

## Streszczenie rozprawy pracy doktorskiej

### Związki fenolowe chmielu zwyczajnego (*Humulus lupulus* L.) – skład oraz zawartość w polskich i zagranicznych odmianach uprawnych

**Słowa kluczowe:** chmiel zwyczajny, *H. lupulus* var. *lupulus*, szyszki, polifenole

Chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.) jest uprawiany przemysłowo, celem pozyskiwania szyszek, w ponad 30 krajach strefy umiarkowanej na świecie, w tym w Polsce (głównie w województwie lubelskim). Pomimo dobrze poznanego składu chemicznego surowca chmielowego (szyszek), potwierdzonego licznymi publikacjami naukowymi, stosunkowo mało jest wiadomo o występowaniu metabolitów wtórnych w innych częściach rośliny, takich jak korzenie i liście, jak również męskiej formie chmielu. Ponadto, dotychczas w analizie porównawczej szyszek odmian uprawnych chmielu skupiano się prawie wyłącznie na pierwszorzędowych metabolitach wtórnych (kwasach goryczkowych i terpenach), zaniebując skład jakościowy i ilościowy pozostałych drugorzędowych metabolitów wtórnych chmielu. Badania autora miały na celu uzupełnienie braków w wiedzy na temat składu fitochemicznego *H. lupulus*.

Celem pracy była analiza fitochemiczna (jakościowa oraz ilościowa) drugorzędowych związków polifenolowych obecnych w organach generatywnych (kwiatostanach i owocostanach) oraz wegetatywnych (korzeniach i kłączach, łodygach oraz liściach) odmiany uprawnej chmielu 'Marynka', a także formy męskiej i żeńskiej chmielu europejskiego (*H. lupulus* var. *lupulus*). Przeprowadzono również oznaczenie zawartości głównych drugorzędowych związków polifenolowych w szyszkach sześciu odmian uprawnych chmielu (Hallertauer Magnum, Lubelski, Marynka, Oktawia, Sybilla oraz Wye Challenger) zebranych w sezonie 2012 oraz 2014.

W części teoretycznej przedstawiono klasyfikację taksonomiczną rodzaju *Humulus*, ze szczególnym uwzględnieniem gatunku *H. lupulus*, charakterystykę botaniczną chmielu zwyczajnego, a także dotychczasowy stan wiedzy, dotyczący jego uprawy, historycznego i obecnego wykorzystania surowca chmielowego oraz produktów ubocznych w uprawie chmielu, składu chemicznego szyszek chmielowych oraz aktywności biologicznej głównych występujących klas związków fenolowych.

W części doświadczalnej, po omówieniu zastosowanej metodyki badawczej, zaprezentowane zostały wyniki oraz ich dyskusja. Z organów generatywnych żeńskiego (szyszki) oraz męskiego (kwiatostany) chmielu zwyczajnego wyizolowano metodami chromatograficznymi 42 związki fenolowe, których struktury chemiczne zostały określone

przy użyciu metod analizy spektralnej: NMR i spektrometrii mas (LC-PDA-ESI-MS/MS), oraz metod chemicznych (hydroliza kwasowa oraz analiza jej produktów). Wśród wyizolowanych związków było: 35 flawonoidów (w tym 16 glikozydów flawonoli, 9 chalkonów, 4 flawanony, 4 flawanokumaryny oraz 2 flawan-3-ole) oraz 7 nie-flawonoidowych związków fenolowych (w tym 4 glikozydy multifidoli oraz 3 amidy fenolokwasowe). Wszystkie wyodrębnione związki to znane substancje roślinne, niemniej jednak obecność 16 związków wykazano po raz pierwszy w rodzaju *Humulus*, wyszczególniając: 6 glikozydów flawonoli (3-*O*-glc tamaryksetyny; 3-*O*-soforozydy kemferolu, 8-metoksykemferolu i 8-metoksykwercetyny oraz 3,4'-di-*O*-glc kemferolu i kwercetyny), 4 chalkony (ksantohumol J, ksantohumol L, 3-hydroksyksantohumol oraz chalkonaringenina), 4 flawanokumaryny (filokumaryna, izofilokumaryna, epifilokumaryna oraz izoepifilokumaryna) oraz 2 amidy fenolokwasowe (*N*-feruloilotyramina oraz *N*<sup>1</sup>,*N*<sup>5</sup>,*N*<sup>10</sup>-trikawoilospermidyna). Ponadto, w organach generatywnych i wegetatywnych chmielu zwyczajnego zidentyfikowano wstępnie, na podstawie analiz LC-PDA-MS/MS oraz danych literaturowych, 48 innych związków polifenolowych, wśród których były substancje nie raportowane dotychczas w chmielu zwyczajnym (fenolokwasowe pochodne spermidyny oraz tyraminy, heksozyd metoksykemferolu oraz malonyloheksozyd ko-multifidolu), jak również w świecie roślin (oligomery fenolokwasowych pochodnych tyraminy oraz malonyloheksozyd ko-multifidolu).

