

УДК 663.423: 663:41:633.791

Л.В. Проценко,
кандидат технічних наук

О.В. Свірчевська,
А.С. Власенко,
аспірант

Інститут сільського
господарства Полісся НААН

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ — КСАНТОГУМОЛУ В ШИШКАХ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ХМЕЛЮ

Вступ. За даними зарубіжних досліджень у пренілфлавоноїдах хмелю були виявлені значні антиоксидантні, антивірусні, антимікробні, протизапальні і антиканцерогенні властивості. *Методи.* Використано сучасні фізико-хімічні методи визначення якісних показників гранул хмелю, спеціальні та загальноприйняті в хмелярській галузі, зокрема:

високоєфективну рідинну хроматографію, спектрофотометрію та математико-статистичні з використанням дисперсійного і кореляційно-регресивного аналізу для оцінки достовірності отриманих результатів досліджень. *Результати.* Досліджено кількісний вміст α -кислот та ксантогумолу в сортах хмелю української селекції. Максимальна кількість ксантогумолу міститься в шишках хмелю сортів Руслан і Ксанта — 1,16 і 1,06% відповідно. Найменша його кількість — в шишках хмелю гіркового сорту Альта (0,20%) при найвищому вмісті α -кислот — 9,9%. На основі результатів досліджень динаміки накопичення ксантогумолу і α -кислот у шишках хмелю під час їх формування і дозрівання рекомендованими строками збирання шишок хмелю для сорту Руслан є кінець першої та початок другої декади вересня, для сортів Ксанта та Чаклун — кінець другої та початок третьої декади вересня. *Висновки.* З проведених досліджень видно, що максимальна кількість ксантогумолу формується в шишках хмелю у фазі повної технічної стиглості. Між накопиченням ксантогумолу та α -кислот під час формування і дозрівання шишок існує сильний зв'язок. Вміст ксантогумолу в шишках хмелю залежить від селекційного сорту і є сортовою ознакою, генетично закріпленою у кожному сорті. Кількісний вміст ксантогумолу може бути одним з біохімічних критеріїв ідентифікації сорту.

Ключові слова: пренілфлавоноїди, ксантогумол, альфа-кислоти, сорти хмелю.

Хміль — унікальна рослина, шишки якої містять більше 100 гірких речовин, не виявлених в інших рослинах, близько 325 компонентів ефірної олії та понад 70 поліфенольних сполук. Більшість сполук хмелю біологічно активні і мають лікувальні властивості. У народній медицині шишки хмелю використовують вже більш 2500 років. Нині фармацевтична промисловість світу виготовляє понад 100 лікарських препаратів на основі хмелю.

Відомо, що гіркі речовини хмелю затримують ріст деяких мікроорганізмів, підсилюють секрецію шлункового соку та поліпшують апетит. Вони заспокоїливо діють на центральну нервову систему, а також мають високі антисептичні властивості [1, 2].

Не менш важливими за своїми властивостями сполуками хмелю є поліфеноли. Ксантогумол відноситься до групи хмелювих поліфенолів ряду халконів. Ця сполука займає центральне місце в групі речовин, так званих пренільованих-флавоноїдів [3, 4]. При біосинтезі він утворюється разом з хмелювими смолами і ефірними маслами в

лупулінових залозках. Крім уже згаданого ксантогумолу, що становить від 80 до 90% пренілфлавоноїдів у хмелі, до менш істотних складових відносяться десметілксантогумол (від 2 до 3%), дегідроциклоксантогумол (від 2 до 4%) і дегідроциклоксантогумол-гідрат (від 3 до 6%). Решта пренілфлавоноїдів міститься у хмелі в незначних кількостях. Вміст ксантогумолу в різних сортах хмелю коливається в межах 0,2–1,25% [2, 5–7]. В українських сортах хмелю Руслан, Ксанта та Чаклун його кількість коливається в межах від 0,86 до 1,25%, у той час як в закордонних сортах максимальний вміст 1% виявлено у німецькому сорті Таурус та чеському Агнус [8–12]. При кип'ятінні сула ксантогумол ізомеризується в ізоксантогумол. Решта пренілфлавоноїдів ізомеризуються в пренілнарінгеніни і геранілнарінгенін [8]. При виробництві пива, однак, відбуваються значні втрати пренілфлавоноїдів. Крім обмеженої розчинності, істотною причиною втрат є адсорбція на грубих і дрібних частинках (18–26%) і пивоварних дріжджах (11–32%) [13]. Подальші втрати відбуваються при фільтрації і стабілізації

