

Contents of prenylflavonoids in Czech hops and beers

Prenylflavonoids are natural substances contained in hops. Thanks to their remarkable bioactive effects they have recently become a subject of medical and pharmaceutical research. The most important prenylflavonoid of hops is xanthohumol (X). Other representatives of the same group contained in hops are desmethylxanthohumol (DMX), isoxanthohumol (IX) and 8-prenylnaringenin (8-PN). Among others, anti-cancer, anti-inflammatory, oestrogen and anti-microbial effects were proved in these substances. With respect to taxonomy, prenylflavonoids belong to polyphenols of the chalcon series. They actually represent a transition between hop resins and polyphenols. Together with resins and essences, they are made in lupulin glands. This characteristic is used to analytically determine them. Xanthohumol and humulon inhibit the process of calcium absorption in bones and thus work against osteoporosis. Prenylflavonoids enter into biochemical reactions of degradation in number of xenobiotics and help to remove them from the organism. At present, 8-Prenyl-naringenin is considered one of the most effective phytoestrogens. The contents and composition of hop prenylflavonoids depends on variety, hop ripeness, storage conditions and the processing method after harvest. Xanthohumol forms up to 90% of the total prenylflavonoids contained in hops. During beer production, xanthohumol isomerises to isoxanthohumol, which is the most important prenylflavonoid in beer. Similarly, desmethylxanthohumol isomerises to 8-prenylnaringenin and 6-prenylnaringenin (6-PN).

Analytical determination of hop prenylflavonoids is carried out by liquid chromatography, usually at the same time as alpha and beta analysis of bitter acids together with UV or weight detector. To determine xanthohumol and DMX in hops and isoxanthohumol in beer, a UV detector is sufficient. To determine minority prenylflavonoids, a weight detector (LC/MS) must be used. The contents of xanthohumol and desmethylxanthohumol in Czech varieties of hops have been regularly determined for several years at the Hop Research Institute in Rájec. The typical contents of the named prenylflavonoids in Czech hops are listed in Table 1. The values listed in Table 1 are the results of measuring a few dozen hop samples of each variety from all hop-growing regions for the past four years. The contents of xanthohumol in Czech hops varies between 0.25 to 1.1% of weight. The highest contents of xanthohumol can be found in the Agnus variety. The Sládek variety is remarkable for its high ratio between the contents of xanthohumol and alpha acids. In this respect, this variety beats all commonly grown foreign hops. This parameter is, from a brewing point of view, more important than the absolute contents of xanthohumol as it shows the amount of prenylflavonoid brought into the brewing process during hopping. The lowest contents of xanthohumol were measured in Saaz hops; however, considering the relatively low contents of alpha acids, the ratio X/alpha is comparable with the Sládek variety. Desmethylxanthohumol occurs in Czech hops in amounts of 0.05 to 0.25% of the total weight. The most desmethylxanthohumol can be found in the Sládek variety, the least in the Bor and Premiant varieties. A positive correlation was proved between the contents of alpha acids and prenylflavonoids.

Table 2 shows the contents in prenylflavonoids in the selected Czech beers. The evaluation performed during the course of 2004 included light draught as well as lager beers, one sample

of diabetic beer and one sample of black beer. The results show that it is isoxanthohumol, which appears in the highest amount in beer. The concentrations vary considerably, from trace amounts up to 2mg/l. The contents of minority prenylflavonoids do not exceed 0.1mg/l. The highest contents of prenylflavonoids among the tested set of Czech beers was found in Pilsner Urquell. The decisive factor determining the level of prenylflavonoids in beer is hopping, i.e. the time scheme of hop additions, selection of varieties and hop products. If carbon-dioxide-based hop extracts or so-called "down-stream" products are used for hopping, then the contents of prenylflavonoids in beer is insignificant. This fact is also confirmed by some values in Table 2. Lager beers, usually hopped by a smaller proportion of extracts, contain more isoxanthohumol than draught beers. It is known that during brewing, significant losses of prenylflavonoids occur. Monitoring of isoxanthohumol contents in semi-finished products and finished beer in two Czech breweries proved that the greatest losses occur during the cooling of hopped wort, fermentation and beer filtration. The total loss of isoxanthohumol (hot hopped wort => finished beer) amounted from 50 to 60%.

