

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Valentina BUCIK

**ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST LISTOV IN  
STORŽKOV HMELJA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Valentina BUCIK

**ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST LISTOV IN STORŽKOV  
HMELJA**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HOP LEAVES AND HOP CONES**

GRADUATION THESIS  
University study

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za biokemijo in kemijo živil Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Nataša Poklar Ulrih in za recenzenta prof. dr. Rajko Vidrih.

Mentorica: prof. dr. Nataša Poklar Ulrih

Recenzent: prof. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Valentina Bucik

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

- ŠD** Dn
- DK** UDK 633.791:547.56:577.1(043)=163.6
- KG** hmelj/*Humulus lupulus*/listi hmelja/storžki hmelja/fenolne spojine/antioksidanti/antioksidativna učinkovitost/geografsko poreklo/DPPH<sup>•</sup> test/FRAP test/
- AV** BUCIK, Valentina
- SA** POKLAR ULRIH, Nataša (mentorica)/ VIDRIH, Rajko (recenzent)
- KZ** SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA** Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI** 2013
- IN** ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST LISTOV IN STORŽKOV HMELJA
- TD** Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP** XII, 55 str., 23 pregl., 17 sl., 16 pril., 44 vir.
- IJ** sl
- JI** sl/en
- AI** Namen diplomske naloge je bil določiti antioksidativno učinkovitost v listih in storžkih hmelja. Za vzorce smo uporabili etanolne ekstrakte hmelja iz različnih geografskih območij, in sicer Slovenije, Avstrije, Nemčije in Češke iz let 2008 in 2010. Antioksidativno učinkovitost smo določili z analizo sposobnosti lovljenja prostih DPPH<sup>•</sup> radikalov in analizo sposobnosti redukcije s tako imenovanim FRAP testom. Storžki hmelja vsebujejo več fenolnih spojin kot listi hmelja in so boljši lovilci prostih radikalov ter antioksidativno učinkovitejši, medtem ko so listi hmelja izkazali kot redukcijsko sposobnejši, kar kaže na raznolikost delovanja antioksidativnih učinkovin v ekstraktih hmelja. Sorta hmelja ne vpliva bistveno na antioksidativno učinkovitost in redukcijsko sposobnost hmelja, država porekla in leto pridelave nekoliko vplivata na oba testa. Količina fenolnih spojin in sposobnost lovljenja prostih radikalov sta premosorazmerni, medtem ko sta količina fenolnih spojin in redukcijska sposobnost hmeljnih ekstraktov obratnosorazmerni. Kot antioksidativno najbolj učinkovit se je izkazal ekstrakt storžkov hmelja sorte Aurora nemškega porekla iz leta 2008. Najboljšo redukcijsko sposobnost so izkazali listi hmelja sorte Aurora češkega porekla iz leta 2010.

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

- DN** Dn
- DC** UDC 633.791:547.56:577.1(043)=163.6
- CX** hops/ *Humulus lupulus*/hop leaves/hop cones/phenolic compounds/antioxidants/antioxidative activity/geographical origin/ DPPH<sup>•</sup> test/FRAP test/
- AU** BUCIK, Valentina
- AA** POKLAR ULRIH, Nataša (supervisor)/ VIDRIH, Rajko (reviewer)
- PP** SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB** University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY** 2013
- TI** ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HOP LEAVES AND HOP CONES
- DT** Graduation thesis (university studies)
- NO** XII, 55 p., 23 tab., 17 fig., 16 ann., 44 ref.
- LA** sl
- AL** sl/en
- AB** The main object of the graduation thesis was to determine the antioxidative activity in hop leaves and hop cones. Our samples were ethanolic extracts of hops from different geographical origin, from Slovenia, Austria, Germany and Czech Republic, harvested in years 2008 and 2010. Antioxidative activity was measured as capability to scavenge free DPPH<sup>•</sup> radicals and as reducing power with FRAP test. Hop cones contain more phenolic compounds than hop leaves and are better free radical scavengers than hop leaves which have higher reducing power. This points to diversity of antioxidant actions in hop extracts. Hop variety does not influence significantly the antioxidative activity and reducing power, geographical origin and year of harvest have a slight influence on antioxidative activity and reducing power of hops. The content of phenolic compounds is proportional to antioxidative activity, but quantity of phenolic compounds and reducing power of hop extracts are inversely proportional. The most effective antioxidant was extract of hop cones Aurora variety of German origin harvested in year 2008. Greatest reducing power showed extract of hop leaves Aurora variety of Czech origin harvested in year 2010.

**KAZALO VSEBINE**

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>IX</b>
<b>KAZALO PRILOG .....</b>	<b>X</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>XII</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN NALOGE .....	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 HMELJ .....	3
<b>2.1.1 Botanična razvrstitev .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2 Podnebne zahteve .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.3 Zgradba hmeljne rastline.....</b>	<b>4</b>
2.1.3.1 Podzemni deli .....	4
2.1.3.2 Nadzemni deli.....	4
2.1.3.3 Generativni organi .....	5
<b>2.1.4 Tehnološka zrelost hmelja .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.5 Sorte hmelja .....</b>	<b>7</b>
2.1.5.1 Aurora.....	9
2.1.5.2 Magnum.....	9
<b>2.1.6 Kemijska sestava hmelja.....</b>	<b>10</b>
2.1.6.1 Hmeljne smole .....	10
2.1.6.2 Eterično olje.....	11
2.1.6.3 Fenolne spojine.....	11
2.1.6.4 Flavonoidi.....	14
2.1.6.4.1 Ksantohumol.....	14
2.2 PROSTI RADIKALI, OKSIDACIJA IN ANTIOKSIDANTI.....	15
<b>2.2.1 Prosti radikali .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.2 Oksidacija in avtooksidacija.....</b>	<b>16</b>

<b>2.2.3</b>	<b>Antioksidanti</b> .....	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>MATERIALI IN METODE DELA</b> .....	<b>18</b>
3.1	MATERIALI .....	18
3.1.1	Vzorci hmelja .....	18
3.1.2	Reagenti .....	18
3.1.3	Aparature .....	18
3.1.4	Pribor .....	18
3.1.5	Priprava raztopin .....	19
3.2	METODE .....	19
3.2.1	Priprava vzorca.....	19
3.2.2	Antioksidativna učinkovitost vzorcev .....	19
3.2.3	Analiza sposobnosti redukcije .....	20
<b>4</b>	<b>REZULTATI Z RAZPRAVO</b> .....	<b>21</b>
4.1	ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST Z DPPH <sup>•</sup> TESTOM.....	22
4.2	ANALIZA SPOSOBNOSTI REDUKCIJE.....	35
<b>5</b>	<b>SKLEPI</b> .....	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b> .....	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>VIRI</b> .....	<b>51</b>
	<b>ZAHVALA</b>	
	<b>PRILOGE</b>	

**KAZALO PREGLEDNIC**

<b>Preglednica 1:</b> Slovenske sorte hmelja (Čerenak in Ferant, 2012) .....	9
<b>Preglednica 2:</b> Razvrstitev fenolnih spojin (Abram, 2000).....	12
<b>Preglednica 3:</b> Vsebnost polifenolnih spojin v navadnem hmelju ( <i>Humulus lupulus</i> ) (Aleksееva in sod., 2004).....	13
<b>Preglednica 4:</b> Oštevilčenje ekstraktov fenolnih spojin iz listov in storžkov dveh kultivarjev hmelja iz štirih držav. ....	21
<b>Preglednica 5:</b> Povprečna masna koncentracija skupnih fenolnih spojin v ekstraktih listov in storžkov dveh kultivarjev hmelja.....	22
<b>Preglednica 6:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3) .....	24
<b>Preglednica 7:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4) ....	25
<b>Preglednica 8:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7).....	26
<b>Preglednica 9:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8) .....	27
<b>Preglednica 10:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11).....	28
<b>Preglednica 11:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12) .....	29
<b>Preglednica 12:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15).....	30
<b>Preglednica 13:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16) .....	31
<b>Preglednica 14:</b> Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) hmelja urejeni po antioksidativni učinkovitosti od najbolj do najmanj učinkovitega antioksidanta .....	32
<b>Preglednica 15:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3).....	37
<b>Preglednica 16:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4) .	38
<b>Preglednica 17:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7).....	39
<b>Preglednica 18:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8) ...	40
<b>Preglednica 19:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11) .....	41



<b>Preglednica 20:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12) .....	42
<b>Preglednica 21:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15).....	43
<b>Preglednica 22:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)	44
<b>Preglednica 23:</b> Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) hmelja urejeni po redukcijski sposobnosti od najboljšega do najslabšega reducenta. ....	45

**KAZALO SLIK**

<b>Slika 1:</b> Podzemni deli hmeljne rastline (Rode in sod., 2002).....	4
<b>Slika 2:</b> Oblike listov hmelja (Rode in sod., 2002).....	5
<b>Slika 3:</b> Moško socvetje in zgradba moškega cveta (Čerenak in Ferant, 2012).....	5
<b>Slika 4:</b> Storžek hmelja: 1-zunanji videz; 2-lističi storžka; 3-vretence (Rode in sod., 2002) .....	6
<b>Slika 5:</b> Dozorelo žensko socvetje hmelja sorte Aurora (IHPS, 2013).....	7
<b>Slika 6:</b> Lupulin (Stevens in Page, 2004).....	10
<b>Slika 7:</b> Kemijska struktura lupulona (1) in humulona (2) (Gerh äuser, 2005).....	11
<b>Slika 8:</b> Osnovna strukturna formula flavonoidov (Abram, 2000).....	14
<b>Slika 9:</b> Kemijska struktura ksantohumola (Tabata in sod., 1997).....	15
<b>Slika 10:</b> Vrednost IC <sub>50</sub> za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008... 33	
<b>Slika 11:</b> Vrednost IC <sub>50</sub> za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008 .....	33
<b>Slika 12:</b> Vrednost IC <sub>50</sub> za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010... 34	
<b>Slika 13:</b> Vrednost IC <sub>50</sub> za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010 .....	34
<b>Slika 14:</b> Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008.....	46
<b>Slika 15:</b> Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008 .....	46
<b>Slika 16:</b> Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010.....	47
<b>Slika 17:</b> Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010 .....	47

## KAZALO PRILOG

### PRILOGA A: Rezultati, meritve in grafi DPPH<sup>•</sup> testa

**Priloga A1:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

**Priloga A2:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

**Priloga A3:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

**Priloga A4:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

**Priloga A5:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

**Priloga A6:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

**Priloga A7:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

**Priloga A8:** Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

### PRILOGA B: Rezultati, meritve in grafi FRAP testa

**Priloga B1:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

**Priloga B2:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

**Priloga B3:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

**Priloga B4:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

**Priloga B5:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

**Priloga B6:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

**Priloga B7:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

**Priloga B8:** Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

**A** – absorbanca

**DPPH<sup>•</sup>** – 2,2 difenil – 1 – pikril – hidrazil

**IC<sub>50%</sub>** – koncentracija fenolnih spojin, ki je odgovorna za 50 % zmanjšanje začetne količine prostih radikalov

**EDTA** – etilendiamintetraocetna kislina

**FS** – fenolne spojine

**GRAS** – Splošno priznani kot varni (*ang.* Generally recognized as safe)

**ha** – hektar

**IHPS** – Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

**k** – smerni koeficient premice

**L1 – L16** – vzorci listov hmelja

**S1 – S16** – vzorci storžkov hmelja

**SS** – suha snov

$\gamma$  – masna koncentracija

## 1 UVOD

Hmelj, ki ga pridelujemo danes, izhaja iz divje rastočih hmeljev Evrope in zahodne Azije (Ferant, 2012). Ljudstva v Mezopotamiji in Starem Egiptu so že pripravljala napitke iz žita in drugih rastlin, vendar trdnega dokaza o uporabi hmelja v tem času ni. Suhi hmelj pa so nedvomno uporabljala staroslovanska ljudstva, ki so ga med preseljevanjem zanesla tudi v naše kraje (Majer in sod., 2002).

V 21. stoletju je gospodarska pridelava hmelja razširjena po vseh celinah med petintridesetim in petinpetdesetim vzporednikom, severno in južno od ekvatorja (Pavlovič, 2012). V pridelavi ene od osnovnih sestavin piva prednjačijo nemški in ameriški hmeljarji, na tretjem mestu je Češka. Površine hmeljišč v svetu obsegajo okoli 50000 ha različnih grenčičnih in aromatičnih sort hmelja, pridelek hmelja pa dosega približno 100000 ton in okoli 10000 ton grenčic. Hmeljišča v Sloveniji po obsegu predstavljajo okoli 3 % svetovnih površin hmeljišč, torej okoli 1400 ha, na katerih 140 hmeljarskih posestev prideluje pretežno aromatične sorte, ki so plod dolgoletnega žlahtnjenja hmelja na IHPS. Najbolj razširjene sorte hmelja, pridelanega v Sloveniji so Aurora, Bobek, Celeia in Savinjski golding, pa tudi nemška sorta Magnum. Hmeljarstvo je v Sloveniji izvozno najizrazitejša panoga kmetijstva. Približno 90 % slovenskega hmelja je namenjeno izvozu na tuje trge.

Hmelj je zelnata trajnica, ovijalka. Je dvodomna rastlina, kar pomeni, da na eni rastlini najdemo le moške ali le ženske cvetove. Življenjska doba nasadov hmelja je običajno od dvanajst do petnajst let, lahko pa tudi več kot dvajset let (Ferant, 2012). Goji se z namenom pridobivanja sekundarnih metabolitov, predvsem alfa- in beta-kislin, pivu pa se dodaja zaradi njegove edinstvene arome in osvežujoče grenkobe (Kondo, 2004.)

V listih in storžkih hmelja najdemo fenolne spojine (FS) in sicer fenolne kisline, flavonoide in proantocianidine. V hmeljarstvu se uporabljajo le storžki, hmeljevi listi pa so stranski produkt in potencialen vir fenolnih spojin.

Stranskim proizvodom predelave rastlinskih živil se namenja pozornost kot surovini za pridobivanje visoko vrednih učinkovin, ki bi imele uporabno vrednost GRAS dodatkov v živilskih izdelkih ter pri pripravi funkcionalnih živil in nutraceutikov (Abramovič in sod., 2008).

V današnjem času je trend povpraševanja po živilih in pripravkih z antioksidativnim delovanjem v stalnem naraščanju. Večina osveščenih potrošnikov se zaveda koristi in pozitivnih učinkov prehrane bogate z antioksidanti, dasiravno je James Watson, prejemnik Nobelove nagrade za fiziologijo in medicino za odkritje strukture DNA, pred kratkim objavil znanstveni članek v katerem oporeka tem trditvam. V obsežni raziskavi med pojavnostjo raka in vnosom antioksidanta vitamina E ugotavlja, da se je med jemalci vitamina E pojavnost raka na prostati celo rahlo zvišala (Watson, 2013). Dokazali so tudi, da se bolnikom z rakom pankreasa med obsevanjem poveča količina endogenih antioksidantov, ki preprečijo apoptozo (programirana celična smrt) rakavih celic.

## 1.1 NAMEN NALOGE

V okviru diplomskega dela želimo določiti celokupno količino fenolnih spojin in njihov antioksidativni potencial v etanolnih ekstraktih, pridobljenih iz hmeljevih listov in storžkov kultivarjev Magnum in Aurora z različnim geografskim poreklom (Slovenija, Avstrija, Nemčija, Češka) in letom pridelave 2008 in 2010.

## 1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- Pričakujemo, da bodo storžki vsebovali več fenolnih spojin kot listi.
- Geografsko poreklo in leto pridelave hmelja naj ne bi bistveno vplivalo na vsebnost fenolnih spojin.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 HMELJ

Rastlino hmelja sestavljajo podzemni vegetativni deli, nadzemni vegetativni deli in razmnoževalni oz. generativni deli. Nadzemni deli na koncu vsake rastne sezone propadejo, prezimijo le podzemni deli (Ferant, 2012).

Hmelj vsebuje veliko biološko aktivnih komponent, grenčičnih in polifenolnih spojin ter eteričnih olj (Chesnokova in sod., 2009). Po literaturnih podatkih vsebujejo hmeljni storžki 4 – 14 % polifenolnih spojin. Njihova vsebnost zorenjem narašča, vendar je razlika med aromatičnimi in visokogrenčičnimi kultivarji; pri aromatičnih se vsebnost polifenolnih spojin v času zorenja veča, medtem ko se pri visokogrenčičnih kultivarjih niža (Dale, 1987, cit. po Donko in sod., 2003).

Hmelj je naravni vir ksantohumola. To je preniliran halkan z dokazanim izjemno širokim spektrom mehanizmov antikancerogenega delovanja med različnimi stadiji te bolezni (Gerhäuser in sod., 2002). Posušeni hmeljevi storžki vsebujejo od 0,2 % do 1,1 % ksantohumola, ki se nahaja v lupulinskih žlezah skupaj z alfa- in beta-kislinami ter eteričnimi olji (Hrastar in sod., 2006).

#### 2.1.1 Botanična razvrstitev

Botanično hmelj uvrščamo med dvokaličnice, v red koprivovcev (*Urticales*) skupaj z navadno koprivo. Pripada družini *Cannabaceae* (Rode in sod., 2002; Pavlovič in sod., 2012), kamor spada tudi *Cannabis sativa*, indijska konoplja (Stevens, 1967). Hmelj je zelnata trajnica, ovijalka. Je dvodomna rastlina, kar pomeni, da na eni rastlini najdemo le moške ali le ženske cvetove (Rode in sod., 2002). V rodu *Humulus* sta dve vrsti: navadni hmelj – *Humulus lupulus* in enoletni japonski hmelj – *Humulus japonicus*, ki v storžkih nima hmeljnih smol in eteričnega olja, zato je za varjenje neuporaben se pa uporablja kot okrasna rastlina vzpenjalka (Stevens, 1967).

#### 2.1.2 Podnebne zahteve

Optimalna temperatura za rast hmelja je med 15 °C in 18 °C, medtem ko se biološki procesi začnejo spomladi z dnem, ko je povprečna dnevna temperatura zraka več dni zaporedoma višja od 4 °C do 5 °C. Glede preskrbljenosti z vodo je zahtevna rastlina, zato se uvršča med rastline vlažnih območij. V rastni dobi potrebuje hmeljna rastlina okoli 500 do 600 mm pravilno razporejenih padavin. Količina padavin v času cvetenja in storžkanja hmelja je ključnega pomena za količino alfa-kislin. Občutljiv je tudi glede pomanjkanja svetlobe, ki vpliva na začetek cvetenja. Glede na čas cvetenja poznamo rastline dolgega in kratkega dne ter nevtralne rastline; hmelj je rastlina kratkega dne. Sončevo obsevanje ima dvojni vpliv na rastlino; v pozitivni smeri deluje pri nastanku alfa-kislin, hkrati pa lahko povzroči preveliko izsušitev tal in s tem negativno vpliva na rast in razvoj rastline. Pomembno vlogo pri pridelavi hmelja ima pomembno vlogo tudi veter; le-ta je večkrat negativna, saj povečuje izhlapevanje vode, ovira napeljavo vodil, odvija napeljane

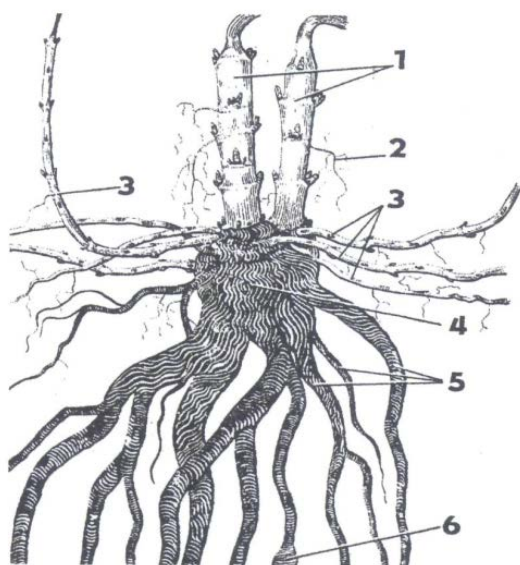


poganjke in tudi poškoduje vrhove. Močnejši sunki vetra lahko žičnico tudi porušijo (Pavlovič in sod., 2009; Rode in sod., 2002).

### 2.1.3 Zgradba hmeljne rastline

#### 2.1.3.1 Podzemni deli

Podzemni deli pri zreli hmeljni rastlini so sestavljeni iz koreninskega tkiva in tkiva stebela, ki skupaj tvorita koreniko ali štor. Korenika vsako leto prirašča, njena življenjska doba je 10 do 25 let in je odvisna od pogojev na rastišču, kultivarja in načina obdelave (Rode in sod., 2002).



Slika 1: Podzemni deli hmeljne rastline (Rode in sod., 2002)

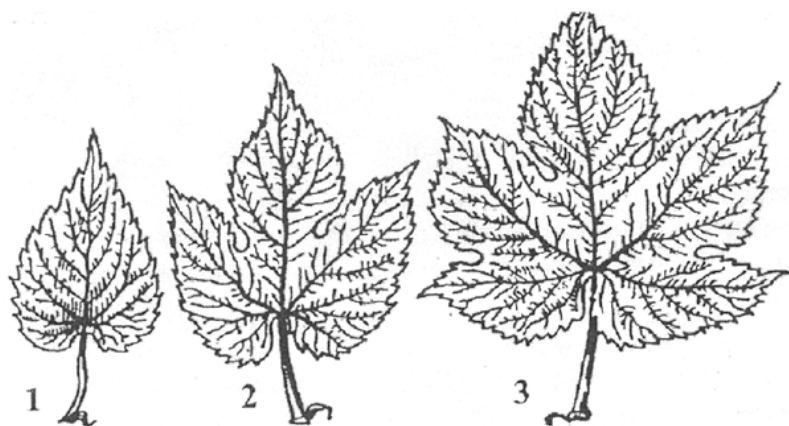
#### 2.1.3.2 Nadzemni deli

Vegetativne nadzemne dele predstavljajo steblo, stranski poganjki in listi (Ferant, 2012). Glavno steblo ali hmeljna trta se razvije iz očesca, ki je najprej belo, ko pa prodre na površino, ozeleni (Rode in sod., 2002).

Ko hmeljna trta zraste v višino okoli 50 cm, se močno razraste in se začne vzpenjati in ovijati v smeri urinega kazalca po opori. Pri pridelovanju nekaj trt usmerimo na vodilo, ostale pa odstranimo. Samo steblo je v prerezu šesterorobo in razdeljeno na kolenca ali nodije. Barva je od zelene do rdečkaste, odvisno od sorte in rastnih razmer. V dobi najhitreje rasti rastlina hmelja prirašča tudi do 25 cm na dan, premer ima od 7 do 14 mm, v višino pa zraste od 7 do 9 m (Ferant, 2012).

Zalistniki (panoge, stranski poganjki) se razvijejo iz rastnih vršičkov med listom in stebлом na vsakem kolencu stebela. Na njih se razvijejo še dodatni stranski poganjki, na katerih se razvijejo storžki (Ferant, 2012; Rode in sod., 2002).

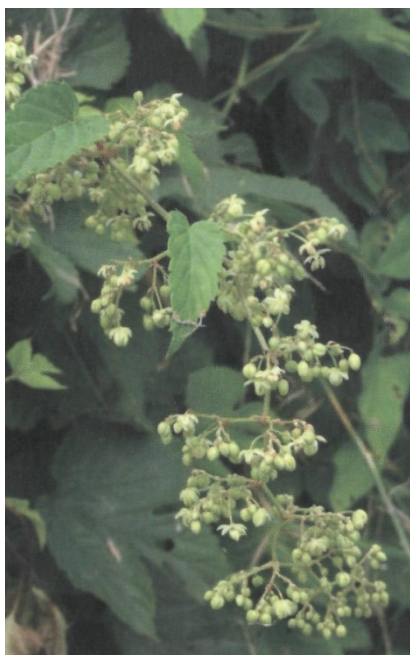
Listi so na stebelu in stranskih poganjkih razporejeni parno na vsakem nodiju in si ležijo nasprotno. Ob peclju so listne ploskve srčaste in pernato razdeljene; starejši listi so tri- ali petkrpati. Površina listov je dlakava, rob je vedno nazobčan, listne žile pa so lepo vidne. Običajno so listi široki toliko, kot so dolgi. Barve so od svetlo do temno zelene, kar je odvisno od sorte in zunanjih dejavnikov, predvsem od prehrane rastline (Ferant, 2012).



Slika 2: Oblike listov hmelja (Rode in sod., 2002)

### 2.1.3.3 Generativni organi

Razmnoževalni organi hmelja so majhni in v grozdasta socvetja združeni moški cvetovi, ki se nahajajo na zgornjih stranskih poganjkih moške rastline in v premer merijo okoli 6 mm. Cvetno odevalo sestavlja pet rumenkasto zelenih venčnih listkov in pet izrazitih prašnikov na kratkih filamentih. Ko se cvet popolnoma razvije, se prašnice odprejo in v njih nastaja cvetni prah, ki se raznaša z vetrom (Ferant, 2012; Rode in sod., 2002).



Slika 3: Moško socvetje in zgradba moškega cveta (Čerenak in Ferant, 2012)

Ženski cvetovi na ženski rastlini hmelja so združeni v socvetja, katerega osnovo sestavlja vretence z nodiji. Na vsakem nodiju je par krovnih lističev ali braktej in par prilistov oz. brakteol. Na dnu vsakega prilista je poenostavljen cvet. Ko socvetje dozoreva, se krovni lističi in prilisti povečajo, opekasto prekrijejo in oblikujejo; tako nastane značilna oblika hmeljevega storžka, ki doseže velikost od 20 do 40 mm, odvisno od sorte (Ferant, 2012).



Slika 4: Storžek hmelja: 1-zunanji videz; 2-lističi storžka; 3-vretence (Rode in sod., 2002)

Med zorenjem storžka se na dnu brakteol oblikujejo lupulinske žleze, v katerih se nakopiči eterično olje in grenčične smole, najpomembnejše snovi pri varjenju piva (Stevens, 1967). Število, oblika in velikost lupulinskih žlez so značilnosti kultivarja. Količina učinkovin v žlezah je delno odvisna tudi od pridelovalnih pogojev. Lupulinske žleze so lahko različnih tipov po obliki in so vse zelo rahlo vezane na površino (Rode in sod., 2002). Med transportom, obiranjem in sušenjem ter pakiranjem se del lupulinskih žlez odlušči in izgubi, kar privede do izgube učinkovin in zmanjšanja kakovosti pridelka. Osemenjene in neosemenjene storžke razlikujemo po obliki krovnih lističev in prilistov. Osemenjeni storžki imajo grobo vretence in so večji, manj zbiti, imajo manj lupulinskih žlez, zato so manj obstojni (Ferant, 2012).



Slika 5: Dozorelo žensko socvetje hmelja sorte Aurora (IHPS, 2013)

#### **2.1.4 Tehnološka zrelost hmelja**

Hmelj je tehnološko zrel takrat, ko storžki vsebujejo najvišjo vrednost alfa-kislin, dosežejo maksimalno velikost in maksimalno maso, tipično strukturo eteričnih olj in ko je kakovostno strojno obiranje zagotovljeno (Čeh in Zmrzlak, 2012). Ob žetvi vsebuje okoli 80 % vlage, ki se po sušenju zmanjša na okoli 10 %. Navadno je hmelj uporabljen po 4 do 20 mesecih po obiranju (Stevens, 1967).

Tehnološko zrel hmelj ima zaprte storžke s svetlozelenim svilenim leskom in izenačene po velikosti. Storžki so polni lupulina, prožni, pri tiskanju šelestijo in se pri padcu odbijejo od tal. Če jih zmečkamo, ostane na prstih lepljiva rumenkasta sled (Majer in sod., 2002). Hmelj, obran pred tehnološko zrelostjo je slabše kakovosti in vsebuje preveč vlage (Čeh in Zmrzlak, 2012), storžki so neprožni, majhni, neizenačene velikosti, travnato zelene barve z malo lupulina in razprtimi lističi, zato pri sušenju izpada iz njih. Imajo neizrazit in prazen vonj, ob obiranju hitro ovenejo in se sesedejo (Majer in sod., 2002). Prepozno obran hmelj ima drobljive, odprte storžke, rumene ali rjavkaste barve in manjšo vsebnost alfa-kislin, pri obiranju pa prihaja do večjih izgub zaradi osipanja in drobljenja (Čeh in Zmrzlak, 2012; Majer in sod., 2002). Lističi storžka odpadajo in z njimi tudi lupulin. So neprijetne in ostre arome (Majer in sod., 2002).

Trajanje tehnološke zrelosti se pri različnih sortah razlikuje; pri Aurori traja dvajset dni, pri Buketu sedemnajst, pri Savinjskemu goldingu pa le sedem do deset dni, ob vročem in suhem vremenu tudi manj, do pet dni. V tem času je treba posamezno sorto obrati (Čeh in Zmrzlak, 2012).

#### **2.1.5 Sorte hmelja**

Sorte hmelja delimo glede na pridelovalne lastnosti, količino grenčice ter kakovost arome. Po pridelovalnih lastnostih ločimo sorte predvsem na čas zrelosti; zgodnje, srednje pozne in pozne sorte (Čerenak in Ferant, 2012).

- Med zgodnje sorte uvrščamo Savinjski golding, ki doseže tehnološko zrelost med 10. in 20. avgustom,
- srednje pozne so Aurora, Bobek in Styrian gold, ki so tehnološko zrele med 20. in 30. avgustom,
- pozni sorti sta Celeia in Dana, ki dozorita v prvi dekadi septembra (Čeh in Zmrzlak, 2012).

Glede na količino grenčice in aromo, oziroma glede na količino alfa-kislin, delimo sorte hmelja v tri skupine, katerih meje niso jasno določene (Čerenak in Ferant, 2012).

- Aromatični hmelj s količino alfa-kislin do 8 % v suhi snovi, je hmelj s tipično hmeljsko aromo in majhno količino grenčičnih smol. Predstavnik te skupine je Savinjski golding.
- Grenčični hmelj s količino alfa-kislin 8 do 14 % v suhi snovi in z večjo količino grenčičnih smol ter prijetno aromo je Aurora.
- Visoko grenčični hmelj z visoko vsebnostjo alfa-kislin (nad 14 % v suhi snovi) pa je Dana.

Jelinek in sodelavci (2010) pa delijo hmelj glede na količino grenčice in aromo v štiri skupine, in sicer:

- Hmelj s fino aromo (3,5 do 4 % alfa-kislin v suhi snovi);
- Aromatičen hmelj (3,5 do 6,5 % alfa-kislin v suhi snovi);
- Grenčični hmelj (več kot 8 % alfa-kislin v suhi snovi);
- Hmelj z visoko vsebnostjo alfa-kislin (nad 15 % alfa-kislin v suhi snovi).

Razmerje med alfa- in beta-kislinami v hmelju nam lahko poda koristne informacije za identifikacijo sorte. Vrednost tega razmerja je višja v hmelju z visoko vsebnostjo alfa-kislin in v grenčičnem hmelju, medtem ko je v hmelju s fino aromo in aromatičnem hmelju nižja. Ta delitev se lahko uporabi le v zadnjem koraku identifikacije, za verifikacijo rezultatov, saj vsebnost alfa-kislin v hmelju variira. Vsekakor pa kemijska sestava storžkov hmelja ni sortno odvisna. Veliko faktorjev vpliva na vsebnost sekundarnih metabolitov, ki jih moramo vzeti v obzir. Ti faktorji so rastna sezona, pridelovalno območje, klimatski pogoji, razmere shranjevanja in mnogi drugi (Jelinek in sod., 2010).

Preglednica 1: Slovenske sorte hmelja (Čerenak in Ferant, 2012)

Sorta*	Osnovna razvrstitev	Alfa-kislina (% v SS)	Eterično olje (% v SS)	Pridelek (t/ha)
Savinjski golding	aromatični	2,8-6,1	0,3-1,7	1,2-2,2
<b>Ahil</b>	grenčični	9,4-11,3	1,5-1,8	1,2-2,0
<b>Apolon</b>	grenčični	9,0-11,0	0,8-1,2	1,2-2,0
<b>Atlas</b>	grenčični	9,3-10,9	0,9-3,0	1,3-3,0
Aurora	aromatični	7,2-12,6	0,9-1,6	1,6-3,2
<b>Blisk</b>	grenčični	5,0-7,0	0,4-3,4	1,5-3,0
Bobek	aromatični	3,5-7,8	0,7-4,0	1,3-3,5
<b>Buket</b>	aromatični	6,4-10,1	1,2-4,2	1,3-2,8
<b>Cekin</b>	aromatični	4,0-7,1	0,4-2,3	1,5-2,8
<b>Celeia</b>	aromatični	3,0-8,7	0,6-3,6	1,1-3,2
<b>Cerera</b>	aromatični	3,4-7,0	1,3-2,8	1,8-3,0
<b>Cicero</b>	aromatični	6,0-9,5	0,9-2,3	1,7-2,8
Dana	grenčični	12,5-19,3	3,1-4,6	1,8-2,8
Styrian gold	aromatični	3,5-6,5	1,3-2,3	1,6-2,4

\*Sorte, ki so označene s krepko pisavo se trenutno pridelujejo v Sloveniji.

#### 2.1.5.1 Aurora

Kultivar Aurora je križanec med angleško sorto Northern Brewer in slovenskim divjim moškim hmeljem. Zrelost kultivarja je srednje pozna. Vsebuje 1,1 – 1,8 mL eteričnega olja v 100 g vzorca in več kot 9 % alfa-kislin, od teh 24 % kohumulona, ki naj bi med alfa-kislinami prispeval največji delež grenkobe. Razmerje med alfa- in beta-kislinami je 2 (Schönberger, 2009; Šuštar-Vozlič in sod., 2002). Je aromatična sorta, požlahtnjena na IHPS. Odlikujejo jo dobre agronomske lastnosti za pridelavo in spravilo hmelja. Prepoznavna je po prijetni hmeljni aromi in grenčici, ki se odražata v zelo dobri pivovarski vrednosti (IHPS, 2013). V raziskavi, izvedeni na IHPS (Hrastar in sod., 2006), v kateri so preučevali vpliv sorte in lokacije na vsebnost ksantohumola v hmelju, so ugotovili, da je imela Aurora med sortami, gojenimi v Sloveniji, največji povprečni delež ksantohumola v storžkih in drugo največjo povprečno vsebnost alfa-kislin.

