty z chmeľu vyrobené chemickými úpravami – izoextrakty, izopelety a redukované izo- α -horké kyseliny (Prugar, 2008).

MATERIÁL A METÓDY

Na analýzy boli použité extrakty z granulovaných chmeľov vo forme chmeľových peliet Typ 45 odrôd (rok zberu chmeľu 2010) *Aurora*, *Saaz*, *Lublin* a *Saphir*. Vzorok chmeľových peliet boli získané z významného slovenského pivovaru.

Príprava extraktov z chmeľových peliet

Prvým dôležitým krokom pri príprave extraktov bolo odstránenie éterického podielu z chmeľových peliet. Ku 150 g peliet sme pridali 1 l destilovanej vody a obsah banky sme destilovali s vodnou parou. Vydestilovali sme 500 ml destilátu, ktorý sme následne vysolili s NaCl a kontinuálne extrahovali n-hexánom. Po extrakcii sme organickú fázu zahustili na rotačnej vákuovej odparke a uskladnili v chladničke.

Zvyšok po destilácii chmeľových peliet s vodnou parou sme spracovávali ďalej. Ku 100 g zelenej hmoty (destilačného zvyšku) sme pridali 400 ml 80 %-ného acetónu a extrahovali pod refluxom v dvoch stupňoch. Obidva stupne extrakcie sme následne zahustili na rotačnej vákuovej odparke. Na odstránenie zvyškového podielu éterického oleja z extraktu sa tento v ďalšom stupni destiloval s vodnou parou. Destilačný zvyšok sme kontinuálne preextrahovali etylacetátom a vodnú fázu sme zahustili do sucha. Posledným krokom bola kryštalizácia z metanolu. Pre nasledujúce analýzy boli kryštalické produkty rozpustené vo vode.

Stanovenie množstva celkových fenolov

Bolo uskutočnené spektrofotometrickou metódou pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla (Yu a Haley, 2004). K 0,1 ml extraktu sme napipetovali 0,5 ml Folin-Ciocalteuovho činidla. Po troch minútach bolo pridaných 1,5 ml 20 %-ného uhlíčanu sodného a roztok bol doplnený destilovanou vodou na 10 ml. Presne po 2 hodinách sme zmerali absorbanciu pri 765 nm. Výsledok bol vyjadrený v mg kyseliny gálovej (GAE)/g vzorky.

Stanovenie flavonoidov

Množstvo flavonoidov bolo stanovené podľa práce Kreft et al. (2002) metódou využívajúcou AlCl₃. K 0,5 ml

extraktu sme napipetovali 1,5 ml vody a 0,2 ml 5 %-tného roztoku AlCl₃. Presne po 30 min bola zmeraná absorbancia pri 420 nm. Množstvo flavonoidov sme vyjadřili ako mg rutínu/g vzorky.

Meranie antioxidačnej aktivity DPPH testom

Pri realizácii DPPH testu sme postupovali podľa Yen a Chen (1995) s miernou modifikáciou. Na stanovenie bolo napipetovaných 0,25 ml extraktu, 1,5 ml vody a 0,5 ml DPPH radikálu a po 10 minútach sme zmerali absorbanciu pri 517 nm. Výsledná antioxidačná aktivita bola vyjadřená hodnotou IC 50 (mg/ml), čo je koncentrácia spôsobujúca 50 %-tnú inhibíciu radikálov prítomných v reakčnej zmesi.

Meranie antioxidačnej aktivity ABTS testom

Antioxidačná aktivita stanovená ABTS testom bola realizovaná podľa Re et al. (1999). K 2 ml ABTS⁺ sme pridali 0,05 ml extraktu a merali celé spektrá v rozsahu od 400 do 1100 nm v priebehu 10 minút v minútových intervaloch. Pre výpočet poklesu absorbancie sme vybrali hodnotu absorbancie v desiatej minúte (730 nm). Výsledok bol vyjadřený ako v prípade DPPH testu hodnotou IC 50.

Meranie antioxidačnej aktivity FRAP testom

Pri meraní antioxidačnej aktivity touto metódou sme postupovali podľa práce Niemeyer a Metzler (2003). K 0,06 ml vzorky bolo pridaných 0,18 ml vody a 1,8 ml FRAP reagentu. Po 30 minútach sme zmerali absorbanciu pri 595 nm. Antioxidačná aktivita bola vyjadřená ako v predchádzajúcich dvoch prípadoch.