пива, внаслідок чого загальний вміст пренілфлавоноїдів, згідно Форстеру [14], може знизитися до 10%. Пренілфлавоноїди хмелю нині є центром уваги медичних досліджень, так як у них були виявлені значні антиоксидантні, протизапальні, антивірусні і антиканцерогенні властивості. Наприклад, ксантогумол і дегідроксантогумол, як виявилося, активують дію хінонредуктази. Цей ензим захищає клітини від токсичної дії ксенобіотиків тим, що змінює хінони на гідрохітони, які в організмах ссавців легше розщеплюються [15]. В ізоксантогумолу і 8-пренілнарінгеніну були виявлені інгібітуючі властивості на ензими цитохрому Р 450, що активують дію різних канцерогенів [16]. Тобі та ін. [17] встановили, що кісткова ресорбція значною мірою пригнічується деякими речовинами хмелю, насамперед ксантогумолом і гумулоном. Дані сполуки одночасно вважаються перспективними терапевтичними засобами при остеопорозі. Антиоксидантні властивості пренілфлавоноїдів проявляються в пригніченні окислення ліпопротеїнів “низької щільності”, внаслідок чого знижується ризик виникнення серцево-судинних захворювань [18]. Цитотоксичну дію ксантогумолу, дегідроксантогумолу й ізоксантогумолу на ракові клітини різних органів людини було відзначено при концентрації від 0,1 до 100 мкМ [19]. Тестування позитивних властивостей ксантогумолу та інших споріднених йому речовин постійно триває в умовах *in vitro* і в природних умовах [19]. Враховуючи це можна очікувати, що кількість хмелю, який використовують в інших галузях народного господарства, в майбутньому зростатиме.

Найвищий вміст ксантогумолу за роки досліджень було синтезовано в українських сортах хмелю: Руслан, Ксанта, Чаклун, кількість якого коливається в межах від 0,86 до 1,25%, в той час як в закордонних сортах максимальний вміст 1,1% виявлено у німецькому сорті Таурус та чеському Агнус [8–12, 20]. Але не знайдено інформації про те, на якій стадії дозрівання шишок накопичується максимальна кількість цієї сполуки. Тому для отримання високоякісної хмелесировини з високим вмістом пренілфлавоноїдів актуальними є дослідження динаміки накопичення ксантогумолу у вітчизняних сортах хмелю.

Мета дослідження полягала у вивченні динаміки накопичення α -кислот та ксантогумолу в шишках українських сортів хмелю і дослідженні взаємозв'язку між ними.

Матеріал і методика досліджень. Дослідження проводили в 2011–2014 рр. в атестованій лабораторії відділу біохімії хмелю та пива Інституту сільського господарства Полісся НААН. Досліджували зразки шишок хмелю ароматичних і гірких сортів, вирощених на дослідному полі Інституту. Зразки хмелю кожного сорту відбирали у фазі повної технічної стиглості не менше ніж з 10 кущів із середнього ярусу рослин, згідно з чинним стандартом [21]. Маса середньої проби для ідентифікації та біохімічних досліджень становила не менше 1 кг сухого хмелю. Зразки хмелю висушували до стандартної вологості 9–12%. Кількість α -кислот — кондуктометричний показник гіркоти, визначали згідно з чинним стандартом [21].

Метод ґрунтується на кондуктометричному титруванні гексанового екстракту гірких речовин розчином оцтовокислого свинцю і подальшим розрахунком масової частки α -кислот. Гіркі речовини, зокрема α -кислоти та ксантогумол екстрагували органічним розчинником — метанолом. Співвідношення між масою шишок хмелю і екстрагентом становило 1:10. Кількість ксантогумолу визначали методом високоєфективної рідинної хроматографії. Хроматографування здійснювали за допомогою рідинного хроматографа Ultimate 3000 з УФ детектором за температури 35°C [2]. Використовували колонку розміром 100 × 2,1 мм, яка була заповнена сорбентом Pinacle ДВ С18 3 мк. У якості рухомої фази використовували розчин метанолу, води і ацетонітрилу в співвідношенні 38:24:38. Для кількісного визначення ксантогумолу використовували стандарт-еталон ксантогумолу з умістом даного з'єднання 99,8%.

