

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Aleksandra ŠVIGELJ

**VPLIV MEDU NA ANTIOKSIDATIVNE  
LASTNOSTI ČAJA**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja Živilstvo

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Aleksandra ŠVIGELJ

**VPLIV MEDU NA ANTIOKSIDATIVNE  
LASTNOSTI ČAJA**

MAGISTRSKO DELO  
Magistrski študij – 2. stopnja Živilstvo

**THE INFLUENCE OF HONEY ADDITION ON THE ANTIOXIDANT  
PROPERTIES OF TEA INFUSIONS**

M. SC. THESIS  
Master Study Programmes: Field Food Science and Technology

Ljubljana, 2017

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Živilstvo. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil, Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorico magistrskega dela imenovala izr. prof. dr. Jasno Bertoncelj in za recenzentko izr. prof. dr. Heleno Abramovič.

Mentorica: izr. prof. dr. Jasna Bertoncelj

Recenzentka: izr. prof. dr. Helena Abramovič

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Aleksandra Švigelj

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

- ŠD Du2
- DK UDK 663.95: 638.165:547.56:577.1(043)=163.6
- KG čaj / angleški čaj / hibiskusov čaj / metin čaj / med / gozdni med / lipov med / cvetlični med / fizikalno-kemijske metode / temperatura / fenolne spojine / flavonoidi / antioksidativna učinkovitost / analize metode / Folin-Ciocalter / FRAP / DPPH
- AV ŠVIGELJ, Aleksandra, dipl. inž. živ. in preh. (UN)
- SA BERTONCELJ, Jasna (mentorica)/ ABRAMOVIČ, Helena (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2017
- IN VPLIV MEDU NA ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI ČAJA
- TD Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo)
- OP X, 61 str., 10 pregl., 18 sl., 4 pril., 75 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen raziskave je bil ugotoviti vpliv dodatka medu in temperature čaja (40 °C in 70 °C) v času slajenja na vsebnost skupnih fenolnih spojin in skupnih flavonoidov ter antioksidativno učinkovitost čajev. Vzorce angleškega (črnega), hibiskusovega in metinega čaja smo sladkali z različnimi vrstami medu (lipov, cvetlični in gozdni med). V vzorcih medu, vzorcih čaja in vzorcih čaja z dodanim medom smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin in skupnih flavonoidov ter antioksidativno učinkovitost, v vzorcih medu pa smo določili še nekatere fizikalno-kemijske parametre. Dodatno smo s študenti senzorično ocenili všečnost čajev z dodatkom medu s 7-točkovno hedonsko lestvico. Ugotovili smo, da dodatek medu v čaj ni pomembno prispeval k povečanju bioaktivnih lastnosti čajev. Dodan med je povzročil manjše povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vseh slajenih čajih, razen v angleškem čaju z dodanim lipovim oz. gozdnim medom. Vpliv temperature čaja v času slajenja na povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin pa smo potrdili le pri vzorcih hibiskusovega čaja. Dodatek medu in temperatura nista statistično značilno vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov. Vrsta dodanega medu je vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov, in sicer smo največjo vsebnost določili v čajih, slajenih z gozdnim medom. Antioksidativno učinkovitost medu in čajev smo določali z metodama FRAP in DPPH. Ugotovili smo, da slajenje čaja z medom ne vpliva značilno na povečanje antioksidativne učinkovitosti, saj se je le-ta glede na čaj brez dodanega medu povečala le v vzorcu angleškega čaja. Pri iskanju povezav med obravnavanimi parametri smo močno pozitivno zvezo določili med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin. Rezultati senzoričnega ocenjevanja všečnosti obravnavanih čajev so pokazali, da je študentom najbolj všečen metin čaj, slajen s sladkorjem, sledijo metin čaj z lipovim oz. cvetličnim medom ter hibiskusov čaj s cvetličnim medom, najmanj všečen pa je bil angleški čaj, slajen z gozdnim medom.