#### 2.1.5.2 Magnum

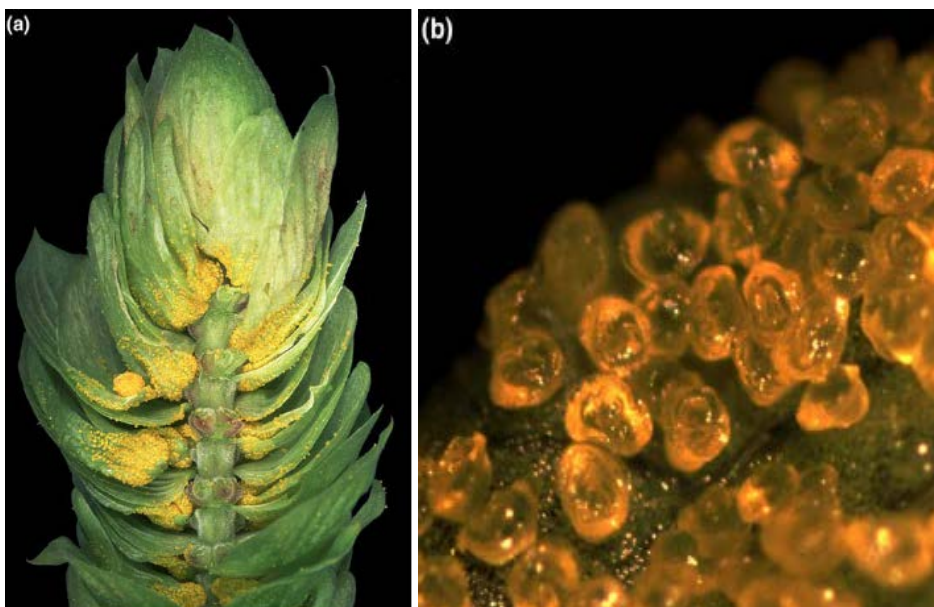
Po zrelosti srednje pozen nemški kultivar hmelja Magnum je križanec med ameriško sorto Galena in moškim križancem 75/5/3. Je srednjaromatičen in z njim hmeljeno pivo ima visoko grenčično vrednost ter dobro kakovost grenčice, sam hmelj pa odlikuje velik pridelek in visoka vsebnost alfa-kislin; 12 – 15 %, od teh je okoli 25 % kohumulona. Vsebnost eteričnih olj v 100 g vzorca je 1,8 mL, razmerje med alfa- in beta-kislinami pa je 2,8 (Šuštar-Vozlič in sod., 2002; Ferant in Košir, 2012). V že prej omenjeni raziskavi so Hrastar in sodelavci (2006) ugotovili, da je po povprečni vrednosti deleža ksantohumola med sortami, gojenimi v Sloveniji drugi po vrsti, takoj za Auroro, ima pa največji povprečni delež alfa-kislin v isti kategoriji (Hrastar in sod., 2006).



### 2.1.6 Kemijska sestava hmelja

Sestavine hmeljnega storžka so hmeljne smole, eterično olje in polifenoli. V splošnem so smole nehlapne trdne ali poltrdne amorfne snovi z veliko molsko maso, ki se izločajo iz rastline, ko je le-ta izpostavljena vročini ali stresu. Navadno so svetlo rumene do temno rjave barve, brez vonja in okusa ter prosojne. Topne so v večini organskih topil, v vodi pa ne. Smole lahko vsebujejo majhne količine hlapnih fenolnih spojin (Brewer, 2011).

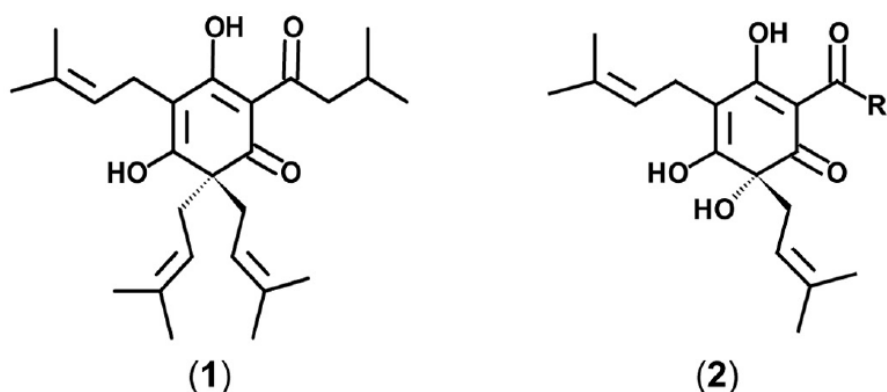
Eterična olja so po kemijski sestavi ekstremno kompleksne zmesi, ki vsebujejo spojine vseh glavnih funkcionalnih skupin. Izoliramo jih lahko s parno destilacijo, s solventno ali CO<sub>2</sub> ekstrakcijo ter mehansko neposredno iz rastline (Brewer, 2011). Hmeljni storžki vsebujejo snovi, ki dajejo pivu okus, vonj in obstojnost. Za pivovarstvo pomembne sestavine hmelja, grenčične snovi in smole, se nahajajo v lupulinu, zato je le-ta najpomembnejši del hmeljnega storžka (Rode in sod., 2002).



Slika 6: Lupulin (Stevens in Page, 2004)

#### 2.1.6.1 Hmeljne smole

Skupne smole predstavljajo trde smole in mehke smole. Mehke smole imajo lastnosti kislin in jih imenujemo alfa- in beta-kislina. Alfa-kislina so sestavljene iz petih sorodnih spojin, med katerimi je največ humulona, kohumulona in adhumulona, beta-kislina pa so zmes sorodnih spojin, od katerih so najpogosteje zastopane lupulon, kolupulon in adlupulon (Rode in sod., 2002; Stevens, 1967; Stevens in Page, 2004).



Slika 7: Kemijska struktura lupulona (1) in humulona (2) (Gerh äuser, 2005)

Alfa-kislina so v vodi slabo topne. V procesu proizvodnje piva pride med segrevanjem do izomerizacije, ki jih pretvori v vroči vodi bolj topne in grenke izoalfa kisline, ki so nosilci kakovosti in intenzivnosti grenčice. Na osnovi analitične vrednosti alfa-kislin se določi odmerek hmelja za hmeljenje sladice. Tudi beta-kislina so v vodi slabo topne in ne prehajajo v pivino, zato ne prispevajo h grenkemu okusu piva. Izločijo se med usedlino ali s hmeljnimi tropinami (Rode in sod., 2002; Virant, 2002). Vsebnost alfa-kislin v storžku predstavlja enega pomembnejših tržnih parametrov v okviru globalnega povpraševanja po hmelju, saj je pri večini odkupljenega hmelja kot najpomembnejši kriterij izpostavljena vsebnost teh grenčičnih snovi (Pavlovič in sod., 2009).

Alfa- in beta-kislina imajo zaradi specifične kemijske strukture enak učinek kot ionoforni antibiotiki, ki zmanjšujejo populacijo grampozitivnih bakterij in praživali v prebavilih prežvekovalcev (Srečec in sod., 2011), zato se lahko preventivno dodajajo v koncentrirana krmila. Poleg tega zmanjšujejo tudi emisijo metana iz živalskih iztrebkov.

#### 2.1.6.2 Eterično olje

Hlapne snovi, ki dajejo storžku značilen vonj, so eterična olja, sestavljena iz več sto različnih komponent, med drugimi so tu prisotni mircen, humulen in seskviterpeni (Ferant in Košir, 2012; Stevens, 1967). Hmelj vsebuje približno 1 - 3 % eteričnega olja in ker je hlapno se njegova vsebnost med sušenjem in skladiščenjem zmanjšuje, pri daljšem nepravilnem skladiščenju pa lahko pride do oksidacije, kar povzroča neprijeten vonj (Ferant in Košir, 2012).

#### 2.1.6.3 Fenolne spojine

Fenolne spojine so sekundarni metaboliti. To so spojine, ki nastajajo v rastlinah in mikroorganizmih in niso naravnost vključene v osnovni metabolizem. Za rastlino so posebnega pomena, tako s fiziološkega kot z morfološkega vidika, saj so pomembni pri rasti in reprodukciji. Akumulirajo se predvsem v epidermalnem tkivu rastline in sodelujejo v zaščiti pred zunanjimi stresi (UV, mikrobi, insekti), učinkujejo kot vizualni markerji (cvetovi, sadeži) ter vplivajo na senzorične lastnosti (barva, okus, aroma) živilskih izdelkov. V celici so v vakuoli ali pa so vezani na elemente celične stene. V človeškem organizmu ne nastajajo (Abram in sod., 2010; Abramovič in sod., 2008).



Molekule fenolnih spojin vsebujejo vsaj en aromatski obroč in vsaj eno hidroksilno (-OH) skupino na tem obroču. Razdelimo jih lahko na več načinov, najbolj enostaven pa je tisti, po katerem so razvrščene po številu ogljikovih atomov v molekuli, kar prikazuje preglednica 2.

Preglednica 2: Razvrstitev fenolnih spojin (Abram, 2000).

Št. C -atomov	Osnovni skelet	Skupina
6	$C_6$	Fenoli
7	$C_6C_1$	Fenolne kisline
8	$C_6C_2$	Fenilocetne kisline
9	$C_6C_3$	Hidroksicimetne kisline
		Fenilpropeni
		Kumarini
		Izokumarini
10	$C_6C_4$	Naftokinoni
13	$C_6C_1C_6$	Ksantoni
14	$C_6C_2C_6$	Stilbeni
		Antrakinoni
15	$C_6C_3C_6$	Flavonoidi
18	$(C_6C_3)_2$	Lignani
		Neolignani
30	$(C_6C_3C_6)_2$	Biflavonoidi
n	$(C_6C_3)_n$	Lignini
	$(C_6)_n$	Melanini
	$(C_6C_3C_6)_n$	Kondenzirani tanini

Strukturno najpreprostejše fenolne spojine so fenolne kisline. Vse fenolne spojine so sekundarni metaboliti in vse, razen flavonoidov, nastajajo iz fenilalanina ali njegovega prekursorja šikiminske kisline. Pivo je zaradi fenolnih spojin, posebej kohumulona, grenko, rdečo barvo vinu pa dajo antociani in sicer malvin (Abram in Simčič, 1997). Telo lažje absorbira antioksidativne učinkovine iz piva, kot pa iz rdečega vina (Kondo, 2004).

Rastlina začne akumulirati fenolne spojine, ko je izpostavljena različnim virom stresa (npr. pomanjkanju vode). Čeh in sodelavci (2007) so primerjali vsebnost antioksidativnih komponent v hmelju, ki so ga gojili pod različnimi pogoji. V redno zalivanih rastlinah iz rastlinjaka so določili manj polifenolov, kot v rastlinah, izpostavljenih naravnim pogojem na polju. Sklenili so, da je rastlina, izpostavljena stresu bogatejši vir polifenolnih spojin, kot rastlina, ki ima idealne pogoje za rast (Čeh in sod., 2007).

Fenolne spojine v hmelju vplivajo na barvo, aromo, peno in stabilnost okusa piva, količina in sestava pa je odvisna predvsem od sorte hmelja (Ferant in Košir, 2012). Glavni polifenolni spojini v hmelju sta prenilirana flavonoida ksantohumul in dihidroflavonol

dihidrokvercetin. Skupino flavonolov v hmelju predstavljata kvercetin in kampferol (Aleksseva in sod., 2004).

Preglednica 3: Vsebnost polifenolnih spojin v navadnem hmelju (*Humulus lupulus*) (Aleksseva in sod., 2004)

Spojina	Vsebnost	
	%	g/kg
<b>Fenolne spojine (skupne)</b>	2,8	28
<b>Flavonoidi (skupni, sorodni rutinu)</b>	1,5	15
<b>Flavonoli</b>	0,16	16
Kvercetin	0,1	1,0
Kampferol	0,06	0,6
Izoramnnetin	-	-
Miricetin	-	-
<b>Dihidroflavonoli</b>	0,25	25
Dihidrokvercetin		
<b>Prenilirani halkoni</b>	0,2	0,20
Ksantohumol		
<b>Prenilirani flavanoni</b>	0,005	0,05
Izoksantohumol		
Derivati cimetne kisline	0,082	0,82
<b>Ferulna kislina</b>	0,014	0,14
<b>Klorogenska kislina</b>	0,033	0,33
<b>Kaftarna kislina (sorodna ferulni kislini)</b>	0,035	0,35

Največ preniliranih flavonoidov in flavanonov ljudje dobimo s pivom, ki jih vsebuje okoli 4 mg/L (Stevens in sod., 2003). Hmelj je praktično edini vir naravnih preniliranih flavonoidov ksantohumola in izoksantohumola. Ksantohumol, oz. prenilirani flavonoidi so znani po svoji antikancerogeni učinkovitosti in upočasnjevanju rasti rakavih celic (Tabata in sod., 1997). Hmelj je tudi bogat vir flavonolov in taninov, ki pa jih lahko najdemo v celotnem kraljestvu rastlin (Stevens in Page, 2004). V litru piva, nemškem ležaku znamke Pilsener, je 153 mg polifenolnih spojin. Le-te so temeljnega pomena za fizikalno-kemično

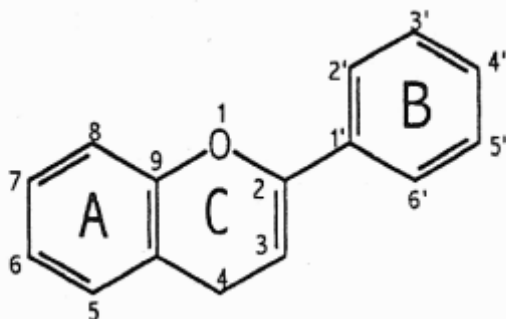
stabilnost, formacijo pene, grenkობnost, vonj in preprečevanje okusa po »postanem« (Piendl in Biendl, 2000).

V raziskavi o vplivu predelave hmelja na fenolne spojine in antioksidativno učinkovitost piva so Leitao in sodelavci (2011) ugotovili, da je skupna antioksidativna učinkovitost med varjenjem piva ostala nespremenjena, medtem ko se je vsebnost polifenolnih komponent povečala. Vzrok za povečano vsebnost polifenolov tiči v hmeljenju in fermentaciji, saj so se polifenolne spojine ekstrahirale v prisotnosti alkohola (Leitao in sod. 2011).

#### 2.1.6.4 Flavonoidi

Flavonoidi so spojine, ki imajo skupaj 15 C-atomov in osnovno strukturo ( $C_6C_3C_6$ ), ki se imenuje flavon. So zelo razširjena skupina vodotopnih fenolnih spojin. Poznanih je več kot 8000 flavonoidov (Abram in sod., 2010), ki jih ločimo po nesladkornem delu molekule, aglikonu. Tako jih delimo na flavone, flavonole, katehine, flavanone, dihidroflavonole, flavan-3,4-diole, antocianidine, izoflavone, neoflavone, halkone, dihidrohalkone in avrone.

V naravi običajno najdemo glikolizirane flavonoide, ki imajo največkrat na C-3 atomu (lahko tudi na C-5 ali C-7 atomu) vezane različne sladkorje kot so glukoza, galaktoza, arabinoza, ramnoza, ksiloza, manoza, glukuronska ali galakturonska kislina. V skupino flavonoidov prištevamo tudi halkone, ki strukturno sicer niso flavonoidi, pač pa so njim kemično in biosintetsko zelo sorodne spojine (Abram, 2000; Abram in Simčič, 1997).



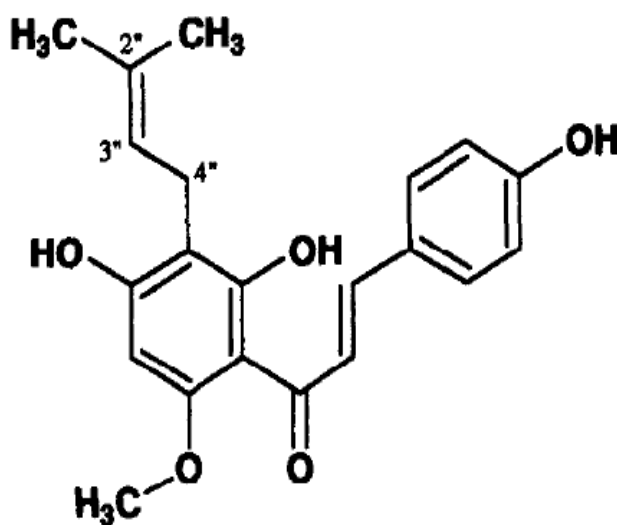
Slika 8: Osnovna strukturna formula flavonoidov (Abram, 2000)

##### 2.1.6.4.1 Ksantohumol

Ksantohumol je bil izoliran in poimenovan leta 1913. Najdemo ga le v rastlini hmelja, kjer je glavni preniliran flavonoid ženskega socvetja. Sicer je strukturno preprost preniliran halkon, kemično in biosintetsko sorodna spojina flavonoidom, zato ga tudi uvrščamo v to skupino. Glavni vir ksantohumola v človeški prehrani je pivo (Abram in Simčič, 1997; Stevens in Page, 2004). Vsebnost ksantohumola v hmelju je lahko merilo kvalitete v surovem materialu in v izdelkih, katerih sestava temelji na hmeljnem ekstraktu (Aleksseva in sod., 2004).

Posušeni hmeljevi storžki vsebujejo 0,2 do 1,1 % ksantohumola ki je, skupaj z alfa- in beta-kislinami ter eteričnimi olji del lupulina, spremlja pa ga še najmanj 13 drugih preniliranih flavonoidov, vendar v manjših koncentracijah (Hrastar in sod., 2006; Stevens in Page, 2004).

Čeprav je ksantohumol glavni preniliran flavonoid v hmelju, ga je v pivu zelo malo, saj med varjenjem piva izomerizira v flavanon. Ksantohumol in ostali prenilirani flavonoidi iz hmelja so potencialna preventivna antikancerogena sredstva, saj inhibirajo aktivacijo rakavih celic, inducirajo protirakave encime in inhibirajo rast tumorjev. V rastlinah naj bi varovali ženske generativne organe pred insekti in ostalimi herbivori (Stevens in Page, 2004).



Slika 9: Kemijska struktura ksantohumola (Tabata in sod., 1997)

Zaradi vse večjega zavedanja potrošnikov o prednosti izdelkov z blagodejnim učinkom na metabolizem, ima pivovarska industrija možnost uvedbe novega izdelka, ki bi ga lahko uvrščali med funkcionalna živila. Piva v to skupino ne moremo uvrstiti zaradi vsebnosti alkohola, medtem ko bi pivo s povečano vsebnostjo ksantohumola to lahko bilo (Hrastar in sod., 2006). Z žlahtnjenjem hmelja bi lahko pridelali sorte s povečano vsebnostjo ksantohumola in manjšo vsebnostjo alfa-kislin. To bi lahko storili tako, da bi prekinili metabolično pot alfa-kislin in s tem pridobili več poliketidov in terpenoidnih prekurzorjev, potrebnih za nastanek preniliranih flavonoidov. Alternativna pot za proizvodnjo hmelja z visoko vsebnostjo obeh učinkovin bi lahko bila povečanje lupulinskih žlez v storžkih (Stevens in Page, 2004).

## 2.2 PROSTI RADIKALI, OKSIDACIJA IN ANTIOKSIDANTI

### 2.2.1 Prosti radikali

Prosti radikali, ali pravilneje radikali, so atomi, molekule ali ioni z vsaj enim elektronom brez para. So zelo reaktivni in težijo k doseganju stabilnega stanja. Zato zelo hitro reagirajo z naslednjo molekulo, v katero so se zaleteli. Prosti radikali poškodujejo celične strukture,

vključno z nukleinskimi kislinami in geni. So rezultat normalne celične presnove (dihanja) in posledica dejavnikov okolja: UV in gama žarkov, toplote, kajenja, onesnaženega okolja... Tudi nekatere snovi in zdravila (npr. alkohol, analgetiki, anestetiki) povzročajo nastanek prostih radikalov. Porušeno ravnotežje med prostimi radikali in antioksidanti imenujemo oksidativni stres (Korošec, 2000).

Nastajajo pri homolitski cepitvi kovalentne enojne vezi:



Reakcija med radikalom  $A^{\bullet}$  in stabilno spojino B, privede do nastanka novega radikala  $B^{\bullet}$ , prvotni radikal  $A^{\bullet}$  pa preide v neradikalno obliko:



Tako tvorba enega radikala vodi k nastanku naslednjega, zato te ponavljajoče dogodke imenujemo radikalna verižna reakcija.

Najpomembnejši kisikovi prosti radikali so superoksidni anion ( $\bullet O_2^-$ ), tripletni kisik ( $^3O_2$ ), singletni kisik ( $^1O_2$ ), hidroksilni radikal ( $\bullet OH$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ), radikal dušikovega oksida ( $NO^{\bullet}$ ) in peroksilni radikal ( $ROO^{\bullet}$ ) (Abramovič, 2011; Korošec, 2000).

DPPH $^{\bullet}$  oz. molekula 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil je stabilen radikal, ki nastane zaradi premestitve prostega elektrona po molekuli kot celoti, zato molekule ne dimerizirajo, kot pri večini drugih prostih radikalih. Delokaliziran prosti radikal je tudi vzrok za temno vijolično barvo, značilno za absorpcijsko območje v etanolni raztopini pri okoli 520 nm (Molyneux, 2003).

### 2.2.2 Oksidacija in avtooksidacija

Oksidacija lipidov v živilih povzroča priokuse in tvorbo neželjenih kemijskih spojin, ki lahko škodujejo zdravju. Avtooksidacija je počasen a temeljit proces, sestavljen iz treh faz, imenovanih iniciacija ali začetek, propagacija ali nadaljevanje in terminacija ali zaključek. Med iniciacijsko fazo se tvorijo alkilni radikali, ki kasneje reagirajo s kisikovimi molekulami med fazo propagacije in tvorijo hidroksilne in peroksilne radikale. V terminacijski fazi dva radikala tvorita stabilen produkt (Brand-Williams in sod., 1995).

### 2.2.3 Antioksidanti

Antioksidanti so po definiciji živilske stroke tiste sestavine ali dodatki živilom, ki so bodisi lovilci prostih radikalov, tvorijo kelate s kovinskimi ioni ali pa kot reducenti kako drugače preprečujejo ali zmanjšujejo pojav žarkosti živil in druge oksidativne spremembe senzoričnih ali prehranskih lastnosti živil. Po definiciji dietetikov in nutricionistov pa so to še endogene in eksogene snovi, ki ščitijo telo pred kvarnim vplivom prostih radikalov, kovinskih ionov in raznih drugih oksidantov (Vidrih in Kač, 2000).

Antioksidanti rastlinskega porekla so pomembna sestavina živil s pozitivnim učinkom na zdravje, saj so sposobni odstranjevanja reaktivnih kisikovih in dušikovih radikalov. Oksidativni stres povzroča prehitro staranje organizma in degenerativne bolezni, kot so kardiovaskularna bolezen in rak. Hmelj sicer ni hrana, so pa v njem prisotni antioksidanti pomembni za pivovarsko industrijo. V okviru proizvodnje in skladiščenja piva delujejo kot zaščita proti nezaželenim senzoričnim spremembam, ki povzročajo postan okus izdelka in imajo pozitiven učinek na zdravje uživalcev piva (Krofta in sod., 2008).

Antioksidanti so strukturno zelo raznolike spojine; lahko so:

- hidrofilni in lipofilni,
- polarni ali nepolarni,
- encimski ali neencimski.

Po izvoru so lahko naravni ali sintetični. Strukturno različni antioksidanti imajo včasih enak mehanizem delovanja, nekateri učinkujejo celo preko več možnih mehanizmov. Delujejo z neposrednim reagiranjem z reaktivnimi radikalskimi zvrstmi ali pa preprečijo oz. upočasnijo njihov nastanek. Pri tem se molekule antioksidantov pretvarjajo v oblike, ki imajo še vedno antioksidativen učinek ali pa ne. Glede na način učinkovanja jih opredelimo na primarne in sekundarne antioksidante (Abramovič, 2011).

Primarni antioksidanti so spojine, ki se uspešno vključujejo v reakcije lovljenja radikalov, vsebujejo hidroksilno skupino (fenolne spojine), sulfhidrilno skupino (cistein, glutation) ali aminske skupine (sečna kislina, spermin, proteini). Sem uvrščamo tudi askorbinsko kislino in  $\beta$ -karoten. Sekundarni antioksidanti sami ne pretvarjajo radikalov v stabilnejše zvrsti, ampak delujejo tako, da zmanjšajo učinek prooksidantov in povečajo učinkovitost primarnih antioksidantov, zato jih imenujemo sinergisti. V skupino spojin, ki so sposobne vezave kovinskih ionov v komplekse, uvrščamo EDTA, citronsko, vinsko, fosforjevo(V) in fitinsko kislino, polifosfate, fosfolipide, aminokislino, peptide, proteine in flavonoide. Lovilci prostega kisika pa so askorbinska kislina, askorbil palmitat,  $\beta$ -karoten in sulfiti (Abramovič, 2011).

Spojine, ki se v živilski industriji uporabljajo kot antioksidanti in se pridobivajo zgolj s kemijsko sintezo so sintetični antioksidanti. Sem sodijo butiliran hidroksitoluen (BHT), butiliran hidroksianizol (BHA), terciarni butiliran hidroksikinon (TBHQ) in eritorbinska kislina. Propil galat, oktil galat in dodecil galat pa so estri galne kisline (Abramovič, 2011).

Vloge antioksidantov in sekundarnih metabolitov v rastlinah so različne; rastline ščitijo pred škodljivimi vplivi sončnih žarkov, varujejo jih pred napadi virusov, bakterij, gliv in s trpkim in grenkim okusom pred rastlinojedimi živali. Ob okužbi rastline ali napadu škodljivcev se z geni določena izgradnja sekundarnih metabolitov pospeši, kar lahko škoduje rastlini in ravno zaradi tega se ne kopičijo v živi citoplazmi celic, ampak v ločenih predelkih, včasih ločeno v vakuolah ali pa celo tkivih, v katerih ni več živih celic (Kreft in sod., 2000).

### 3 MATERIALI IN METODE DELA

#### 3.1 MATERIALI

##### 3.1.1 Vzorci hmelja

- Magnum (poreklo Slovenija, Avstrija, Nemčija, Češka – leto 2008 in 2010 – listi in storžki)
- Aurora (poreklo Slovenija, Avstrija, Češka – leto 2008 in 2010 – listi in storžki). Za Auroro iz Nemčije smo imeli za analizo samo storžke iz leta 2008, oboje pa za leto 2010.

##### 3.1.2 Reagenti

- Etanol (96 %, Merck, Nemčija)
- DPPH<sup>•</sup> reagent (Sigma, Nemčija)
- Folin-Ciocalteu reagent (Fluka, Švica)
- Triklorocetna kislina (Merck, Nemčija)
- Kalijev ferocianid (Kemika, Zagreb)
- Železov triklorid (Carlo Erba Reagenti, Italija)
- Kalijev hidrogenfosfat (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidrogenfosfat (Merck, Nemčija)
- Natrijev karbonat (Alkaloid, Hrvaška)

##### 3.1.3 Aparature

- Tehnica PB3002-S (Mettler Toledo, Švica)
- Tehnica AT201 (Mettler Toledo, Švica)
- Tehnica Exacta 2200 EB (Tehnica, Železniki)
- Vodna kopel (Kambič, Slovenija)
- Mini centrifuga 5415C (Eppendorf, Nemčija)
- Centrifuga Centric 322B (Tehnica, Železniki)
- Spektrofotometer HP 8453 (Hewlett-Packard, ZDA)
- Vrtinčnik MS3 Basic (IKA, Nemčija)

##### 3.1.4 Pribor

- Stekleni inventar: epruvete, čaše, bučke, merilne bučke, pipete, merilne pipete, liji, merilni valji, steklene palčke, erlenmajerice.
- Ostalo: štoparica, kapalke, tehtalne ladjice, kivete (Brand), pipete (Eppendorf), mikrocentrifugirke, plastične epruvete, parafilm, aluminijasta folija, spatule, rokavice (Purple Nitrile Exam Gloves, Kimberly - Clark).

### 3.1.5 Priprava raztopin

- 20 %  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ : v čašo smo zatehtali 40 g  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  in dopolnili z destilirano vodo do 200 g ter raztopino mešali na magnetnem mešalu pol ure.
- 1 %  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ : v čašo smo zatehtali 1 g  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  in dopolnili z destilirano vodo do 100 g ter postavili na magnetno mešalo za pol ure.
- 1 %  $\text{FeCl}_3$ : v čašo smo zatehtali 1 g  $\text{FeCl}_3$  in dopolnili z destilirano vodo do 100 g ter raztopino mešali na magnetnem mešalu pol ure.
- 0,1 M raztopina  $\text{DPPH}^\bullet$ : na tehtalno ladjico smo natehtali 4 mg na sobno temperaturo temperiranega reagenta  $\text{DPPH}^\bullet$ , ga kvantitativno prenesli v čašo in prilili 20 mL 96 % etanola. Čašo z raztopino smo zavili v aluminijasto folijo in raztopino 15 minut mešali na magnetnem mešalu.
- Fosfatni pufer, 50 mM, pH 6,8: zatehtali smo 3,38 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in 3,53 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in ju kvantitativno prenesli v čašo. Zatem smo raztopino 15 minut mešali na magnetnem mešalu, prenesli v bučko in dopolnili z destilirano vodo do oznake 1000 mL. Priprava pufra je prirejena točno za pH 6,8.

## 3.2 METODE

### 3.2.1 Priprava vzorca

Iz posušenih vzorcev hmeljevih listov in storžkov dveh sort hmelja (Aurora in Magnum) iz štirih držav (Avstrija, Nemčija, Češka in Slovenija) iz let 2008 in 2010, je Neda Lazić pripravila ekstrakte, ki so bili do analize antioksidativne učinkovitosti shranjeni v zmrzovalniku pri temperaturi  $-20^\circ\text{C}$ .

### 3.2.2 Antioksidativna učinkovitost vzorcev

Antioksidativno učinkovitost vzorcev smo določali s primerjalnim fotometričnim sledenjem izginjanja barve stabilnega prostega radikala  $\text{DPPH}^\bullet$ . Princip metode temelji na redukciji radikala  $\text{DPPH}^\bullet$  z antioksidantom ter posledičnim zmanjšanjem absorbance (Brand-Williams in sod., 1995).

Za analizo smo pripravili slepi vzorec, modelno raztopino  $\text{DPPH}^\bullet$  radikala in vzorce ekstraktov različnih razredčitev. Slep vzorec je bila destilirana voda, modelna raztopina je vsebovala 1 mL 96 % etanola. Ekstrakte smo predhodno redčili s 96 % etanolom. Meritve smo izvedli za vsak ekstrakt v štirih razredčitvah in vsako razredčitev v treh paralelkah, zato smo pripravili po tri mikrocentrifugirke za posamezno razredčitev. V posamezne mikrocentrifugirke smo pipetirali po 0,75 mL 96 % etanola in 0,25 mL primerno razredčenega ekstrakta in dobro premešali na vrtinčniku. V modelno raztopino smo pipetirali 0,25 mL raztopine  $\text{DPPH}^\bullet$  radikala, istočasno vklopili merilec časa in v presledkih 15 sekund pipetirali po 0,25 mL  $\text{DPPH}^\bullet$  radikala v naslednje mikrocentrifugirke z vzorci.



Po 15 minutah smo merili absorbanco pri 517 nm, potem ko smo spektrofotometer umerili na slepi vzorec.

Rezultate smo predstavili grafično; izračunali smo delež inhibicije, narisali graf in določili inhibitorno masno koncentracijo ( $IC_{50}$ ) fenolnih spojin; masno koncentracijo FS, potrebnih za 50 % inhibicijo prostega radikala.

### 3.2.3 Analiza sposobnosti redukcije

Sposobnost redukcije smo določali v skladu s postopkom, ki so ga opisali Juntachote in sodelavci (2006).

Princip metode temelji na sposobnosti fenolnih spojin da reducirajo  $Fe^{3+}$  v  $Fe^{2+}$ , le-ti tvorijo obarvan kompleks z reagentom kalijevim heksacianoferatom (II), ki ga zasledujemo z merjenjem absorbanco pri valovni dolžini 740 nm (Roginsky in Lissi, 2005).

Pripravili smo 6 epruvet in v vsako pipetirali po 2,5 mL 50 mM fosfatnega pufrs s pH 6,8. Zatem smo v epruveto, namenjeno slepemu vzorcu pipetirali 0,5 mL 96 % etanola, v ostale pa 0,4, 0,3, 0,2, 0,1 mL 96 % etanola, zadnja epruveta je vsebovala nerazredčen ekstrakt. Vse epruvete smo premešali na vrtinčniku MS3 Basic (IKA, Nemčija). Nakar smo dodali točno toliko ekstrakta v vsako epruveto (razen slepega vzorca), da je bil volumen ekstrakta in 96 % etanola v posamezni epruveti 0,5 mL ter s tem pridobili vzorce različnih koncentracij. Zopet smo vse premešali na vrtinčniku. Potem smo v vsako epruveto dodali po 2,5 mL raztopine 1 % kalijevega heksacianoferata(II), premešali in dodali po 2,5 mL raztopine 20 % trikloroacetne kisline ter spet dobro premešali. Iz vsake epruvete smo pipetirali dvakrat po 1,8 mL raztopine v mikrocentrifugirke in centrifugirali v Eppendorfovi mini centrifugi 5415C 15 min pri 13000 obratih/min. Po centrifugiranju smo v posamezno epruveto zbrali iz dveh mikrocentrifugirk 2,5 mL ustreznega supernatanta. Supernatant smo razredčili z 2,5 mL destilirane vode, premešali, dodali 1 mL 1 % raztopine železovega triklorida, premešali in ovili z aluminijasto folijo. Ob dodatku železovega triklorida smo vklopili uro in po 25 minutah izmerili absorbanco na spektrofotometru HP 8453 pri 740 nm proti slepemu vzorcu. Postopek smo ponovili dvakrat ali trikrat za posamezni ekstrakt.