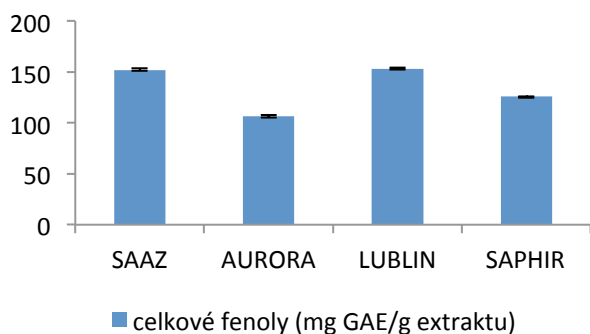
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Polyfenoly sú významnou skupinou biologicky aktívnych látok rastlinného materiálu. Preukazujú antioxidačné, antimutagénne, antivirové a protizápalové vlastnosti (Vollmannová et al., 2006). Ďalej sa vyznačujú širokou škálou zdraviu prospešných vlastností. V posledných rokoch sa upriamuje pozornosť na ich protektívne účinky v rámci kardiovaskulárnych ochorení, niektorých typov rakoviny, stimulácie imunitného systému, modulácie detoxifikačných enzýmov, zmien v metabolizme cholesterolu a steroidných hormónov, znižovania krvného tlaku a zlepšovania endotelálnych vaskulárnych funkcií (Robles-Sardin et al., 2011).

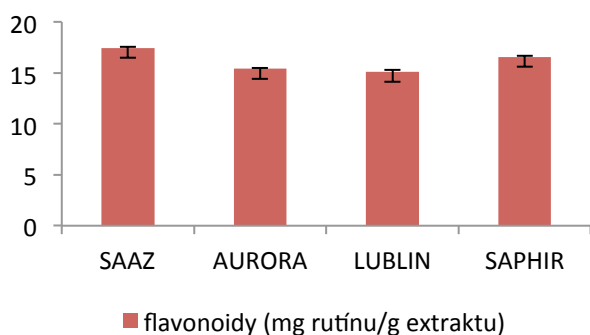
Množstvo celkových fenolov v nami sledovaných extraktoch získaných z chmeľových peliet bolo stanovené spektrofotometrickou metódou pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla. Výsledok bol prepočítaný na štandard – kyselinu galovú a vztiahnutý na g suchej vzorky. Najvyšší obsah fenolov (Obr. 2) bol stanovený vo vzorke *Lublin*, v množstve 153,06 mg GAE/g, a *Saaz* 151,87 mg GAE/g ($P > 0,05$). Ďalej klesal obsah celkových fenolov v poradi *Saphir* > *Aurora*.

Jednou z hlavných skupín polyfenolických látok sú flavonoidy, ktoré sme stanovili metódou s AlCl₃. Výsledok bol vztiahnutý na štandard – rutín a prepočítaný na g suchej vzorky. Ich množstvo klesalo v rade *Saaz* (17,46 mg rutínu/g) > *Saphir* (16,58 mg rutínu/g) > *Aurora* (15,41 mg rutínu/g) ~ *Lublin* (15,13 mg rutínu/g).

Porovnanie množstva flavonoidov v jednotlivých vzorkách je znázornené na Obr.3.



Obrázok 2 Porovnanie celkového obsahu fenolov vo vzorkách štyroch typov chmeľových peliet



Obrázok 3 Porovnanie celkového obsahu flavonoidov vo vzorkách chmeľových peliet

Antioxidačné vlastnosti jednotlivých extraktov sme sledovali troma nezávislými spektrofotometrickými metódami, ABTS, DPPH a FRAP testom.

ABTS (ABTS - 2,2-azinobis-3-etylénbenzotiazolín-6-sulfónová kyselina) test je spektrofotometrická metóda, ktorá je založená na reakcii ABTS⁺ s antioxidantami nachádzajúcimi sa vo vzorke. Antioxidačnú aktivitu sme sledovali ako pokles absorpcie reakčnej zmesi pri 730 nm. Zmenu absorpcie získanú z rozdielu absorpcií pre ABTS⁺ bez a s prídavkom antioxidantu sme prepočítali na hodnotu IC 50 v mg.ml⁻¹. Najvyššiu schopnosť zhasať ABTS⁺ preukázala vzorka Aurora, pričom antioxidačná aktivita ďalej klesala v poradí Saphir > Lublin > Saaz. Výsledky merania antioxidačnej aktivity sú sumarizované v Tab.3.