Table 1: Contents of xanthohumol, desmethylxanthohumol and alpha acids in Czech hops

| Variety | X | (%) | Alfa | (%) | X/Alfa | . 10 |
|----------|------|--------|------|---------|--------|------|
| Saaz | 0,25 | - 0,45 | 3,0 | - 4,0 | 9 | - 13 |
| Bor | 0,40 | - 0,60 | 7,0 | - 10,0 | 4 | - 7 |
| Sladek | 0,45 | - 0,80 | 4,0 | - 8,0 | 9 | - 15 |
| Premiant | 0,30 | - 0,50 | 7,0 | - 11.,0 | 3,5 | - 5 |
| Agnus | 0,70 | - 1,10 | 10,0 | - 15.0 | 6 | - 8 |

Despite great losses during the production process, beer remains the most important source of prenylflavonoids in human nutrition. Beer is actually a very healthy drink if consumed regularly and in a reasonable amount. It contains a wide range of beneficial substances, from sugars, amino acids, and polyfenols to minerals and vitamins. Therefore, it is not way off the mark to compare beer to "liquid bread."

Table 2: Contents of prenylflavonoids in a selection of Czech beers

| % Plato | Brewery | Type of beer | Prenylflavonoid (mg/L) | | | | |
|---------|---------|--------------|------------------------|------|----|----|-----|
| | X | IX | 6-PN | 8-PN | | | |
| | A | 10 % | 9 | 206 | 5 | < | 2,0 |
| | B | 10 % | 34 | 450 | 21 | 9 | |
| | B | 10 % | < | < | < | < | 0,2 |
| | B | 12% | - | 625 | - | - | |
| | C | 11 % | 28 | 1180 | 30 | 12 | |
| | D | dia | 2 | 250 | 7 | 5 | |
| | E | 12 % | 28 | 1350 | 31 | 15 | |
| | F | 12 % | 26 | 1910 | 29 | 12 | |
| | G | 10 % | - | 320 | - | - | |
| | G | 12 % | 16 | 860 | 27 | 25 | |
| | I | 12 % | - | 338 | - | - | |
| | J | 10 % | - | 74 | - | - | |
| | J | 12 % | - | 275 | - | - | |
| | K | 11 % | - | 650 | - | - | |
| | L | 12 % | - | 170 | - | - | |
| | M | 10 % | - | 360 | - | - | |
| | M | 12 % | - | 720 | - | - | |
| | M | dark | - | 970 | - | - | |
| | N | 10 % | - | 570 | - | - | |
| | N | 12 % | - | 720 | - | - | |

Analytické stanovení chmelových prenylflavonoidů se provádí kapalinovou chromatografií, zpravidla simultánně s analýzou alfa a beta hořkých kyselin ve spojení s UV nebo hmotnostním detektorem. Ke stanovení xanthohumolu a DMX ve chmelu a isoxanthohumolu v pivu postačuje UV detektor. Ke stanovení minoritních prenylflavonoidů je nezbytné použití hmotnostního detektoru (LC/MS). Obsah xanthohumolu a desmethylxanthohumolu v českých odrůdách chmele je několik let rutinně stanován ve Chmelařském institutu v Žatci. Typické obsahy jmenovaných prenylflavonoidů v českých chmelech jsou uvedeny v tabulce 1. Hodnoty uvedené v tabulce 1 jsou výsledkem měření několika desítek vzorků chmele každé odrůdy ze všech chmelařských oblastí v uplynulých čtyřech letech. Obsah xanthohumolu v českých chmelech se pohybuje v rozmezí 0,25 až 1,1 % hm. Nejvyšší obsah xanthohumolu je v odrůdě Agnus. Odrůda Sládek je pozoruhodná velmi vysokým poměrem obsahu xanthohumolu a alfa kyselin. V tomto ohledu předčí i všechny běžně pěstované zahraniční chmele. Tento parametr je z pivovarského hlediska důležitější než absolutní obsah xanthohumolu neboť vypovídá o množství prenylflavonoidu vnášeného do varního procesu při chmelení. Nejnižší obsahy

xanthohumolu byly naměřeny v Žateckém červeňáku, ale vzhledem k poměrně malému obsahu alfa kyselin je poměr X/alfa srovnatelný s odrůdou Sládek. Desmethylxanthohumol se v českých chmelech vyskytuje v množství 0,05 až 0,25 % hm. Nejvíce je ho v odrůdě Sládek, nejméně v odrůdách Bor a Premiant. Mezi obsahem alfa kyselin a prenylflavonoidů byla prokázána pozitivní korelace.

