

SADRŽAJ POLIFENOLA, ANTOCIJANA I ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST VOĆNIH ČAJEVA

Mirela Kopjar, Ivana Knežević, Vlasta Piližota

Prehrambeno-tehnološki fakultet; F. Kuhača 20; 31000 Osijek; Hrvatska

originalni naučni rad

Sažetak

U ovom radu ispitan je utjecaj vremena i temperature maceracije tijekom pripreme voćnih čajeva (brusnica, borovnica, trešnja i šumsko voće) na sadržaj polifenola, antocijana, flavonoida, kondenziranih tanina i antioksidativnu aktivnost. Čajevi su macerirani pri 80 i 100 °C 5 odnosno 8 minuta. Ispitivan je i utjecaj ponovljene maceracije istih čajeva na sadržaj navedenih komponenti. Maceracijom čajeva pri 100 °C, u uzorcima je određen veći sadržaj polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina, a vrijednosti antioksidativne aktivnosti su bile veće. Nakon ponovljene maceracije sadržaj polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina bio je znatno manji. Vrijednosti antioksidativne aktivnosti su također bile niže nakon ponovljene maceracije.

Ključne riječi: voćni čaj, polifenoli, flavonoidi, antocijani, antioksidativna aktivnost, vrijeme i temperatura maceracije.

Uvod

Popularnost čaja u svijetu sve više raste s obzirom da je istraživanjima dokazano da je čaj važan izvor polifenola u ljudskoj prehrani (Cooper i sur., 2005 a,b; Heck i de Mejia, 2007; Rusak i sur., 2008; Aoshima, 2008; Horžić i sur., 2009; Komes i sur., 2010; Belščak i sur., 2011; Afify i sur., 2011). Najčešće se pod pojmom čaj podrazumijevaju crni, zeleni, bijeli i Oolong čaj, te se oni i najčešće konzumiraju. Sve više se konzumiraju i različiti biljni i tzv. voćni čajevi koji su popularni zbog svoje arome i lake pripreme. Pozitivan utjecaj čaja na zdravlje uglavnom je pripisan antioksidansima odnosno polifenolima, vitaminima i karotenoidima koji sprječavaju oksidativna oštećenja izazvana slobodnim radikalima u našem organizmu (Stähelin i sur., 1991; Steinberg, 1991; Willett, 1994; Wiseman i sur., 1997). Ljudski organizam dobiva energiju kroz respiraciju odnosno oksidaciju nutrijenata kao što su šećeri ili lipidi. U tim reakcijama neizbježno nastaju različiti reaktivni oblici kisika i dušika koji dalje mogu reagirati s DNK, proteinima, lipidima uzrokujući mutacije, narušavanje strukture proteina i perok-

sidaciju lipida membrane. Takva oštećenja mogu dovesti do različitih oblika bolesti i degenerativnih promjena kao što su starenje, smanjenje aktivnosti obrambenog sustava, kancerogeneze (Scandalios, 1997; Aoshima, 2008). Antioksidativna svojstva fenola pripisuju se njihovom redoks svojstvu, koje omogućava fenolima da djeluju kao reducirajuće sredstvo, kao donori vodika i hvatači kisika. Na temelju slijedeća dva uvjeta, fenolna komponenta se može definirati kao antioksidans; u relativno niskim koncentracijama u odnosu na substrat mora odgoditi, usporiti ili spriječiti oksidaciju i novonastali radikal koji je rezultat te reakcije mora biti stabilan (polifenoli se stabiliziraju ili daljnjom oksidacijom ili intramolekularnim vezivanjem vodika) (Rice-Evans i sur., 1997; Kaur i Kapoor, 2001).

U ovom radu ispitan je utjecaj temperature maceracije i vremena maceracije voćnih čajeva na sadržaj polifenola, flavonoida, antocijana i kondenziranih tanina, te antioksidativnu aktivnost. Također je ispitan utjecaj ponovljene maceracije već upotrijebljenih vrećica čaja kako bi se utvrdilo koliko polifenola zaostaje u tzv. otpadu.