Višja absorbanca reakcijske mešanice kaže na večjo sposobnost redukcije (Juntachote in sod., 2006).

#### 4 REZULTATI Z RAZPRAVO

V poskus smo vključili 32 vzorcev. V preglednici 4 je prikazano oštevilčenje etanolnih ekstraktov fenolnih spojin iz listov in storžkov dveh sort hmelja različnega geografskega porekla nabranih v letih 2008 in 2010.

Preglednica 4: Oštevilčenje ekstraktov fenolnih spojin iz listov in storžkov dveh kultivarjev hmelja iz štirih držav.

Država	Leto	Sorta	Listi	Storžki
Slovenija	2008	Aurora	L1	S1
		Magnum	L2	S2
	2010	Aurora	L3	S3
		Magnum	L4	S4
Avstrija	2008	Aurora	L5	S5
		Magnum	L6	S6
	2010	Aurora	L7	S7
		Magnum	L8	S8
Nemčija	2008	Aurora	L9-*na	S9
		Magnum	L10	S10
	2010	Aurora	L11	S11
		Magnum	L12	S12
Češka	2008	Aurora	L13	S13
		Magnum	L14	S14
	2010	Aurora	L15	S15
		Magnum	L16	S16

\*na - vzorec ni bil analiziran

Pridobljene etanolne ekstrakte smo uporabili za določanje skupnih fenolnih spojin in antioksidativne aktivnosti. V preglednici 5 so zbrane vrednosti povprečne masne koncentracije skupnih fenolnih spojin v ekstraktih listov in storžkov dveh kultivarjev hmelja različnega geografskega porekla iz let 2008 in 2010, ki so rezultat dela N. Lazić in so še neobjavljeni. Masna koncentracija fenolnih spojin je večja v storžkih in se giblje med približno 0,7 in 1,7 mg/mL. V listih je masna koncentracija fenolnih spojin občutno manjša, od okoli 0,2 do 0,4 mg/mL, torej je v storžkih vsaj 2,5-krat večja količina fenolnih spojin kot v listih.

Krofta in sod. (2008) so v ekstraktih suhih storžkov češkega porekla različnih sort iz let 2005 in 2006 določali FS. Njihove vrednosti se gibljejo med 0,1 in 0,2 mg/mL. Ugotovili so, da se nekoliko fenolnih spojin izgubi med sušenjem, saj so v ekstraktih svežih storžkov določili rahlo višjo vrednost (Krofta in sod., 2008).

Preglednica 5: Povprečna masna koncentracija skupnih fenolnih spojin v ekstraktih listov in storžkov dveh kultivarjev hmelja.

Listi	Storžki	Povprečna masna koncentracija fenolnih spojin (mg/mL)	
		L	S
L1	S1	0,215 ± 0,001	0,959 ± 0,025
L2	S2	0,237 ± 0,027	1,054 ± 0,006
L3	S3	0,430 ± 0,010	1,350 ± 0,011
L4	S4	0,257 ± 0,003	1,322 ± 0,058
L5	S5	0,260 ± 0,003	0,798 ± 0,027
L6	S6	0,328 ± 0,010	0,738 ± 0,015
L7	S7	0,379 ± 0,001	1,734 ± 0,027
L8	S8	0,413 ± 0,001	1,449 ± 0,026
L9	S9	*na	1,007 ± 0,049
L10	S10	0,206 ± 0,008	0,878 ± 0,066
L11	S11	0,265 ± 0,008	1,482 ± 0,037
L12	S12	0,301 ± 0,013	1,558 ± 0,016
L13	S13	0,212 ± 0,004	0,819 ± 0,008
L14	S14	0,223 ± 0,003	0,857 ± 0,007
L15	S15	0,099 ± 0,001	1,260 ± 0,018
L16	S16	0,353 ± 0,000	1,464 ± 0,025

\*na - vzorec ni bil analiziran

#### 4.1 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST Z DPPH• TESTOM

Antioksidanti, kot so fenolne spojine, lahko delujejo na več načinov in sicer s prostimi radikali tvorijo stabilne komplekse, s kovinskimi ioni pa kelate ter kot reducenti preprečujejo ali zmanjšujejo pojav žarkosti živil in druge oksidativne spremembe lastnosti živil (Vidrih in Kač, 2000).

Z DPPH• testom smo ugotavljali koliko fenolnih spojin povzroči 50 % inhibicijo radikalov DPPH•. V preglednicah od 6 do 13 so zbrani podatki in rezultati analize antioksidativne učinkovitosti z DPPH• testom.

Pri DPPH• testu smo zasledovali zmanjševanje absorbance raztopine zaradi prisotnosti antioksidantov in s tem manjše koncentracije radikalov DPPH•. Pripravili smo kontrolni vzorec, štiri razredčitve etanolnega ekstrakta hmelja in za vsako razredčitev po tri paralelke. Za vsako posamezno paralelko smo izmerili absorbenco in nato izračunali povprečje absorbanc treh paralelek. Sposobnost lovljenja prostih radikalov smo izrazili kot delež inhibicije prostega DPPH• radikala (%):

pri čemer je  $A_{k517}$  absorbanca kontrolne raztopine pri 517 nm in  $A_{v517}$  absorbanca vzorca pri 517 nm. Iz dobljenih rezultatov smo narisali graf  $\Delta A_{517}/A_{k517}$  v odvisnosti od razredčitve vzorca. S pomočjo linearne regresije smo iz enačbe premice izračunali razredčitev ekstrakta (R), ki je potrebna za 50 % inhibicijo radikalov DPPH<sup>•</sup> po formuli:

Preglednica 6: Rezultati DPPH\* testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\frac{\Delta A_{517}}{A_{k517}}$ 7 (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
<b>L1</b>	L1/1	1	0,30534	1,02300	70,2	0,119	0,123 ± 0,005
		1,5	0,4759	1,02300	53,5		
		2	0,61338	1,02300	40,0		
		3	0,75987	1,02300	25,7		
	L1/2	1	0,31951	1,02470	68,8	0,127	
		1,5	0,51288	1,02470	49,9		
		2	0,63585	1,02470	37,9		
		3	0,77403	1,02470	24,5		
<b>S1</b>	S1/1	10	0,26891	1,11570	75,9	0,037	0,042 ± 0,007
		20	0,49571	1,11570	55,6		
		30	0,67495	1,11570	39,5		
		40	0,76609	1,11570	31,3		
	S1/2	10	0,30643	1,04130	70,6	0,047	
		20	0,57684	1,04130	44,6		
		30	0,68568	1,04130	34,2		
		40	0,78674	1,04130	24,4		
<b>L3</b>	L3/1	5	0,25832	0,99467	74,0	0,053	0,053 ± 0,000
		8	0,54169	0,99467	45,5		
		10	0,62575	0,99467	37,1		
		12	0,70402	0,99467	29,2		
	L3/2	5	0,29211	0,98574	70,4	0,053	
		8	0,50999	0,98574	48,3		
		10	0,65329	0,98574	33,7		
		12	0,70729	0,98574	28,2		
<b>S3</b>	S3/1	10	0,26066	0,99467	73,8	0,031	0,031 ± 0,000
		30	0,37065	0,99467	62,7		
		50	0,57879	0,99467	41,8		
		70	0,68509	0,99467	31,1		
	S3/2	10	0,23614	1,06530	77,8	0,032	
		30	0,41660	1,06530	60,9		
		50	0,62686	1,06530	41,2		
		70	0,74547	1,06530	30,0		

Preglednica 7: Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
L2	L2/1	1	0,22340	1,15100	80,6	0,092	0,110 ± 0,026
		2	0,45602	1,15100	60,4		
		3	0,62386	1,15100	45,8		
		4	0,78171	1,15100	32,1		
	L2/2	1	0,34015	1,04850	67,6	0,128	
		2	0,63812	1,04850	39,1		
		3	0,77625	1,04850	26,0		
		4	0,84491	1,04850	19,4		
S2	S2/1	10	0,34347	1,05370	67,4	0,057	0,057 ± 0,001
		20	0,60102	1,05370	43,0		
		30	0,73835	1,05370	29,9		
		40	0,81171	1,05370	23,0		
	S2/2	10	0,33365	1,02050	67,3	0,058	
		20	0,59994	1,02050	41,2		
		30	0,7329	1,02050	28,2		
		40	0,78663	1,02050	22,9		
L4	L4/1	3	0,41396	1,0386	60,1	0,068	0,061 ± 0,010
		5	0,66013	1,0386	36,4		
		8	0,84284	1,0386	18,8		
		10	0,91081	1,0386	12,3		
	L4/2	3	0,41298	1,15760	64,3	0,054	
		5	0,63517	1,15760	45,1		
		8	0,84757	1,15760	26,8		
		10	0,92801	1,15760	19,8		
S4	S4/1	25	0,27901	1,06740	73,9	0,025	0,027 ± 0,004
		30	0,37643	1,06740	64,7		
		40	0,44278	1,06740	58,5		
		45	0,60797	1,06740	43,0		
	S4/2	25	0,24180	1,07700	77,5	0,030	
		30	0,33768	1,07700	68,6		
		40	0,45663	1,07700	57,6		
		45	0,59508	1,07700	44,7		

Preglednica 8: Rezultati DPPH\* testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
L5	L5/1	1	0,18833	1,03300	81,8	0,074	0,071 ± 0,004
		3	0,52418	1,03300	49,3		
		5	0,75000	1,03300	27,4		
		8	0,88241	1,03300	14,6		
	L5/2	1	0,1917	1,06880	82,1	0,069	
		3	0,51775	1,06880	51,6		
		5	0,74353	1,06880	30,4		
		8	0,86694	1,06880	18,9		
S5	S5/1	5	0,29336	1,0905	73,1	0,059	0,060 ± 0,002
		10	0,51739	1,0905	52,6		
		20	0,73075	1,0905	33,0		
		30	0,85067	1,0905	22,0		
	S5/2	5	0,28808	1,04470	72,4	0,062	
		10	0,52658	1,04470	49,6		
		20	0,73949	1,04470	29,2		
		30	0,84046	1,04470	19,6		
L7	L7/1	3	0,19875	1,03660	80,8	0,059	0,060 ± 0,002
		5	0,49430	1,03660	52,3		
		8	0,65456	1,03660	36,9		
		10	0,74058	1,03660	28,6		
	L7/2	3	0,21391	1,03800	79,4	0,062	
		5	0,47745	1,03800	54,0		
		8	0,69399	1,03800	33,1		
		10	0,80913	1,03800	22,0		
S7	S7/1	25	0,21442	1,03366	79,3	0,027	0,029 ± 0,003
		40	0,35465	1,03366	65,7		
		55	0,45397	1,03366	56,1		
		70	0,53300	1,03366	48,4		
	S7/2	25	0,20253	1,00070	79,8	0,031	
		40	0,36975	1,00070	63,1		
		55	0,56040	1,00070	44,0		
		70	0,57707	1,00070	42,3		

Preglednica 9: Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

Vzorec	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L6	L6/1	3	0,35536	1,08590	67,3	0,067	0,070 ± 0,004
		5	0,59331	1,08590	45,4		
		8	0,79074	1,08590	27,2		
		10	0,85811	1,08590	21,0		
	L6/2	3	0,38684	1,07920	64,2	0,073	
		5	0,64946	1,07920	39,8		
		8	0,81491	1,07920	24,5		
		10	0,90120	1,07920	16,5		
S6	S6/1	3	0,23672	1,13460	79,1	0,057	0,057 ± 0,001
		8	0,51647	1,13460	54,5		
		15	0,73971	1,13460	34,8		
		30	0,88886	1,13460	21,7		
	S6/2	3	0,22575	1,08350	79,2	0,058	
		8	0,51358	1,08350	52,6		
		15	0,68092	1,08350	37,2		
		30	0,83619	1,08350	22,8		
L8	L8/1	3	0,21881	1,17040	81,3	0,062	0,062 ± 0,000
		5	0,49951	1,17040	57,3		
		8	0,74449	1,17040	36,4		
		10	0,83037	1,17040	29,1		
	L8/2	3	0,181	1,13100	84,0	0,062	
		5	0,44426	1,13100	60,7		
		8	0,73386	1,13100	35,1		
		10	0,8491	1,13100	25,0		
S8	S8/1	30	0,31666	1,10930	71,5	0,029	0,030 ± 0,001
		40	0,43047	1,10930	61,2		
		50	0,59856	1,10930	46,0		
		60	0,66040	1,10930	40,5		
	S8/2	30	0,3497	1,11850	68,7	0,031	
		40	0,51022	1,11850	54,4		
		50	0,59129	1,11850	47,1		
		60	0,67216	1,11850	39,9		



Preglednica 10: Rezultati DPPH\* testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

Vzorec	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)		
<b>L9</b>						na*	
<b>S9</b>	S9/1	5	0,27204	1,07270	74,6	0,020	0,021 ± 0,001
		10	0,37008	1,07270	65,5		
		20	0,64280	1,07270	40,1		
		30	0,75238	1,07270	29,9		
	S9/2	5	0,28849	1,10240	73,8	0,022	
		10	0,35637	1,10240	67,7		
		20	0,60733	1,10240	44,9		
		30	0,73465	1,10240	33,4		
<b>L11</b>	L11/1	1	0,25707	1,09730	76,6	0,101	0,107 ± 0,009
		2	0,48148	1,09730	56,1		
		3	0,66168	1,09730	39,7		
		5	0,83707	1,09730	23,7		
	L11/2	1	0,25694	1,02480	74,9	0,113	
		2	0,51486	1,02480	49,8		
		3	0,68081	1,02480	33,6		
		5	0,86490	1,02480	15,6		
<b>S11</b>	S11/1	20	0,25197	1,07270	76,5	0,036	0,035 ± 0,001
		30	0,35515	1,07270	66,9		
		40	0,45463	1,07270	57,6		
		45	0,61434	1,07270	42,7		
	S11/2	20	0,23717	1,02480	76,9	0,035	
		30	0,37714	1,02480	63,2		
		40	0,45640	1,02480	55,5		
		45	0,56851	1,02480	44,5		

na\*- vzorec ni bil analiziran

Preglednica 11: Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
L10	L10/1	1	0,49233	1,09370	55,0	0,222	0,217 ± 0,006
		2	0,77611	1,09370	29,0		
		3	0,84583	1,09370	22,7		
		4	0,93288	1,09370	14,7		
	L10/2	1	0,47118	1,05920	55,5	0,213	
		2	0,78371	1,05920	26,0		
		3	0,90068	1,05920	15,0		
		4	0,97165	1,05920	8,3		
S10	S10/1	5	0,29365	1,03630	71,7	0,073	0,083 ± 0,014
		10	0,51451	1,03630	50,4		
		20	0,73908	1,03630	28,7		
		30	0,82936	1,03630	20,0		
	S10/2	5	0,35315	1,00740	64,9	0,094	
		10	0,58705	1,00740	41,7		
		20	0,78324	1,00740	22,3		
		30	0,86211	1,00740	14,4		
L12	L12/1	3	0,34415	1,02670	66,5	0,076	0,078 ± 0,003
		4	0,56386	1,02670	45,1		
		5	0,64393	1,02670	37,3		
		8	0,82448	1,02670	19,7		
	L12/2	3	0,42839	1,06620	59,8	0,080	
		4	0,58038	1,06620	45,6		
		5	0,70756	1,06620	33,6		
		8	0,83461	1,06620	21,7		
S12	S12/1	25	0,27992	1,09080	74,3	0,029	0,029 ± 0,000
		40	0,42499	1,09080	61,0		
		55	0,61947	1,09080	43,2		
		70	0,63204	1,09080	42,1		
	S12/2	25	0,26727	1,04120	74,3	0,029	
		40	0,39912	1,04120	61,7		
		55	0,61234	1,04120	41,2		
		70	0,62845	1,04120	39,6		

Preglednica 12: Rezultati DPPH\* testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
<b>L13</b>	L13/1	1	0,25434	1,04520	75,7	0,099	0,095 ± 0,006
		1,5	0,42077	1,04520	59,7		
		2	0,66347	1,04520	36,5		
		5	0,86353	1,04520	17,4		
	L13/2	1	0,25863	1,03470	75,0	0,090	
		1,5	0,44097	1,03470	57,4		
		2	0,56628	1,03470	45,3		
		5	0,83162	1,03470	19,6		
<b>S13</b>	S13/1	5	0,21093	1,06290	80,2	0,048	0,049 ± 0,002
		10	0,41847	1,06290	60,6		
		20	0,65974	1,06290	37,9		
		30	0,78449	1,06290	26,2		
	S13/2	5	0,23879	1,06900	77,7	0,050	
		10	0,45263	1,06900	57,7		
		20	0,67104	1,06900	37,2		
		30	0,76966	1,06900	28,0		
<b>L15</b>	L1/1					na*	
	L1/2						
<b>S15</b>	S15/1	20	0,30528	1,09170	72,0	0,034	0,033 ± 0,001
		30	0,47554	1,09170	56,4		
		40	0,58143	1,09170	46,7		
		50	0,68146	1,09170	37,6		
	S15/2	20	0,32540	1,11480	70,8	0,032	
		30	0,48806	1,11480	56,2		
		40	0,58479	1,11480	47,5		
		50	0,67149	1,11480	39,8		

na\*- vzorec ni bil analiziran

Preglednica 13: Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

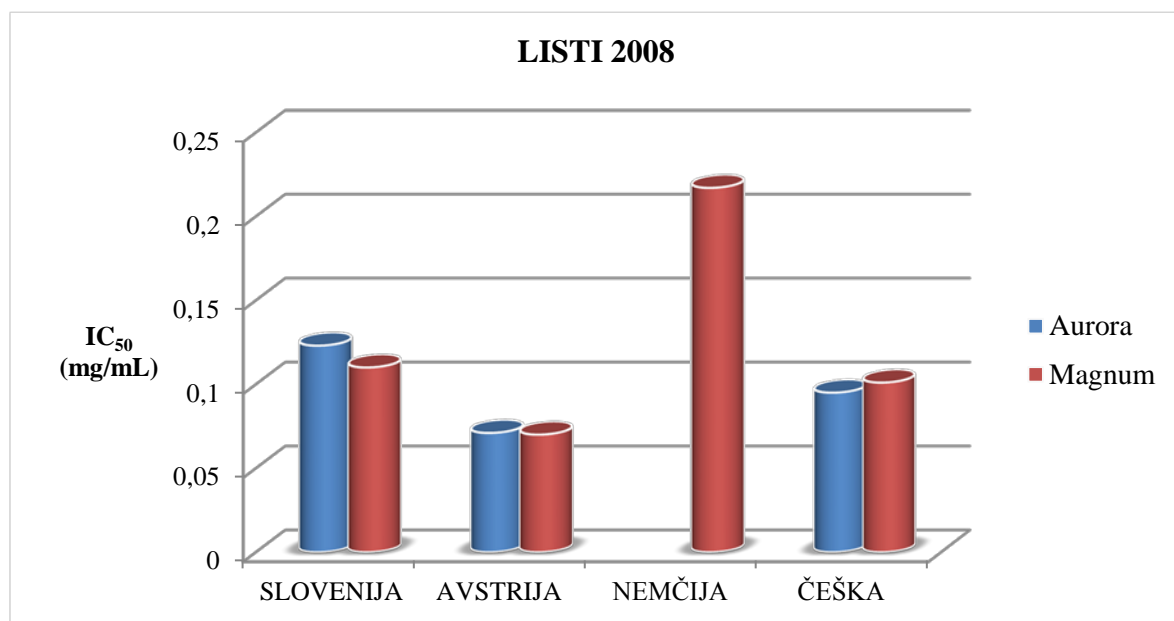
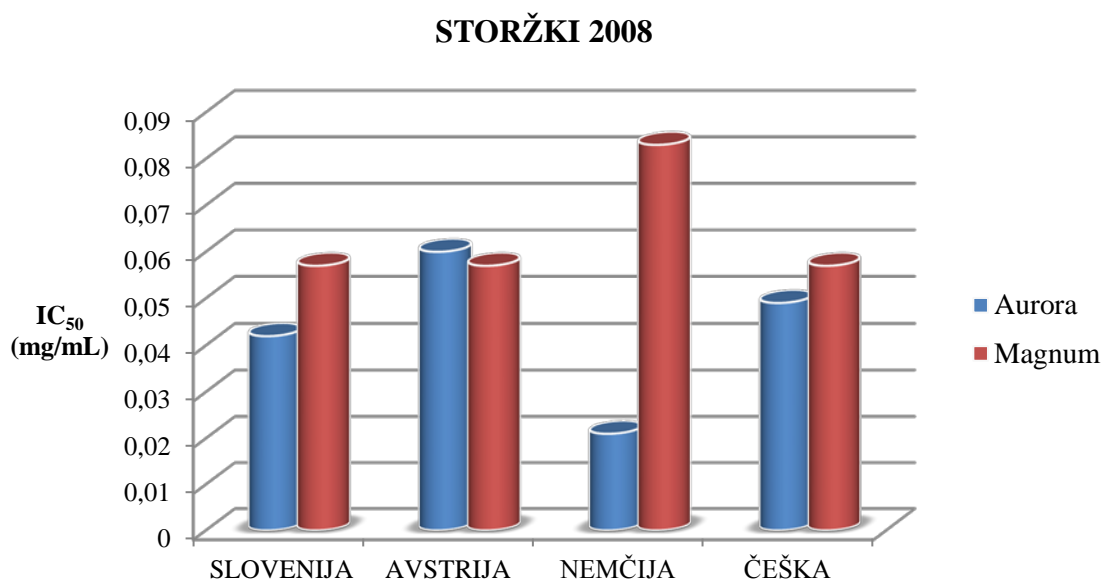
Vzorec		Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$IC_{50}$ (mg/mL)	
<b>L14</b>	L14/1	1	0,2336	1,00690	76,8	0,101	0,101 ± 0,001
		2	0,52675	1,00690	47,7		
		3	0,70043	1,00690	30,4		
		5	0,88056	1,00690	12,5		
	L14/2	1	0,24018	1,02270	76,5	0,100	
		2	0,55613	1,02270	45,6		
		3	0,71569	1,02270	30,0		
		5	0,84737	1,02270	17,1		
<b>S14</b>	S14/1	5	0,28541	1,00690	71,7	0,060	0,057 ± 0,004
		10	0,42227	1,00690	58,1		
		20	0,66422	1,00690	34,0		
		30	0,79175	1,00690	21,4		
	S14/2	5	0,28335	1,01940	72,2	0,054	
		10	0,4033	1,01940	60,4		
		20	0,64407	1,01940	36,8		
		30	0,74912	1,01940	26,5		
<b>L16</b>	L16/1	1	0,16015	1,02950	84,4	0,257	0,261 ± 0,006
		3	0,23455	1,02950	77,2		
		5	0,50718	1,02950	50,7		
		8	0,70264	1,02950	31,7		
	L16/2	1	0,17087	1,01670	83,2	0,265	
		3	0,24553	1,01670	75,9		
		5	0,49885	1,01670	50,9		
		8	0,69431	1,01670	31,7		
<b>S16</b>	S16/1	30	0,27027	1,02950	73,7	0,027	0,027 ± 0,000
		45	0,46121	1,02950	55,2		
		60	0,58392	1,02950	43,3		
		70	0,6466	1,02950	37,2		
	S16/2	30	0,29252	1,01670	71,2	0,028	
		45	0,47951	1,01670	52,8		
		60	0,53539	1,01670	47,3		
		70	0,64211	1,01670	36,8		

V preglednici 14 so zbrani rezultati DPPH• testa urejeni po velikosti od najbolj do najmanj učinkovitega antioksidanta.

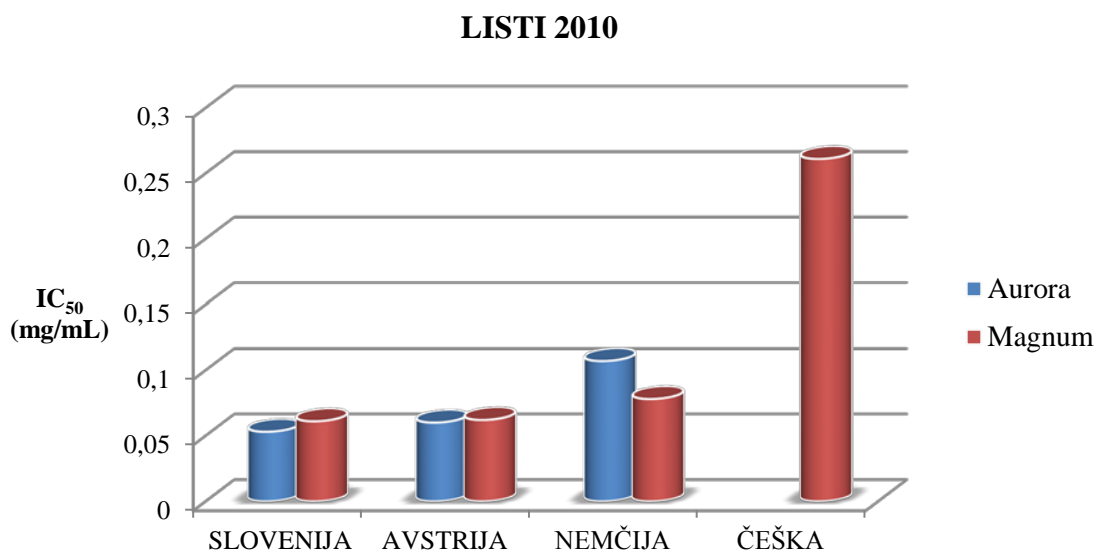
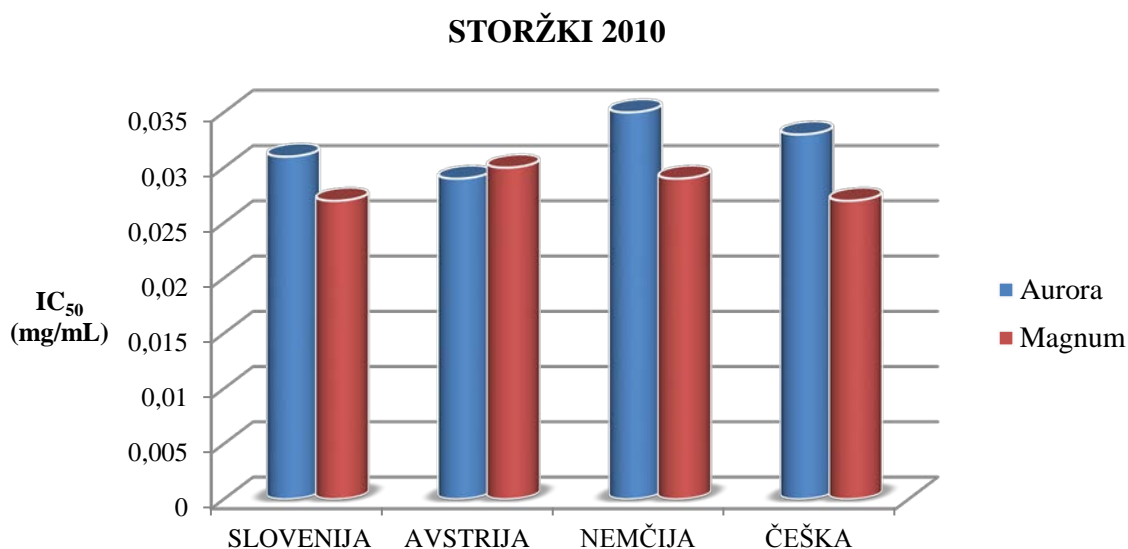
Preglednica 14: Rezultati DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) hmelja urejeni po antioksidativni učinkovitosti od najbolj do najmanj učinkovitega antioksidanta

Vzorec	
S9	0,021 ± 0,001
S4	0,027 ± 0,004
S16	0,027 ± 0,000
S7	0,029 ± 0,003
S12	0,029 ± 0,000
S8	0,030 ± 0,001
S3	0,031 ± 0,000
S15	0,033 ± 0,001
S11	0,035 ± 0,001
S1	0,042 ± 0,007
S13	0,049 ± 0,002
L3	0,053 ± 0,000
S2	0,057 ± 0,001
S6	0,057 ± 0,001
S14	0,057 ± 0,004
S5	0,060 ± 0,002
L7	0,060 ± 0,002
L4	0,061 ± 0,010
L8	0,062 ± 0,000
L6	0,070 ± 0,004
L5	0,071 ± 0,004
L12	0,078 ± 0,003
S10	0,083 ± 0,014
L13	0,095 ± 0,006
L14	0,101 ± 0,001
L11	0,107 ± 0,009
L2	0,110 ± 0,026
L1	0,123 ± 0,005
L10	0,217 ± 0,006
L16	0,261 ± 0,006
L15	na*
L9	na*

na\*- vzorec ni bil analiziran

Slika 10: Vrednost  $IC_{50}$  za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008Slika 11: Vrednost  $IC_{50}$  za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008

Kot najboljši antioksidanti iz leta 2008 (slika 10) in izmed vseh analiziranih ekstraktov so se izkazali storžki sorte Aurora nemškega porekla (S9), saj so "porabili" najmanj FS za dosego enakega rezultata kot ostali ekstrakti; t.j. 50 % inhibicijo DPPH<sup>•</sup> radikala, in sicer 0,021 mg/mL. Največjo koncentracijo FS, potrebnih za 50 % inhibicijo DPPH<sup>•</sup> radikala pa so potrebovali listi nemškega porekla, sorte Magnum (L10) in to kar 0,217 mg/mL (slika 10).

Slika 12: Vrednost  $IC_{50}$  za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010Slika 13: Vrednost  $IC_{50}$  za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010

Najboljša ekstrakta iz leta 2010 in s tem tudi antioksidativno najbolj učinkovita sta bila ekstrakta storžkov iz Češke (S16) in Slovenije (S4) sorte Magnum (slika 13). Pri obema je inhibitorna koncentracija ( $IC_{50}$ ) znašala 0,027 mg/mL. Ekstrakt listov češkega porekla sorte Magnum je za 50 % inhibicijo DPPH<sup>•</sup> radikala "porabil" 0,261 mg/mL fenolnih spojin in se izkazal za antioksidativno najmanj učinkovitega (slika 12).

V literaturi lahko najdemo znanstvene objave na temo antioksidativne učinkovitosti hmelja in hmeljnih proizvodov, pomembnih predvsem za pivovarstvo. Avtorji večinoma navajajo rezultate na podlagi raziskav hmelja na različnih stopnjah hmeljenja pri procesu proizvodnje piva ali pa primerjajo vsebnost fenolnih spojin v ekstraktih svežega in posušenega hmelja, izgubo fenolnih spojin med shranjevanjem, skladiščenjem, briketiranjem... Raziskave, kjer bi pridobili ekstrakte in jih tudi analizirali na enak način

kot mi, ter objava rezultatov kot vrednost  $IC_{50}$  v literaturnih podatkih ni na voljo. Pa vendarle so antioksidativno učinkovitost z radikalom ABTS<sup>•</sup> določali Kowalczyk in sod. (2013). Primerjali so antioksidativno učinkovitost ekstraktov storžkov in peletov hmelja sorte Magnum in Marynka poljskega porekla v različnih ekstrakcijskih topilih: etanolu, metanolu in vodi. Ugotovili so, da je najboljša topilo etanol, saj so v etanolnih ekstraktih določili največ ekstrahiranih FS ter najmanjšo vrednost  $IC_{50}$  v preiskovanih vzorcih, in sicer med 1,58 in 2,07 mg/mL, kar je veliko več v primerjavi z našimi rezultati. Kot boljši "lovilec" prostih radikalov se je izkazal kultivar Marynka, kar pojasnjujejo z dejstvom, da ima večjo vsebnost fenolnih spojin (Kowalczyk in sod., 2013).

Avtorji objavljajo rezultate DPPH<sup>•</sup> testa, vendar je težava, ker ni poenotenega dogovora o izražanju rezultatov, zato prihaja do neprimerljivih rezultatov med raziskavami. Temu bi se lahko izognili, če bi obstajal dogovor o enotnem izražanju rezultatov.

Našemu eksperimentu podobno raziskavo so izvedli Krofta in sod. (2008). Raziskovali so antioksidativno učinkovitost hmelja in hmeljnih proizvodov z DPPH<sup>•</sup> testom. Med preiskovanimi vzorci sta bili tudi sorti hmelja Magnum iz Nemčije in Aurora iz Slovenije. Antioksidativno učinkovitost so izrazili v procentih kot relativni padec koncentracije DPPH<sup>•</sup>. Vrednosti so variirale med 40 in 60 %. Ugotovili se tudi, da je antioksidativna učinkovitost hmelja iz različnih let približno enaka. Med sortami je najvišjo antioksidativno učinkovitost izkazala sorta nemškega porekla Spalter Select (Krofta in sod., 2008).

#### 4.2 ANALIZA SPOSOBNOSTI REDUKCIJE

S t. i. FRAP testom (Ferric Reducing Antioxidant Power) smo hoteli ugotoviti kako dobri reducenti so preiskovani ekstrakti. Podatki in rezultati meritev so zbrani v preglednicah od 15 do 21.