Tabuľka 3 Antioxidačná aktivita sledovaných extraktov stanovená troma nezávislými spektrofotometrickými metódami (ABTS, DPPH a FRAP test) vyjadrená hodnotami IC 50

	IC 50 mg.ml ⁻¹		
	ABTS test	DPPH test	FRAP test
<i>Saphir</i>	0,85	1,16	0,78
<i>Aurora</i>	0,99	1,00	0,84
<i>Lublin</i>	0,53	0,74	0,68
<i>Saaz</i>	0,50	1,24	0,62

Ďalšou spektrofotometrickou metódou použitou na stanovenie antioxidačnej aktivity bol FRAP test, ktorý je založený na princípe redoxnej reakcie a spočíva v schopnosti antioxidantov redukovať Fe³⁺ (TPZ-Fe³⁺-2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazín) na Fe²⁺ (TPZ-Fe²⁺-2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazín) (Niemeyer a Metzler, 2003). Namerané výsledky ukázali rovnaký trend ako bol pozorovaný pri ABTS metóde.

DPPH test je spektrofotometrická metóda založená na schopnosti voľného radikálu 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazylu (DPPH) reagovať s antioxidantami, ktoré sú donormi vodíka. Pri reakcii radikálu s antioxidantom dochádza k redukcii radikálu na DPPH-H, čo je sprevádzané odfarbením reakčnej zmesi a teda znížením absorpcie (Yen a Chen, 1995). Pokles hodnoty absorpcie sme merali po desiatich minútach v dvoch paralelných meraniach a výsledok bol vyjadrený hodnotami IC 50. Najúčinnějšími vzorkami boli extrakty Saaz a Saphir, medzi ktorými nebol zistený štatisticky významný rozdiel (P > 0,05). Antioxidačný potenciál ďalej klesal v poradí Aurora > Lublin.

ZÁVER

Z pohľadu technologicky významných látok chmeľ obsahuje chmeľové živice, silice a polyfenoly. V posledných rokoch na chmeľ upriamuje pozornosť aj farmaceutický priemysel. Dôvodom je vysoký obsah bioaktívnych látok, ktoré sa vyznačujú protizápalovými, antibakteriálnymi, chemoprotektívnymi účinkami a ďalšími pozitívnymi vlastnosťami. Jedná sa najmä o prenylflavonoidy, xantohumul ale aj α-horké kyseliny. Vďaka týmto látkam je chmeľ súčasťou mnohých fytofarmakologických prípravkov.

Taktiež naše analýzy poukázali na značný obsah polyfenolových látok, flavonoidov v extraktoch získaných z chmeľových peliet a ich antioxidačný potenciál. Výsledky naznačili, že chmeľové pelety by mohli byť zaujímavým potenciálnym zdrojom zlúčenín s biologickou aktivitou. Avšak je potreba ďalšieho testovania, čo bude predmetom nasledujúcej práce.

LITERATÚRA

- Avignone, A., Hokayem, M., Bisbal, C., Lambert, K. 2012. Dietary antioxidants: Do they have a role to play in the ongoing fight against abnormal glucose metabolism?. *Nutrition*, vol. 28, no. 7-8, p. 715-721. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2012.01.001> PMID:22571840
- Ďuračková, Z. 1998. Voľné radikály a antioxidanty v medicíne I. 1th ed. Bratislava. Slovak Academic Press, 285 p., ISBN 80-88908-11-6
- Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G. 2002. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, vol. 18, no. 10, p. 872-879. [http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4) PMID:12361782
- Gerhäuser, C. 2005. Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *European Journal of Cancer*, vol. 41, no. 13, p. 1941-1954. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2005.04.012> PMID:15953717
- Gulcin, I., Hujut, Z., Elmastas, M., Aboul-Enein H. Y. 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic