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

- DN Du2
- DC UDC 663.95: 638.165:547.56:577.1(043)=163.6
- CX tea / English tea / hibiscus tea / mint tea / honey / forest honey / linden honey / multifloral honey / physico-chemical methods / temperature / phenolic compounds / flavonoids / antioxidant activity / analytical methods / Folin-Ciocalter / FRAP / DPPH
- AU ŠVIGELJ, Aleksandra
- AA BERTONCELJ, Jasna (supervisor)/ ABRAMOVIČ, Helena (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2017
- TI THE INFLUENCE OF HONEY ADDITION ON THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF TEA INFUSIONS
- DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Food Science and Technology)
- NO X, 61 p., 10 tab., 18 fig., 4 ann., 75 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The aim of our research was to investigate the influence of honey addition and temperature of the tea (40 °C and 70 °C) when honey is added on the content of total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity of the teas. The samples of English (black), hibiscus and peppermint tea were sweetened with different types of honey (linden, multifloral and forest honey). In the honey samples, tea samples and tea samples with added honey the content of total phenolic compounds, total flavonoids and the antioxidant activity were determined. Some physico-chemical parameters were also determined in the samples of honey. Additionally the likeness of the teas sweetened with honey was evaluated on 7-point hedonic scale with the sensory panel of students. Results show that honey does not contribute significantly to bioactive properties of honey. In comparison to unsweetened tea samples the total phenolic content was found slightly higher in all sweetened teas, but in English tea with linden or forest honey. The influence of temperature was confirmed only in hibiscus tea. The addition of honey and temperature did not influence significantly the content of total flavonoids, but the type of honey added affected the total flavonoids, that were higher in tea samples sweetened with forest honey. Antioxidant activity was determined with FRAP and DPPH method. The addition of honey did not significantly affect the antioxidant activity of teas, slight increase was observed only in the samples of English tea. The strong positive correlation was determined between antioxidant activity (FRAP method) and total phenolic content. Students gave the highest liking scores to peppermint tea sweetened with sugar, followed by peppermint tea with linden or multifloral honey and hibiscus tea with multifloral honey. English tea with added forest honey was assessed the worst.

**KAZALO VSEBINE**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION .....	IV
KAZALO VSEBINE .....	V
KAZALO PREGLEDNIC .....	VIII
KAZALO SLIK .....	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....	X
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN NALOGE .....	2
1.2 RAZISKOVALNE HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 SPLOŠNO O ČAJU .....	3
2.2 VRSTE ČAJA .....	3
<b>2.2.1 Pravi čaji .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.2 Rooibos čaj .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2.3 Zeliščni in sadni čaji .....</b>	<b>5</b>
2.3 MED .....	5
<b>2.3.1 Vrste medu .....</b>	<b>6</b>
2.4 FENOLNE SPOJINE .....	7
<b>2.4.1 Flavonoidi .....</b>	<b>7</b>
2.4.1.1 Flavonoidi v čaju .....	8
2.4.1.2 Flavonoidi v medu .....	10
<b>2.4.2 Fenolne kisline .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3 Mehanizmi antioksidativnega učinkovanja fenolnih spojin .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.4 Določanje skupnih fenolnih spojin s Folin-Ciocalteujevo metodo .....</b>	<b>11</b>
2.5 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST .....	13
<b>2.5.1 Antioksidativna učinkovitost čaja .....</b>	<b>13</b>
2.5.1.1 Vpliv temperature, vrednosti pH in časa ekstrakcije na vsebnost fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost čajev .....	14
<b>2.5.2 Antioksidativna učinkovitost medu .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.3 Metode za določanje antioksidativne učinkovitosti .....</b>	<b>16</b>
2.5.3.1 DPPH metoda .....	16

2.5.3.2	FRAP metoda .....	17
2.6	VPLIV DODATKA MEDU NA VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN IN ANTIOKSIDATIVNO UČINKOVITOST ČAJA .....	17
2.7	SENZORIČNA ANALIZA .....	19
<b>2.7.1</b>	<b>Definicija senzorične analize .....</b>	<b>19</b>
<b>2.7.2</b>	<b>Hedonski preskusi v senzorični analizi.....</b>	<b>19</b>
<b>2.7.3</b>	<b>Senzorična analiza čajev .....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE.....</b>	<b>22</b>
3.1	VZORCI .....	22
3.2	METODE DELA .....	24
<b>3.2.1</b>	<b>Določanje osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov medu.....</b>	<b>24</b>
3.2.1.1	Določanje vsebnosti vode v medu z ročnim refraktometrom (AOAC 969.38, 1999) .....	24
3.2.1.2	Merjenje električne prevodnosti medu z laboratorijskim konduktometrom (Kropf in sod., 2008).....	24
<b>3.2.2</b>	<b>Določanje vrednosti pH v čajih in medu (AOAC 962.19, 1999).....</b>	<b>25</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v čajih in medu s Folin-Ciocalteujevo metodo (Wanyo in sod., 2011).....</b>	<b>26</b>
<b>3.2.4</b>	<b>določanje skupnih flavonoidov v čajih in medu (Pereira in sod., 2013)..</b>	<b>27</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Določanje antioksidativne učinkovitosti čajev in medu s FRAP metodo (Benzie in Strain, 1996).....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.6</b>	<b>Določanje antioksidativne učinkovitosti čajev in medu z metodo DPPH (Brand-Williams in sod., 1995).....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.7</b>	<b>Senzorična analiza slajenih čajev.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.8</b>	<b>Anketni vprašalnik.....</b>	<b>30</b>
3.3	STATISTIČNA ANALIZA.....	30
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>32</b>
4.1	REZULTATI DOLOČANJA NEKATERIH OSNOVNIH FIZIKALNO-KEMIJSKIH PARAMETROV, VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN IN FLAVONOIDOV TER ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI MEDU	32
4.2	REZULTATI DOLOČANJA VREDNOSTI pH V ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM.....	33
4.3	REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN V ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM.....	34