Po analizi vseh ekstraktov smo izmerjene absorbance vnesli v program Microsoft Office Excel in najprej izračunali maso fenolnih spojin v začetni reakcijski mešanici. Za analizo smo odvzeli samo 2,5 mL supernatanta po centrifugiranju in zato izračunali končno masno koncentracijo FS v reakcijski mešanici ( $\gamma FS_k$ ) na naslednji način:

$$\gamma FS_k$$



Kot najboljši reducenti so se izkazali listi sorte Aurora češkega porekla iz leta 2010 (L15) z vrednostjo naklona premice 0,206 mL/ $\mu$ g. Fenolne spojine iz tega ekstrakta imajo sposobnost reducirati 0,206 mL/ $\mu$ g železovih ionov v 25 minutah. Najslabšo sposobnost redukcije med listi imajo listi slovenskega porekla iz leta 2008 sorte Magnum (L2), ki so v 25 minutah reducirali 0,087 mL/ $\mu$ g železovih ionov.

V splošnem so se kot boljši reducenti izkazali listi iz leta 2010, prednjači sorta Aurora, po geografskem poreklu pa Češka, sledi ji Avstrija. Najboljši reducenti med storžki so storžki iz leta 2010 sorte Aurora češkega porekla (S15). Ekstrakt le-teh je v 25 minutah izkazal sposobnost redukcije 0,112 mL/ $\mu$ g železovih ionov. Ekstrakt storžkov sorte Magnum nemškega porekla (S10) iz leta 2008 je v 25 minutah reduciral le 0,069 mL/ $\mu$ g železovih ionov in se s tem izkazal kot najslabši reducent med vsemi vzorci.

Preglednica 15: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

Vzorec			$V_{\text{(ekstrakt)}}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
L1	L1/1	0,13245	100	21,3938	1,11426	0,0980 ± 0,0014
		0,23584	200	42,7876	2,22852	
		0,33396	300	64,1814	3,34278	
		0,4388	400	85,5752	4,45704	
		0,5391	500	106,969	5,57130	
	L1/2	0,14058	100	21,5239	1,12104	
		0,24494	200	43,0478	2,24207	
		0,34346	300	64,5717	3,36311	
		0,44455	400	86,0956	4,48415	
		0,51919	500	107,6195	5,60518	
S1	S1/1	0,15234	30	28,21878	1,46973	0,0820 ± 0,0022
		0,28441	60	56,43756	2,93946	
		0,39631	90	84,65634	4,40918	
		0,50376	120	112,8751	5,87891	
		0,57511	150	141,0939	7,34864	
	S1/2	0,14767	30	29,29449	1,52575	
		0,27093	60	58,58898	3,05151	
		0,39108	90	87,88347	4,57726	
		0,48507	120	117,178	6,10302	
		0,5983	150	146,4725	7,62877	
L3	L3/1	0,15111	100	43,7136	2,27675	0,0883 ± 0,0026
		0,28824	200	87,4272	4,55350	
		0,5595	300	131,1408	6,83025	
		0,73712	400	174,8544	9,10700	
		1,0954	500	218,568	11,38375	
	L3/2	0,15473	100	42,2934	2,20278	
		0,28774	200	84,5868	4,40556	
		0,54324	300	126,8802	6,60834	
		0,82995	400	169,1736	8,81113	
		1,07303	500	211,467	11,01391	
S3	S3/1	0,25623	30	40,27329	2,09757	0,0893 ± 0,0069
		0,47551	60	80,54658	4,19513	
		0,66098	90	120,8199	6,29270	
		0,79972	120	161,0932	8,39027	
		0,91994	150	201,3665	10,48784	
	S3/2	0,23615	30	40,73205	2,12146	
		0,41982	60	81,4641	4,24292	
		0,57889	90	122,1962	6,36438	
		0,7253	120	162,9282	8,48584	
		0,8181	150	203,6603	10,60730	

Preglednica 16: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

Vzorec			$V_{(\text{ekstrakt})}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
L2	L2/1	0,12698	100	25,6357	1,33519	0,0873 ± 0,0019
		0,23344	200	51,2714	2,67039	
		0,32943	300	76,9071	4,00558	
		0,47228	400	102,5428	5,34077	
		0,59998	500	128,1785	6,67596	
	L2/2	0,10492	100	21,7637	1,13353	
		0,20035	200	43,5274	2,26705	
		0,28346	300	65,2911	3,40058	
		0,39117	400	87,0548	4,53410	
		0,49533	500	108,8185	5,66763	
S2	S2/1	0,12372	30	31,74771	1,65353	0,0713 ± 0,0032
		0,24256	60	63,49542	3,30705	
		0,37205	90	95,24313	4,96058	
		0,47952	120	126,9908	6,61411	
		0,59579	150	158,7386	8,26763	
	S2/2	0,1331	30	31,48122	1,63965	
		0,24232	60	62,96244	3,27929	
		0,35532	90	94,44366	4,91894	
		0,46217	120	125,9249	6,55859	
		0,55668	150	157,4061	8,19823	
L4	L4/1	0,14605	100	25,9214	1,35007	0,1053 ± 0,0030
		0,29257	200	51,8428	2,70015	
		0,40381	300	77,7642	4,05022	
		0,58083	400	103,6856	5,40029	
		0,7468	500	129,607	6,75036	
	L4/2	0,12792	100	25,5608	1,33129	
		0,2806	200	51,1216	2,66258	
		0,38127	300	76,6824	3,99388	
		0,55025	400	102,2432	5,32517	
		0,7087	500	127,804	6,65646	
S4	S4/1	0,20743	30	38,41767	2,00092	0,0805 ± 0,0054
		0,3988	60	76,83534	4,00184	
		0,53712	90	115,253	6,00276	
		0,69932	120	153,6707	8,00368	
		0,8042	150	192,0884	10,00460	
	S4/2	0,22885	30	40,87938	2,12913	
		0,3772	60	81,75876	4,25827	
		0,50977	90	122,6381	6,38740	
		0,66081	120	163,5175	8,51654	
		0,75715	150	204,3969	10,64567	

Preglednica 17: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

Vzorec			$V_{(\text{ekstrakt})}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
L5	L5/1	0,17567	100	26,2176	1,36550	0,1060 ± 0,0097
		0,33742	200	52,4352	2,73100	
		0,462485	300	78,6528	4,09650	
		0,632215	400	104,8704	5,46200	
		0,768325	500	131,088	6,82750	
	L5/2	0,145855	100	25,8428	1,34598	
		0,268345	200	51,6856	2,69196	
		0,394995	300	77,5284	4,03794	
		0,536685	400	103,3712	5,38392	
		0,6599	500	129,214	6,72990	
S5	S5/1	0,106615	30	24,50037	1,27606	0,0700 ± 0,0041
		0,195785	60	49,00074	2,55212	
		0,269075	90	73,50111	3,82818	
		0,35208	120	98,00148	5,10424	
		0,43331	150	122,50185	6,38030	
	S5/2	0,10236	30	23,36076	1,21671	
		0,19454	60	46,72152	2,43341	
		0,267205	90	70,08228	3,65012	
		0,34722	120	93,44304	4,86683	
		0,41383	150	116,8038	6,08353	
L7	L7/1	0,2309	100	38,0144	1,97992	0,1088 ± 0,0029
		0,44856	200	76,0288	3,95983	
		0,612765	300	114,0432	5,93975	
		0,854595	400	152,0576	7,91967	
		1,057	500	190,072	9,89958	
	L7/2	0,26665	100	37,8634	1,97205	
		0,50337	200	75,7268	3,94410	
		0,589405	300	113,5902	5,91616	
		0,90978	400	151,4536	7,88821	
		1,0802	500	189,317	9,86026	
S7	S7/1	0,35287	30	52,58268	2,73868	0,0910 ± 0,0032
		0,56913	60	105,16536	5,47736	
		0,781495	90	157,74804	8,21604	
		0,949775	120	210,33072	10,95473	
		1,14655	150	262,9134	13,69341	
	S7/2	0,342095	30	51,43776	2,67905	
		0,61164	60	102,87552	5,35810	
		0,811875	90	154,31328	8,03715	
		0,99402	120	205,75104	10,71620	
		1,17005	150	257,1888	13,39525	

Preglednica 18: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

Vzorec			$V_{\text{(ekstrakt)}}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
<b>L6</b>	L6/1	0,176415	100	33,4282	1,74105	0,1045 ± 0,0053
		0,35856	200	66,8564	3,48210	
		0,51369	300	100,2846	5,22316	
		0,702725	400	133,7128	6,96421	
		0,87658	500	167,141	8,70526	
	L6/2	0,1849	100	32,167	1,67536	
		0,378585	200	64,334	3,35073	
		0,550745	300	96,501	5,02609	
		0,748815	400	128,668	6,70146	
		0,899475	500	160,835	8,37682	
<b>S6</b>	S6/1	0,185555	60	43,62432	2,27210	0,0788 ± 0,0029
		0,272485	90	65,43648	3,40815	
		0,357365	120	87,24864	4,54420	
		0,44012	150	109,0608	5,68025	
		0,56774	200	145,4144	7,57367	
	S6/2	0,200535	60	44,88618	2,33782	
		0,293645	90	67,32927	3,50673	
		0,39234	120	89,77236	4,67564	
		0,48245	150	112,21545	5,84455	
		0,61432	200	149,6206	7,79274	
<b>L8</b>	L8/1	0,212875	100	41,4058	2,15655	0,1033 ± 0,0062
		0,45292	200	82,8116	4,31310	
		0,57927	300	124,2174	6,46966	
		0,71937	350	144,9203	7,54793	
		0,909055	400	165,6232	8,62621	
	L8/2	0,24933	100	41,2541	2,14865	
		0,503115	200	82,5082	4,29730	
		0,636445	300	123,7623	6,44595	
		0,782855	350	144,38935	7,52028	
		1,00224	400	165,0164	8,59460	
<b>S8</b>	S8/1	0,26373	30	42,90939	2,23486	0,0923 ± 0,0062
		0,49705	60	85,81878	4,46973	
		0,691625	90	128,72817	6,70459	
		0,8729	120	171,63756	8,93946	
		1,019475	150	214,54695	11,17432	
	S8/2	0,28818	30	44,00238	2,29179	
		0,49158	60	88,00476	4,58358	
		0,629465	90	132,00714	6,87537	
		0,80122	120	176,00952	9,16716	
		0,945165	150	220,0119	11,45895	

Preglednica 19: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

Vzorec		$V_{(ekstrakt)}$	$m_{FSz} (\mu g)$	$\gamma_{FSk} (\mu g/ml)$		
L9					na*	
S9	S9/1	0,15898	30	29,16408	0,0850 ± 0,0037	
		0,27312	60	58,32816		
		0,38829	90	87,49224		
		0,504305	120	116,65632		
		0,61805	150	145,8204		
	S9/2	0,171945	30	31,25175		
		0,254875	60	62,5035		
		0,44076	90	93,75525		
		0,567505	120	125,007		
L11	L11/1	0,191795	100	27,0712	0,1175 ± 0,0070	
		0,381335	200	54,1424		
		0,51192	300	81,2136		
		0,705555	400	108,2848		
		0,854135	500	135,356		
	L11/2	0,186875	100	26,0003		
		0,341365	200	52,0006		
		0,48296	300	78,0009		
		0,598925	400	104,0012		
		0,729665	500	130,0015		
S11	S11/1	0,302185	30	45,25284	0,0970 ± 0,0029	
		0,50922	60	90,50568		
		0,73145	90	135,75852		
		0,92447	120	181,01136		
		1,07425	150	226,2642		
	S11/2	0,271015	30	43,67865		
		0,500925	60	87,3573		
		0,710005	90	131,03595		
		0,89027	120	174,7146		
		1,05525	150	218,39325		

na\*- vzorec ni bil analiziran

Preglednica 20: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

Vzorec			$V_{\text{(ekstrakt)}}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
<b>L10</b>	L10/1	0,121665	100	21,1645	1,10232	0,0945 ± 0,0013
		0,24245	200	42,329	2,20464	
		0,315685	300	63,4935	3,30695	
		0,4095	400	84,658	4,40927	
		0,501325	500	105,8225	5,51159	
	L10/2	0,137055	100	20,0319	1,04333	
		0,21595	200	40,0638	2,08666	
		0,311335	300	60,0957	3,12998	
		0,371185	400	80,1276	4,17331	
		0,501895	500	100,1595	5,21664	
<b>S10</b>	S10/1	0,11446	30	27,72156	1,44383	0,0685 ± 0,0024
		0,222605	60	55,44312	2,88766	
		0,31361	90	83,16468	4,33149	
		0,406985	120	110,88624	5,77533	
		0,496365	150	138,6078	7,21916	
	S10/2	0,10729	30	24,93756	1,29883	
		0,187615	60	49,87512	2,59766	
		0,265345	90	74,81268	3,89649	
		0,35356	120	99,75024	5,19533	
		0,42513	150	124,6878	6,49416	
<b>L12</b>	L12/1	0,20143	100	30,9908	1,61410	0,1048 ± 0,0067
		0,369855	200	61,9816	3,22821	
		0,511725	300	92,9724	4,84231	
		0,71982	400	123,9632	6,45642	
		0,894535	500	154,954	8,07052	
	L12/2	0,15951	100	29,1479	1,51812	
		0,31701	200	58,2958	3,03624	
		0,46582	300	87,4437	4,55436	
		0,611935	400	116,5916	6,07248	
		0,73238	500	145,7395	7,59060	
<b>S12</b>	S12/1	0,25995	30	47,09025	2,45262	0,0765 ± 0,0070
		0,43506	60	94,1805	4,90523	
		0,57113	90	141,27075	7,35785	
		0,68979	120	188,361	9,81047	
		0,8108	150	235,45125	12,26309	
	S12/2	0,27904	30	46,4118	2,41728	
		0,484625	60	92,8236	4,83456	
		0,634885	90	139,2354	7,25184	
		0,8069	120	185,6472	9,66913	
		0,909985	150	232,059	12,08641	

Preglednica 21: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

Vzorec			$V_{\text{(ekstrakt)}}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
<b>L13</b>	L13/1	0,14393	100	21,4601	1,11771	0,1168 ± 0,0177
		0,25949	200	42,9202	2,23543	
		0,34083	300	64,3803	3,35314	
		0,45963	400	85,8404	4,47085	
		0,55557	500	107,3005	5,58857	
	L13/2	0,14243	100	20,9622	1,09178	
		0,3175	200	41,9244	2,18356	
		0,43466	300	62,8866	3,27534	
		0,57278	400	83,8488	4,36713	
		0,70605	500	104,811	5,45891	
<b>S13</b>	S13/1	0,14396	30	24,39135	1,27038	0,0853 ± 0,0102
		0,2694	60	48,7827	2,54077	
		0,37649	90	73,17405	3,81115	
		0,47763	120	97,5654	5,08153	
		0,57265	150	121,95675	6,35191	
	S13/2	0,12225	30	24,72855	1,28795	
		0,22448	60	49,4571	2,57589	
		0,31635	90	74,18565	3,86384	
		0,38942	120	98,9142	5,15178	
		0,48268	150	123,64275	6,43973	
<b>L15</b>	L15/1	0,16662	100	9,8435	0,51268	0,2055 ± 0,0035
		0,27355	200	19,687	1,02536	
		0,35996	300	29,5305	1,53805	
		0,40671	400	39,374	2,05073	
		0,47793	500	49,2175	2,56341	
	L15/2	0,193	100	9,9552	0,51850	
		0,26068	200	19,9104	1,03700	
		0,36721	300	29,8656	1,55550	
		0,42454	400	39,8208	2,07400	
		0,4685	500	49,776	2,59250	
<b>S15</b>	S15/1	0,2449	30	38,1897	1,98905	0,1118 ± 0,0131
		0,43797	60	76,3794	3,97809	
		0,6139	90	114,5691	5,96714	
		0,85197	120	152,7588	7,95619	
		0,93753	150	190,9485	9,94523	
	S15/2	0,23973	30	37,41879	1,94890	
		0,4914	60	74,83758	3,89779	
		0,75946	90	112,25637	5,84669	
		0,95266	120	149,67516	7,79558	
		1,177	150	187,09395	9,74448	



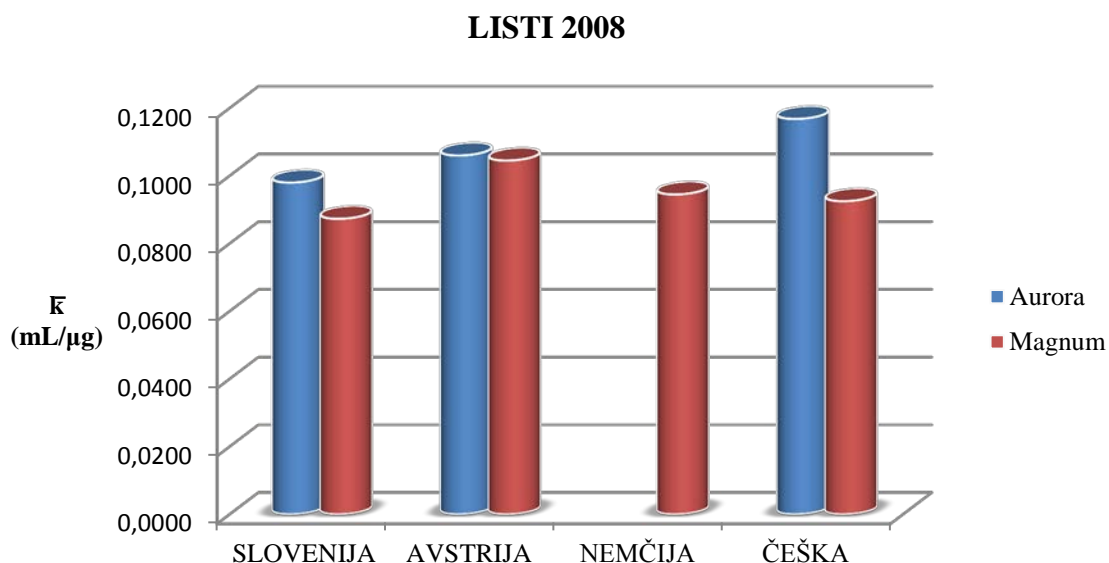
Preglednica 22: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

Vzorec			$V_{\text{(ekstrakt)}}$	$m_{\text{FSz}} (\mu\text{g})$	$\gamma_{\text{FSk}} (\mu\text{g/ml})$	
<b>L14</b>	L14/1	0,1337	100	22,5000	1,17188	0,0925 ± 0,0037
		0,23025	200	45,0000	2,34375	
		0,3261	300	67,5000	3,51563	
		0,44236	400	90,0000	4,68750	
		0,51461	500	112,5000	5,85938	
	L14/2	0,12388	100	22,0506	1,14847	
		0,23481	200	44,1012	2,29694	
		0,3129	300	66,1518	3,44541	
		0,43273	400	88,2024	4,59388	
		0,53666	500	110,253	5,74234	
<b>S14</b>	S14/1	0,12225	30	25,84143	1,34591	0,0740 ± 0,0024
		0,22448	60	51,68286	2,69182	
		0,31635	90	77,52429	4,03772	
		0,38942	120	103,36572	5,38363	
		0,48268	150	129,20715	6,72954	
	S14/2	0,1214	30	25,55139	1,33080	
		0,21208	60	51,10278	2,66160	
		0,30354	90	76,65417	3,99240	
		0,39568	120	102,20556	5,32321	
		0,48787	150	127,75695	6,65401	
<b>L16</b>	L16/1	0,26957	100	35,3343	1,84033	0,1100 ± 0,0054
		0,52981	200	70,6686	3,68066	
		0,65326	300	106,0029	5,52098	
		0,82354	400	141,3372	7,36131	
		1,00725	500	176,6715	9,20164	
	L16/2	0,2036	100	35,3014	1,83861	
		0,40998	200	70,6028	3,67723	
		0,56881	300	105,9042	5,51584	
		0,77379	400	141,2056	7,35446	
		0,98224	500	176,507	9,19307	
<b>S16</b>	S16/1	0,2586	30	43,39449	2,26013	0,0928 ± 0,0049
		0,4881	60	86,78898	4,52026	
		0,69704	90	130,18347	6,78039	
		0,86378	120	173,57796	9,04052	
		1,06055	150	216,97245	11,30065	
	S16/2	0,26002	30	44,46483	2,31588	
		0,4662	60	88,92966	4,63175	
		0,64388	90	133,39449	6,94763	
		0,81639	120	177,85932	9,26351	
			150	222,32415	11,57938	

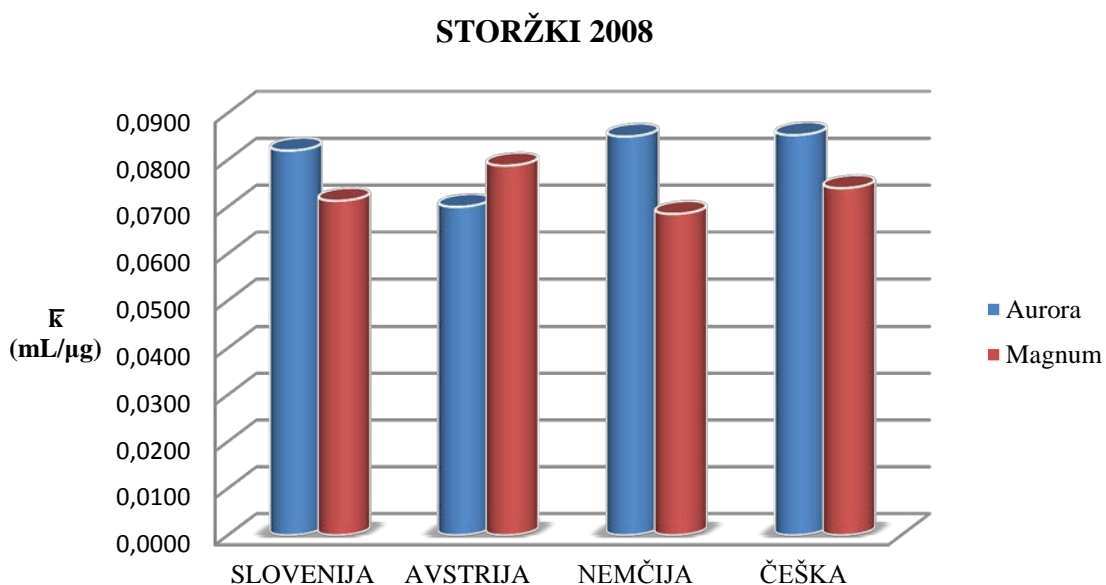
V preglednici 23 so rezultati FRAP testa zbrani in urejeni po velikosti od najbolj do najmanj učinkovitega reducenta.

Preglednica 23: Rezultati FRAP testa listov (L) in storžkov (S) hmelja urejeni po redukcijski sposobnosti od najboljšega do najslabšega reducenta.

Vzorec	
L15	0,2055 ± 0,0035
L11	0,1175 ± 0,0070
L13	0,1168 ± 0,0177
S15	0,1118 ± 0,0131
L16	0,1100 ± 0,0054
L7	0,1088 ± 0,0029
L5	0,1060 ± 0,0097
L4	0,1053 ± 0,0030
L12	0,1048 ± 0,0067
L6	0,1045 ± 0,0053
L8	0,1033 ± 0,0062
L1	0,0980 ± 0,0014
S11	0,0970 ± 0,0029
L10	0,0945 ± 0,0013
S16	0,0928 ± 0,0049
L14	0,0925 ± 0,0037
S8	0,0923 ± 0,0062
S7	0,0910 ± 0,0032
S3	0,0893 ± 0,0069
L3	0,0883 ± 0,0026
L2	0,0873 ± 0,0019
S13	0,0853 ± 0,0102
S9	0,0850 ± 0,0037
S1	0,0820 ± 0,0022
S4	0,0805 ± 0,0054
S6	0,0788 ± 0,0029
S12	0,0765 ± 0,0070
S14	0,0740 ± 0,0024
S2	0,0713 ± 0,0032
S5	0,0700 ± 0,0041
S10	0,0685 ± 0,0024

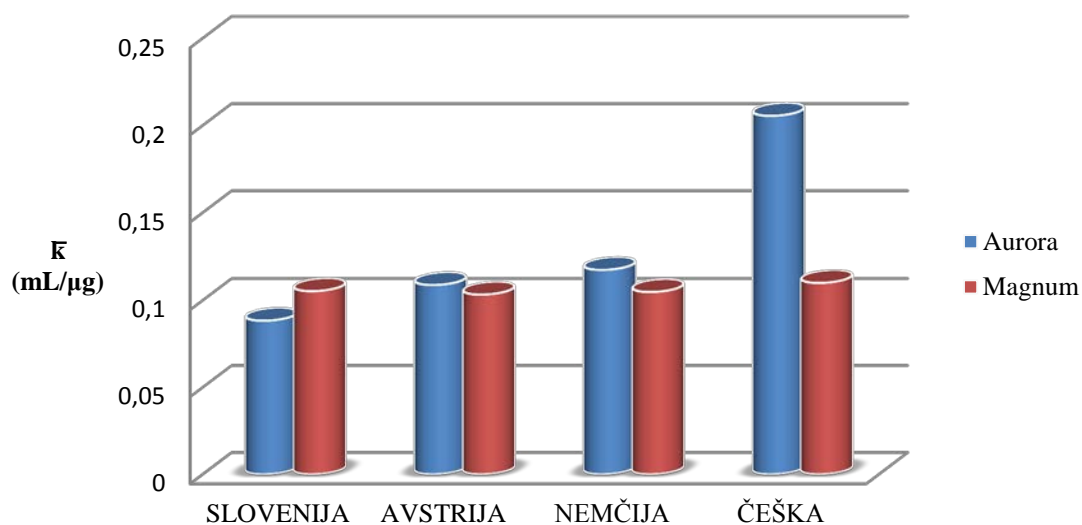


Slika 14: Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008

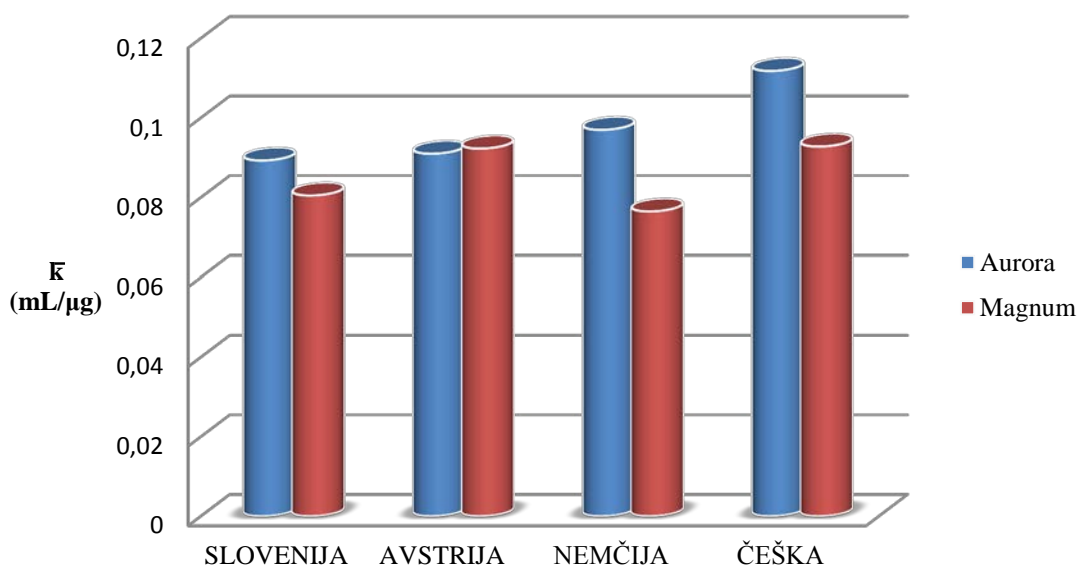


Slika 15: Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2008

Najboljši reducenti med ekstrakti iz leta 2008 so bili listi sorte Aurora češkega porekla (L13) (slika 14). V 25 minutah so reducirali 0,117 mL/μg železovih ionov. Kot najmanj učinkoviti reducenti so se izkazali storžki sorte Magnum iz Nemčije (S10), saj so v 25 minutah reducirali le 0,069 mL/μg železovih ionov (slika 15). Med storžki iz leta 2008 so največjo sposobnost redukcije pokazali storžki sorte Aurora iz Česke (S13) s sposobnostjo redukcije 0,085 mL/μg v 25 minutah (slika 15), kar je še vedno manj kot redukcijsko najmanj sposobni listi izmed vseh vzorcev obeh let; to so bili listi slovenskega porekla sorte Magnum (L2) z vrednostjo 0,087 mL/μg (slika 14).

**LISTI 2010**

Slika 16: Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte listov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010

**STORŽKI 2010**

Slika 17: Rezultati redukcijskega testa za ekstrakte storžkov hmelja sort Aurora in Magnum iz leta 2010

Najbolj redukcijsko sposoben ekstrakt iz leta 2010, ki je v 25 minutah reduciral 0,206 mL/μg železovih ionov je bil ekstrakt listov sorte Aurora Češkega porekla (L15) (slika 16). Najmanj učinkovit ekstrakt med listi, je bila sorta Aurora slovenskega porekla (L3). Reduciral je 0,088 mL/μg železovih ionov v 25 minutah (slika 16). Med storžki iz leta 2010 so bili najboljši reducenti storžki iz Česke sorte Aurora (S15). V 25 minutah so reducirali 0,112 mL/μg železovih ionov in s tem obveljali za najboljše reducente med

vsemi storžki iz obeh let (slika 17). Najslabši reducenti med storžki tega leta so bili storžki sorte Magnum nemškega porekla (S12), ki so v 25 minutah reducirali 0,077 mL/ $\mu$ g železovih ionov (slika 17).

Kot pri DPPH<sup>•</sup> testu tudi pri FRAP testu ni enotnega načina izražanja rezultatov, zato tudi tukaj ni na voljo raziskave, kjer bi rezultat izrazili kot naklon premice in s katero bi lahko primerjali naše rezultate. Kowalczyk in sod. (2013) so določali redukcijsko sposobnost storžkov in peletov hmelja sort Magnum in Marynka poljskega porekla v različnih ekstrakcijskih topilih. Rezultate so izrazili na enak način kot pri ABTS<sup>•</sup> testu in sicer kot vrednost IC<sub>50</sub>. Kultivar Marynka se je izkazal za boljšega reducenta, kar pripisujejo večji vsebnosti skupnih FS. Vrednosti so se gibale med 0,46 in 0,68 mg/mL. Ugotovili so, da je voda (pri 40°C) neučinkovito topilo za ekstrakcijo FS iz hmelja in peletov hmelja (Kowalczyk in sod., 2013).

Če primerjamo DPPH<sup>•</sup> in FRAP test, lahko razumemo definicijo antioksidantov, kot lovilcev prostih radikalov ali tvorcev kelatov s kovinskimi ioni ali preprečevalcev oksidativnih sprememb v živilih, kar je razvidno iz rezultatov; najbolj učinkoviti antioksidanti niso nujno najboljši reducenti in obratno. Vprašanje je, koliko so fenolne spojine v hmelju zaslužne za sposobnost redukcije; L15 imajo izmed vseh analiziranih ekstraktov najmanjšo masno koncentracijo FS (0,099 mg/mL), kljub temu, da so se izkazali kot redukcijsko najsposobnejši (preglednici 5 in 23). Na žalost nam DPPH<sup>•</sup> testa na tem vzorcu ni uspelo izvesti, za kar je najverjetnejši krivec majhna koncentracija FS. Visoko, vendar ne najvišjo koncentracijo FS ima najbolj antioksidativno učinkovit vzorec, S9 (preglednici 5 in 14). Pri FRAP testu se taisti vzorec ni izkazal, saj je v zadnji tretjini med ekstrakti, razvrščenimi po redukcijski sposobnosti od najboljšega do najslabšega (preglednica 23).

## 5 SKLEPI

Na podlagi opravljenih analiz v okviru diplomskega dela lahko zaključimo:

- hmelj vsebuje fenolne spojine (FS),
- razlike v vsebnosti FS so lahko posledica različnega geografskega porekla in leta pridelave hmelja,
- storžki hmelja vsebujejo več FS kot listi hmelja,
- masna koncentracija FS je premosorazmerno povezana z antioksidativno učinkovitostjo hmelja,
- storžki hmelja imajo boljšo sposobnost lovljenja prostih radikalov kot listi hmelja,
- sorta hmelja ne vpliva bistveno na antioksidativno učinkovitost hmelja,
- država porekla hmelja nekoliko vpliva na antioksidativno učinkovitost hmelja,
- leto pridelave hmelj nekoliko vpliva na antioksidativno učinkovitost hmelja,
- listi hmelja imajo večjo redukcijsko sposobnost kot storžki hmelja,
- sorta hmelja ne vpliva bistveno na redukcijsko sposobnost hmelja,
- država porekla hmelja nekoliko vpliva na redukcijsko sposobnost hmelja,
- leto pridelave hmelja nekoliko vpliva na redukcijsko sposobnost hmelja,
- masna koncentracija FS je obratnosorazmerno povezana z redukcijsko sposobnostjo hmelja.

## 6 POVZETEK

Hmelj (*Humulus lupulus*) je rastlina, ki uspeva po celotni zemeljski obli v zmernotoplem podnebnem pasu. V Evropi so ga za varjenje piva začeli uporabljati v 8. stoletju, v 21. stoletju pa je hmeljarstvo ena izmed izrazitejših kmetijskih panog. Hmelj se goji z namenom pridobivanja sekundarnih metabolitov, predvsem alfa- in beta-kislin, pivu pa se dodaja zaradi arome, vonja, okusa in stabilnosti. Snovi, pomembne za pivovarstvo se nahajajo v storžkih hmelja, medtem ko so listi hmelja odpadni produkt.