- acid. *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 3, no. 1, p. 43-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2009.12.008>
- He, G., Xiong, H., Chen, Q., Ruan, H., Wang, Z., Traoré, L. 2005. Optimization of conditions for supercritical fluid extraction of flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Zhejiang University Science*, vol. 6, no. 10, p. 999-1004. <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2005.B0999> PMID:16187413
- Holst, B., Williamson, G. 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 19, no. 2, p. 73-82 <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2008.03.003> PMID:18406129
- Houston, M. C. 2005. Nutraceuticals, Vitamins, Antioxidants, and Minerals in the Prevention and Treatment of Hypertension. *Nutraceuticals and Hypertension*, vol. 47, no. 6, p. 396-449.
- Kosař, K., Procházka, S. 2000. Technologie výroby sladu a piva. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 398 p. ISBN 80-902658-6-3.
- Kreft, S., Štrukelj, B., Gaberščik, A., Kreft, I. 2002. Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometric and an HPLC method. *Journal of Experimental Botany*, vol. 53, no. 375, p. 1801-1804. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erf032> PMID:12147730
- Mohammad, M., Dar, A., Soomro, T. M., Tarig, M., Latif, M. 2009. Antioxidants / antioxidative agents and superoxide: An electrochemical monitoring device. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, vol. 1, no. 6, p. 105-114.
- Niemeyer, H. B., Metzler, M. 2003. Differences in the antioxidant activity of plant and mammalian lignans. *Journal of Food Engineering*, vol. 56, no. 2, p. 255-256. [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00263-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00263-7)
- Palmieri, B., Sblendorio, V. 2007. Oxidative stress tests: overview on reliability and use Part II. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, vol. 11, no. 6, p. 383-399.
- Piendl, A., Biendl, M. 2000. Physiological significance of polyphenols and hop bitters in beer. *Brauwelt International*, vol. 18, no.4, p. 310-317.
- Prugar, J. 2008. Kvalita rastlinných produktu na Prahu 3. tisíciletí. Výskumný ústav pivovarský a sladařský, Praha, ISBN 978-80-86576-28-2.
- Pšenáková, I., Hetešová, L., Nemeček, P., Faragó, J., Kraic, J. 2010. Genotype and seasonal variation in antioxidant activity of hop extracts. *Agriculture*, vol. 56, no. 4, p. 106-113.
- Re, R., Pellegriny, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Evans, C. R. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9, p. 1231-1237. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Robles-Sardin, A., Verónica, A., Aguilar, G. A. G., Rosa, L. A. 2011. Flavonoids and Their Relation to Human Health. Rosa L. A. et al. *Fruit and Vegetable Phytochemicals*. Blackwell Publishing, 1.ed, p. 155-175, ISBN-13: 978-0-8138-0320-3
- Slavin, J. L. 2000. Whole grains, refined grains and fortified refined grains: What's the difference? *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, vol. 9, no. S1, p. 23-27. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-6047.2000.00171.x>
- Stevens, J. F., Page, J. E., 2004. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health. In *Phytochemistry*, vol. 65, no. 10, p. 1317-1330. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025> PMID:15231405
- Vollmannová, A., Tomáš, J., Tóth, T. 2006. Bioflavonoidy v strukovinách, ich komponentná skladba a metódy stanovenia. *Výživa a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*, vyd.1, Slovenské poľnohospodárska univerzita v Nitre, p. 41-48, ISBN 80-8069-780-9.
- Yen, G. CH., Chen, H. Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their mutagenicity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol 43, no. 1, p. 27-32. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00049a007>
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M. 2004. Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. *Food Chemistry*, vol. 86, no. 1, p. 11-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.037>
- Zanoli, P., Zavatti, M. 2008. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 116, no. 3, p. 383-396. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.011> PMID:18308492

Acknowledgments:

The work was financially supported by the Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic for the Structural Funds of EU, within the frame of the Project „Evaluation of natural substances and their selection for prevention and treatment of lifestyle diseases” (ITMS 26240220040).

Contact address:

Andrea Holubková, Slovak University of Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Department of Nutrition and Food assesment, Radlinského 9, 812 37 Bratislava E-mail: andrea.holubkova@stuba.sk.

Silvia Mošovská, Slovak University of Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Department of Nutrition and Food assesment, Radlinského 9, 812 37 Bratislava E-mail:silvia.mosovska@stuba.sk.

Ernest Šturdík, Slovak University of Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Department of Nutrition and Food assesment, Radlinského 9, 812 37 Bratislava E-mail:ernest.sturdik@stuba.sk.

Barbora Baloghová, Slovak University of Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Department of Nutrition and Food assesment, Radlinského 9, 812 37 Bratislava E-mail: xbaloghovab@is.stuba.sk