4.4	REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FLAVONOIDOV V POSAMEZNIH ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM.....	36
4.5	REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI V POSAMEZNIH ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM.....	39
4.6	KORELACIJE MED VSEBNOSTJO SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN, SKUPNIH FLAVONOIDOV IN ANTIOKSIDATIVNO UČINKOVITOSTJO ..	41
4.6.1	<b>Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo.....</b>	<b>41</b>
4.6.2	<b>Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno z DPPH metodo .....</b>	<b>42</b>
4.6.3	<b>Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin, določeno s FC metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov .....</b>	<b>42</b>
4.6.4	<b>Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov .....</b>	<b>42</b>
4.7	REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE SLAJENIH ČAJEV .....	43
4.8	REZULTATI ANKETE O UŽIVANJU ČAJA .....	45
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI .....</b>	<b>47</b>
5.1	RAZPRAVA.....	47
5.2	SKLEPI.....	52
<b>6</b>	<b>POVZETEK.....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>55</b>

**ZAHVALA**

**PRILOGE**



**KAZALO PREGLEDNIC**

<b>Preglednica 1:</b> Delitev flavonoidov glede na substitucijo na C-obroču (Heim in sod., 2002).....	8
<b>Preglednica 2:</b> Vrste čajev in medu, vključenih v raziskavo .....	22
<b>Preglednica 3:</b> Vzorci medu in čaja za kemijsko in senzorično analizo .....	23
<b>Preglednica 4:</b> Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk.....	31
<b>Preglednica 5:</b> Vsebnost vode, električna prevodnost (EP), vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin in skupnih flavonoidov ter antioksidativna učinkovitost (AU) analiziranih vzorcev medu.....	32
<b>Preglednica 6:</b> Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih čaja in vzorcih čaja z dodanim medom .....	34
<b>Preglednica 7:</b> Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih čaja in vzorcih čaja z dodanim medom .....	37
<b>Preglednica 8:</b> Rezultati določanja antioksidativne učinkovitosti vzorcev čaja in čaja z dodanim medom s FRAP in DPPH metodo .....	39
<b>Preglednica 9:</b> Povprečne vrednosti in mediane vsečnosti izbranih čajev, slajenih z gozdnim, lipovim in cvetličnim medom ter s sladkorjem .....	44
<b>Preglednica 10:</b> Pogostost uporabe določene vrste medu za slajenje čaja.....	46

**KAZALO SLIK**

<b>Slika 1:</b> Osnovna strukturna formula flavonoidov (Heim in sod., 2002) .....	7
<b>Slika 2:</b> Strukturne formule štirih glavnih flavanolov (Khan in Mukhtar, 2007) .....	9
<b>Slika 3:</b> Epimerizacija EGCG v izomero GCG in obratno (Ananingsih in sod., 2013) .....	14
<b>Slika 4:</b> Strukturni formuli DPPH (a) in DPPH <sub>2</sub> (b) .....	17
<b>Slika 5:</b> 7-točkovna hedonska lestvica .....	30
<b>Slika 6:</b> Vrednost pH obravnavanih čajev .....	33
<b>Slika 7:</b> Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih angleškega čaja, slajenega z medom .....	35
<b>Slika 8:</b> Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih hibiskusovega čaja, slajenega z medom .....	35
<b>Slika 9:</b> Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih metinega čaja, slajenega z medom ..	36
<b>Slika 10:</b> Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih angleškega čaja z dodanim medom ...	37
<b>Slika 11:</b> Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih hibiskusovega čaja z dodanim medom .....	38
<b>Slika 12:</b> Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih metinega čaja z dodanim medom .....	38
<b>Slika 13:</b> Antioksidativna učinkovitost angleškega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH .....	40
<b>Slika 14:</b> Antioksidativna učinkovitost hibiskusovega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH .....	40
<b>Slika 15:</b> Antioksidativna učinkovitost metinega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH .....	41
<b>Slika 16:</b> Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih čaja z dodanim medom .....	42
<b>Slika 17:</b> Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo in vsebnostjo skupnih flavonoidov v analiziranih vzorcih čaja z dodanim medom .....	43
<b>Slika 18:</b> Prikaz vsečnosti, na podlagi aritmetične sredine, angleškega, hibiskusovega in metinega, čaja, slajenega z gozdnim, lipovim in cvetličnim medom ter s sladkorjem .....	45