V tabulce 2 jsou uvedeny obsahy prenylflavonoidů ve vybraných českých pivech. Do hodnocení, které bylo provedeno v průběhu roku 2004, byla zařazena světlá výčepní i ležácká piva a po jednom vzorku dia a černého piva. Výsledky ukazují, že v pivech je nejvíce obsažen isoxanthohumol. Rozsah koncentrací je velmi široký, od stopových množství až do 2 mg/l. Obsahy minoritních prenylflavonoidů nepřesahují hranici 0,1 mg/l. Nejvyšší obsah prenylflavonoidů ve zkoumaném souboru českých piv byl nalezen v 12 % ležáku Prazdroj Plzeň. Rozhodujícím faktorem určujícím hladinu prenylflavonoidů v pivu je chmelení, tj. časové rozvržení přísadků chmele, výběr odrůd a chmelových výrobků. Pokud se ke chmelení použijí chmelové extrakty na bázi oxidu uhličitého nebo tzv. "down-stream" produkty, pak obsah prenylflavonoidů v pivu je zanedbatelný. Tuto skutečnost potvrzují i některé hodnoty z tabulky 2. Ležácká piva, chmelená zpravidla menším podílem extraktů, obsahují více isoxanthohumolu než piva výčepní. Je známo, že v průběhu výroby piva dochází ke značným ztrátám prenylflavonoidů. Sledování obsahu isoxanthohumolu v meziproduktech a konečném pivu ve dvou českých pivovarech prokázalo, že k největším ztrátám dochází při chlazení mladiny, kvašení a filtraci piva. Celková ztráta isoxanthohumolu (horká mladina => konečné pivo) činila 50 až 60 %.

Tabulka 1: Obsah xanthohumolu, desmethylxanthohumolu a alfa kyselin v českých chmelech

| Odrůda | X | (%) | Alfa | (%) | X/Alfa | . 10 |
|----------|------|--------|------|--------|--------|------|
| ŽPČ | 0,25 | - 0,45 | 3,0 | - 4,0 | 9 | - 13 |
| Bor | 0,40 | - 0,60 | 7,0 | - 10,0 | 4 | - 7 |
| Sládek | 0,45 | - 0,80 | 4,0 | - 8,0 | 9 | - 15 |
| Premiant | 0,30 | - 0,50 | 7,0 | - 11,0 | 3,5 | - 5 |
| Agnus | 0,70 | - 1,10 | 10,0 | - 15,0 | 6 | - 8 |

I přes vysoké ztráty během výrobního procesu zůstává pivo nejdůležitějším zdrojem prenylflavonoidů v lidské výživě. Chmel udílí pivu nejen hořkost, ale současně zvyšuje i jeho nutriční hodnotu. Pivo je velmi zdravý nápoj pokud je konzumováno pravidelně a v přiměřeném množství. Obsahuje široké spektrum látek od sacharidů, aminokyselin a polyfenolů po minerály a vitaminy. Proto není od věci, když je někdy přirovnáváno k "tekutému chlebu".

Tabulka 2: Obsah prenylflavonoidů ve vybraném souboru českých piv

| X | Pivovar | Typ piva | Prenylflavonoid | | (microgram/L) | | |
|---|---------|------------|-----------------|------|---------------|----|-----|
| | | | 6-PN | 8-PN | | | |
| A | | výčepní | 9 | 206 | 5 | < | 2,0 |
| B | | výčepní | 34 | 450 | 21 | 9 | |
| B | | výčepní | < | < | < | < | 0,2 |
| B | | 12% ležák | - | 625 | - | - | |
| C | | 11 % ležák | 28 | 1180 | 30 | 12 | |
| D | | dia pivo | 2 | 250 | 7 | 5 | |
| E | | 12 % ležák | 28 | 1350 | 31 | 15 | |
| F | | 12 % ležák | 26 | 1910 | 29 | 12 | |
| G | | 10 % výčep | - | 320 | - | - | |
| G | | 12 % ležák | 16 | 860 | 27 | 25 | |
| I | | 12 % ležák | - | 338 | - | - | |
| J | | výčepní | - | 74 | - | - | |
| J | | 12 % ležák | - | 275 | - | - | |
| K | | 11 % ležák | - | 650 | - | - | |
| L | | 12 % ležák | - | 170 | - | - | |
| M | | výčepní | - | 360 | - | - | |
| M | | 12 % ležák | - | 720 | - | - | |
| M | | černé | - | 970 | - | - | |
| N | | výčepní | - | 570 | - | - | |
| N | | 12 % ležák | - | 720 | - | - | |