Materijali i metode

Materijali

Čajevi su kupljeni u lokalnoj trgovini. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) su nabavljeni od proizvođača Fluka (Njemačka), galna kiselina, katehin, vanilin i natrij nitrit su nabavljeni od proizvođača Sigma (Njemačka), dok su kalijev klorid, natrijev acetat, klorovodična kiselina, metanol, natrijev karbonat, metanol, natrijev karbonat, aluminij klorid i Folin-Ciocalteu reagens proizvodi Kemike (Hrvatska).

Priprema uzoraka

Filter vrećice voćnih čajeva (brusnice, borovnice, trešnje i šumskog voća) prelivene su s 200 mL vode koja je zagrijana na 80 odnosno 100 °C, te je uzorak poklopljen i ostavljen da stoji 5 odnosno 8 minuta. Nakon zadanog vremena filter vrećice su ocijeđene, dobiveni čaj ohlađen na sobnu temperaturu nakon čega su provedene potrebne analize. Zaostale filter vrećice nakon prve pripreme čaja, korištene su za ponovnu upotrebu odnosno pripremu čaja.

Određivanje monomernih antocijana

Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001). Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena apsorbanca pri valnim duljinama od 517 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$c \text{ (antocijana) (mg/L)} = (A \times M \times FR \times 1000) / \epsilon \times l$$

gdje je: A - apsorbanca uzorka [A = (A₅₁₇ - A₇₀₀)pH 1 - (A₅₁₇ - A₇₀₀)pH 4,5]; M - 449,2; FR - faktor razrjeđenja; ϵ - molarna absorptivnost, 26 900; l - duljina kivete, 1 cm (M i ϵ su uzeti za dominantnu vrstu antocijana odnosno za cijanidin-3-glukozid).

Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Određivanje polifenola

Sadržaj ukupnih fenola je određen Folin-Ciocalteu metodom (Ough i Amerine, 1998). Rezultat se

preračuna iz kalibracijske krivulje galne kiseline. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Određivanje flavonoida

Sadržaj flavonoida određen je metodom prema (Makris i sur., 2007), a sadržaj flavonoida izračunat je iz kalibracijske krivulje uz katehin kao standard. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Određivanje kondenziranih tanina

Sadržaj kondenziranih tanina određen je vanilin metodom prema Nakamura i sur. (2003), a sadržaj kondenziranih tanina izračunat je iz kalibracijske krivulje uz katehin kao standard. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Određivanje antioksidativne aktivnosti

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primijenjene su dvije metode, DPPH i ABTS metoda.

DPPH metoda: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 15 minuta. Nakon toga mjeri se apsorbanca pri 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol.

ABTS metoda: otpipetira se 0,2 mL uzorka te se doda 3,2 mL otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi reagirati 1h i 35 min u mraku. Nakon toga mjeri se apsorbanca pri 734 nm.

Antioksidativna aktivnost izračunata je iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Rezultati i rasprava

U ovom radu ispitivan je utjecaj vremena i temperature maceracije voćnih čajeva (čaja od brusnice, borovnice, trešnje i šumskog voća) na sadržaj antocijana, polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina, te na antioksidativnu aktivnost. Također je ispitivan i utjecaj ponovljene maceracije na navedene parametre. Ponovljenom maceracijom se željelo utvrditi koliko antocijana, polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina zaostaje nakon prve maceracije u tzv. otpadu. Prema uputama za pripremu čajnog napitka na ambalaži čaja, vrijeme maceracije je 5 do 8 minuta pri 100 °C.

Za istraživanje u ovom radu odabrano je vrijeme maceracije 5 odnosno 8 minuta i temperatura maceracije 80 °C odnosno 100 °C.