V diplomski nalogi smo določevali antioksidativno učinkovitost in sicer kot sposobnost lovljenja prostih radikalov in kot redukcijsko sposobnost 31 ekstraktom listov in storžkov hmelja iz let 2008 in 2010 sort Aurora in Magnum geografskega porekla iz Slovenije, Avstrije, Nemčije in Češke.

Antioksidativno učinkovitost ekstraktov hmelja smo določali s primerjalnim fotometričnim sledenjem izginjanja barve stabilnega prostega radikala DPPH<sup>•</sup>. Princip metode temelji na redukciji radikala DPPH<sup>•</sup> z antioksidantom, kar ima za posledico zmanjšanje absorbance. Kot rezultat smo podali koncentracijo fenolnih spojin, potrebnih za 50 % inhibicijo DPPH<sup>•</sup> radikala (IC<sub>50</sub>). Nižja je inhibitorna koncentracija, boljši antioksidant je preiskovan vzorec, saj porabi manj FS za 50 % zmanjšanje radikalov DPPH<sup>•</sup>. Antioksidativno najbolj učinkovit je bil ekstrakt storžkov sorte Aurora nemškega porekla iz leta 2008 – poraba FS za 50 % inhibicijo DPPH<sup>•</sup> je bila 0,021 mg/mL FS, kljub temu, da so bili ekstrakti storžkov iz leta 2010 antioksidativno bolj učinkoviti od vseh ostalih ekstraktov. Ekstrakti listov so bili med vsemi vzorci antioksidativno najslabše učinkoviti. Listi sorte Magnum iz Nemčije iz leta 2008 so porabili 0,217 mg/mL FS za 50 % inhibicijo in se izkazali za antioksidativno najmanj učinkovite.

Sposobnost redukcije smo analizirali s t.i. FRAP testom, metodo, katere princip temelji na sposobnosti fenolnih spojin, da reducirajo Fe<sup>3+</sup> v Fe<sup>2+</sup>, ki potem tvorijo obarvan kompleks z reagentom kalijevim heksacianoferatom (II). Obarvan kompleks zasledujemo z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 740 nm. Kot rezultat smo podali povprečje naklonov premice, katere smo izračunali iz regresijske enačbe grafa

## 7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Abram V., Abramovič H., Skrt M., Kač M., Poklar Ulrih N. 2010. Antioksidacijska učinkovitost fenolnih spojin. *Kemija v šoli in družbi*, 22, 2: 14-19
- Abram V., Simčič M. 1997. Fenolne spojine kot antioksidanti. *Farmaceutski vestnik*, 48: 573-589
- Abramovič H., Smole Možina S., Abram V. 2008. Fenolne spojine iz stranskih proizvodov rastlinske predelave-funkcionalni dodatki živilom. V: Stranski proizvodi in odpadki v živilstvu-uporabnost in ekologija. 25. Bitenčevi dnevi, Ljubljana, 17. in 18. april 2008. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 177-188
- Abramovič H. 2011. Antioksidanti in metodologija določanja antioksidativne učinkovitosti. Učbenik za izbirni predmet na interdisciplinarnem doktorskem študijskem programu bioznanosti. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 112 str.
- Alekseeva M. A., Eller K. I., Arzamastsev A. P. 2004. Determining polyphenolic components of common hop by reversed – phase HPLC. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 38, 12: 39-41
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 29 25-30
- Brewer M. S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 221-247
- Chesnokova A.N., Lutskii V.I., Gorshkov A.G. 2009. Prenylated chalcones from *Humulus lupulus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 5: 712-714
- Čeh B., Zmrzlak M. 2012. Spravilo hmelja: Obiranje hmelja. V: Hmelj – od sadike do storžkov. Čeh B. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 105-107



- Čeh B., Kač M., Košir I.J., Abram V. 2007. Relationships between xanthohumol and polyphenol content in hop leaves and hop cones with regard to water supply and cultivar. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 989-1000
- Čerenak A., Ferant N. 2012. Sorte hmelja. V: Hmelj – od sadike do storžkov. Čeh B. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 13-20
- Dale C.J. 1987 Hops and polyphenols. *English hops*: 10-11. Cit. po Donko M., Košir I.J., Kač M. 2003. Polifenoli – pomembni sekundarni metaboliti hmelja – preliminarne raziskave kultivarjev hmelja v Sloveniji. *Hmeljarski bilten*, 10: 31-38
- Ferant N. 2012. Hmelj: Rastlina hmelja. V: Hmelj – od sadike do storžkov. Čeh B. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 13-17
- Ferant N., Košir I.J. 2012. Hmelj: Kemijske lastnosti hmelja. V: Hmelj – od sadike do storžkov. Čeh B. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 20-20
- Gerh ~~äuser C. A. A. Kiss, Knauf, Neumann I., Scherf H.R., Frank N., Bartsch H., Becker H.~~ 2002. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1: 959-969
- Gerh ~~äuser C.~~ 2000. Xanthohumol (Xanthohumol) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49: 827-831
- Hrastar R., Kač M., Košir J.I. 2006. Vpliv sorte in lokacije na vsebnost ksantohumola v hmelju. *Hmeljarski bilten*, 13: 5-12
- IHPS. 2013. Katalog sort hmelja v Sloveniji. Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije: 12 str.  
<http://www.ihps.si> (september 2013)
- Jelinek L., Šneberger M., Karabin M., Dostalek P. 2010. Comparison of Czech hop cultivars based on their contents of secondary metabolites. *Czech Journal of Food Science*, 28, 4: 309-316
- Juntachote T., Berghofer E., Siebenhandl S., Bauer F. 2006. The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72, 3: 446-456

- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Kowalczyk D., Swieca M., Cichoka J., Gawlik-Dzki U. 2013. The phenolic content and antioxidant activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of hops and their pellets. *Journal of the Institute of Brewing*, 119, 3: 103-110
- Kreft I., Škrabanja V., Bonafaccia G. 2000. Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 33-38
- Krofta K., Mikyška A., Haškova D. 2008. Antioxidant characteristics of hops and hop products. *Journal of the Institute of Brewing*, 114, 2: 160-166
- Leitao C., Marchioni E., Bergaentzle M., Zhao M., Didierjean L., Taidi B., Ennahar S. 2011. Effects of processing steps on the phenolic content and antioxidant activity of beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 1249-1255
- Majer D., Virant M., Pavlovič M. 2002. Hmeljarstvo v svetu in pri nas. V: Priročnik za hmeljarje. Majer D. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 17-20
- Majer D., Zmrzlak M., Knapič M. 2002. Obiranje hmelja. V: Priročnik za hmeljarje. Majer D. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 185-194
- Molyneux P. 2003. The use of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26: 211-219
- Pavlovič M. 2012. Mednarodna razsežnost hmeljarstva. V: Hmelj – od sadike do storžkov. Čeh B. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 11-12
- Pavlovič M., Ferant N., Pavlovič V. 2012. Basic characteristics of hop production. *Hmeljarski bilten*, 19: 38-44

- Pavlovič V., Čerenak A., Pavlovič M., Košir I. J., Rozman Č., Bohanec M. 2009. Modeliranje zgodnje napovedi stopnje alfa-kislin pri hmelju (*Humulus lupulus* L.). Hmeljarski bilten, 16: 65-74
- Piendl A., Biendl M. 2000. Physiological significance of ployphenols and hop bitters in beer. Brauwelt International, 18, 4: 310-317
- Rode J., Zmrzlak M., Kovačević M. 2002. Hmeljna rastlina. V: Priročnik za hmeljarje. Majer D. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 21-30
- Roginsky V., Lissi Eduardo A. 2005. Review of methods to determine chain – braking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 92: 235-254
- Schönberger C. 2009. Why cohumulone is better than its reputation. Brauwelt International, 27, 3: 159-160
- Srečec S., Zechner-Krpan V., Petravič-Tominac V., Kozačinski L., Popović M., Čerenak A. 2011. Sekundarni metaboliti hmelja (*Humulus lupulus*) in možnosti uporabe hmelja v prehrani prežvekovalcev. Hmeljarski bilten, 18: 5-13
- Stevens R. 1967. The chemistry of hop constituents. Chemical Reviews, 67, 1: 19-71
- Stevens J. F., Page J.E. 2004. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!. Phytochemistry, 65: 1317-1330
- Stevens J. F., Miranda C. L., Frei B., Buhler D. R. 2003. Inhibition of peroxynitrite-mediated LDL oxidation by prenylated flavonoids: the  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated keto functionality of 2'-hydroxychalcones as a novel antioxidant pharmacophore. Chemical Research in Toxicology, 16: 1277-1286
- Šuštar-Vozlič J., Čerenak A., Ferant N. 2002. Žlahtnjenje hmelja in hmeljni kultivarji. V: Priročnik za hmeljarje. Majer D. (ur.). Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 31-50
- Tabata N., Ito M., Tomoda H., Omura S. 1997. Xanthohumols, diacylglycerol acyltransferase inhibitors from *Humulus lupulus*. Phytochemistry, 46, 4: 683-687

Vidrih R., Kač M. 2000. Analitika antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 101-114

Watson J. 2013. Antioxidant antidote. *New Scientist*, 217, 2908: 28-29

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Nataši Poklar Ulrich za vsestransko pomoč, čas, vodenje in temeljit pregled diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi recenzentu prof. dr. Rajku Vidrihu za svetovanje in temeljit pregled diplomske naloge.

Za razlago in pomoč pri izvedbi eksperimentov, odgovore na vsa vprašanja in svetovanje ter sproti pregled rezultatov se najlepše zahvaljujem ge. Mateji Vidmar.

Prav posebna zahvala gre prof. dr. Veroniki Abram, za ves njen čas, potrpljenje, nasvete, popravke, sprotne preglede diplomske naloge in prijaznost, ki mi jo je izkazala v času nastajanja tega diplomskega dela; najlepša hvala!

Zahvaljujem se ge. Lini Burkan Makivić za pomoč pri urejanju in oblikovanju diplomske naloge.

Iskrena zahvala tudi mojemu bratu Mihaelu, staršema Marjetki in Antonu, stari mami Ivanki in staremu atu Ivanu za vso podporo in pomoč skozi študijska leta.

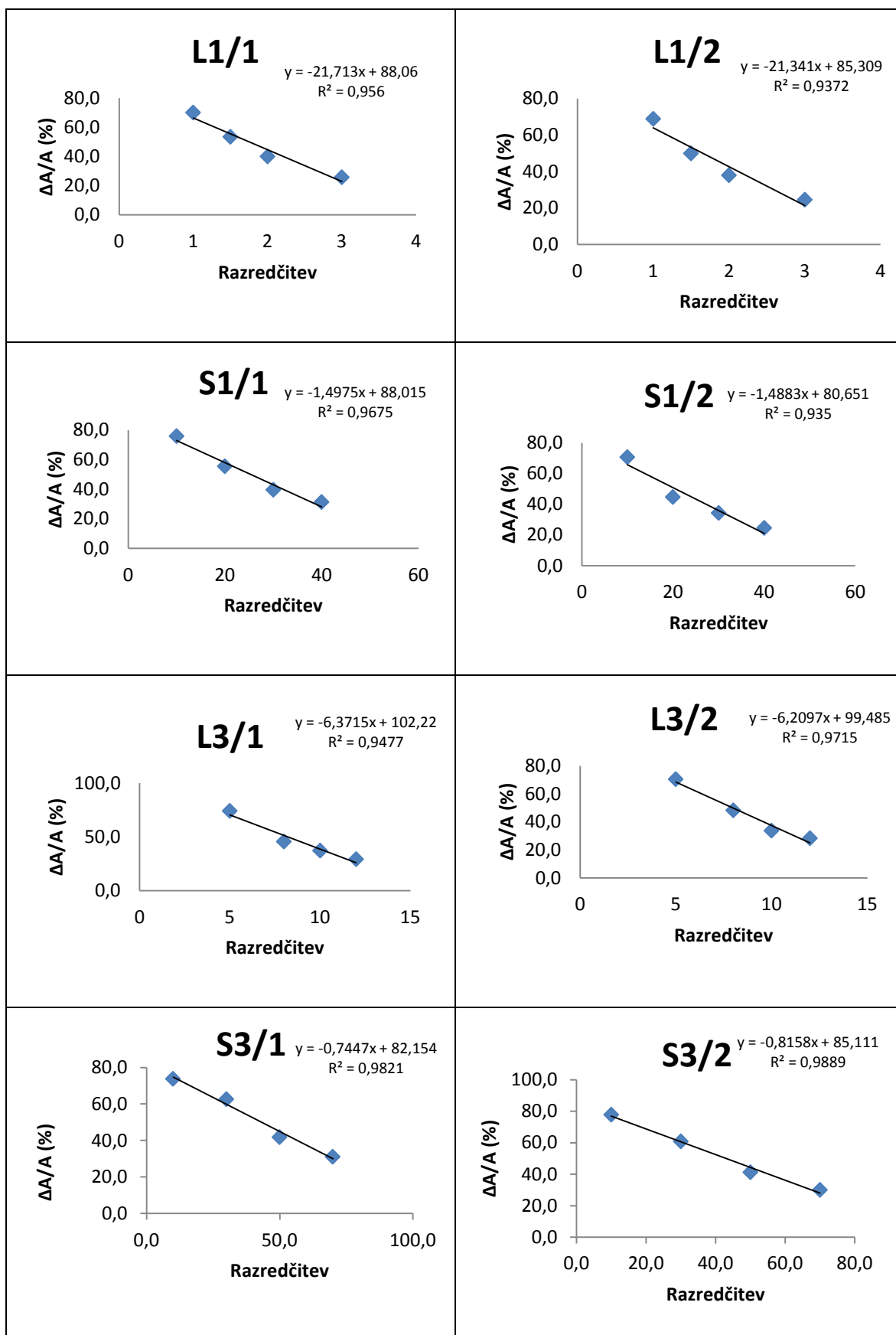
Posebna zahvala gre tudi mojim prijateljicam in prijateljem, sošolkam in sošolcem, ter vsem, ki so me spremljali in bodrili na poti do cilja.

Vsem skupaj še enkrat najlepša hvala!

**PRILOGE****PRILOGA A: Rezultati, meritve in grafi DPPH<sup>•</sup> testa**

Priloga A1: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

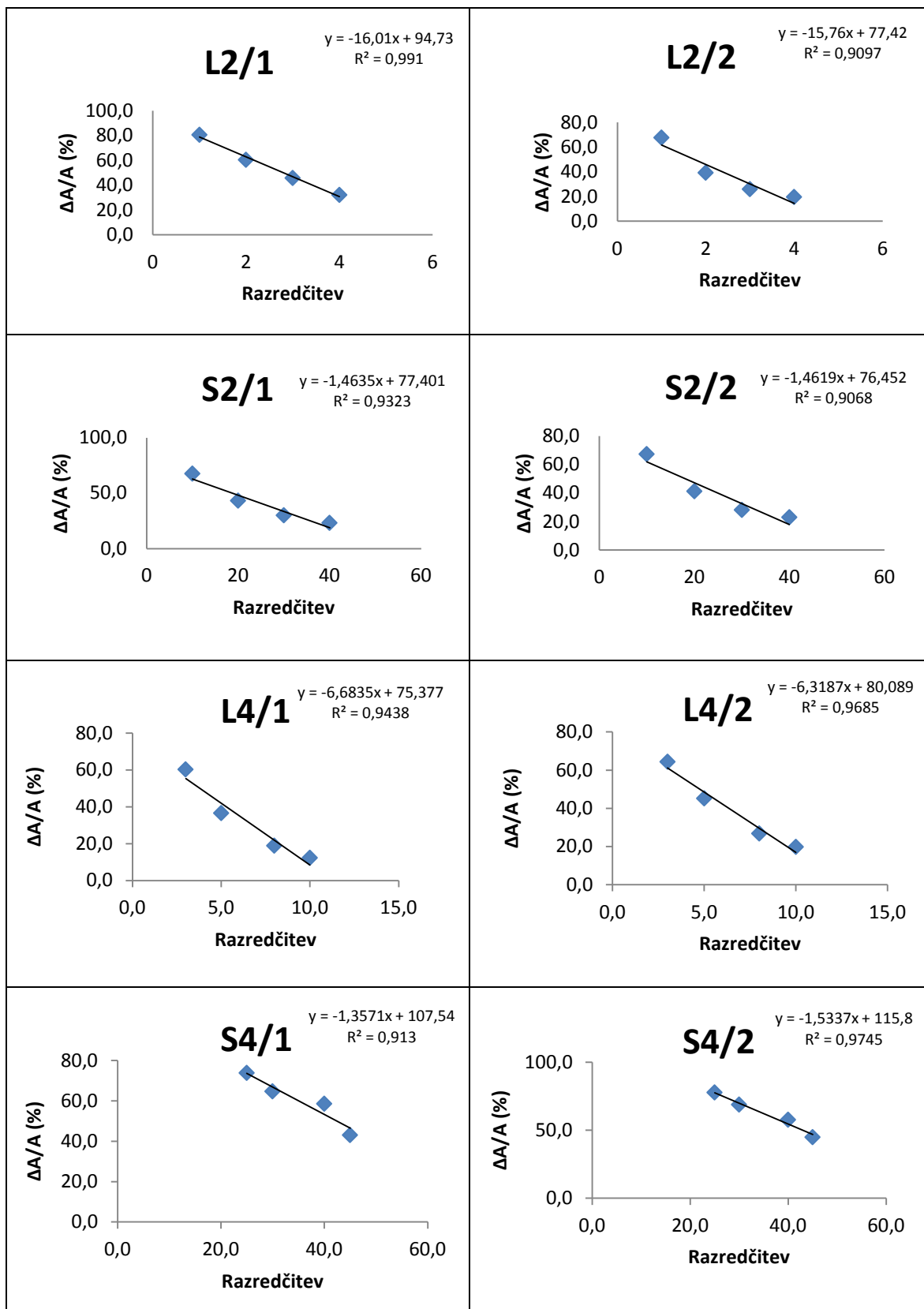
Vzorec		$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L1	L1/1	0,21	1	0,30534	1,02300	70,2	1,8	0,119	0,123	$0,123 \pm 0,005$
			1,5	0,4759	1,02300	53,5				
			2	0,61338	1,02300	40,0				
			3	0,75987	1,02300	25,7				
	L1/2	0,22	1	0,31951	1,02470	68,8	1,7	0,127		
			1,5	0,51288	1,02470	49,9				
			2	0,63585	1,02470	37,9				
			3	0,77403	1,02470	24,5				
S1	S1/1	0,94	10	0,26891	1,11570	75,9	25,4	0,037	0,042	$0,042 \pm 0,007$
			20	0,49571	1,11570	55,6				
			30	0,67495	1,11570	39,5				
			40	0,76609	1,11570	31,3				
	S1/2	0,98	10	0,30643	1,04130	70,6	20,6	0,047		
			20	0,57684	1,04130	44,6				
			30	0,68568	1,04130	34,2				
			40	0,78674	1,04130	24,4				
L3	L3/1	0,44	5	0,25832	0,99467	74,0	8,2	0,053	0,053	$0,053 \pm 0,000$
			8	0,54169	0,99467	45,5				
			10	0,62575	0,99467	37,1				
			12	0,70402	0,99467	29,2				
	L3/2	0,42	5	0,29211	0,98574	70,4	8,0	0,053		
			8	0,50999	0,98574	48,3				
			10	0,65329	0,98574	33,7				
			12	0,70729	0,98574	28,2				
S3	S3/1	1,34	10	0,26066	0,99467	73,8	43,2	0,031	0,031	$0,031 \pm 0,000$
			30	0,37065	0,99467	62,7				
			50	0,57879	0,99467	41,8				
			70	0,68509	0,99467	31,1				
	S3/2	1,36	10	0,23614	1,06530	77,8	43,1	0,032		
			30	0,41660	1,06530	60,9				
			50	0,62686	1,06530	41,2				
			70	0,74547	1,06530	30,0				



Priloga A2: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

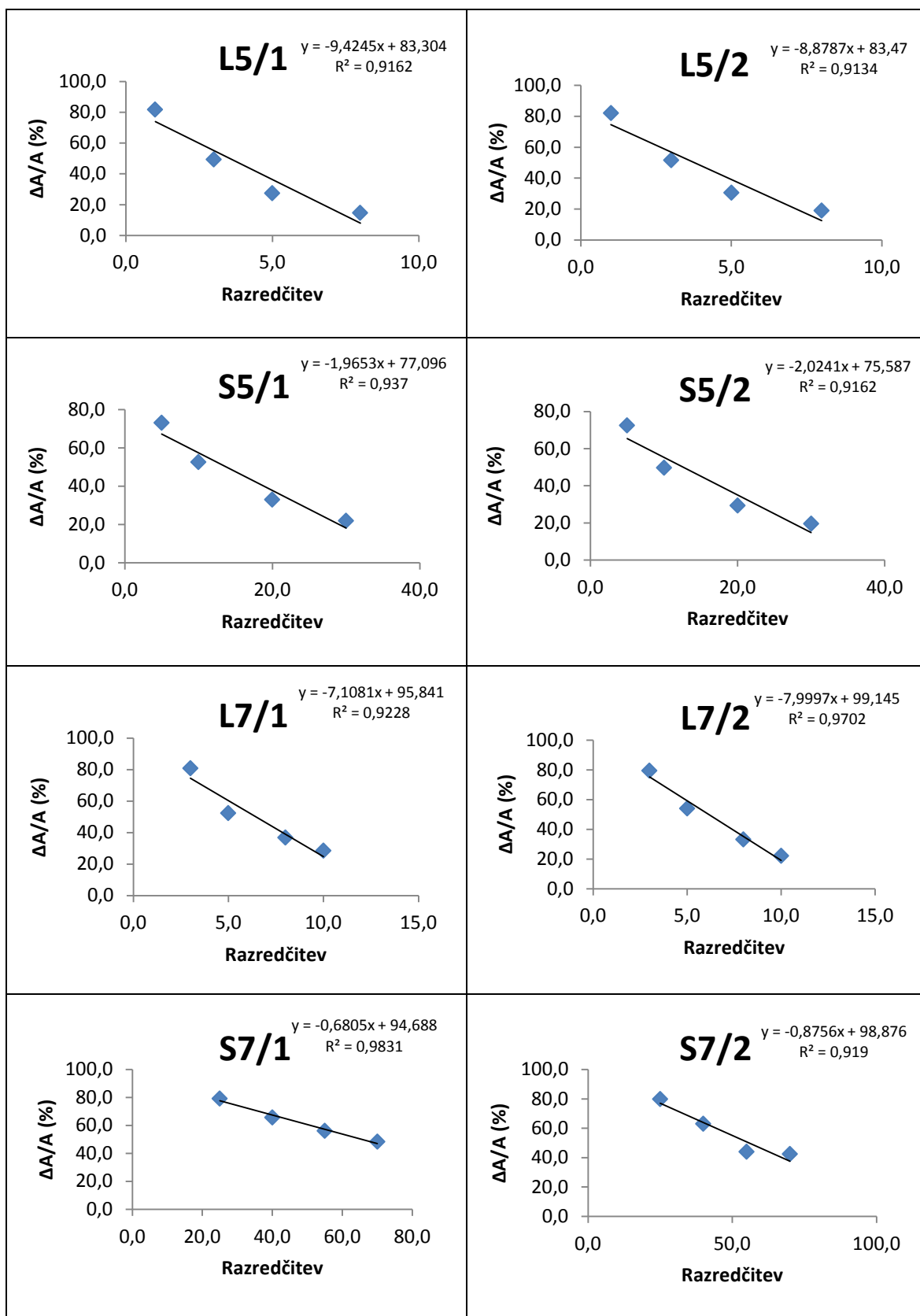
Vzorec		$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L2	L2/1	0,26	1	0,22340	1,15100	80,6	2,8	0,092	0,110	$0,110 \pm 0,026$
			2	0,45602	1,15100	60,4				
			3	0,62386	1,15100	45,8				
			4	0,78171	1,15100	32,1				
	L2/2	0,22	1	0,34015	1,04850	67,6	1,7	0,128		
			2	0,63812	1,04850	39,1				
			3	0,77625	1,04850	26,0				
			4	0,84491	1,04850	19,4				
S2	S2/1	1,06	10	0,34347	1,05370	67,4	18,7	0,057	0,057	$0,057 \pm 0,001$
			20	0,60102	1,05370	43,0				
			30	0,73835	1,05370	29,9				
			40	0,81171	1,05370	23,0				
	S2/2	1,05	10	0,33365	1,02050	67,3	18,1	0,058		
			20	0,59994	1,02050	41,2				
			30	0,7329	1,02050	28,2				
			40	0,78663	1,02050	22,9				
L4	L4/1	0,26	3	0,41396	1,0386	60,1	3,8	0,068	0,061	$0,061 \pm 0,010$
			5	0,66013	1,0386	36,4				
			8	0,84284	1,0386	18,8				
			10	0,91081	1,0386	12,3				
	L4/2	0,26	3	0,41298	1,15760	64,3	4,8	0,054		
			5	0,63517	1,15760	45,1				
			8	0,84757	1,15760	26,8				
			10	0,92801	1,15760	19,8				
S4	S4/1	1,05	25	0,27901	1,06740	73,9	42,4	0,025	0,027	$0,027 \pm 0,004$
			30	0,37643	1,06740	64,7				
			40	0,44278	1,06740	58,5				
			45	0,60797	1,06740	43,0				
	S4/2	1,28	25	0,24180	1,077	77,5	42,9	0,030		
			30	0,33768	1,077	68,6				
			40	0,45663	1,077	57,6				
			45	0,59508	1,077	44,7				





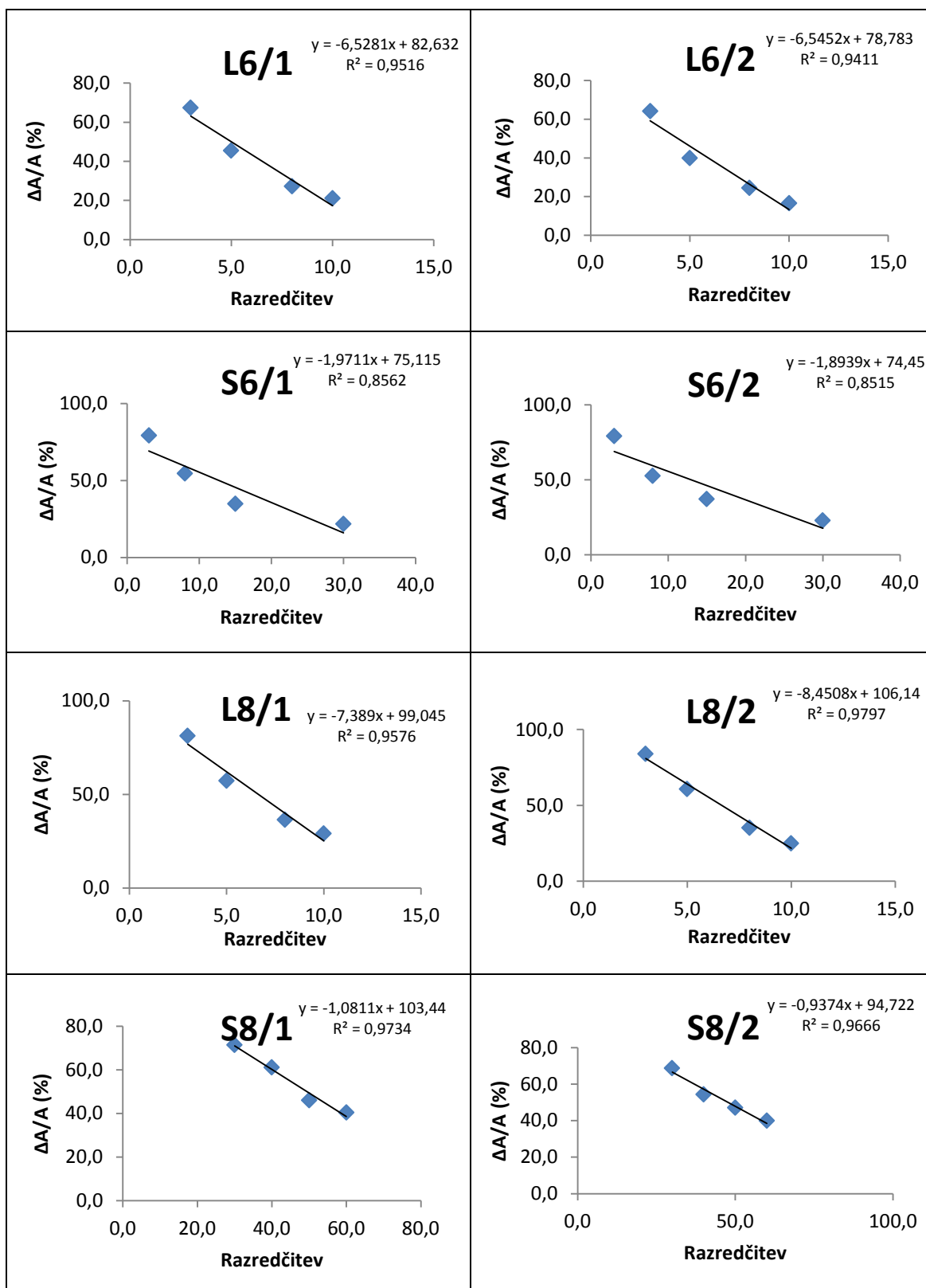
Priloga A3: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L5	L5/1	0,26	1	0,18833	1,0330	81,8	3,5	0,074	0,071	$0,071 \pm 0,004$
			3	0,52418	1,0330	49,3				
			5	0,75000	1,0330	27,4				
			8	0,88241	1,0330	14,6				
	L5/2	0,26	1	0,191703	1,0688	82,1	3,8	0,069		
			3	0,51775	1,0688	51,6				
			5	0,74353	1,0688	30,4				
			8	0,86694	1,0688	18,9				
S5	S5/1	0,82	5	0,29336	1,0905	73,1	13,8	0,059	0,060	$0,060 \pm 0,002$
			10	0,51739	1,0905	52,6				
			20	0,73075	1,0905	33,0				
			30	0,850673	1,0905	22,0				
	S5/2	0,78	5	0,28808	1,0447	72,4	12,6	0,062		
			10	0,52658	1,0447	49,6				
			20	0,73949	1,0447	29,2				
			30	0,84046	1,0447	19,6				
L7	L7/1	0,38	3	0,19875	1,0366	80,8	6,4	0,059	0,060	$0,060 \pm 0,002$
			5	0,49430	1,0366	52,3				
			8	0,65456	1,0366	36,9				
			10	0,74058	1,0366	28,6				
	L7/2	0,38	3	0,21391	1,0380	79,4	6,1	0,062		
			5	0,47745	1,0380	54,0				
			8	0,69399	1,0380	33,1				
			10	0,80913	1,0380	22,0				
S7	S7/1	1,75	25	0,21442	1,03366	79,3	65,7	0,027	0,029	$0,029 \pm 0,003$
			40	0,35465	1,03366	65,7				
			55	0,45397	1,03366	56,1				
			70	0,53300	1,03366	48,4				
	S7/2	1,71	25	0,20253	1,0007	79,8	55,9	0,031		
			40	0,36975	1,0007	63,1				
			55	0,56040	1,0007	44,0				
			70	0,57707	1,0007	42,3				