Результати досліджень. Основним якісним показником сортів хмелю і ціноутворюючим фактором є кількість α -кислот. Зміст α -кислот у шишках хмелю залежить як від сорту, так і від погодних умов, особливо в період формування і дозрівання шишок. Зміст α -кислот у сортах хмелю української селекції наведено в табл. 1.

З аналізу даних табл. 1 видно, що показники кількості α -кислот значно відрізняються як в окремих сортах, так і за роками досліджень. Кількість α -кислот у сортах змінювалася від 2,8 (Клон 18) до 10,5% (Альта). Серед сортів тонкоароматичного типу високий вміст α -кислот визначено в шишках хмелю сорту Національний — середнє — 7,1%, ароматичного типу — у сорті Заграва, середнє

1. Вміст α -кислот у вітчизняних сортах хмелю (2011–2014 рр.), % до СР

Сорт хмелю	Рік досліджень				
	2011	2012	2013	2014	Середнє
<i>Тонкоароматичний тип хмелю</i>					
Клон-18	3,8	2,8	3,3	2,9	3,2
Злато Полісся	5,1	3,1	4,0	1,8	3,5
Слов'янка	5,3	5,8	5,0	3,5	4,9
Національний	7,6	6,2	7,2	7,3	7,1
<i>Ароматичний тип хмелю</i>					
Заграва	6,8	7,3	6,1	7,5	6,9
Гайдамацький	4,5	6,0	5,0	3,2	4,7
<i>Гіркий тип хмелю</i>					
Альта	9,6	9,8	10,5	9,7	9,9
Поліський	8,2	5,0	9,8	5,9	7,2
Промінь	8,7	7,1	6,7	6,5	7,2
Оболонський	8,2	6,8	6,6	7,3	7,2

6,9% і серед сортів гіркої групи — у шишках хмелю сорту Альта, середнє 9,9%.

Нами також досліджено кількість ксантогумолу в шишках українських сортів хмелю. Вміст ксантогумолу в сортах хмелю української селекції за роки досліджень наведено в табл. 2.

Як видно з даних табл. 2, його кількість у різних сортах коливається від 0,17 у шишках сорту Альта до 0,59% у сорті Національний. За роки досліджень найбільше ксантогумолу було визначено в шишках хмелю як ароматичних, так і гірких сортів урожаю 2011 р., який характеризувався сприятливими природнокліматичними умовами в період вегетації та дозрівання хмелю.

Слід відмітити, що в шишках гіркого сорту Альта міститься найбільша кількість α -кислот,

проте концентрація ксантогумолу найменша (0,17%), що свідчить про відсутність кореляційної залежності між вмістом α -кислот і ксантогумолу.

Аналізуючи дані табл. 2 встановлено, що кількісний вміст ксантогумолу в шишках селекційних сортів хмелю не залежить від групової приналежності сортів хмелю та їх хімічного складу, є сортовою ознакою і може бути одним із біохімічних критеріїв ідентифікації сорту.

Селекціонерами Інституту сільського господарства Полісся виведено та зареєстровано у Реєстрі сортів рослин України нові сорти хмелю з підвищеним умістом ксантогумолу: Руслан, Ксанта, Чаклун, характеристику яких наведено в табл. 3.

Низькі значення вмісту α -кислот та ксантогумолу в шишках хмелю пізньостиглих сортів

2. Вміст ксантогумолу в сортах хмелю української селекції (2011–2013 рр.), %

Назва сорту	Рік досліджень				
	2011	2012	2013	2014	Середнє
<i>Тонкоароматичний тип хмелю</i>					
Клон 18	0,27	0,23	0,22	0,27	0,25
Злато Полісся	0,31	0,24	0,26	0,26	0,27
Слов'янка	0,46	0,38	0,40	0,47	0,43
Національний	0,55	0,52	0,59	0,57	0,56
<i>Ароматичний тип хмелю</i>					
Заграва	0,49	0,50	0,44	0,46	0,47
Гайдамацький	0,34	0,27	0,29	0,32	0,30
<i>Гіркий тип хмелю</i>					
Альта	0,21	0,17	0,19	0,24	0,20
Поліський	0,34	0,31	0,30	0,29	0,31
Промінь	0,39	0,29	0,31	0,30	0,32
Оболонський	0,41	0,32	0,34	0,39	0,36