**OKRAJŠAVE IN SIMBOLI**

A	angleški čaj
ANOVA	analiza variance (ang. Analysis of Variance)
AU	antioksidativna učinkovitost
AC	angleški čaj, slajen s cvetličnim medom
AG	angleški čaj, slajen z gozdnim medom
AU	antioksidativna učinkovitost
AS	angleški čaj, slajen s sladkorjem
C	cvetlični med
CE	katehin ekvivalent
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ECG	epikatehin galat
EC	epikatehin
EP	električna prevodnost
FC metoda	Folin-Ciocalteu metoda
FC reagent	Folin-Ciocalteu reagent
FRAP	antioksidativna moč redukcije železa (ang. Ferric Reducing Antioxidant Power)
G	gozdni med
H	hibiskusov čaj
HC	hibiskusov čaj, slajen s cvetličnim medom
HG	hibiskusov čaj, slajen z gozdnim medom
HL	hibiskusov čaj, slajen z lipovim medom
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (ang. High Performance Liquid Chromatography)
HS	hibiskusov čaj, slajen s sladkorjem
L	lipov med
M	metin čaj
MC	metin čaj, slajen s cvetličnim medom
MG	metin čaj, slajen z gozdnim medom
ML	metin čaj, slajen z lipovim medom
MS	metin čaj, slajen s sladkorjem
mS	miliSiemens
PHA (HAT)	prenos vodikovega atoma (ang. hydrogen atom transfer)
RO•	alkoksilni radikal
ROO•	alkilperoksilni radikal
SD	standardni odklon
TPTZ reagent	2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin

## 1 UVOD

Čaj je aromatična pijača, ki je priljubljena povsod po svetu in jo vsak dan uživa na stotine milijonov ljudi. Čaj ni priljubljen le zaradi okusa in arome, ampak vsebuje tudi biološko aktivne komponente, ki lahko preventivno delujejo na pojav različnih bolezni in ugodno vplivajo na naše počutje.

Poznamo različne vrste čajev, ki se razlikujejo po vonju, okusu in aromi. Čaje po pravilniku delimo na prave, zeliščne, sadne in aromatizirane čaje, ekstrakte čaja, dekofeinizirane, mate in instant čaje. Zeliščni čaji so pripravljene iz posušenih cvetov, listov, nadzemnih delov, korenin, plodov, sadežev, semen in drugih delov rastlinskih surovin ali iz mešanice teh surovin, medtem ko so sadni čaji pripravljene iz posušenega sadja. Ekstrakti čaja so izdelki iz čaja, ki jim je odvzeta voda. Mate čaj se pripravlja iz sušenih listov in mladih poganjkov drevesa *Ilex paraguariensis* St. Hil., ki raste v Južni Ameriki. Instant čaji pa so pripravljene iz ekstraktov pravega, zeliščnega ali sadnega čaja (Pravilnik o kakovosti čaja, 2003).

V čajih so najbolj zastopani antioksidanti flavanoli, širše znani kot katehini, med katere prištevamo epigalokatehin galat (EGCG), epigalokatehin (EGC), epikatehin galat (ECG), epikatehin (EC), katehin (C) in galokatehin (GC). Čaj vsebuje tudi flavonole, kjer prevladujejo kvercetin, kamferol, miricetin in njihovi glukozidi. Čaj je tudi naravni vir vitaminov E, K, A, C in B ter mineralov (Chaturvedula in Prakash, 2011).

Pogosto za slajenje čaja namesto sladkorja uporabimo med, ki mu da sladek okus, vendar pazimo, da medu ne dodajamo v vroč čaj, da ne uničimo bioaktivnih komponent. Med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele vrste *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju. Posamezne vrste medu so dobile ime po rastlinah, na katerih čebele nabirajo nektar oziroma mano. Poznamo različne vrste medu, ki se med seboj razlikujejo po barvi, vonju, aromi in fizikalno-kemijskih lastnostih (Pravilnik o medu, 2011).