Priloga A4: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

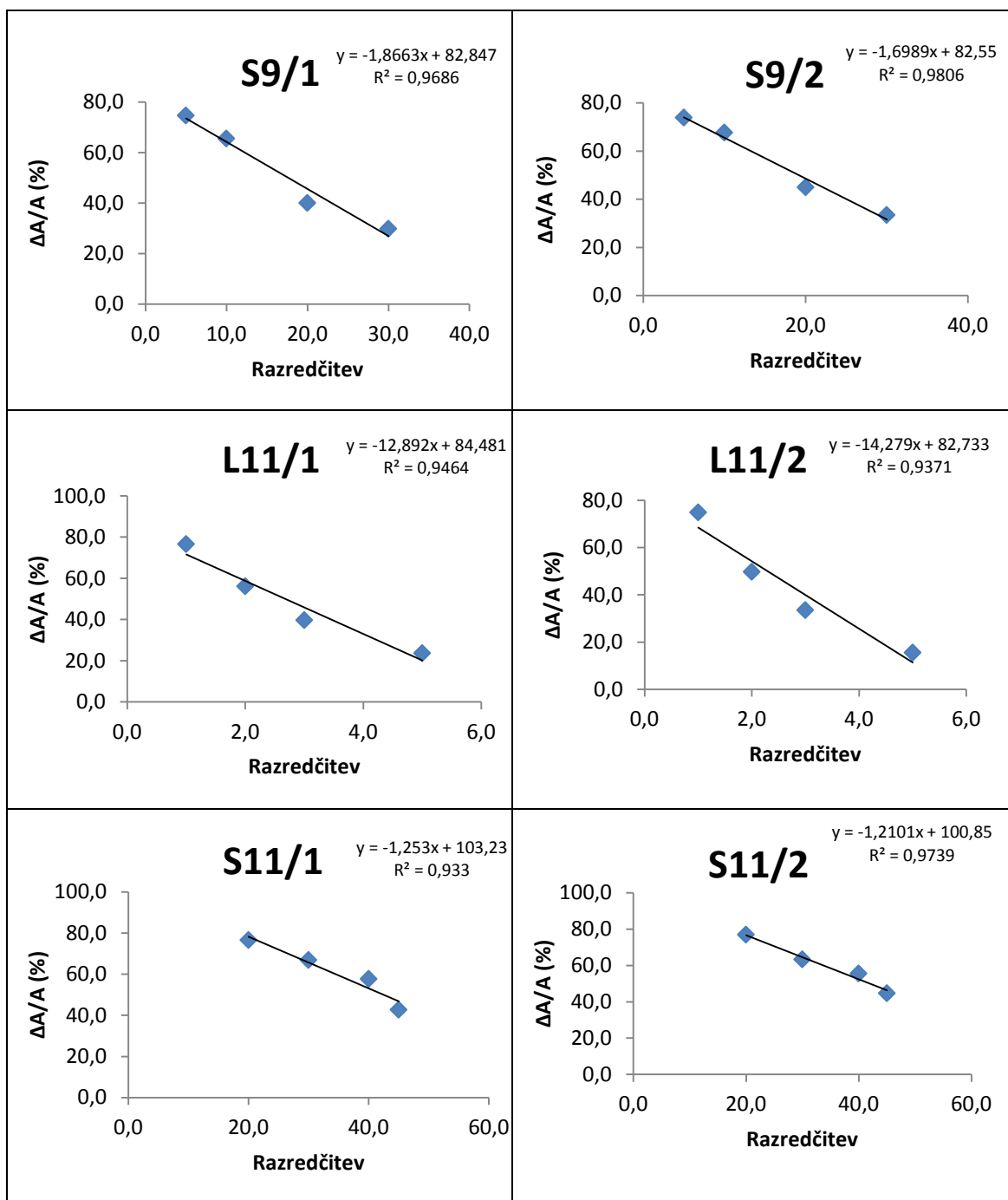
Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	Redčiev		$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L6	L6/1	0,33	3	0,35536	1,08590	67,3	5,0	0,067	0,070 ± 0,004
			5	0,59331	1,08590	45,4			
			8	0,79074	1,08590	27,2			
			10	0,85811	1,08590	21,0			
	L6/2	0,32	3	0,38684	1,07920	64,2	4,4	0,073	
			5	0,64946	1,07920	39,8			
			8	0,81491	1,07920	24,5			
			10	0,90120	1,07920	16,5			
S6	S6/1	0,73	3	0,23672	1,13460	79,1	12,7	0,057	0,057 ± 0,001
			8	0,51647	1,13460	54,5			
			15	0,73971	1,13460	34,8			
			30	0,88886	1,13460	21,7			
	S6/2	0,75	3	0,22575	1,08350	79,2	12,9	0,058	
			8	0,51358	1,08350	52,6			
			15	0,68092	1,08350	37,2			
			30	0,83619	1,08350	22,8			
L8	L8/1	0,41	3	0,21881	1,1704	81,3	6,6	0,062	0,062 ± 0,000
			5	0,49951	1,1704	57,3			
			8	0,74449	1,1704	36,4			
			10	0,83037	1,1704	29,1			
	L8/2	0,41	3	0,181	1,131	84,0	6,6	0,062	
			5	0,44426	1,131	60,7			
			8	0,73386	1,131	35,1			
			10	0,8491	1,131	25,0			
S8	S8/1	1,43	30	0,31666	1,10930	71,5	49,4	0,029	0,030 ± 0,001
			40	0,43047	1,10930	61,2			
			50	0,59856	1,10930	46,0			
			60	0,66040	1,10930	40,5			
	S8/2	1,47	30	0,3497	1,11850	68,7	47,7	0,031	
			40	0,51022	1,11850	54,4			
			50	0,59129	1,11850	47,1			
			60	0,67216	1,11850	39,9			



## Priloga A5: Meritve, rezultati in grafi DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

Vzorec	$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	Redčitev	$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)				
L9								*na		
S9	S9/1	0,97	5	0,27204	1,07270	74,6	47,7	0,020	0,021	0,021 ± 0,001
			10	0,37008	1,07270	65,5				
			20	0,64280	1,07270	40,1				
			30	0,75238	1,07270	29,9				
	S9/2	1,04	5	0,28849	1,10240	73,8	47,7	0,022		
			10	0,35637	1,10240	67,7				
			20	0,60733	1,10240	44,9				
			30	0,73465	1,10240	33,4				
L11	L11/1	0,27	1	0,25707	1,09730	76,6	2,7	0,101	0,107	0,107 ± 0,009
			2	0,48148	1,09730	56,1				
			3	0,66168	1,09730	39,7				
			5	0,83707	1,09730	23,7				
	L11/2	0,26	1	0,25694	1,02480	74,9	2,3	0,113		
			2	0,51486	1,02480	49,8				
			3	0,68081	1,02480	33,6				
			5	0,86490	1,02480	15,6				
S11	S11/1	1,51	20	0,25197	1,07270	76,5	42,5	0,036	0,035	0,035 ± 0,001
			30	0,35515	1,07270	66,9				
			40	0,45463	1,07270	57,6				
			45	0,61434	1,07270	42,7				
	S11/2	1,46	20	0,23717	1,02480	76,9	42,0	0,035		
			30	0,37714	1,02480	63,2				
			40	0,45640	1,02480	55,5				
			45	0,56851	1,02480	44,5				

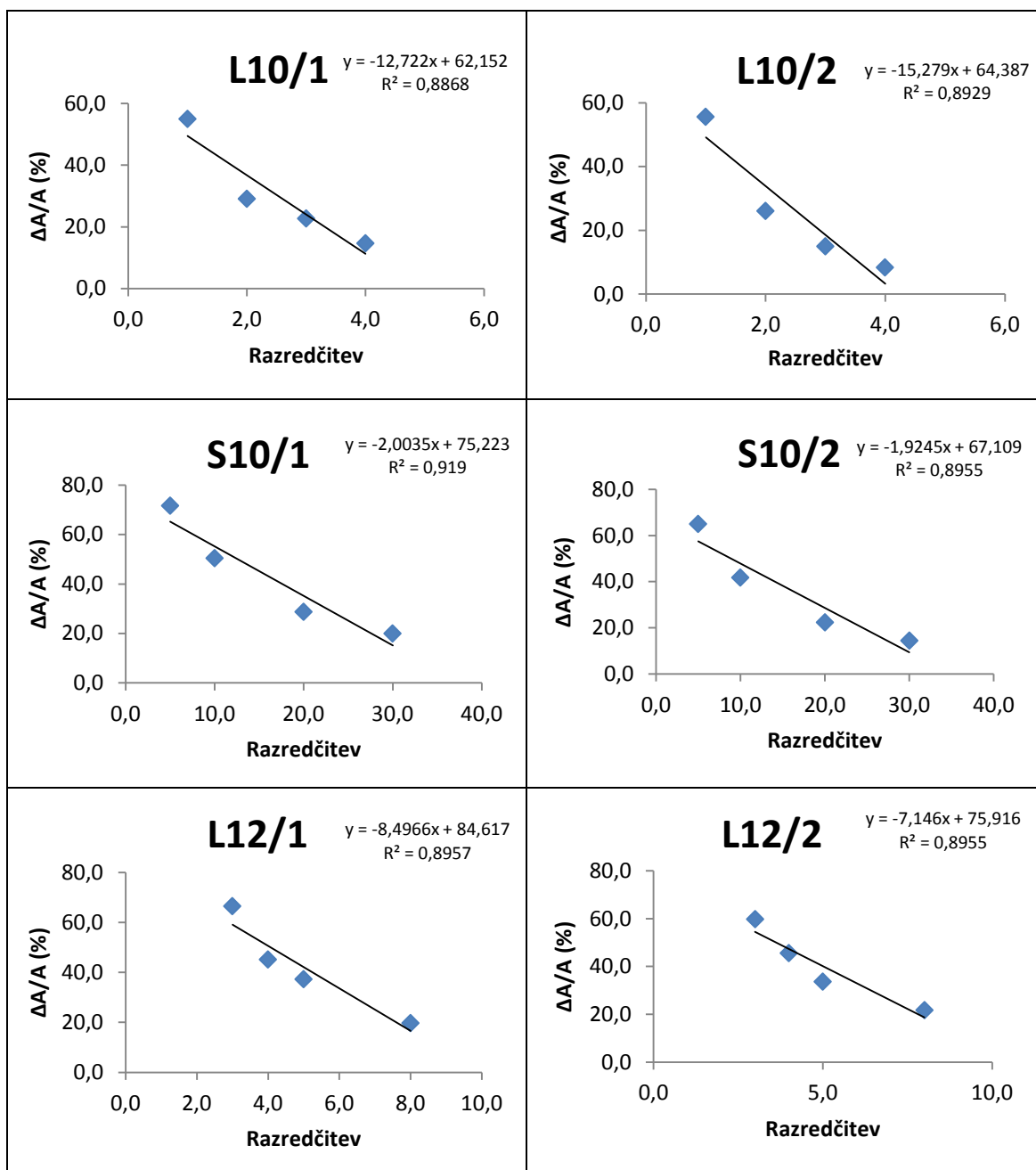
\*na-vzorec ni bil analiziran



Priloga A6: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L10	L10/1	0,21	1	0,49233	1,0937	55,0	1,0	0,222	0,217	$0,217 \pm 0,006$
			2	0,77611	1,0937	29,0				
			3	0,84583	1,0937	22,7				
			4	0,93288	1,0937	14,7				
	L10/2	0,20	1	0,47118	1,0592	55,5	0,9	0,213		
			2	0,78371	1,0592	26,0				
			3	0,90068	1,0592	15,0				
			4	0,97165	1,0592	8,3				
S10	S10/1	0,92	5	0,29365	1,03630	71,7	12,6	0,073	0,083	$0,083 \pm 0,014$
			10	0,51451	1,03630	50,4				
			20	0,73908	1,03630	28,7				
			30	0,82936	1,03630	20,0				
	S10/2	0,83	5	0,35315	1,00740	64,9	8,9	0,094		
			10	0,58705	1,00740	41,7				
			20	0,78324	1,00740	22,3				
			30	0,86211	1,00740	14,4				
L12	L12/1	0,31	3	0,34415	1,02670	66,5	4,1	0,076	0,078	$0,078 \pm 0,003$
			4	0,56386	1,02670	45,1				
			5	0,64393	1,02670	37,3				
			8	0,82448	1,02670	19,7				
	L12/2	0,29	3	0,42839	1,06620	59,8	3,6	0,080		
			4	0,58038	1,06620	45,6				
			5	0,70756	1,06620	33,6				
			8	0,83461	1,06620	21,7				
S12	S12/1	1,57	25	0,27992	1,09080	74,3	54,3	0,029	0,029	$0,029 \pm 0,000$
			40	0,42499	1,09080	61,0				
			55	0,61947	1,09080	43,2				
			70	0,63204	1,09080	42,1				
	S12/2	1,55	25	0,26727	1,04120	74,3	52,6	0,029		
			40	0,39912	1,04120	61,7				
			55	0,61234	1,04120	41,2				
			70	0,62845	1,04120	39,6				

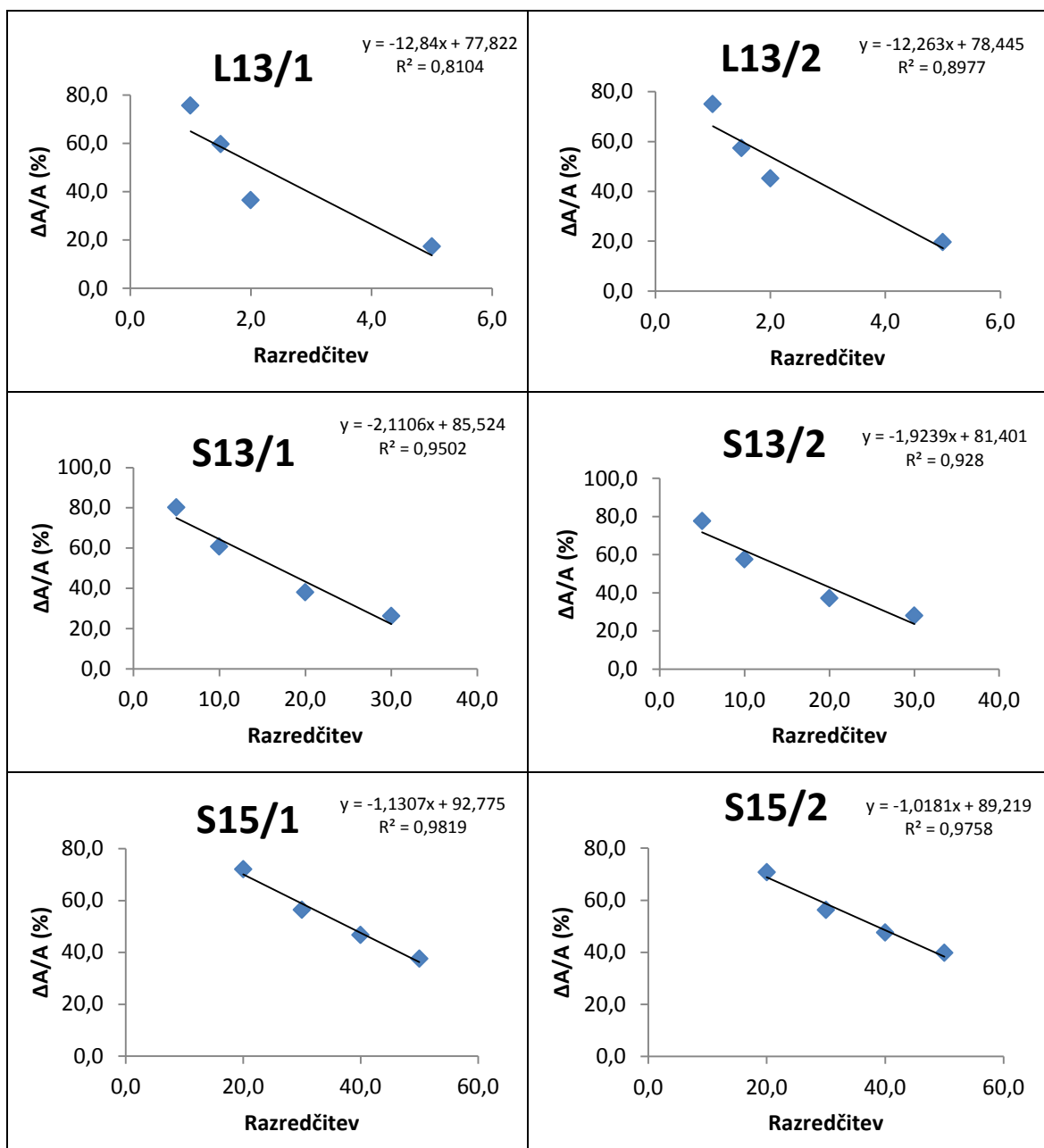




## Priloga A7: Meritve, rezultati in grafi DPPH• testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

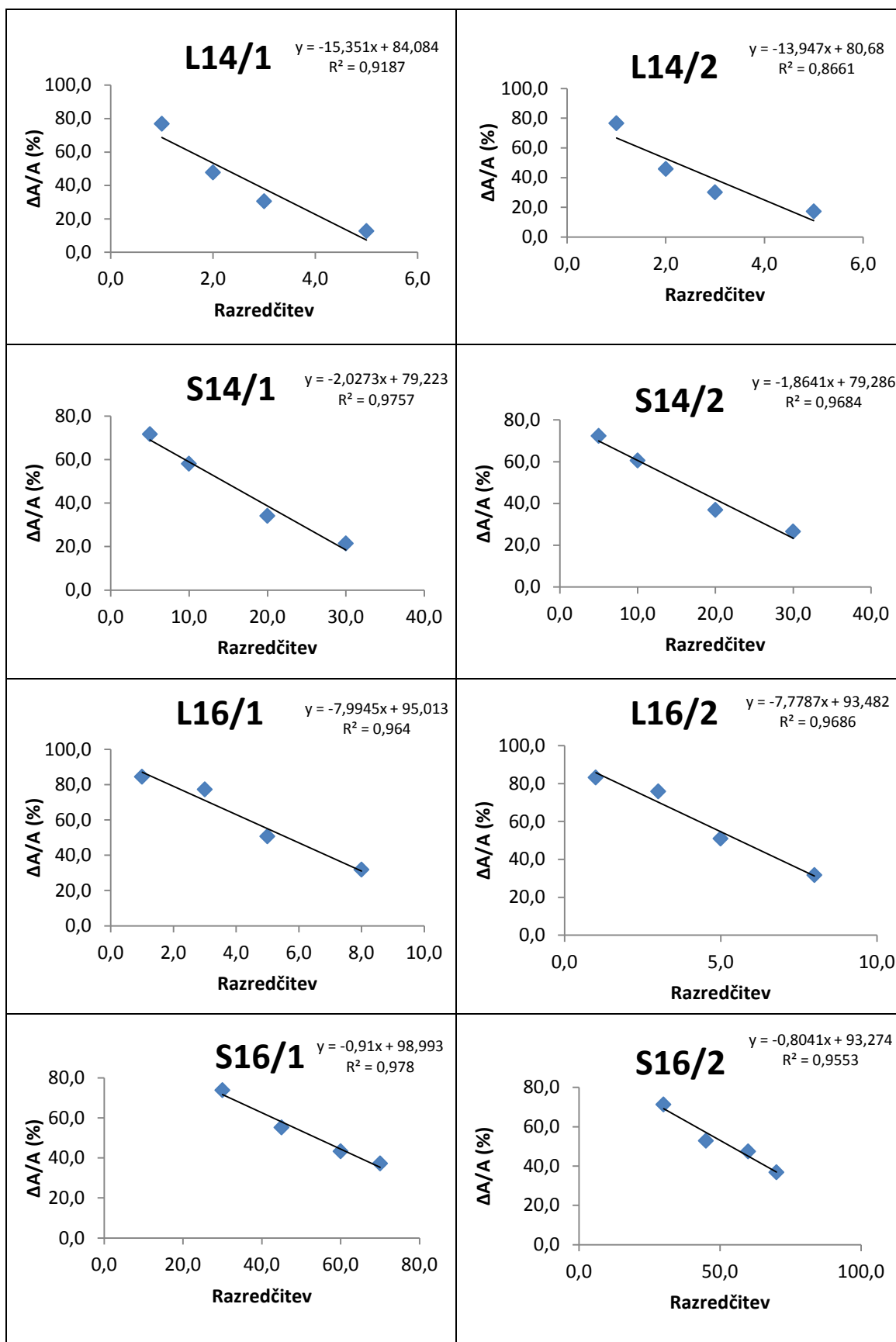
Vzorec		$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L13	L13/1	0,21	1	0,25434	1,04520	75,7	2,2	0,099	0,095	$0,095 \pm 0,006$
			1,5	0,42077	1,04520	59,7				
			2	0,66347	1,04520	36,5				
			5	0,86353	1,04520	17,4				
	L13/2	0,21	1	0,25863	1,03470	75,0	2,3	0,090		
			1,5	0,44097	1,03470	57,4				
			2	0,56628	1,03470	45,3				
			5	0,83162	1,03470	19,6				
S13	S13/1	0,81	5	0,21093	1,06290	80,2	16,8	0,048	0,049	$0,049 \pm 0,002$
			10	0,41847	1,06290	60,6				
			20	0,65974	1,06290	37,9				
			30	0,78449	1,06290	26,2				
	S13/2	0,82	5	0,23879	1,06900	77,7	16,3	0,050		
			10	0,45263	1,06900	57,7				
			20	0,67104	1,06900	37,2				
			30	0,76966	1,06900	28,0				
L15									*na	
S15	S15/1	1,27	20	0,30528	1,09170	72,0	37,8	0,034	0,033	$0,033 \pm 0,001$
			30	0,47554	1,09170	56,4				
			40	0,58143	1,09170	46,7				
			50	0,68146	1,09170	37,6				
	S15/2	1,25	20	0,32540	1,11480	70,8	38,5	0,032		
			30	0,48806	1,11480	56,2				
			40	0,58479	1,11480	47,5				
			50	0,67149	1,11480	39,8				

\*na-vzorec ni bil analiziran



Priloga A8: Meritve, rezultati in grafi DPPH<sup>•</sup> testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

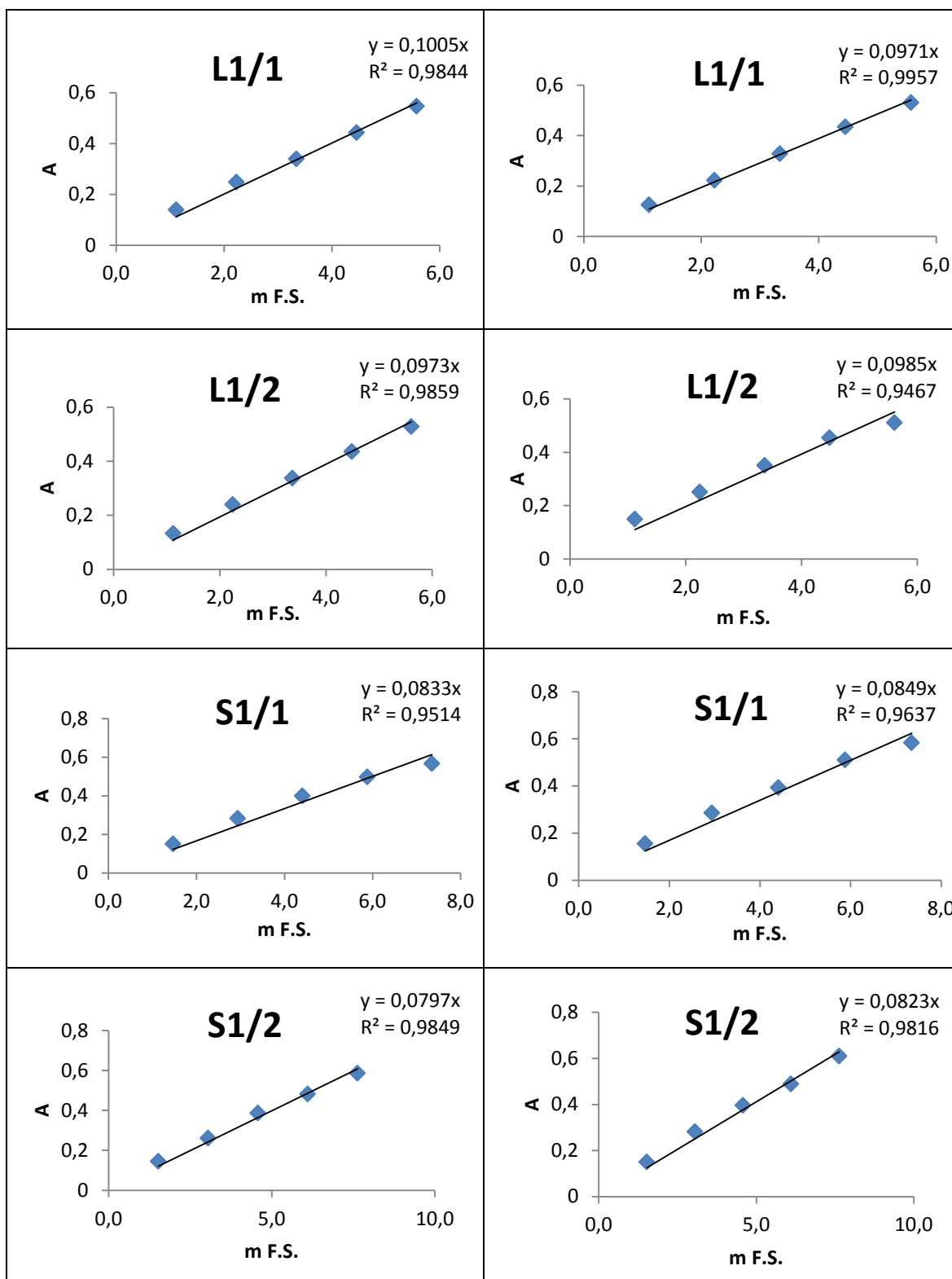
Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	Redčitev		$A_{k517}$	$\Delta A_{517}/A_{k517}$ (%)	$R_{50}$	$IC_{50}$ (mg/mL)		
L14	L14/1	0,23	1	0,2336	1,00690	76,8	2,2	0,101	0,101	$0,101 \pm 0,001$
			2	0,52675	1,00690	47,7				
			3	0,70043	1,00690	30,4				
			5	0,88056	1,00690	12,5				
	L14/2	0,22	1	0,24018	1,02270	76,5	2,2	0,100		
			2	0,55613	1,02270	45,6				
			3	0,71569	1,02270	30,0				
			5	0,84737	1,02270	17,1				
S14	S14/1	0,86	5	0,28541	1,00690	71,7	14,4	0,060	0,057	$0,057 \pm 0,004$
			10	0,42227	1,00690	58,1				
			20	0,66422	1,00690	34,0				
			30	0,79175	1,00690	21,4				
	S14/2	0,85	5	0,28335	1,01940	72,2	15,7	0,054		
			10	0,4033	1,01940	60,4				
			20	0,64407	1,01940	36,8				
			30	0,74912	1,01940	26,5				
L16	L16/1	1,45	1	0,160153	1,02950	84,4	5,6	0,257	0,261	$0,261 \pm 0,006$
			3	0,23455	1,02950	77,2				
			5	0,507183	1,02950	50,7				
			8	0,70264	1,02950	31,7				
	L16/2	1,48	1	0,17087	1,01670	83,2	5,6	0,265		
			3	0,24553	1,01670	75,9				
			5	0,49885	1,01670	50,9				
			8	0,69431	1,01670	31,7				
S16	S16/1	1,45	30	0,27027	1,02950	73,7	53,8	0,027	0,027	$0,027 \pm 0,000$
			45	0,46121	1,02950	55,2				
			60	0,58392	1,02950	43,3				
			70	0,6466	1,02950	37,2				
	S16/2	1,48	30	0,29252	1,01670	71,2	53,8	0,028		
			45	0,47951	1,01670	52,8				
			60	0,53539	1,01670	47,3				
			70	0,64211	1,01670	36,8				

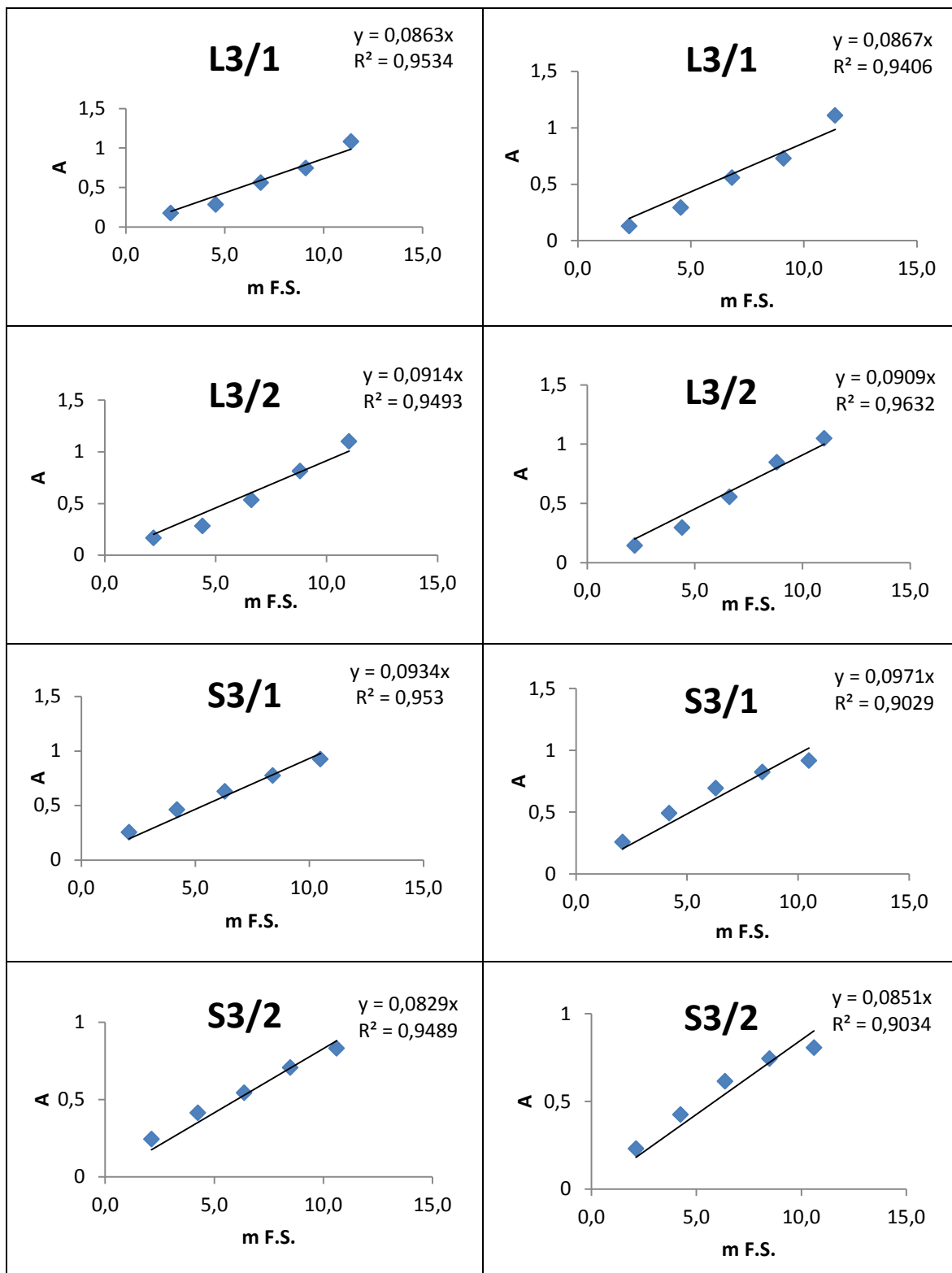


## PRILOGA B: Rezultati, meritve in grafi FRAP testa

## Priloga B1: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L1, S1 in L3, S3)

Vzorec	$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	$V_{eks}$	$mFS_z$ ( $\mu g$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu g$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L1	L1/1	0,21	100	21,3938	1,11426	0,13956	0,12534	0,13245	0,100	0,097	0,0985	0,0980	0,0980 ± 0,0014
			200	42,7876	2,22852	0,24875	0,22293	0,23584					
			300	64,1814	3,34278	0,3394	0,32851	0,33396					
			400	85,5752	4,45704	0,44288	0,43471	0,4388					
			500	106,969	5,57130	0,54678	0,53142	0,5391					
	L1/2	0,22	100	21,5239	1,12104	0,13195	0,1492	0,14058	0,097	0,098	0,0975		
			200	43,0478	2,24207	0,2391	0,25077	0,24494					
			300	64,5717	3,36311	0,33661	0,3503	0,34346					
			400	86,0956	4,48415	0,43499	0,4541	0,44455					
			500	107,62	5,60518	0,52749	0,51089	0,51919					
S1	S1/1	0,94	30	28,2188	1,46973	0,14983	0,15484	0,15234	0,083	0,084	0,0835	0,0820	0,0820 ± 0,0022
			60	56,4376	2,93946	0,28342	0,28539	0,28441					
			90	84,6563	4,40918	0,39947	0,39315	0,39631					
			120	112,875	5,87891	0,49717	0,51035	0,50376					
			150	141,094	7,34864	0,56656	0,58366	0,57511					
	S1/2	0,98	30	29,2945	1,52575	0,1456	0,14973	0,14767	0,079	0,082	0,0805		
			60	58,589	3,05151	0,26075	0,28111	0,27093					
			90	87,8835	4,57726	0,38662	0,39553	0,39108					
			120	117,178	6,10302	0,48147	0,48867	0,48507					
			150	146,472	7,62877	0,58668	0,60992	0,5983					
L3	L3/1	0,44	100	43,7136	2,27675	0,17364	0,12858	0,15111	0,086	0,086	0,086	0,0883	0,0883 ± 0,0026
			200	87,4272	4,55350	0,28398	0,2925	0,28824					
			300	131,141	6,83025	0,5604	0,55859	0,5595					
			400	174,854	9,10700	0,74521	0,72902	0,73712					
			500	218,568	11,38375	1,0818	1,109	1,0954					
	L3/2	0,42	100	42,2934	2,20278	0,16522	0,14423	0,15473	0,091	0,09	0,0905		
			200	84,5868	4,40556	0,28028	0,29519	0,28774					
			300	126,88	6,60834	0,53311	0,55337	0,54324					
			400	169,174	8,81113	0,81355	0,84635	0,82995					
			500	211,467	11,01391	1,0984	1,04766	1,07303					
S3	S3/1	1,34	30	40,2733	2,09757	0,25375	0,2587	0,25623	0,093	0,097	0,095	0,0893	0,0893 ± 0,0069
			60	80,5466	4,19513	0,46039	0,49062	0,47551					
			90	120,82	6,29270	0,62796	0,694	0,66098					
			120	161,093	8,39027	0,77425	0,82519	0,79972					
			150	201,366	10,48784	0,92329	0,91659	0,91994					
	S3/2	1,36	30	40,7321	2,12146	0,24251	0,22979	0,23615	0,082	0,085	0,0835		
			60	81,4641	4,24292	0,41401	0,42562	0,41982					
			90	122,196	6,36438	0,54287	0,6149	0,57889					
			120	162,928	8,48584	0,7067	0,7439	0,7253					
			150	203,66	10,60730	0,82971	0,80649	0,8181					