3. Вміст α -кислот та ксантогумолу в перспективних сортах хмелю української селекції (2011–2014 рр.), %

Сорт хмелю	Показник якості, %	Рік досліджень				
		2011	2012	2013	2014	Середнє
Чаклун	Вміст α -кислот	8,3	7,7	8,1	6,2	8,0
	Вміст ксантогумолу	1,00	0,86	0,91	0,66	0,92
Ксанта	Вміст α -кислот	10,4	9,2	9,1	7,1	9,6
	Вміст ксантогумолу	1,06	0,90	0,92	0,72	0,96
Руслан	Вміст α -кислот	10,9	9,2	10,2	10,0	10,1
	Вміст ксантогумолу	1,16	0,92	1,10	1,02	1,05

Чаклун та Ксанта урожаю 2014 р. пояснюються тим, що дані зразки хмелю було відібрано згідно схеми дослідів та проаналізовано наприкінці першої декади вересня 2014 р. Ранні нічні заморозки, що спостерігалися в середині другої декади вересня призвели до побуріння шишок, втрати α -кислот і ксантогумолу, тобто, загалом, до погіршення якості шишок хмелю. Отже, шишки даних сортів у другій декаді вересня були вже непридатними для подальших досліджень, і тому дослідження з цими сортами були припинені. В зв'язку з тим, що шишки хмелю пізньостиглих сортів Чаклун та Ксанта, відібрані наприкінці першої декади вересня 2014 р. були недозрілими і не відповідали технічній стиглості, значення вмісту α -кислот та ксантогумолу за 2014 р. в подальшому аналізі та характеристиці сортів не враховували.

Отримані дані за 2011–2014 рр. досліджень показали, що середній вміст ксантогумолу в шишках хмелю сорту Чаклун коливається від 0,86% до 1,0% до маси сухої речовини. Середнє значення ксантогумолу в сорті Чаклун становить 0,92% при вмісті α -кислот 8,0%. Рівень ксантогумолу в цей період у хмелі сорту Ксанта коливається в межах 0,90–1,06% до маси сухої речовини при вмісті α -кислот в інтервалі від 9,1 до 10,4%.

Максимум ксантогумолу серед усіх українських сортів хмелю містить сорт Руслан, у середньому 1,05% до маси сухої речовини за значень експериментальних даних у діапазоні від 0,92 до 1,16% і вмісті α -кислот у діапазоні від 9,2 до 10,8%.

У цьому відношенні цей сорт і сорт Ксанта можна порівняти з кращими світовими сортами, наприклад, з німецьким сортом Таурус, чеським — Агнус або англійським сортом Адмірал [5, 19].

Отже, протягом чотирьох років досліджень всі три сорти хмелю мали високий і стабільний вміст ксантогумолу, кількість якого

коливається в межах від 0,86 до 1,16%. Але, на жаль, ці сорти ще не набули широкого впровадження в господарствах України.

Нами також було досліджено впродовж 2012–2014 рр. взаємозв'язок між накопиченням ксантогумолу та альфа-кислот в даних сортах хмелю в процесі формування і дозрівання шишок. Динаміка накопичення цих речовин у шишках хмелю сорту Руслан та зв'язок між ними представлено на рис. 1 (середнє за 2012–2014 рр.).

Залежність накопичення ксантогумолу від кількості α -кислот у шишках хмелю сорту Руслан виражається кореляційним рівнянням: $\tilde{y}_x = 0,0296x + 0,7604$. Між ознаками