## 1.1 NAMEN NALOGE

V okviru magistrskega dela smo želeli ugotoviti vpliv vrste dodanega medu in temperature čaja (40 °C in 70 °C) v času slajenja na antioksidativne lastnosti čajev. Različne vrste čajev (črni (angleški) čaj, hibiskusov čaj in metin čaj) smo sladkali z različnimi vrstami medu (lipov, cvetlični in gozdni med). V vzorcih medu, čaja in čajih, slajenih z medom, smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin, flavonoidov in antioksidativno učinkovitost z DPPH in FRAP metodo. V posameznih vzorcih medu smo določili še nekatere fizikalno-kemijske parametre. V sklopu raziskave smo med študenti opravili tudi kratko anketo o uživanju čaja in čaje, slajene z različnimi vrstami medu, tudi senzorično ocenili.

## 1.2 RAZISKOVALNE HIPOTEZE

Pričakujemo, da bosta slajenje čajev z različnimi vrstami medu in temperatura v času slajenja čaja vplivala na antioksidativni potencial čajev. Predvidevamo, da bodo imeli čaji, slajeni s svetlejšimi vrstami medu, nižji antioksidativni potencial kot čaji, slajeni s temnejšimi vrstami medu. Glede na vpliv temperature čaja ob slajenju pričakujemo višji antioksidativni potencial čajev, slajenih z medom pri temperaturi 40 °C.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 SPLOŠNO O ČAJU

Čajevec (*Camellia sinensis*) je zimzelena rastlina, iz katere pridelujejo različne vrste čajev, in prvotno izvira s Kitajske (Sharangi, 2009). Listi, ki so podolgovato jajčasti, koničasti in fino nazobčani, so izmenično razporejeni okoli glavnega debla. Cvetovi so beli ali rahlo rožnati in prijetno dišijo (Mlakar, 2001).

S Kitajske se je čaj razširil v Indijo in na Japonsko, kasneje še v Rusijo ter Evropo in nazadnje, v drugi polovici 17. stoletja, v Ameriko. Zeleni, beli in črni čaj so pridobljeni iz rastline *Camellia sinensis* L., vendar se razlikujejo po videzu, senzoričnih lastnostih, kemijski sestavi in aromi zaradi različnih procesov pridobivanja (Sharangi, 2009).

Avtohtoni vrsti čaja sta *Thea sinensis* in *Thea assamica*, ki izvirata iz Indije in Kitajske, sta sorodnici kamelije, okrasnega grma, ki raste v Evropi. Izvirne vrste čajevca rastejo le še v redkih nasadih na Japonskem in Kitajskem ter veljajo za izredno kakovostne in dragocene. S križanjem assamskega čajevca s križanci kitajskega čajevca so pridobili številne nove čajne vrste, ki dajejo bolj aromatične napitke in so manj občutljive na klimatske razmere (Mlakar, 2001).

Za pripravo čajnih napitkov se uporablja posušene liste čajevca, pri manj kakovostnih vrstah pa tudi peclje in dele stebela, nikoli pa semen in cvetov. Najboljše čajne napitke dajo čajni vršički in dva lista pod njimi (Mlakar, 2001).

Dandanes se črne čaje, ki so najbolj priljubljeni pri Angležih, prideluje pretežno v tistih deželah, kjer so Angleži sami kultivirali čajne nasade, torej v Indiji, na Šri Lanki (Cejlon) in v Afriki (Mlakar, 2001).

### 2.2 VRSTE ČAJA

Čaje delimo na prave, zeliščne, sadne, aromatizirane, ekstrakte čaja, dekofeinizirane, mate in instant čaje. Pravi čaji so pripravljeni samo iz listja in listnega brstja čajnega grma (*Camellia sinensis* Linnaeus O. Kuntze). Pravi čaji, ki so fermentirani, se lahko označijo kot črni čaji, medtem ko se nefermentirani čaji lahko označijo kot zeleni čaji. V primeru, da je čaj polfermentiran, se lahko označi kot rdeči čaj. Zeliščni čaji so pripravljene iz posušeni cvetov, listov, nadzemnih delov, korenin, plodov, sadežev, semen in drugih delov rastlinskih surovin ali iz mešanice teh surovin, iz katerih se s poparjenjem, prevretjem ali namakanjem dobi čajni napitek. Sadni čaji so pripravljene iz posušenega sadja, iz katerega se s poparjenjem, prevretjem ali namakanjem dobi čajni napitek. Ekstrakti čaja so izdelki iz čaja, ki jim je odvzeta voda. Ekstrakte čaja se lahko aromatizira z naravnim sokom, zgoščenim sokom ali sokom v prahu, naravnimi ali naravnim identičnimi aromami. Mate čaj se pripravlja iz sušenih listov in mladih poganjkov drevesa *Ilex paraguariensis* St. Hil., ki raste v Južni Ameriki.