Tabela 1. Sadržaj polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana (mg/L) čaja brusnice nakon pripreme.
Table 1. The content of polyphenols, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins (mg/L) of cranberry tea after preparation

| maceracija | temperatura maceracije | vrijeme maceracije | polifenoli (mg/L) | flavonoidi (mg/L) | kondenzirani tanini(mg/L) | antocijani (mg/L) |
|------------|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| prva | 80 °C | 5 min | 336,56 | 289,06 | 57,37 | 33,06 |
| | | 8 min | 372,32 | 362,5 | 99,47 | 36,82 |
| | 100 °C | 5 min | 384,91 | 378,13 | 69,89 | 37,45 |
| | | 8 min | 428,73 | 417,19 | 105,39 | 37,94 |
| druga | 80 °C | 5 min | 109,40 | 78,13 | 31,71 | 7,01 |
| | | 8 min | 103,35 | 73,44 | 30,39 | 5,39 |
| | 100 °C | 5 min | 89,76 | 37,5 | 28,42 | 3,63 |
| | | 8 min | 70,11 | 31,25 | 10,66 | 2,63 |

Čaj od brusnice. Rezultati određivanja sadržaja polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana čaja od brusnice prikazani su u Tablici 1. Sadržaj polifenola u čaju brusnice kretao se od 70 mg/L do 428 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Sadržaj antocijana iznosio je od 2 mg/L do 38 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Najveći sadržaj polifenola (od 336 do 428 mg/L) i antocijana (od 33 mg/L do 38 mg/L) bio je nakon prve maceracije. Nakon druge maceracije sadržaj polifenola iznosio je od 70 mg/L do 110 mg/L, a sadržaj antocijana bio je od 2 mg/L do 7 mg/L. Sadržaj flavonoida i kondenziranih tanina pratio je istu tendenciju kao i polifenoli. Sadržaj flavonoida kretao se je od 31 mg/L do 417 mg/mL, a sadržaj kondenziranih tanina bio je niži (od 10 mg/L do 105 mg/L) ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Nakon prve maceracije, najveći sadržaj polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina uočen je u uzorcima dobivenim maceracijom od 8 minuta pri 100 °C (428,73 mg/L, 417,19 mg/L i 105,39 mg/L). Sadržaj antocijana bio je oko 37 mg/L nakon maceracije pri 100 °C kroz 5 odnosno 8 minuta maceracije. Vrijednosti za sadržaj polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina nakon 5 minuta maceracije na istoj temperaturi bile su niže nego nakon 8 minuta maceracije. Maceracijom pri 80 °C, kroz 5 i 8 minuta, u uzorcima su zapažene niže vrijednosti ispitivanih komponenti u odnosu na maceraciju pri 100 °C. Nakon druge maceracije, sadržaj ispitivanih komponenti bio je znatno niži,

što je bilo i za očekivati s obzirom da su prvom maceracijom one ekstrahirane iz uzoraka. Sadržaj ispitivanih komponenti (polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina) bio je najveći u uzorcima maceriranim 5 minuta pri 80 °C (109,40 mg/L, 7,01 mg/L, 78,13 mg/L i 31,71 mg/L). Uzorci macerirani pri 100 °C kroz 5 odnosno 8 minuta imali su znatno manje vrijednosti ispitivanih komponenti.

Što se tiče antioksidativne aktivnosti (Tabela 5) bez obzira na metodu određivanja (ABTS ili DPPH metoda), najveće vrijednosti su uočene nakon prve maceracije, što je i za očekivati s obzirom da su ti uzorci imali i najveće vrijednosti sadržaja polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina. Antioksidativna aktivnost uzoraka nakon prve maceracije kretala se je od 0,67 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,76 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i od 0,26 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,31 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Nakon druge maceracije vrijednosti su bile znatno niže, od 0,10 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,13 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,06 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Vidljivo je da je nakon prve maceracije znatna razlika u antioksidativnoj aktivnosti ovisno o primijenjenoj metodi određivanja, dok se nakon druge maceracije ta razlika u antioksidativnoj aktivnosti između primijenjenih metoda ne uočava. Razlika dobivena u rezultatima antioksidativne aktivnosti leži u činjenici da su primijenjene različite metode kod kojih se za određivanje antioksidativne ak-

tivnosti koriste različiti slobodni radikali te dolazi i antioksidanasa u uzorcima, što ovisi o strukturi do drugačijih reakcija između slobodnih radikala fenolnih tvari (Singleton i Rossi, 1965).