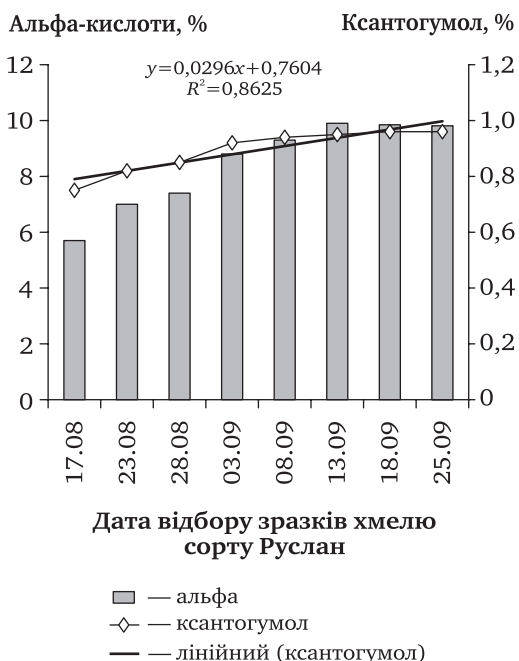


Рис. 1. Кореляційна залежність між накопиченням ксантогумолу та α -кислот у шишках хмелю сорту Руслан



Рис. 2. Кореляційна залежність між накопиченням ксантогумолу та α -кислот у шишках хмелю сорту Ксанта

прямий зв'язок, $b > 0$, $b = 0,0296$. Коефіцієнт кореляції ($r = 0,93 \pm 0,2$) показує, що між накопиченням ксантогумолу та α -кислот існує сильний зв'язок.

Коефіцієнт детермінації R показує, що 86,25% коливань показників накопичення ксантогумолу хмелю пов'язано з накопичен-



Рис. 3. Кореляційна залежність між накопиченням ксантогумолу та α -кислот у шишках хмелю сорту Чаклун

ням α -кислот, а решта 13,75% — з іншими факторами впливу, які в цьому випадку не були враховані (температурний режим, кількість опадів в період вегетації, ушкодженість шкідниками та хворобами).

На рис. 2 подано кореляційне поле залежності накопичення ксантогумолу від вмісту α -кислот у зразках хмелю сорту Ксанта, рівняння регресії та коефіцієнт детермінації R , побудовано лінію тренда, яку також зображено на цьому рисунку.

Залежність накопичення ксантогумолу від кількості α -кислот у шишках хмелю сорту Ксанта виражено таким кореляційним рівнянням: $\hat{y}_x = 0,0721x + 0,2504$. Між ознаками прямий зв'язок, $b > 0$, $b = 0,0721$.

Коефіцієнт кореляції ($r = 0,91 \pm 0,2$) показує сильний зв'язок між двома факторами: накопиченням ксантогумолу та α -кислот.

Коефіцієнт детермінації R показує, що 82,61% коливань показників накопичення ксантогумолу хмелю пов'язано з накопиченням α -кислот, а решта 17,39% — з іншими факторами впливу, які в даному випадку не були враховані (температурний режим, кількість опадів в період вегетації, ушкодженість шкідниками та хворобами).

Динаміка накопичення ксантогумолу та α -кислот у шишках хмелю сорту Чаклун та зв'язок між накопиченням даних сполук подано на рис. 3. (середнє за 2012–2014 рр.).

Залежність накопичення ксантогумолу від кількості α -кислот у шишках хмелю сорту Чаклун виражається кореляційним рівнянням: $\hat{y}_x = 0,093x + 0,0729$. Між ознаками прямий зв'язок, $b > 0$, $b = 0,093$. Коефіцієнт кореляції ($r = 0,98 \pm 0,2$) показує, що між накопиченням ксантогумолу та α -кислот є сильний зв'язок.

Коефіцієнт детермінації R показує, що 95,57% коливань показників накопичення ксантогумолу хмелю пов'язане з накопиченням α -кислот, а решта 4,43% — з іншими факторами впливу, які в даному випадку не були враховані (температурний режим, кількість опадів в період вегетації, ушкодженість шкідниками та хворобами).

Проаналізувавши результати досліджень можна зробити висновок, що процес накопичення ксантогумолу та гірких речовин у досліджуваних сортах хмелю при формуванні та дозріванні шишок аналогічний. Між накопиченням ксантогумолу та α -кислот у шишках хмелю сортів Руслан, Ксанта та Чаклун існує сильний зв'язок.

Вміст ксантогумолу в шишках хмелю залежить від селекційного сорту і є сортовою ознакою, генетично закріпленою у кожному сорті.

Кількісний вміст ксантогумолу може бути одним з біохімічних критеріїв ідентифікації сорту.

Максимальна кількість ксантогумолу міститься в сортах хмелю української селекції Руслан і Ксанта — 1,16 і 1,06% відповідно, а мінімальна кількість його визначена в шишках гіркого сорту Альта.