Instant čaji so izdelki, pripravljene iz ekstraktov pravega, zeliščnega ali sadnega čaja, in so lahko aromatizirani in dekofeinizirani. So v trdnem stanju, dehidrirani in topni v vodi, tako da z njihovim raztapljanjem v vodi dobimo čajni napitek (Pravilnik o kakovosti čaja, 2003).

### **2.2.1 Pravi čaji**

#### Zeleni čaj

Sveže zelene liste čajevca oberejo, nato z uporabo pare ali toplote preprečijo delovanje oksidacijskih encimov, kot je polifenol oksidaza, in s tem dosežejo manj trpek okus v primerjavi s črnim čajem, ki je fermentiran. Čajne liste za tem valjajo, posušijo in zapakirajo (Namal Senanayake, 2013). Zeleni čaj najpogosteje uživajo v Indiji, na Kitajskem, Japonskem in Tajskem (Sharangi, 2009).

#### Črni čaj

Črni čaj je najbolj razširjena vrsta čaja in predstavlja 72 % celotne svetovne proizvodnje čaja. Najbolj priljubljen je med prebivalci zahodnih držav. Fermentacija je pomembna faza proizvodnje, med katero pride do senzoričnih in kemijskih sprememb. Pomembno vlogo ima encim polifenol oksidaza, ki se nahaja v čajnih listih. Med fermentacijo se velik del epigalokatehin galata, ki je eden ključnih antioksidantov v črnem čaju, oksidira, ohrani pa se velik del flavonoidov. Postopek predelave čajnih listov se začne z maceracijo ali valjanjem, sledi fermentacija, nato nadaljujejo s sušenjem listov, kar omogoča stabilen proizvod za skladiščenje (Sharangi, 2009).

#### Beli čaj

Beli čaj je dobil ime po belem svilnatem puhu, ki pokriva mlade liste in brste. Čaj je zlatorumene barve z nežno sadno ali seneno noto. Po vsebnosti skupnih fenolnih spojin, antioksidantov in karotenoidov je primerljiv z zelenim čajem. Najbolj znan in najdražji beli čaj je pridelan iz sorte čajevca Bai, kjer se obere mlade neodprte popke brez listov. Sprva poteka vrenje popkov na soncu, sledi dokončno sušenje na soncu ali pri nizki temperaturi, saj s tem dosežejo znižanje vlage in boljšo obstojnost za nadaljnje skladiščenje (Damiani in sod., 2014).

#### Oolong čaj

Oolong čaj je pridelan iz čajnih listov, ki so skladiščeni (starani) več kot pet let. Čajne liste po obiranju 72 ur sušijo pri 120 do 140 °C, za tem sledi shranjevanje listov za 5, 10 ali 20 let. Takšni listi med shranjevanjem oksidirajo in razvijejo boljšo aromo pripravljenega čaja (Chen in sod., 2013). Chen in sod. (2013) so v svoji raziskavi ugotovili, da oolong čaji vsebujejo veliko antioksidantov, ki ohranjajo kožo zdravo in upočasnijo proces staranja našega organizma.

### Pu-erh čaj

Pu-erh je zeleni postfermentiran čaj, ki uspeva na jugozahodu Kitajske v provinci Yunnan. Pu-erh čaj je postal priljubljen predvsem v jugozahodni Aziji, zaradi pozitivnega vpliva na zdravje, saj naj bi zmanjševal tudi tveganje za rakava obolenja. Sodoben proces pridelave

Pu-erh čaja se začne z osemurnim sušenjem čajnih listov na bambusovih preprogah, kjer se čajni listi delno posušijo. Po obdelavi čajne liste shranijo v topel prostor z visoko zračno vlago, jih cepijo s kulturo mikroorganizmov ter dovajajo zrak. Med postfermentacijo pride do oksidacije, kondenzacije in razgradnje kemijskih spojin pod vplivom encimov. Za tem čaj ponovno sušijo, nato je pripravljen na skladiščenje. Za Pu-erh čaj velja: starejši je, boljši in bolj cenjen je (Lv in sod., 2013).