Tabela 2. Sadržaj polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana (mg/L) čaja borovnice nakon pripreme.
Table 2. The content of polyphenols, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins (mg / L) blueberry tea after preparation.

| maceracija | temperatura maceracije | vrijeme maceracije | polifenoli (mg/L) | flavonoidi (mg/L) | kondenzirani tanini (mg/L) | antocijani (mg/L) |
|------------|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| prva | 80 °C | 5 min | 351,16 | 250,00 | 106,71 | 54,10 |
| | | 8 min | 374,33 | 307,81 | 139,61 | 57,23 |
| | 100 °C | 5 min | 347,13 | 273,44 | 143,55 | 57,36 |
| | | 8 min | 385,92 | 340,63 | 157,37 | 59,24 |
| druga | 80 °C | 5 min | 97,81 | 82,81 | 47,50 | 8,14 |
| | | 8 min | 90,76 | 78,12 | 33,68 | 8,27 |
| | 100 °C | 5 min | 96,30 | 68,75 | 42,89 | 10,02 |
| | | 8 min | 85,22 | 84,38 | 64,61 | 7,76 |

Čaj od borovnice. Rezultati određivanja sadržaja polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana čaja od borovnice prikazani su u Tablici 2. Sadržaj polifenola u čaju borovnice kretao se je od 85 mg/L do 385 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Sadržaj antocijana iznosio je od 7 mg/L do 59 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Najveći sadržaj polifenola i antocijana bio je nakon prve maceracije (od 351 do 385 mg/L, odnosno od 54 mg/l do 59 mg/L). Nakon druge maceracije sadržaj polifenola iznosio je od 85 mg/L do 97 mg/L, a sadržaj antocijana bio je od 7 mg/L do 10 mg/L. Sadržaj flavonoida i kondenziranih tanina pratio je istu tendenciju kao i polifenoli. Sadržaj flavonoida kretao se je od 68 mg/L do 84 mg/mL, a sadržaj kondenziranih

tanina bio je niži (od 33 mg/L do 64 mg/L) ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Nakon prve maceracije, najveći sadržaj polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina uočen je u uzorcima dobivenim maceracijom od 8 minuta pri 100 °C (385,92 mg/L, 59,24 mg/L, 340,63 mg/L i 157,37 mg/L). Vrijednosti za sadržaj polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina nakon 5 minuta maceracije na istoj temperaturi, te pri 80 °C kroz 5 odnosno 8 minuta bile su niže. Nakon druge maceracije, sadržaj ispitivanih komponenti (polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina) bio je manji u odnosu na prvu maceraciju. Sadržaj polifenola bio je najveći nakon maceracije od 5 minuta i pri 80 °C i pri 100 °C (97,81 mg/L i 96,3 mg/L).

Tabela 3. Sadržaj polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana (mg/L) čaja trešnje nakon pripreme.
Table 3. The content of polyphenols, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins (mg/L) of tea shake after training.

| maceracija | temperatura maceracije | vrijeme maceracije | polifenoli (mg/L) | flavonoidi (mg/L) | kondenzirani tanini (mg/L) | antocijani (mg/L) |
|------------|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| prva | 80 °C | 5 min | 351,16 | 250,00 | 106,71 | 54,10 |
| | | 8 min | 374,33 | 307,81 | 139,61 | 57,23 |
| | 100 °C | 5 min | 347,13 | 273,44 | 143,55 | 57,36 |
| | | 8 min | 385,92 | 340,63 | 157,37 | 59,24 |
| druga | 80 °C | 5 min | 97,81 | 82,81 | 47,50 | 8,14 |
| | | 8 min | 90,76 | 78,12 | 33,68 | 8,27 |
| | 100 °C | 5 min | 96,30 | 68,75 | 42,89 | 10,02 |
| | | 8 min | 85,22 | 84,38 | 64,61 | 7,76 |