W wyciągach z szyszek sześciu odmian uprawnych chmielu (Hallertau Magnum, Lubelski, Marynka, Oktawia, Sybilla, Wye Challenger) oraz chmielu europejskiego, za pomocą opracowanej metody rozdzielania UPLC-PDA-MS, oznaczono ilościowo 39 związków fenolowych, należących do sześciu grup drugorzędowych polifenoli chmielu (kwasy hydroksycynamonowe, multifidole, flawan-3-ole, flawonole, chalkony oraz flawanony). Badany materiał roślinny wykazał się istotnymi różnicami w stężeniu poszczególnych związków fenolowych oraz grup polifenoli w dwóch badanych sezonach wegetacyjnych (2012 oraz 2014). Flawonole oraz chalkony były dwiema głównymi grupami polifenoli w szyszkach wszystkich badanych odmian chmielu. Dominującym związkiem fenolowym we wszystkich ekstraktach był ksantohumol (2–5 mg/g s.m.). Najwyższą, ogólną zawartością polifenoli charakteryzowały się szyszki chmielu europejskiego (13,5 mg/g s.m.), następnie odmian uprawnych Lubelski (13 mg/g s.m.) i Oktawia (12 mg/g s.m.), zaś najniższą szyszki odmiany Hallertau Magnum (7,5 mg/g s.m.). Analiza porównawcza ekstraktów szyszek, z zastosowaniem metod chemometrycznych (CA oraz PCA), pozwoliła na pogrupowanie odmian chmielu w klastry oraz ich powiązanie (korelacja dodatnia i/lub ujemna) z drugorzędowymi polifenolami. Szyszki badanych odmian chmielu skupiały się w tych

samych klastrach pod względem sezonu wegetacyjnego, ale niezgodnie z podziałem na typ użytkowy chmielu (aromatyczny, dual, goryczkowy).

W wyciągach z organów generatywnych (kwiatostany i szyszki) oraz wegetatywnych (korzenie i kłęczce, łodygi oraz liście) kultywaru Marynka oraz męskiej i żeńskiej formy chmielu europejskiego (*H. l. var. lupulus*), oznaczono ilościowo 57 związków fenolowych, należących do siedmiu grup drugorzędowych polifenoli chmielu (kwasy hydroksycynamonowe, amidy fenolokwasowe, multifidole, flawan-3-ole, flawonole, chalkony oraz flawanony). Zaobserwowano wyraźne różnice (jakościowe oraz ilościowe) w profilach fitochemicznych części podziemnych (korzenie i kłęczce) i części nadziemnych, oraz organów generatywnych (kwiatostany i owocostany) i nadziemnych organów wegetatywnych (liście i łodygi), a także żeńskiej i męskiej formy chmielu zwyczajnego. W ekstraktach z korzeni i kłęczcy obecne były tylko dwie grupy drugorzędowych polifenoli chmielu (flawan-3-ole oraz amidy fenolokwasowe), oraz charakteryzowały się one także najniższą ogólną zawartością polifenoli (3 mg/g s.m.). W wyciągach z liści i łodyg (nadziemne organy wegetatywne) dominowały trzy grupy polifenoli: flawonole, kwasy hydroksycynamonowe oraz flawan-3-ole. Przy tym ich ogólna zawartość była kilkukrotnie wyższa w liściach (30 mg/g s.m. w *H. l. var. lupulus*), niż w łodygach (4,5 mg/g s.m. w Marynce).

W męskich kwiatostanach stwierdzono występowanie polifenoli nieobecnych w organach generatywnych żeńskiej formy chmielu (związki z grupy amidów fenolokwasowych, flawonoli, chalkonów), z kolei nie wykazano obecności multifidoli. Ponadto, charakteryzowały się one najwyższymi poziomami kwasów hydroksycynamonowych (3,5 mg/g s.m.), amidów fenolokwasowych (2 mg/g s.m.), flawonoli (25 mg/g s.m.) oraz polifenoli ogółem (35 mg/g s.m.) spośród wszystkich analizowanych ekstraktów z organów generatywnych chmielu. Organy generatywne żeńskiej formy chmielu europejskiego i uprawnego charakteryzowały się bardzo podobnym składem polifenoli drugorzędowych. Niemniej jednak, w obu przypadkach stwierdzono występowanie istotnych różnic pomiędzy kwiatostanami i szyszkami. W ekstraktach z kwiatostanów wykazano wyższe stężenia kwasów hydroksycynamonowych, flawan-3-oli, flawonoli oraz polifenoli ogółem, natomiast w szyszkach chalkonów i multifidoli. Głównym polifenolem w żeńskich kwiatostanach chmielu była katechina (3 mg/g s.m.), natomiast w owocostanach był to ksantohumol (3,5 mg/g s.m.).