Максимальна кількість ксантогумолу формується в шишках хмелю у фазі повної технічної стиглості. Між накопиченням ксантогумолу та α -кислот в процесі формування і дозрівання шишок існує сильний зв'язок. Рекомендованими строками збирання шишок хмелю, за яких максимально накопичується ксантогумол та α -кислоти для сорту Руслан, залежно від природнокліматичних умов року, є кінець першої та початок другої декади вересня, для сортів Ксанта та Чаклун — кінець другої та початок третьої декади вересня.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Ляшенко М.І. Лікувальний потенціал хмелю і пива / М.І. Ляшенко, М.Г. Михайлов // Агропромислове виробництво Полісся. — 2010. — № 1 — С. 50–54.
2. Ляшенко Н.І. Биохимия хмеля и хмелепродуктов / Н.И. Ляшенко. — Житомир: Полесье, 2002. — 388 с.
3. Крофта К. Содержание ксантогумола в чешских сортах хмеля, 2003, www.propivo.ru/sens/01/40.html
4. Stevens J.R. et al. Prenylflavonoids from Humulus Lupulus // Phytochemistry. — 1997. — Vol. 44. — P. 1575.
5. Ляшенко М.І. Пренілфлавоноїди хмелю та пива / М.І. Ляшенко, Л.В. Проценко // Агропромислове виробництво Полісся. — 2009. — № 2. — С. 52–56.
6. Kammhuber K. Stand der Erkenntnisse zum Hopfeninhaltsstoff Xanthohumol / K. Kammhuber, C. Zeidler, E. Seigner // Brauwelt. — 1998. — № 36. — S. 1633.
7. Biendl M. Xanthohumol — Content in Hops // Hopfen-Rundschau Int. — 2002/2003. — P. 72.
8. Stevens J.F. Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer // J. Agric. Food Chem. — 1999. — Vol. 47. — P. 2421.
9. Stevens J.F. Chemistry and biology of hop flavonoids / J.F. Stevens, C.L. Miranda, D.R. Buhler // Journal American Society Brewing Chemists. — 1998. — Vol. 56. — P. 136–145.
10. Stevens J.F. Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer // J. Agric. Food Chem. — 1999. — Vol. 47. — P. 2421.
11. Stevens J.F. Chemistry and biology of hop flavonoids / J.F. Stevens, C.L. Miranda, D.R. Buhler // Journal American Society Brewing Chemists. — 1998. — 56. — P. 136–145.
12. Заключний звіт відділу біохімії хмелю та пива за 2006–2010 рр. — ІСГП, 2011. — 110 с.
13. Biendl M. Einsatz eines xanthohumolreichen Hopfenproduktes bei der Bierherstellung / M. Biendl, W. Mitter // Brauwelt. — 2000. — Vol. 46. — P. 2006.
14. Forster A. Verbleib von Xanthohumol aus Hopfen während der Bierbereitung / A. Forster, A. Koberlein // Brauwelt. — 1998. — Vol. 37. — P. 1677.
15. Miranda C.L. Prenylated Chalkones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells // Cancer Letters. — 2000. — Vol. 149. — P. 21.
16. Henderson M.C. In vitro inhibition of human P 450 Enzymes by Prenylated flavonoids from hop Humulus Lupulus // Xenobiotica. — 2000. — Vol. 30. — P. 235.
17. Tobe H. Bone resorption inhibitors from hop extract // Biosci. Biotech. Biochem. — 1997. — Vol. 61. — P. 158.
18. Miranda C.L. Antioxidant and prooxidant action of prenylated and nonprenylated chalcones and flavanones in vitro // J. Agric. Food Chem. — 2000. — Vol. 48. — P. 3876.
19. Miranda C.L. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hop (Humulus Lupulus) in human cancer Hints // Food Chem. Toxicol. — 1999. 37, 1999, s. 271.
20. Biendl M. Arzneipflanze Hopfen / M. Biendl, C. Pinzl. — Deutsches Hopfenmuseum Wolnzach, 1998. — 127 s.
21. Хміль. Правила відбирання проб та методи випробування ДСТУ 4099:2009. — [Чинний від 2011-07-01] — К.: Держспоживстандарт України, 2010. — 32 с. (Національний стандарт України).