Ispitivanja antioksidativne aktivnosti (Tabela 5), bez obzira na metodu određivanja (ABTS ili DPPH metoda), su pokazala da su najveće vrijednosti uočene nakon prve maceracije, kada su ti uzorci imali i najveće vrijednosti sadržaja polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina. Antioksidativna aktivnost uzoraka nakon prve maceracije kretala se je od 0,73 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,81 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,44 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Nakon druge maceracije vrijednosti su bile znatno niže, oko 0,28 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,19 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Nakon prve maceracije postoji razlika u antioksidativnoj aktivnosti ovisno o primijenjenoj metodi određivanja, dok se nakon druge maceracije ta razlika u antioksidativnoj aktivnosti između primijenjenih metoda ne uočava toliko jako.

Čaj od trešnje. Rezultati određivanja sadržaja polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana čaja od trešnje prikazani su u Tablici 3. Sadržaj polifenola u čaju trešnje kretao se je od 61 mg/L do 342 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Sadržaj antocijana iznosio je 11 mg/L do 66 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Najveći sadržaj polifenola i antocijana bio je nakon prve maceracije (od 319 do 342 mg/L, odnosno od 58 mg/L do 66 mg/L). Nakon druge maceracije sadržaj polifenola iznosio je od 61 mg/L do 74 mg/L, a sadržaj antocijana bio je 11 mg/L do 13 mg/L. Sadržaj flavonoida pratio je

istu tendenciju kao i polifenoli. Sadržaj flavonoida kretao se je od 37 mg/L do 253 mg/mL, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. U uzorku nisu utvrđeni kondenzirani tanini. Nakon prve maceracije, najveći sadržaj polifenola, antocijana i flavonoida uočen je uzorcima dobivenim maceracijom od 8 minuta pri 100 °C (342,10 mg/L, 66,88 mg/L i 253,13 mg/L). Vrijednosti za sadržaj polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina nakon 5 minuta maceracije na istoj temperaturi, te pri 80 °C kroz 5 odnosno 8 minuta bile su niže. Nakon druge maceracije, sadržaj ispitivanih komponenti (polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina) bio je manji u odnosu na prvu maceraciju. Sadržaj polifenola bio je najveći nakon maceracije od 5 minuta i na 100 °C (74,14 mg/L).

I u ovom slučaju, ispitivanja antioksidativne aktivnosti (Tabela 5), bez obzira na metodu određivanja (ABTS ili DPPH metoda), su pokazala da su najveće vrijednosti nakon prve maceracije, što je i za očekivati s obzirom da su ti uzorci imali i najveće vrijednosti sadržaja polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina. Antioksidativna aktivnost uzoraka nakon prve maceracije kretala se je od 0,74 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,88 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,44 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Nakon druge maceracije vrijednosti su bile znatno niže, od 0,25 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ do 0,31 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,15 $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ određeno DPPH metodom.

Tabela 4. Sadržaj polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana (mg/L) čaja šumskog voća nakon pripreme.

Table 4. The content of polyphenols, flavonoids, condensed tannins and anthocyanins (mg / L) of tea wild fruit after preparation.

| maceracija | temperatura maceracije | vrijeme maceracije | polifenoli (mg/L) | flavonoidi (mg/L) | kondenzirani tanini (mg/L) | antocijani (mg/L) |
|------------|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| prva | 80 °C | 5 min | 323,96 | 257,81 | 10,66 | 51,98 |
| | | 8 min | 335,05 | 264,06 | 17,23 | 56,11 |
| | 100 °C | 5 min | 331,52 | 267,19 | 12,63 | 55,23 |
| | | 8 min | 354,19 | 259,38 | 17,89 | 54,48 |
| druga | 80 °C | 5 min | 77,67 | 51,56 | - | 12,15 |
| | | 8 min | 74,14 | 53,25 | - | 7,14 |
| | 100 °C | 5 min | 72,13 | 62,50 | - | 9,64 |
| | | 8 min | 61,05 | 53,13 | - | 6,64 |