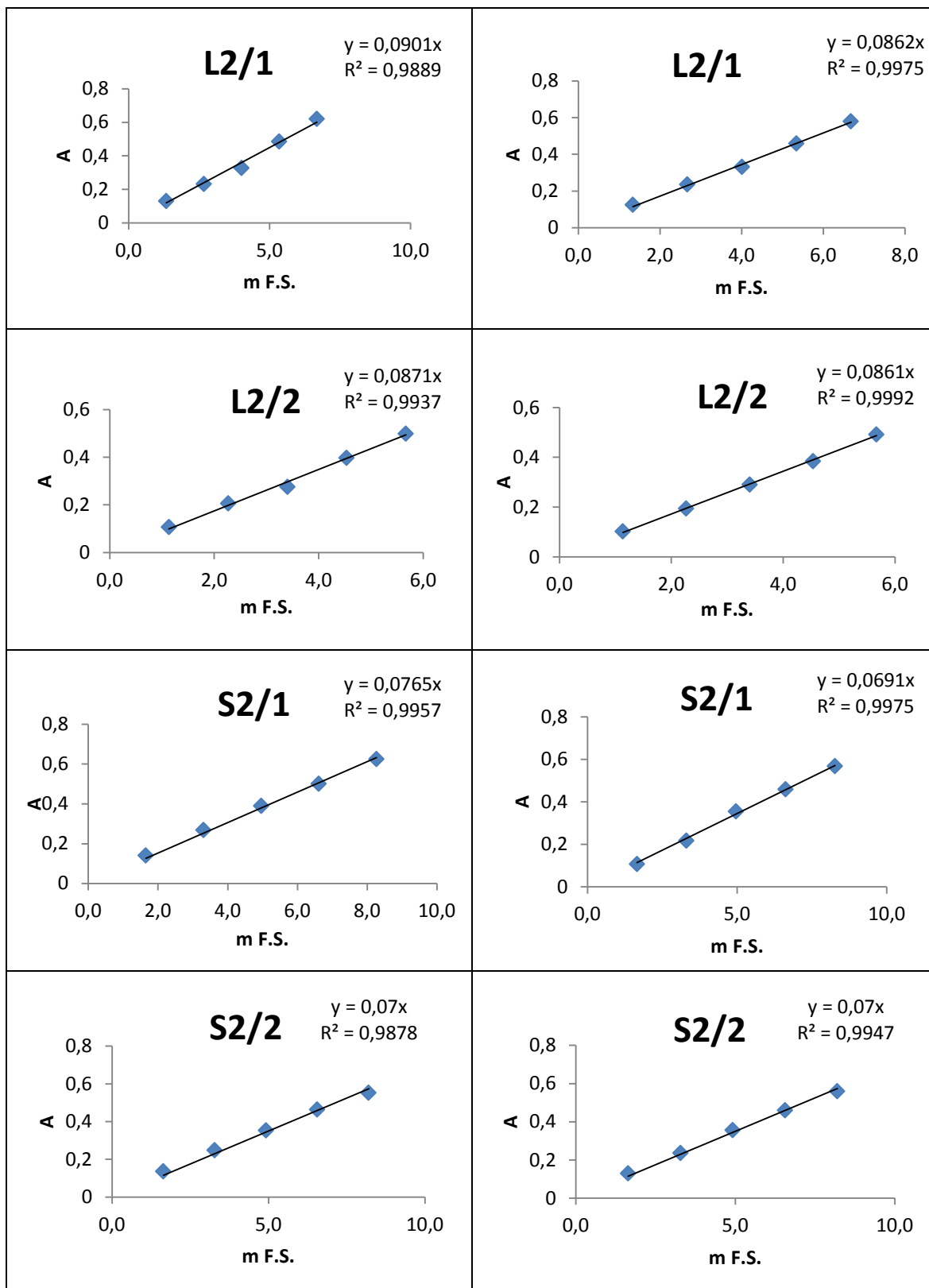


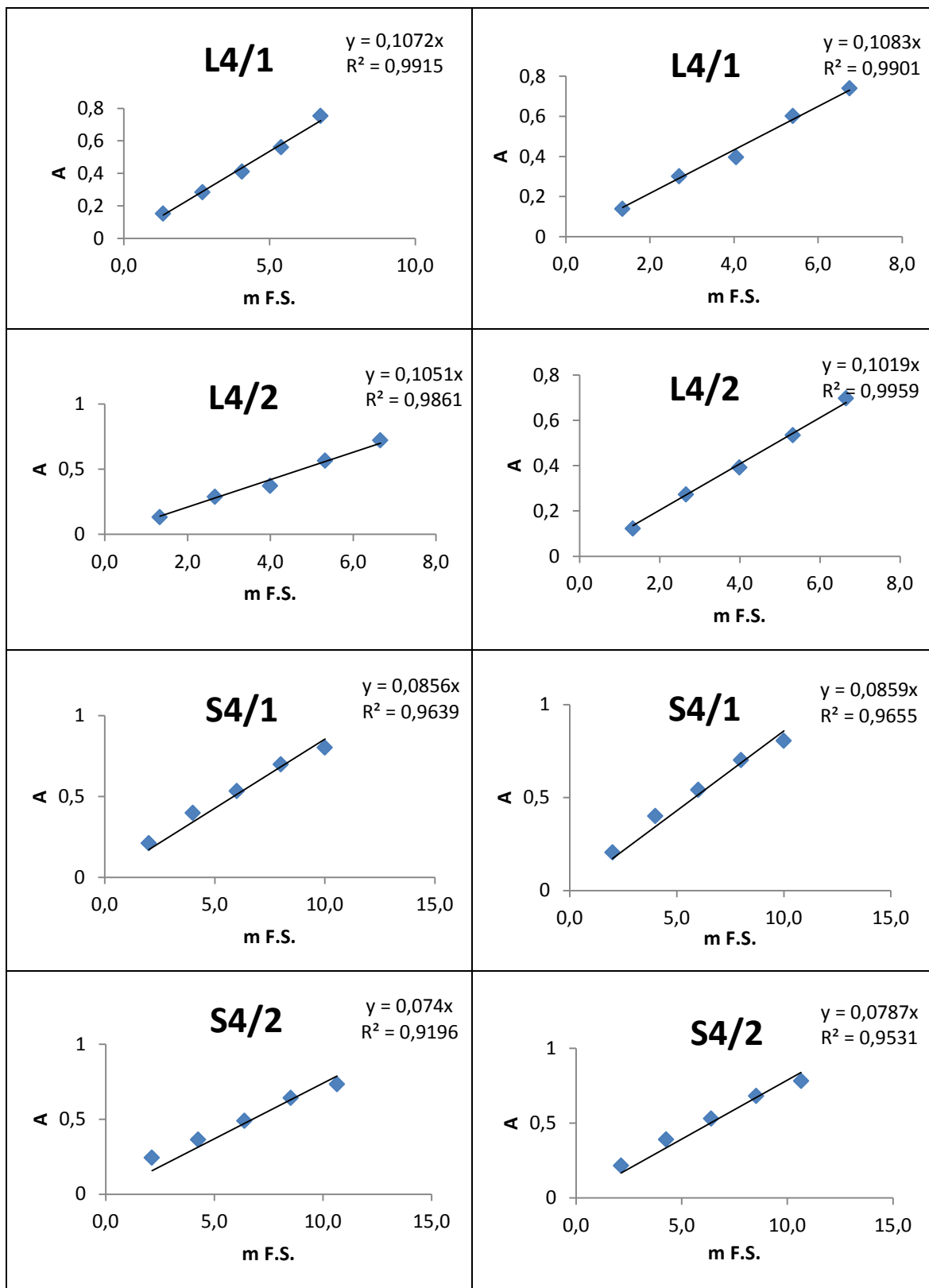




## Priloga B2: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Slovenija iz let 2008 in 2010 (L2, S2 in L4, S4)

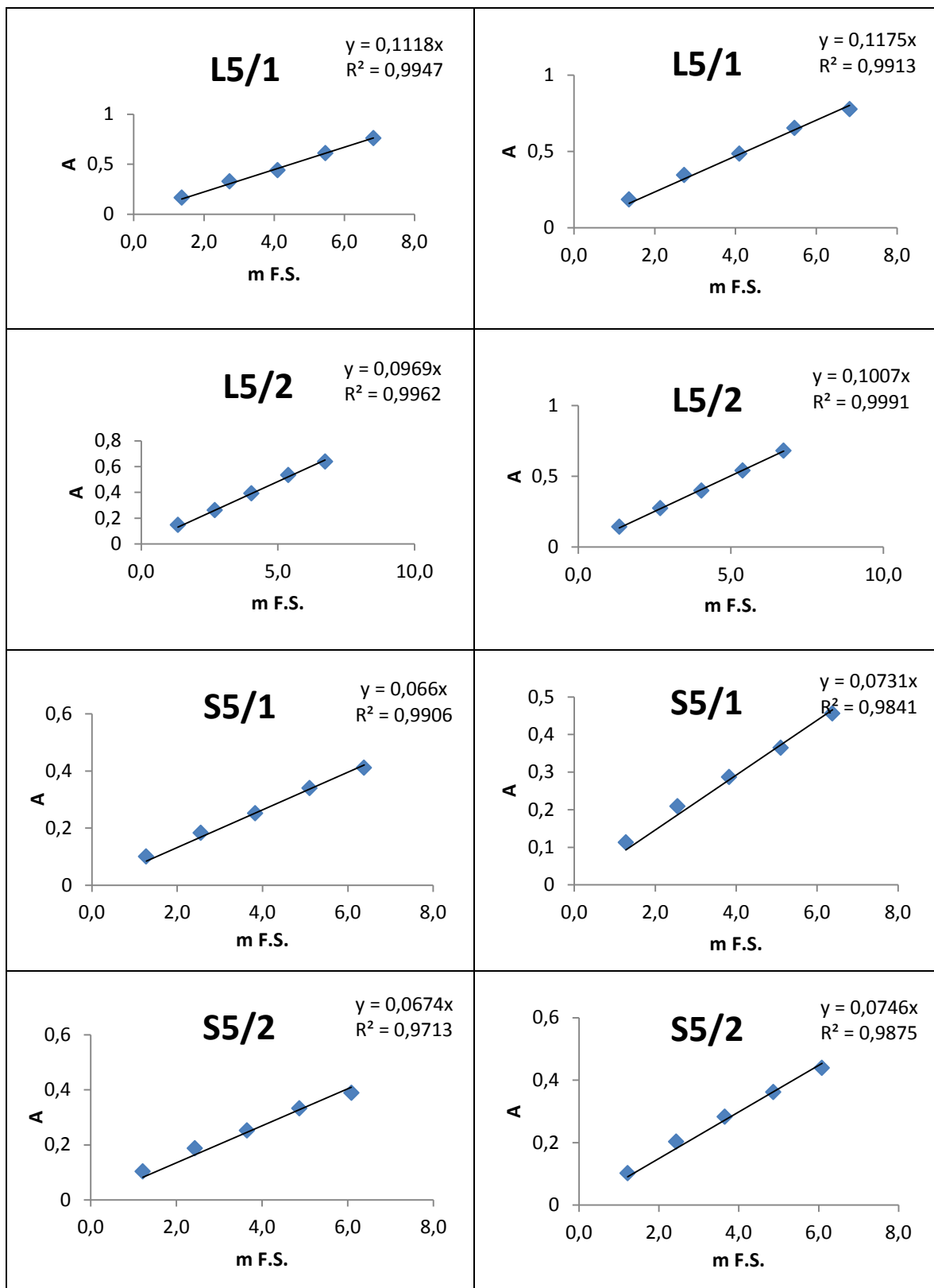
Vzorec	$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L2	L2/1	0,26	100	25,6357	1,33519	0,12895	0,12501	0,12698	0,09	0,086	0,088	0,0873	$0,0873 \pm 0,0019$
			200	51,2714	2,67039	0,23072	0,23616	0,23344					
			300	76,9071	4,00558	0,32666	0,33219	0,32943					
			400	102,543	5,34077	0,48519	0,45937	0,47228					
			500	128,179	6,67596	0,62035	0,57961	0,59998					
	L2/2	0,22	100	21,7637	1,13353	0,10758	0,10225	0,10492	0,087	0,086	0,0865		
			200	43,5274	2,26705	0,20634	0,19435	0,20035					
			300	65,2911	3,40058	0,27592	0,29099	0,28346					
			400	87,0548	4,53410	0,39737	0,38496	0,39117					
			500	108,819	5,66763	0,49842	0,49224	0,49533					
S2	S2/1	1,06	30	31,7477	1,65353	0,14034	0,10709	0,12372	0,076	0,069	0,0725	0,0713	$0,0713 \pm 0,0032$
			60	63,4954	3,30705	0,26762	0,21749	0,24256					
			90	95,2431	4,96058	0,38902	0,35507	0,37205					
			120	126,991	6,61411	0,49953	0,45951	0,47952					
			150	158,739	8,26763	0,62337	0,56821	0,59579					
	S2/2	1,05	30	31,4812	1,63965	0,13666	0,12954	0,1331	0,07	0,07	0,07		
			60	62,9624	3,27929	0,24817	0,23647	0,24232					
			90	94,4437	4,91894	0,35383	0,3568	0,35532					
			120	125,925	6,55859	0,46358	0,46075	0,46217					
			150	157,406	8,19823	0,55362	0,55974	0,55668					
L4	L4/1	0,26	100	25,9214	1,35007	0,15292	0,13918	0,14605	0,107	0,108	0,1075	0,1053	$0,1053 \pm 0,0030$
			200	51,8428	2,70015	0,2835	0,30164	0,29257					
			300	77,7642	4,05022	0,41094	0,39668	0,40381					
			400	103,686	5,40029	0,56028	0,60138	0,58083					
			500	129,607	6,75036	0,75313	0,74046	0,7468					
	L4/2	0,26	100	25,5608	1,33129	0,13313	0,12271	0,12792	0,105	0,101	0,103		
			200	51,1216	2,66258	0,289	0,27219	0,2806					
			300	76,6824	3,99388	0,37137	0,39116	0,38127					
			400	102,243	5,32517	0,56599	0,53451	0,55025					
			500	127,804	6,65646	0,72084	0,69655	0,7087					
S4	S4/1	1,28	30	38,4177	2,00092	0,21098	0,20387	0,20743	0,085	0,085	0,085	0,0805	$0,0805 \pm 0,0054$
			60	76,8353	4,00184	0,39823	0,39936	0,3988					
			90	115,253	6,00276	0,53362	0,54062	0,53712					
			120	153,671	8,00368	0,69832	0,70031	0,69932					
			150	192,088	10,00460	0,80355	0,80485	0,8042					
	S4/2	1,36	30	40,8794	2,12913	0,24178	0,21592	0,22885	0,074	0,078	0,076		
			60	81,7588	4,25827	0,36341	0,39099	0,3772					
			90	122,638	6,38740	0,4891	0,53044	0,50977					
			120	163,518	8,51654	0,64065	0,68097	0,66081					
			150	204,397	10,64567	0,73298	0,78131	0,75715					

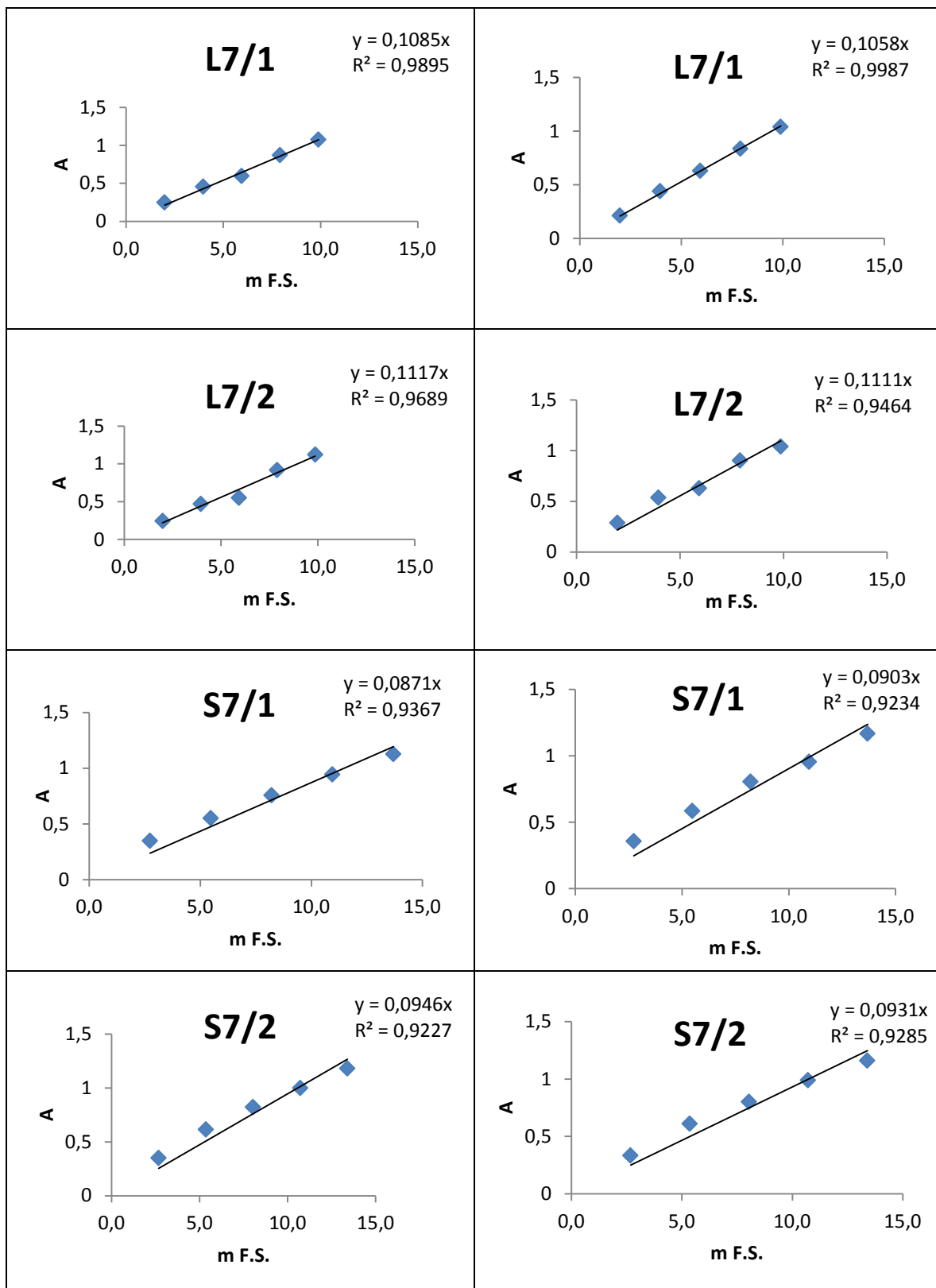




## Priloga B3: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L5, S5 in L7, S7)

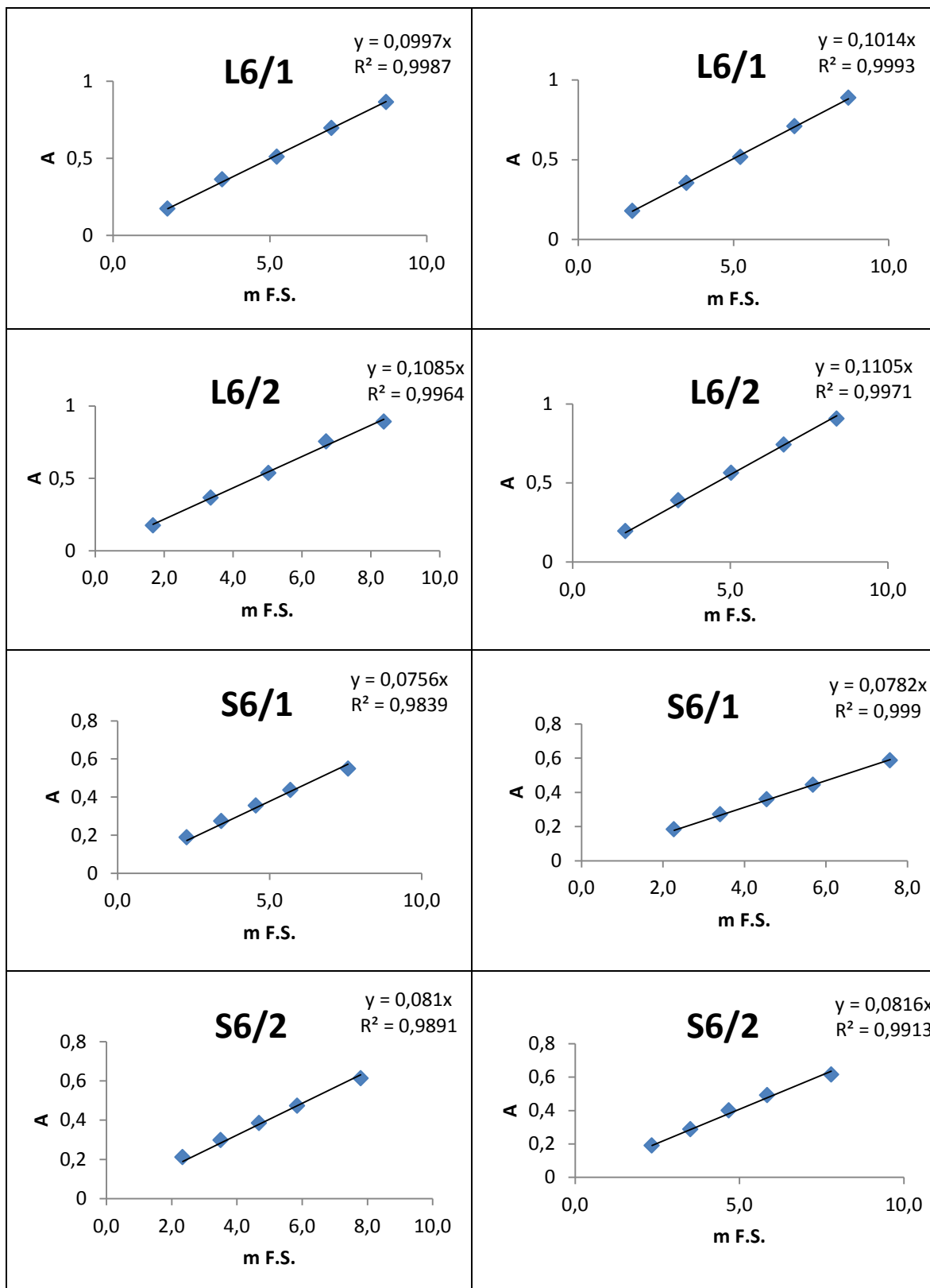
Vzorec	$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L5	L5/1	0,26	100	26,2176	1,36550	0,16729	0,18405	0,17567	0,111	0,117	0,114	0,1060	$0,1060 \pm 0,0097$
			200	52,4352	2,73100	0,3301	0,34474	0,33742					
			300	78,6528	4,09650	0,44047	0,4845	0,46249					
			400	104,87	5,46200	0,61092	0,65351	0,63222					
			500	131,088	6,82750	0,76028	0,77637	0,76833					
	L5/2	0,26	100	25,8428	1,34598	0,14766	0,14405	0,14586	0,096	0,100	0,098		
			200	51,6856	2,69196	0,26156	0,27513	0,26835					
			300	77,5284	4,03794	0,39089	0,3991	0,395					
			400	103,371	5,38392	0,53315	0,54022	0,53669					
			500	129,214	6,72990	0,63881	0,68099	0,6599					
S5	S5/1	0,82	30	24,5004	1,27606	0,10004	0,11319	0,10662	0,066	0,073	0,0695	0,0700	$0,0700 \pm 0,0041$
			60	49,0007	2,55212	0,18278	0,20879	0,19579					
			90	73,5011	3,82818	0,25139	0,28676	0,26908					
			120	98,0015	5,10424	0,33962	0,36454	0,35208					
			150	122,502	6,38030	0,41079	0,45583	0,43331					
	S5/2	0,78	30	23,3608	1,21671	0,1033	0,10142	0,10236	0,067	0,074	0,0705		
			60	46,7215	2,43341	0,18677	0,20231	0,19454					
			90	70,0823	3,65012	0,25192	0,28249	0,26721					
			120	93,443	4,86683	0,33268	0,36176	0,34722					
			150	116,804	6,08353	0,38878	0,43888	0,41383					
L7	L7/1	0,38	100	38,0144	1,97992	0,24874	0,21306	0,2309	0,108	0,105	0,1065	0,1088	$0,1088 \pm 0,0029$
			200	76,0288	3,95983	0,4574	0,43972	0,44856					
			300	114,043	5,93975	0,59535	0,63018	0,61277					
			400	152,058	7,91967	0,87265	0,83654	0,8546					
			500	190,072	9,89958	1,0754	1,0386	1,057					
	L7/2	0,38	100	37,8634	1,97205	0,2457	0,2876	0,26665	0,111	0,111	0,111		
			200	75,7268	3,94410	0,47034	0,5364	0,50337					
			300	113,59	5,91616	0,55011	0,6287	0,58941					
			400	151,454	7,88821	0,91737	0,90219	0,90978					
			500	189,317	9,86026	1,1217	1,0387	1,0802					
S7	S7/1	1,75	30	52,5827	2,73868	0,34804	0,3577	0,35287	0,087	0,09	0,0885	0,0910	$0,0910 \pm 0,0032$
			60	105,165	5,47736	0,55241	0,58585	0,56913					
			90	157,748	8,21604	0,75692	0,80607	0,7815					
			120	210,331	10,95473	0,94385	0,9557	0,94978					
			150	262,913	13,69341	1,1254	1,1677	1,14655					
	S7/2	1,71	30	51,4378	2,67905	0,35067	0,33352	0,3421	0,094	0,093	0,0935		
			60	102,876	5,35810	0,61343	0,60985	0,61164					
			90	154,313	8,03715	0,82186	0,80189	0,81188					
			120	205,751	10,71620	0,99837	0,98967	0,99402					
			150	257,189	13,39525	1,1797	1,1604	1,17005					



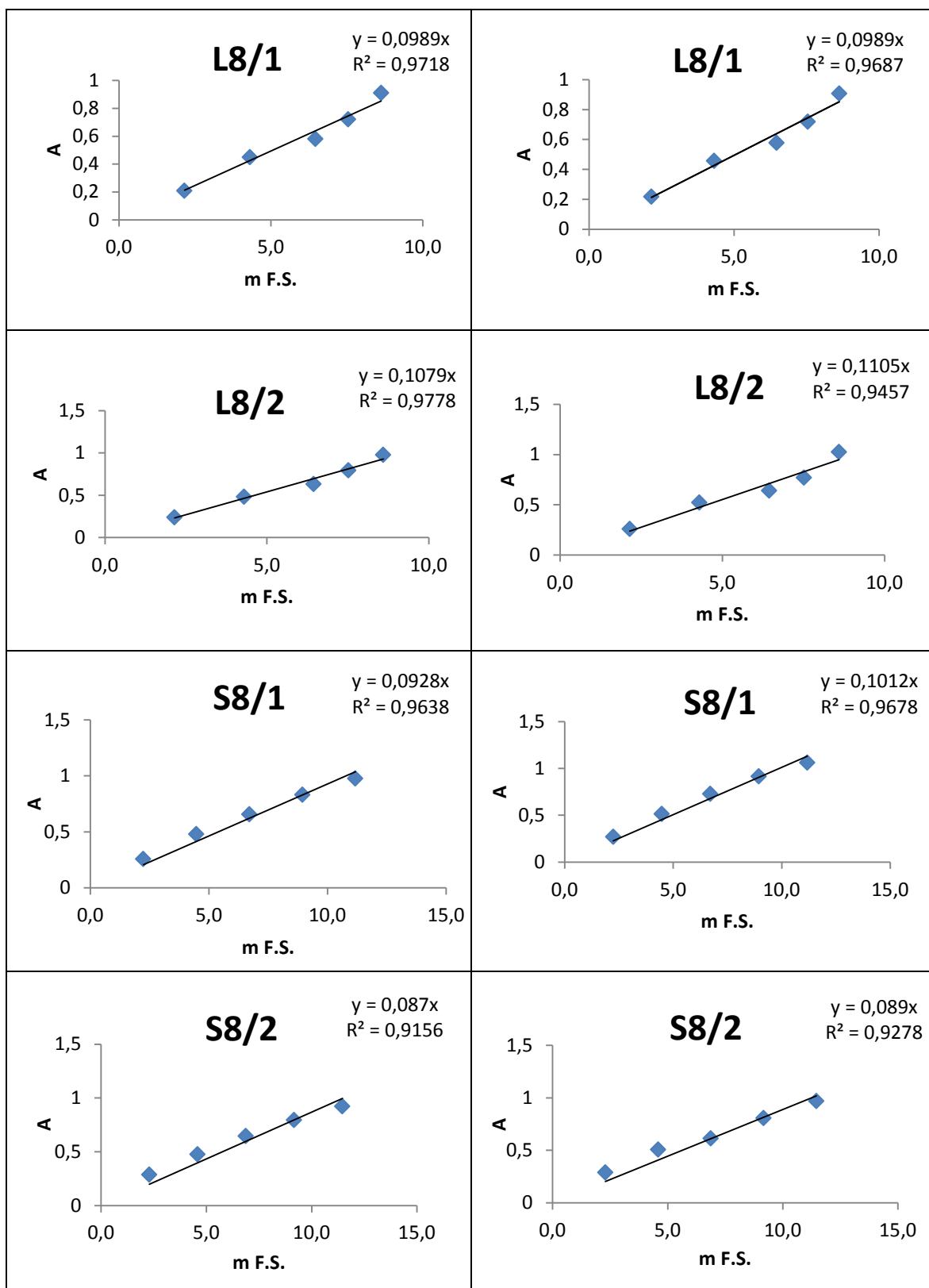


## Priloga B4: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Avstrija iz let 2008 in 2010 (L6, S6 in L8, S8)

Vzorec	$\gamma_{sup}$ (mg/ml)	$V_{eks}$	$mFS_z$ ( $\mu g$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu g$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L6	L6/1	0,33	100	33,4282	1,74105	0,17476	0,17807	0,17642	0,099	0,101	0,100	0,1045	0,1045 ± 0,0053
			200	66,8564	3,48210	0,36403	0,35309	0,35856					
			300	100,285	5,22316	0,51169	0,51569	0,51369					
			400	133,713	6,96421	0,69667	0,70878	0,70273					
			500	167,141	8,70526	0,8649	0,88826	0,87658					
	L6/2	0,32	100	32,167	1,67536	0,17488	0,19492	0,1849	0,108	0,110	0,109		
			200	64,334	3,35073	0,36611	0,39106	0,37859					
			300	96,501	5,02609	0,53745	0,56404	0,55075					
			400	128,668	6,70146	0,75495	0,74268	0,74882					
			500	160,835	8,37682	0,89098	0,90797	0,89948					
S6	S6/1	0,73	60	43,6243	2,27210	0,18811	0,183	0,18556	0,075	0,078	0,0765	0,0788	0,0788 ± 0,0029
			90	65,4365	3,40815	0,2735	0,27147	0,27249					
			120	87,2486	4,54420	0,35533	0,3594	0,35737					
			150	109,061	5,68025	0,43636	0,44388	0,44012					
			200	145,414	7,57367	0,54892	0,58656	0,56774					
	S6/2	0,75	60	44,8862	2,33782	0,2114	0,18967	0,20054	0,081	0,081	0,081		
			90	67,3293	3,50673	0,29914	0,28815	0,29365					
			120	89,7724	4,67564	0,38513	0,39955	0,39234					
			150	112,215	5,84455	0,47404	0,49086	0,48245					
			200	149,621	7,79274	0,61384	0,6148	0,61432					
L8	L8/1	0,41	100	41,4058	2,15655	0,20818	0,21757	0,21288	0,098	0,098	0,098	0,1033	0,1033 ± 0,0062
			200	82,8116	4,31310	0,44878	0,45706	0,45292					
			300	124,217	6,46966	0,58046	0,57808	0,57927					
			350	144,92	7,54793	0,72087	0,71787	0,71937					
			400	165,623	8,62621	0,91075	0,90736	0,90906					
	L8/2	0,41	100	41,2541	2,14865	0,23931	0,25935	0,24933	0,107	0,11	0,1085		
			200	82,5082	4,29730	0,48355	0,52268	0,50312					
			300	123,762	6,44595	0,63256	0,64033	0,63645					
			350	144,389	7,52028	0,79553	0,77018	0,78286					
			400	165,016	8,59460	0,97718	1,0273	1,00224					
S8	S8/1	1,43	30	42,9094	2,23486	0,25876	0,2687	0,26373	0,092	0,101	0,0965	0,0923	0,0923 ± 0,0062
			60	85,8188	4,46973	0,47993	0,51417	0,49705					
			90	128,728	6,70459	0,6564	0,72685	0,69163					
			120	171,638	8,93946	0,83231	0,91349	0,8729					
			150	214,547	11,17432	0,97715	1,0618	1,01948					
	S8/2	1,47	30	44,0024	2,29179	0,28755	0,28881	0,28818	0,087	0,089	0,088		
			60	88,0048	4,58358	0,47472	0,50844	0,49158					
			90	132,007	6,87537	0,6457	0,61323	0,62947					
			120	176,01	9,16716	0,79446	0,80798	0,80122					
			150	220,012	11,45895	0,92199	0,96834	0,94517					