### **2.2.2 Rooibos čaj**

Rooibos je grm, ki raste v Južni Afriki. Rastlina se uporablja za pripravo čaja z enakim imenom. Iglíčaste liste in stebela pred fermentacijo obdelajo in zatem posušijo. Med fermentacijo se barva listov spremeni iz zelene v rdečo, zaradi oksidacije polifenolov. Rooibos je bogat z antioksidanti in je edini znani vir antioksidantov aspalatina in notofagina. Rooibos čaj je vir fenolnih kislin, to je kavne kisline, ferulne kisline, *p*-kumarne kisline, *p*-hidroksibenzojske kisline, protokatehinske in vanilinske kisline. Napitek ima značilen sladek okus in ne vsebuje kofeina, zato je priljubljen pri nosečnicah in doječih materah (McKay in Blumberg, 2007).

### **2.2.3 Zeliščni in sadni čaji**

Zeliščne in sadne čaje pripravljamo iz listov, semen, cvetov, sadežev in koreninic, ki jih posušimo in prelijemo z vročo vodo. V različnih študijah so potrdili, da listi za pripravo zeliščnih in sadnih čajev vsebujejo vrsto biološko aktivnih komponent, kot so fenolne spojine, flavonoidi, tanini, vitamini in terpeni, ki preventivno delujejo na pojav bolezni, povezanih z današnjim načinom življenja. Za zeliščne čaje je bilo potrjeno antikarcenogeno, antioksidativno in antimikrobno delovanje na človeški organizem (Oh in sod., 2013).

Slovenci najpogosteje pijejo čaje iz posušenih bezgovih cvetov, brezovega listja, listov koprive, ohlajen šipkov čaj, čaj iz robidovega in jagodnjakovega listja, čaj iz smrekovih vršičkov ter metin in melisin čaj. Zeliščni čaji se lahko pijejo neslajeni, slajeni s sladkorjem ali medom in po želji z dodatkom limoninega soka (Mlakar, 2001).

## **2.3 MED**

Med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin. Te sestavine čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju. Med se glede na izvor deli na med iz nektarja, ki je



pridobljen iz nektarja cvetov, ter na med iz mane, ki je pridobljen predvsem iz izločkov žuželk na živih delih dreves ali izločkov živih delov rastlin (Pravilnik o medu, 2011).

Posamezne vrste medu se razlikujejo med seboj po senzoričnih lastnostih in kemijski sestavi. Med je živilo, ki je v največji meri sestavljeno iz sladkorjev (70–80 %) in vode (do 20 %). V sledovih lahko najdemo elemente, kot so kalij, kalcij, natrij, magnezij, mangan, železo, baker, fosfor in klor, vitamine C, B1, B2, B6, folno, nikotinsko in pantotensko kislino ter biotin. Sestavni del medu so tudi encimi (invertaza, fosfataza, katalaza, amilaza), beljakovine, kisline (mravljična, oksalna, vinska, mlečna), antimikrobne snovi in fenolne spojine (Božnar in Senegačnik, 1998). Bioaktivne spojine medu delujejo kot naravni antioksidanti in varujejo naše telo pred prostimi radikali. Antioksidativna učinkovitost medu je posledica vsebnosti fenolnih spojin, organskih kislin, encimov in drugih, v medu prisotnih snovi (Rababah in sod., 2014).

### **2.3.1 Vrste medu**

Vrstni med je izraz, s katerim označujemo med, ki je bil pridobljen večinoma iz nektarja ali mane ene same rastlinske vrste. Če govorimo o vrstnem medu, mora le-ta vsebovati vsaj 45 % cvetnega prahu ene vrste rastline. Najpogostejši slovenski vrstni medovi so akacijev, lipov, kostanjev, smrekov in hojev med. Med mešane medove spadata cvetlični in gozdni med, ki sta pridobljena iz različnih vrst nektarja oz. mane (Golob in sod., 2008).

Bertoncelj in sod. (2011a) so karakterizirali različne vrste slovenskega medu na podlagi senzorične in fizikalno-kemijske analize. Pomembni parametri za določitev posamezne vrste medu so barva, vonj, okus in aroma. Barva medu je značilna za posamezno vrsto medu in lahko variira od skoraj brezbarvne, svetlo rumene, jantarjeve, rdečkaste, rjave do skoraj črne. Odvisna je od botaničnega porekla, pogojev skladiščenja in količine beljakovin, aminokislin ter drugih dušikovih spojin. V nadaljevanju so opisane senzorične lastnosti vrst medu, ki so bile uporabljene v raziskavi.