Čaj od šumskog voća. Rezultati određivanja sadržaja polifenola, flavonoida, kondenziranih tanina i antocijana čaja od šumskog voća prikazani su u Tablici 4. Sadržaj polifenola u čaju šumskog voća kretao se je od 61 mg/L do 354 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Sadržaj antocijana iznosio je 6 mg/L do 56 mg/L, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Najveći sadržaj polifenola i antocijana bio je nakon prve maceracije (od 323 do 354 mg/L, odnosno od 51 mg/l do 56 mg/L). Nakon druge maceracije sadržaj polifenola iznosio je 61 mg/L do 74 mg/L, a sadržaj antocijana bio je od 7 mg/L do 12 mg/L. Sadržaj flavonoida pratio je istu tendenciju kao i polifenoli, a kretao se je od 51 mg/L do 267 mg/mL, ovisno o temperaturi, vremenu i broju maceracije. Sadržaj kondenziranih tanina određen je samo nakon prve maceracije (od 10 mg/L do 17 mg/L), dok nakon druge maceracije nije bilo moguće odrediti sadržaj navedenih komponenti. Nakon druge maceracije,

sadržaj ispitivanih komponenti (polifenola, antocijana, flavonoida i kondenziranih tanina) bio je manji u odnosu na prvu maceraciju. Sadržaj polifenola i antocijana bio je najveći nakon maceracije od 5 minuta i pri 80 °C (77,67 mg/L i 12,12 mg/L).

Kao i u prethodnim uzorcima, ispitivanja antioksidativne aktivnosti (Tabela 5), bez obzira na metodu određivanja (ABTS ili DPPH metoda), su pokazala da su najveće vrijednosti uočene nakon prve maceracije. Antioksidativna aktivnost uzoraka nakon prve maceracije kretala se je od 0,73 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ do 0,84 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ određeno ABTS metodom i od 0,47 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ do 0,53 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ određeno DPPH metodom. Nakon druge maceracije vrijednosti su bile znatno niže, od 0,20 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ do 0,28 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ određeno ABTS metodom i oko 0,15 $\mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ određeno DPPH metodom.

Tabela 5. Antioksidativna aktivnost ($\mu\text{mol TE}/100\text{mL}$) voćnih čajeva nakon pripreme.

Table 5. The antioxidant activity (mmol TE/100mL) fruit teas after preparation.

| maceracija | temperatura maceracije | vrijeme maceracije | brusnica | | borovnica | | trešnja | | šumsko voće | |
|------------|------------------------|--------------------|----------|------|-----------|------|---------|------|-------------|------|
| | | | ABTS | DPPH | ABTS | DPPH | ABTS | DPPH | ABTS | DPPH |
| prva | 80 °C | 5 min | 0,67 | 0,26 | 0,73 | 0,43 | 0,74 | 0,40 | 0,73 | 0,47 |
| | | 8 min | 0,67 | 0,26 | 0,76 | 0,44 | 0,79 | 0,43 | 0,76 | 0,50 |
| | 100 °C | 5 min | 0,72 | 0,29 | 0,76 | 0,45 | 0,77 | 0,44 | 0,84 | 0,53 |
| | | 8 min | 0,76 | 0,31 | 0,81 | 0,45 | 0,88 | 0,40 | 0,83 | 0,53 |
| druga | 80 °C | 5 min | 0,13 | 0,06 | 0,28 | 0,20 | 0,30 | 0,14 | 0,28 | 0,15 |
| | | 8 min | 0,13 | 0,05 | 0,29 | 0,19 | 0,31 | 0,14 | 0,20 | 0,14 |
| | 100 °C | 5 min | 0,12 | 0,06 | 0,27 | 0,18 | 0,27 | 0,16 | 0,28 | 0,17 |
| | | 8 min | 0,10 | 0,05 | 0,29 | 0,18 | 0,25 | 0,15 | 0,26 | 0,15 |