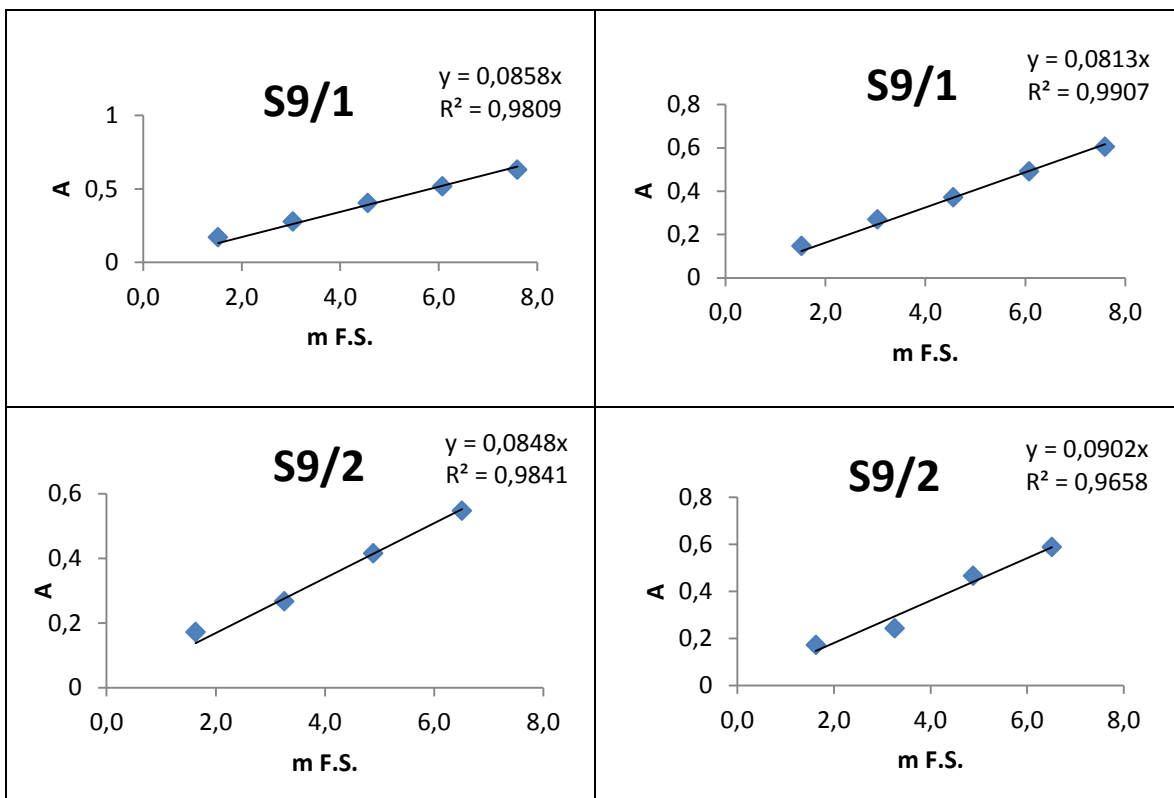


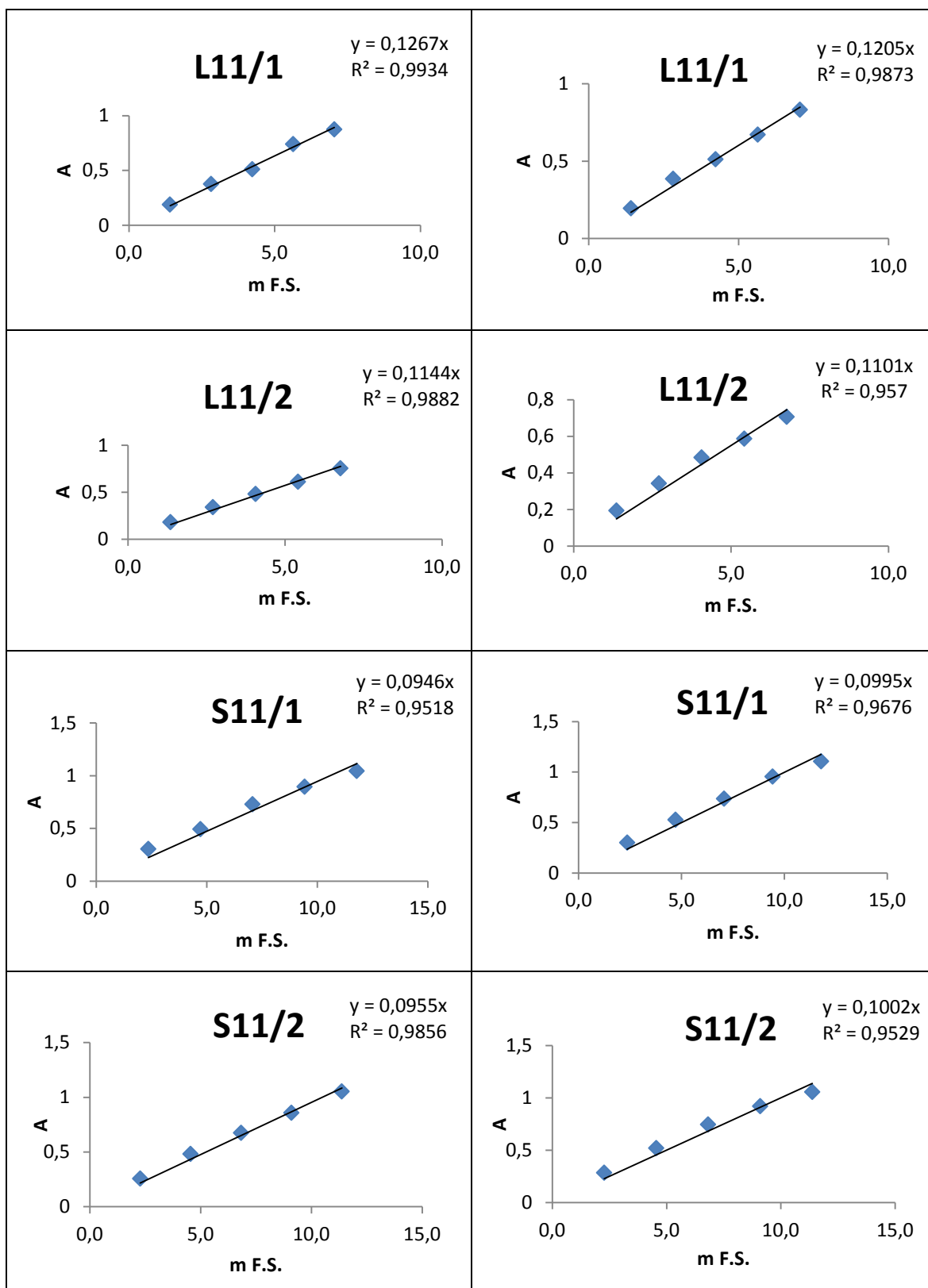


## Priloga B5: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L9, S9 in L11, S11)

Vzorec	$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L9												*na	
S9	S9/1	0,97	30	29,1641	1,51896	0,1707	0,14726	0,15898	0,085	0,081	0,083	0,0850	0,0850 $\pm$ 0,0037
			60	58,3282	3,03793	0,27727	0,26897	0,27312					
			90	87,4922	4,55689	0,40575	0,37083	0,38829					
			120	116,656	6,07585	0,51706	0,49155	0,50431					
			150	145,82	7,59481	0,63084	0,60526	0,61805					
	S9/2	1,04	30	31,2518	1,62770	0,1725	0,17139	0,17195	0,084	0,09	0,087		
			60	62,5035	3,25539	0,26727	0,24248	0,25488					
			90	93,7553	4,88309	0,41604	0,46548	0,44076					
			120	125,007	6,51078	0,54679	0,58822	0,56751					
			X	X	X	X	X	X					
L11	L11/1	0,27	100	27,0712	1,40996	0,18876	0,19483	0,1918	0,126	0,120	0,123	0,1175	0,1175 $\pm$ 0,0070
			200	54,1424	2,81992	0,37726	0,38541	0,38134					
			300	81,2136	4,22988	0,5125	0,51134	0,51192					
			400	108,285	5,63983	0,74062	0,67049	0,70556					
			500	135,356	7,04979	0,87615	0,83212	0,85414					
	L11/2	0,26	100	26,0003	1,35418	0,18006	0,19369	0,18688	0,114	0,110	0,112		
			200	52,0006	2,70836	0,34015	0,34258	0,34137					
			300	78,0009	4,06255	0,48232	0,4836	0,48296					
			400	104,001	5,41673	0,61194	0,58591	0,59893					
			500	130,002	6,77091	0,75339	0,70594	0,72967					
S11	S11/1	1,51	30	45,2528	2,35692	0,30378	0,30059	0,30219	0,094	0,099	0,0965	0,0970	0,0970 $\pm$ 0,0029
			60	90,5057	4,71384	0,49239	0,52605	0,50922					
			90	135,759	7,07076	0,72761	0,73529	0,73145					
			120	181,011	9,42768	0,89394	0,955	0,92447					
			150	226,264	11,78459	1,0438	1,1047	1,07425					
	S11/2	1,46	30	43,6787	2,27493	0,25807	0,28396	0,27102	0,095	0,100	0,0975		
			60	87,3573	4,54986	0,48196	0,51989	0,50093					
			90	131,036	6,82479	0,67448	0,74553	0,71001					
			120	174,715	9,09972	0,85816	0,92238	0,89027					
			150	218,393	11,37465	1,054	1,0565	1,05525					

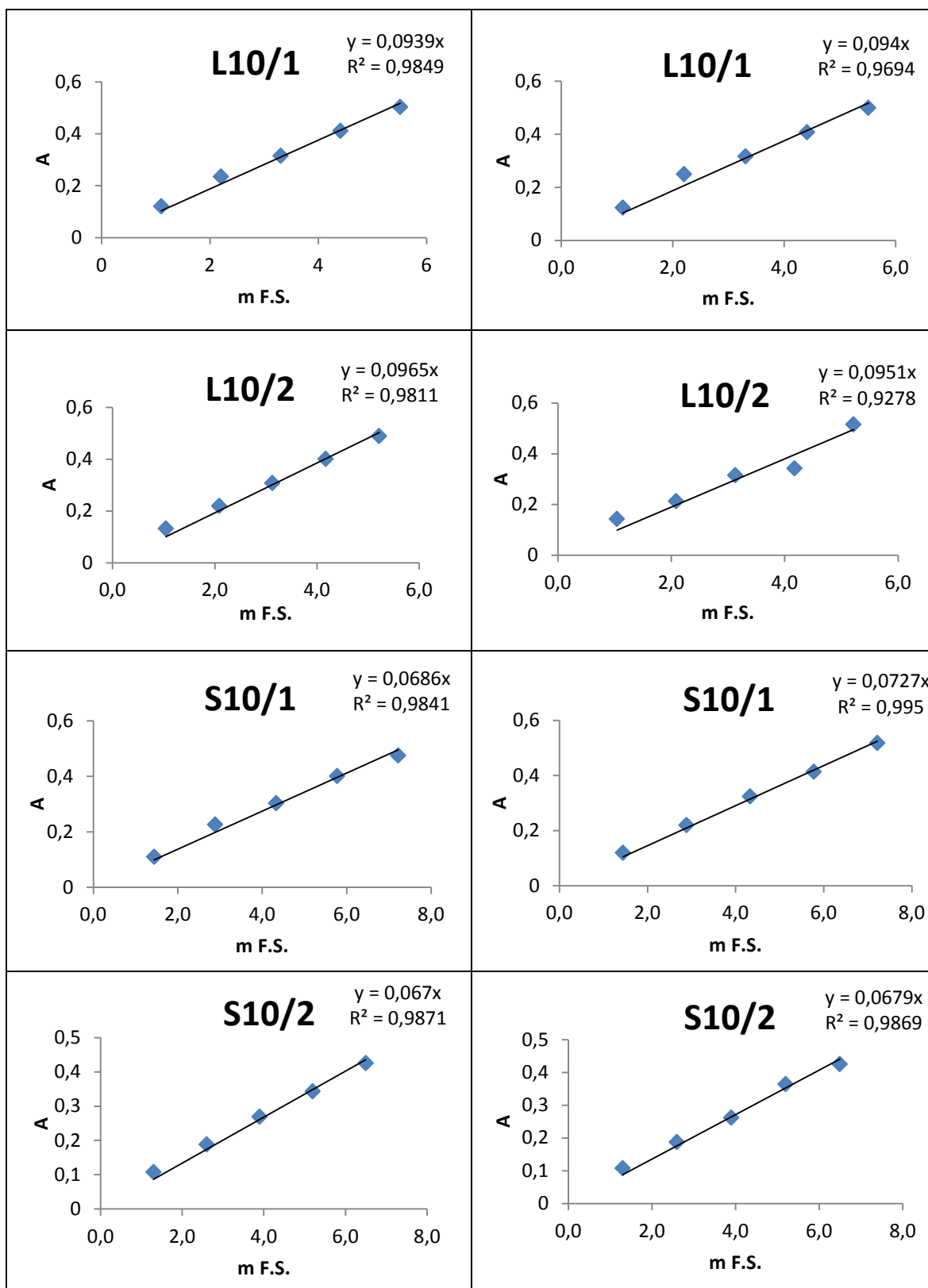
\*na-vzorec ni bil analiziran

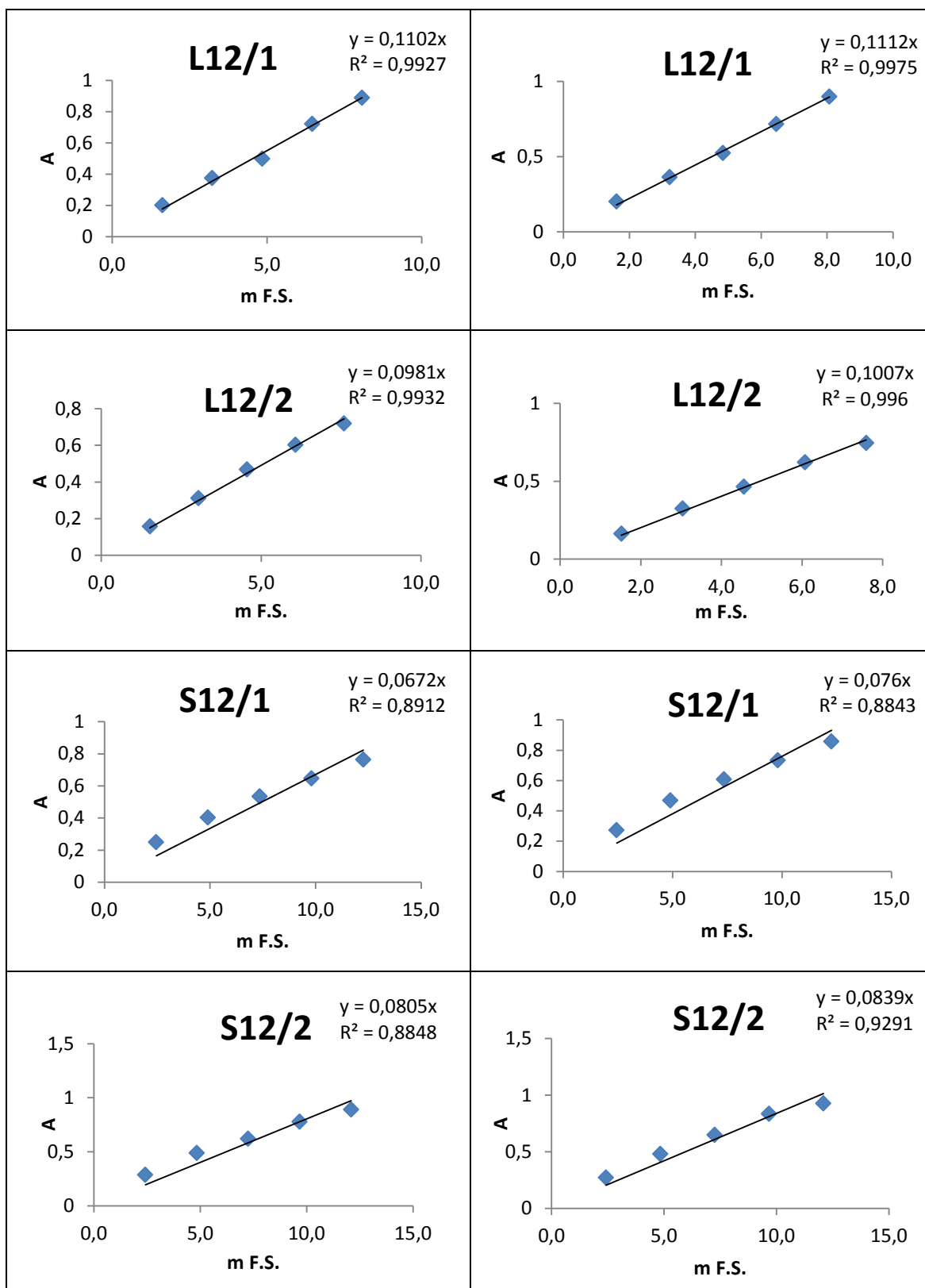




## Priloga B6: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Nemčija iz let 2008 in 2010 (L10, S10 in L12, S12)

Vzorec	$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$				
L10	L10/ 1	0,21	100	21,1645	1,10232	0,12051	0,12282	0,12167	0,093	0,094	0,0935	0,0945	$0,0945 \pm 0,0013$
			200	42,329	2,20464	0,23543	0,24947	0,24245					
			300	63,4935	3,30695	0,31479	0,31658	0,31569					
			400	84,658	4,40927	0,41124	0,40776	0,4095					
			500	105,823	5,51159	0,50284	0,49981	0,50133					
	L10/ 2	0,20	100	20,0319	1,04333	0,13143	0,14268	0,13706	0,096	0,095	0,0955		
			200	40,0638	2,08666	0,21933	0,21257	0,21595					
			300	60,0957	3,12998	0,3073	0,31537	0,31134					
			400	80,1276	4,17331	0,40069	0,34168	0,37119					
			500	100,16	5,21664	0,48876	0,51503	0,5019					
S10	S10/ 1	0,92	30	27,7216	1,44383	0,10966	0,11926	0,11446	0,068	0,072	0,07	0,0685	$0,0685 \pm 0,0024$
			60	55,4431	2,88766	0,22531	0,2199	0,22261					
			90	83,1647	4,33149	0,3028	0,32442	0,31361					
			120	110,886	5,77533	0,40067	0,4133	0,40699					
			150	138,608	7,21916	0,47497	0,51776	0,49637					
	S10/ 2	0,83	30	24,9376	1,29883	0,10729	0,10729	0,10729	0,067	0,067	0,067		
			60	49,8751	2,59766	0,18848	0,18675	0,18762					
			90	74,8127	3,89649	0,269	0,26169	0,26535					
			120	99,7502	5,19533	0,34292	0,3642	0,35356					
			150	124,688	6,49416	0,4253	0,42496	0,42513					
L12	L12/ 1	0,31	100	30,9908	1,61410	0,20062	0,20224	0,20143	0,110	0,111	0,1105	0,1048	$0,1048 \pm 0,0067$
			200	61,9816	3,22821	0,37506	0,36465	0,36986					
			300	92,9724	4,84231	0,49911	0,52434	0,51173					
			400	123,963	6,45642	0,72161	0,71803	0,71982					
			500	154,954	8,07052	0,8892	0,89987	0,89454					
	L12/ 2	0,29	100	29,1479	1,51812	0,15765	0,16137	0,15951	0,098	0,100	0,099		
			200	58,2958	3,03624	0,3109	0,32312	0,31701					
			300	87,4437	4,55436	0,46767	0,46397	0,46582					
			400	116,592	6,07248	0,60249	0,62138	0,61194					
			500	145,74	7,59060	0,71945	0,74531	0,73238					
S12	S12/ 1	1,57	30	47,0903	2,45262	0,24868	0,27122	0,25995	0,067	0,076	0,0715	0,0765	$0,0765 \pm 0,0070$
			60	94,1805	4,90523	0,40252	0,4676	0,43506					
			90	141,271	7,35785	0,53411	0,60815	0,57113					
			120	188,361	9,81047	0,64701	0,73257	0,68979					
			150	235,451	12,26309	0,76347	0,85813	0,8108					
	S12/ 2	1,55	30	46,4118	2,41728	0,28641	0,27167	0,27904	0,080	0,083	0,0815		
			60	92,8236	4,83456	0,48854	0,48071	0,48463					
			90	139,235	7,25184	0,62107	0,6487	0,63489					
			120	185,647	9,66913	0,77917	0,83463	0,8069					
			150	232,059	12,08641	0,89207	0,9279	0,90999					

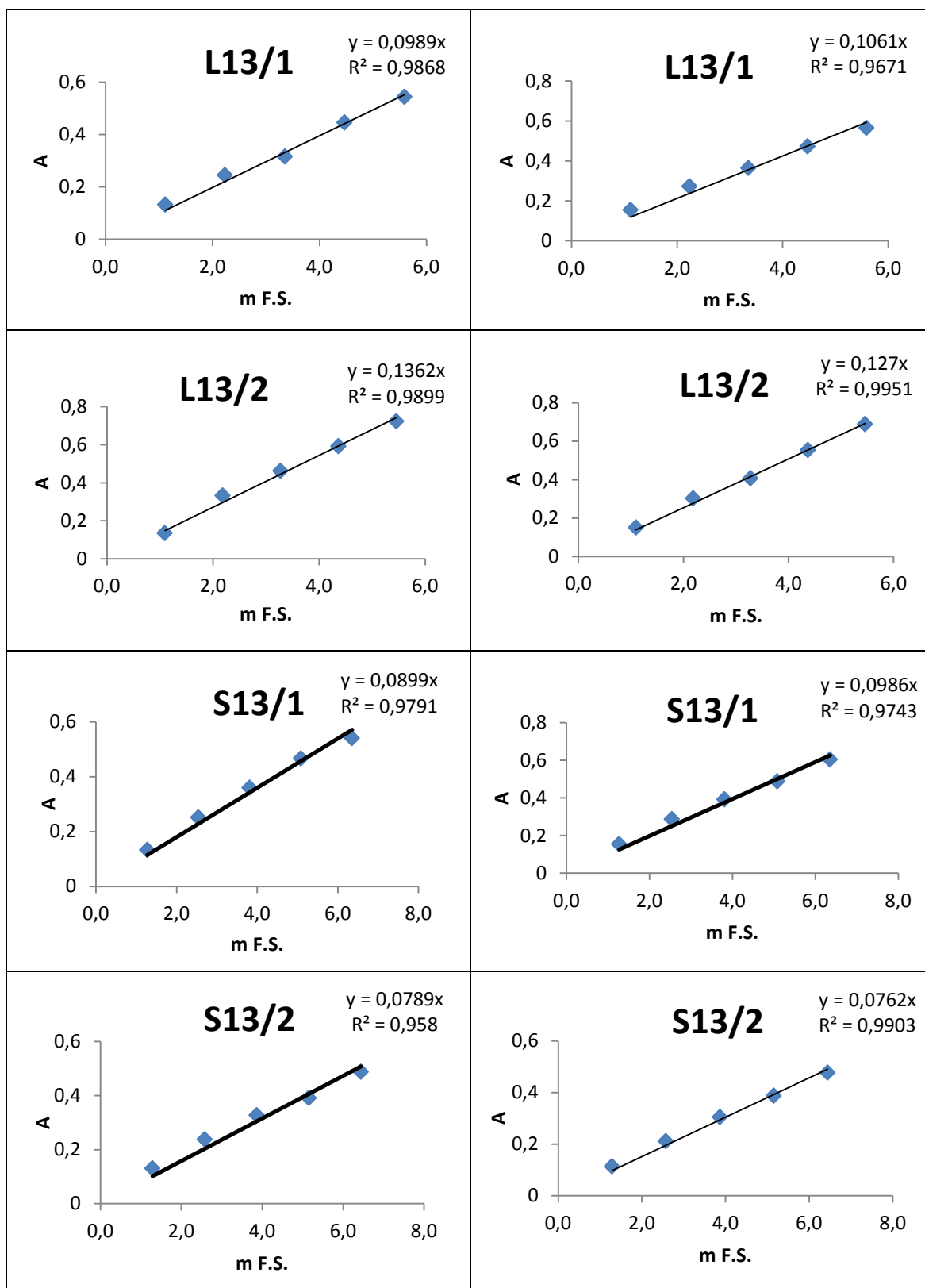


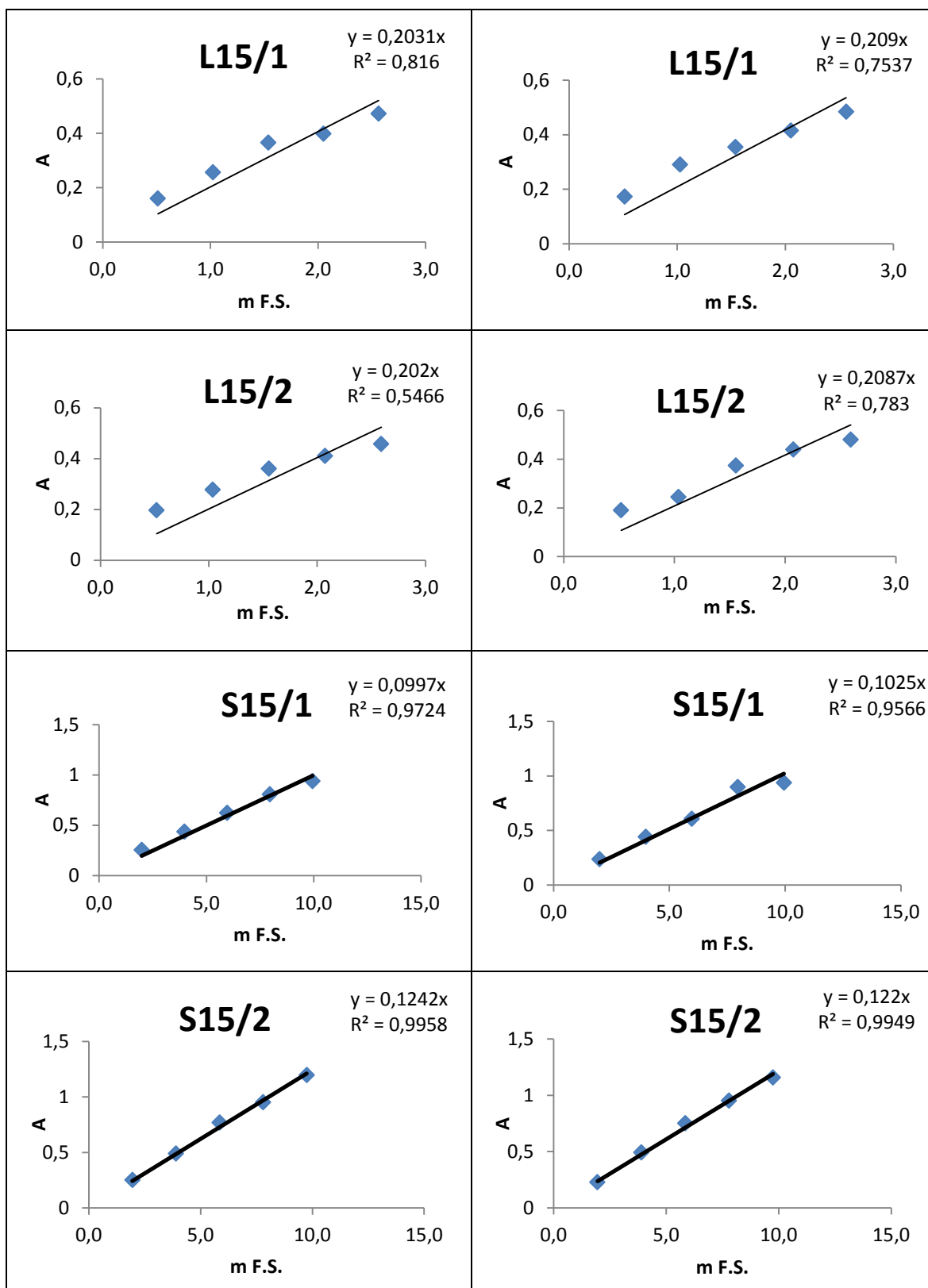


## Priloga B7: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Aurora geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L13, S13 in L15, S15)

Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$			
L13	L13/ 1	0,21	100	21,4601	1,11771	0,13262	0,15523	0,14393	0,098	0,106	0,102	0,1168	0,1168 ± 0,0177
			200	42,9202	2,23543	0,24558	0,2734	0,25949					
			300	64,3803	3,35314	0,31661	0,36504	0,34083					
			400	85,8404	4,47085	0,44597	0,47329	0,45963					
			500	107,301	5,58857	0,54476	0,56638	0,55557					
	L13/ 2	0,21	100	20,9622	1,09178	0,13499	0,14986	0,14243	0,136	0,127	0,1315		
			200	41,9244	2,18356	0,33298	0,30201	0,3175					
			300	62,8866	3,27534	0,46297	0,40634	0,43466					
			400	83,8488	4,36713	0,59224	0,55332	0,57278					
			500	104,811	5,45891	0,72429	0,68781	0,70605					
S13	S13/ 1	0,81	30	24,3914	1,27038	0,13271	0,15521	0,14396	0,089	0,098	0,0935	0,0853	0,0853 ± 0,0102
			60	48,7827	2,54077	0,25166	0,28713	0,2694					
			90	73,1741	3,81115	0,35955	0,39342	0,37649					
			120	97,5654	5,08153	0,46626	0,489	0,47763					
			150	121,957	6,35191	0,53998	0,60531	0,57265					
	S13/ 2	0,82	30	24,7286	1,28795	0,13069	0,11381	0,12225	0,078	0,076	0,077		
			60	49,4571	2,57589	0,23743	0,21152	0,22448					
			90	74,1857	3,86384	0,32706	0,30563	0,31635					
			120	98,9142	5,15178	0,39064	0,38819	0,38942					
			150	123,643	6,43973	0,48761	0,47774	0,48268					
L15	L15/ 1	0,10	100	9,8435	0,51268	0,16044	0,17279	0,16662	0,203	0,209	0,206	0,2055	0,2055 ± 0,0035
			200	19,687	1,02536	0,25696	0,29013	0,27355					
			300	29,5305	1,53805	0,36581	0,3541	0,35996					
			400	39,374	2,05073	0,39833	0,41509	0,40671					
			500	49,2175	2,56341	0,47212	0,48373	0,47793					
	L15/ 2	0,10	100	9,9552	0,51850	0,19669	0,1893	0,193	0,202	0,208	0,205		
			200	19,9104	1,03700	0,27732	0,24403	0,26068					
			300	29,8656	1,55550	0,36081	0,37361	0,36721					
			400	39,8208	2,07400	0,41024	0,43883	0,42454					
			500	49,776	2,59250	0,45709	0,4799	0,4685					
S15	S15/ 1	1,27	30	38,1897	1,98905	0,2534	0,23639	0,2449	0,099	0,102	0,1005	0,1118	0,1118 ± 0,0131
			60	76,3794	3,97809	0,43565	0,44028	0,43797					
			90	114,569	5,96714	0,6221	0,6057	0,6139					
			120	152,759	7,95619	0,80714	0,8968	0,85197					
			150	190,949	9,94523	0,93773	0,93732	0,93753					
	S15/ 2	1,25	30	37,4188	1,94890	0,25021	0,22924	0,23973	0,124	0,122	0,123		
			60	74,8376	3,89779	0,48957	0,49323	0,4914					
			90	112,256	5,84669	0,76751	0,75141	0,75946					
			120	149,675	7,79558	0,9511	0,95422	0,95266					
			150	187,094	9,74448	1,195	1,159	1,177					







## Priloga B8: Meritve, rezultati in grafi FRAP testa listov (L) in storžkov (S) sorte Magnum geografskega porekla Češka iz let 2008 in 2010 (L14, S14 in L16, S16)

Vzorec		$\gamma_{\text{sup}}$ (mg/ml)	$V_{\text{eks}}$	$mFS_z$ ( $\mu\text{g}$ )	$\gamma FS_k$ ( $\mu\text{g}$ )	$A_{740(1)}$	$A_{740(2)}$		$k_1$	$k_2$			
L14	L14/ 1	0,23	100	22,5	1,17188	0,1246	0,1428	0,1337	0,091	0,091	0,091	0,0925	0,0925 ± 0,0037
			200	45	2,34375	0,23334	0,22716	0,23025					
			300	67,5	3,51563	0,32708	0,32512	0,3261					
			400	90	4,68750	0,43303	0,45168	0,44236					
			500	112,5	5,85938	0,5242	0,50501	0,51461					
	L14/ 2	0,22	100	22,0506	1,14847	0,11368	0,13408	0,12388	0,09	0,098	0,094		
			200	44,1012	2,29694	0,20302	0,2666	0,23481					
			300	66,1518	3,44541	0,27436	0,35144	0,3129					
			400	88,2024	4,59388	0,41924	0,44622	0,43273					
			500	110,253	5,74234	0,53266	0,54066	0,53666					
S14	S14/ 1	0,86	30	25,8414	1,34591	0,13069	0,11381	0,12225	0,075	0,072	0,0735	0,0740	0,0740 ± 0,0024
			60	51,6829	2,69182	0,23743	0,21152	0,22448					
			90	77,5243	4,03772	0,32706	0,30563	0,31635					
			120	103,366	5,38363	0,39064	0,38819	0,38942					
			150	129,207	6,72954	0,48761	0,47774	0,48268					
	S14/ 2	0,85	30	25,5514	1,33080	0,11956	0,12323	0,1214	0,072	0,077	0,0745		
			60	51,1028	2,66160	0,19986	0,22429	0,21208					
			90	76,6542	3,99240	0,29109	0,31598	0,30354					
			120	102,206	5,32321	0,38301	0,40835	0,39568					
			150	127,757	6,65401	0,47713	0,49861	0,48787					
L16	L16/ 1	0,35	100	35,3343	1,84033	0,27475	0,26439	0,26957	0,116	0,113	0,1145	0,1100	0,1100 ± 0,0054
			200	70,6686	3,68066	0,55307	0,50655	0,52981					
			300	106,003	5,52098	0,67672	0,62979	0,65326					
			400	141,337	7,36131	0,83335	0,81372	0,82354					
			500	176,672	9,20164	1,0053	1,0092	1,00725					
	L16/ 2	0,35	100	35,3014	1,83861	0,1975	0,20969	0,2036	0,106	0,105	0,1055		
			200	70,6028	3,67723	0,40698	0,41297	0,40998					
			300	105,904	5,51584	0,54404	0,59358	0,56881					
			400	141,206	7,35446	0,78613	0,76144	0,77379					
			500	176,507	9,19307	0,9972	0,96727	0,98224					
S16	S16/ 1	1,45	30	43,3945	2,26013	0,25687	0,26033	0,2586	0,099	0,094	0,0965	0,0928	0,0928 ± 0,0049
			60	86,789	4,52026	0,48929	0,4869	0,4881					
			90	130,183	6,78039	0,7196	0,67448	0,69704					
			120	173,578	9,04052	0,87687	0,85068	0,86378					
			150	216,972	11,30065	1,0927	1,0284	1,06055					
	S16/ 2	1,48	30	44,4648	2,31588	0,27175	0,24828	0,26002	0,088	0,090	0,089		
			60	88,9297	4,63175	0,45043	0,48196	0,4662					
			90	133,394	6,94763	0,63999	0,64777	0,64388					
			120	177,859	9,26351	0,82502	0,80775	0,81639					
			150	222,324	11,57938	0,96451	1,0223	0,99341					