Istraživanjima je dokazano da uvjeti tijekom pripreme čajeva (vrsta čaja, oblik čaja, vrijeme ekstrakcije, temperatura ekstrakcije, upotrijebljeno otapalo) imaju značajan utjecaj na sadržaj bioaktivnih tvari u samom čajnom napitku. Učinak ekstrakcije bioaktivnih tvari iz zelenog čaja prilikom pripreme čajnog napitka ovisi o uvjetima ekstrakcije. Utvrđeno je da je maksimalan učinak ekstrakcije postignut tijekom ekstrakcije vodom pri 80 °C kroz 5 minuta kada je čaj bio u obliku praha, kroz 15 minuta kada je čaj bio u vrećici i kroz 30 minuta kada je ekstrakcija provedena iz listića čaja (Komes i sur., 2010). Ispitivanjem utjecaja oblika čaja (čaj u vrećici ili listići čaja)

na ekstrakciju katehina iz zelenog i bijelog čaja, utvrđeno je da oblik čaja ima značajan utjecaj na ekstrakciju katehina iz zelenog čaja, dok kod bijelog čaja ovaj čimbenik nema značajnu ulogu. Ekstrakcija polifenola i flavonoida je sporija iz bijelog čaja u odnosu na ekstrakciju istih komponentata iz zelenog čaja. Ekstrakcija fenola iz bijelog čaja može se ubrzati dodatkom limunovog soka (Rusak i sur., 2008). Rusak i sur. (2008) su ispitali i utjecaj vodenih otopina etanola (10 %, 40 % i 70 %), te su utvrdili da je 40 %-tna vodena otopina etanola najučinkovitija za ekstrakciju katehina kada se ekstrakcija provodi kroz duže vrijeme. Povećanjem temperature vode sve do 100 °C, za

pripremu čajnog napitka (zelenog, crnog, bijelog i Oolong čaja), povećao se je i sadržaj polifenola i flavonoida. Ponovljenom ekstrakcijom u navedenim čajevima utvrđen je znatno niži sadržaj polifenola i flavonoida (Horžić i sur., 2009). Ispitivanje utjecaja dodatka askorbinske kiseline i meda na ekstrakciju fenola iz različitih voćnih čajeva pokazalo je da askorbinska kiselina ima pozitivan utjecaj na sadržaj fenola i antioksidativnu aktivnost. U uzorcima s dodatkom meda u kombinaciji s askorbinskom kiselinom utvrđen je manji sadržaj fenola (~28 %) i manja antioksidativna aktivnost uzoraka (~22 %) (Belščak i sur. 2011).

Zaključak

Rezultati dobiveni ovim istraživanjem također potvrđuju da uvjeti tijekom pripreme voćnih čajeva (čajeva od borovnice, brusnice, trešnje i šumskog voća) imaju značajan utjecaj na sadržaj polifenola, flavonoida, antocijana i kondenziranih tanina. Najveći sadržaj polifenola i antocijana bio je nakon prve maceracije dok je nakon druge maceracije udio polifenola bio gotovo 3 puta manji, a sadržaj antocijana se smanjio od 5 do 10 puta. Nakon prve maceracije, najveći sadržaj polifenola, flavonoida i kondenziranih tanina određen je u uzorcima dobivenim maceracijom 8 minuta pri 100 °C. Ponovljenom maceracijom utvrđeno je da je sadržaj ispitivanih komponenti bio najveći u uzorcima maceriranim 5 minuta pri 80 °C. Kako bi se utvrdio utjecaj ekstrahiranih polifenolnih spojeva na ljudsko zdravlje vrlo je važno odrediti biodostupnost navedenih spojeva u našem organizmu.

Zahvala

Ovaj rad izrađen je u sklopu projekta koji je financiran od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske.

Literatura

1. Afify El-MAMR, Shalaby EA, El-Beltagi HS (2011) Antioxidant activity of aqueous extracts of different caffeine products. *J Med Plants Res* 5:5071-5078.
2. Aoshima H (2008) Are Catechins, Polyphenols

- in Tea, Good for Your Health? *Current Nut Food Sci*4:231-239.
3. Belščak A, Bukovac N, Piljac-Žegarac J (2011) Influence of ascorbic acid and honey addition on the anti-oxidant properties of fruit tea infusions: antioxidants in fruit tea infusions. *J Food Biochem* 35:195–212.
4. Cooper R, Morr  J, Morr  DM (2005a) Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *J Altern Complement Med* 11: 521–528.
5. Cooper R, Morr  J, Morr  DM (2005b) Medicinal benefits of green tea: Part II. Review of anticancer properties. *J Altern Complem Med* 11: 639–652.
6. Giusti MM, Wrolstad RE (2001) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
7. Heck CI, DeMejia EG (2007) Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *J Food Sci* 72:R138-R151.
8. Horžić D, Komes D, Belščak A, Kovačević Ganić K, Iveković D, Karlović D (2009) The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chem* 115:441-448.
9. Kaur C, Kapoor HC (2001) Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's Health. *Int J Food Sci Technol* 36:703.725.
10. Komes D, Horžić D, Belščak A, Kovačević Ganić K, Vulić I (2010) Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Res Int* 43:167-176.
11. Makris DP, Boskou G, Andrikopoulou NK (2007) Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *J Food Comp Anal* 20:125–132.
12. Nakamura Y, Tsuji S, Tonogai Y (2003) Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods, and grape seed oils. *J Health Sc* 49:45-54.
13. Ough CS, Amerine MA (1998) *Methods for analysis of musts and wines*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
14. Rice-Evans CA, Miller NT, Paganga G (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 4:304.309.
15. Rusak G, Komes D, Likić S, Horžić D, Kovač M (2008) Phenolic content and antioxidant capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chem* 110:852-858.
16. Scandalios JG (1997) *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold

- Spring Harbor Lab Press, New York.
17. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticul* 16:144-158.
 18. Stähelin HB, Gey KF, Eichholzer M, Lüdin E, Bernasconi F, Thumeysen J, Brubacher G (1991) Plasma antioxidant vitamins and subsequent cancer mortality in the 12-year follow-up of the prospective Basel study. *Am J Epidemiol* 133:766–775.
 19. Steinberg D (1991) Antioxidants and atherosclerosis: A current assessment. *Circulation* 84:1420–1425.
 20. Willett WC (1994) Micronutrients and cancer risk. *Am J Clin Nutr* 59:265–269.
 21. Wiseman SA, Balentine DA, Frei B (1997) Antioxidants in tea. *Crit Rev Food Sci* 37:705–718.

THE CONTENT OF POLYPHENOLS, ANTHOCYANINS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRUIT TEA

Mirela Kopjar, Ivana Knežević, Vlasta Piližota

Faculty of Food Technology; F. Kuhaca 20, 31000 Osijek, Croatia

original scientific paper

Summary

In this work, influence of time and temperature of maceration of fruit tea (cranberry, blueberry, cherry and wild fruit) on content of phenols, anthocyanins, flavonoides, condensed tannins and antioxidant activity was investigated. Maceration temperatures were 80 and 100 °C and maceration time 5 and 8 minutes. Also, influence of repeated maceration of same samples on mentioned parameters was investigated. All samples macerated at 100 °C had the highest content of phenols, anthocyanins, flavonoides, condensed tannins and antioxidant activity. After repeated maceration content of mentioned compounds and values of antioxidant activity were lower.

Keyword: fruity tea, polyphenols, flavonoides, anthocyanins, antioxidant activity, time and temperature of maceration.