#### **Cvetlični med**

Barva cvetličnega medu je lahko od rumene do rjave, odvisno od vrste rastlin, kjer so čebele nabirale nektar. Značilno zanj je, da je po okusu srednje do zelo močno sladek, s srednjo do močno aromo. Zaznana je aroma po cveticah, svežem sadju, kuhanem sadju, po karamelnih ali mlečnih bombonih, rjavem sladkorju (Bertoncelj in sod., 2011a).

#### **Lipov med**

Lipov med je svetlo rumene do svetlo jantarne, slamnate barve z zelenim odtenkom. Za lipov med je značilen srednje do močno intenziven vonj. Aroma je sveža, po mentolu, svežih oreh, zeliščih in lipovem čaju (Bertoncelj in sod., 2011a).

## Gozdni med

Gozdni med je mešanica različnih vrst mane, zato se lahko vzorci med seboj zelo razlikujejo po barvi, vonju, okusu in aromi. Barva gozdnega medu variira od svetlo do temno rjave, z rdečim ali zelenim odtenkom, za to vrsto medu je značilen srednje intenziven vonj in aroma, po okusu je srednje do močno sladek (Bertoncelj in sod., 2011a).

### 2.4 FENOLNE SPOJINE

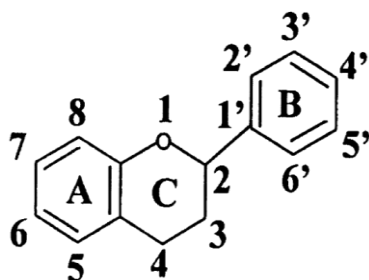
Fenolne spojine so zelo raznolika skupina sekundarnih metabolitov rastlin, sestavljene so iz najmanj enega aromatskega obroča, ki vsebuje eno ali več hidroksilnih skupin (-OH). Najbolj splošna delitev fenolnih spojin je na v vodi topne (fenolne kisline, fenilpropanoidi, flavonoidi in kinoni) in v vodi netopne fenolne spojine (lignani, tanini in hidroksicimetne kisline). Druga delitev je glede na število fenolnih obročev na flavonoide, fenolne kisline, stilbene, lignane in tanine (Haminiuk in sod., 2012). Vsebnost fenolnih spojin v rastlinah je odvisna od stopnje zrelosti, sorte, podnebja, sestave tal, geografskih dejavnikov in pogojev skladiščenja.

Fenolne spojine spadajo med antioksidante, to so snovi, ki ščitijo organizem pred prostimi radikali, izboljšujejo antioksidativni status posameznika in preprečujejo oksidativne poškodbe celičnih komponent, kot so membranski lipidi, beljakovine in nukleinskih kisline (Namal Senanayake, 2013). V primeru porušanja ravnotežja med tvorbo prostih radikalov in antioksidantov v celici pride do oksidativnega stresa (Sharma in sod., 2008).

#### 2.4.1 Flavonoidi

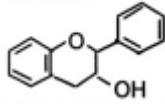
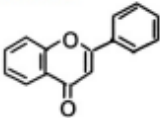
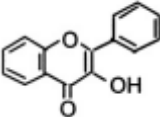
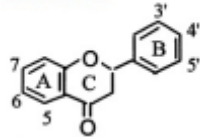
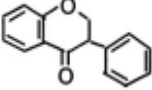
Flavonoidi so spojine, sestavljene iz aromatskih obročev A in B, ki ju povezuje heterociklični obroč C, kar prikazuje slika 1. Preglednica 1 prikazuje razdelitev flavonoidov glede na substituiranost obroča C v naslednje skupine: flavanoli, flavoni, flavonoli, flavanoni in izoflavoni (Heim in sod., 2002). Abramovič (2011) navaja razdelitev flavonoidov na flavane, flavanone, flavanole ali katehine, izoflavanone, flavone, flavanole, izoflavone, halkone in antocianidine. Večina flavonoidov se v živilih nahaja kot *O*-glikozidi. Najpogostejša glikozidna enota je glukoza, poleg glukoze pa se pojavljajo še drugi monosaharidi (galaktoza, arabinoza in ramnoza) ali pa so na obroč vezane daljše verige (Heim in sod., 2002).

Flavonoidi se nahajajo v rdečem, rumenem in modro obarvanem sadju in predstavljajo dve tretjini vseh zaužitih fenolnih spojin v prehrani posameznika (Haminiuk in sod., 2012).



Slika 1: Osnovna strukturna formula flavonoidov (Heim in sod., 2002)

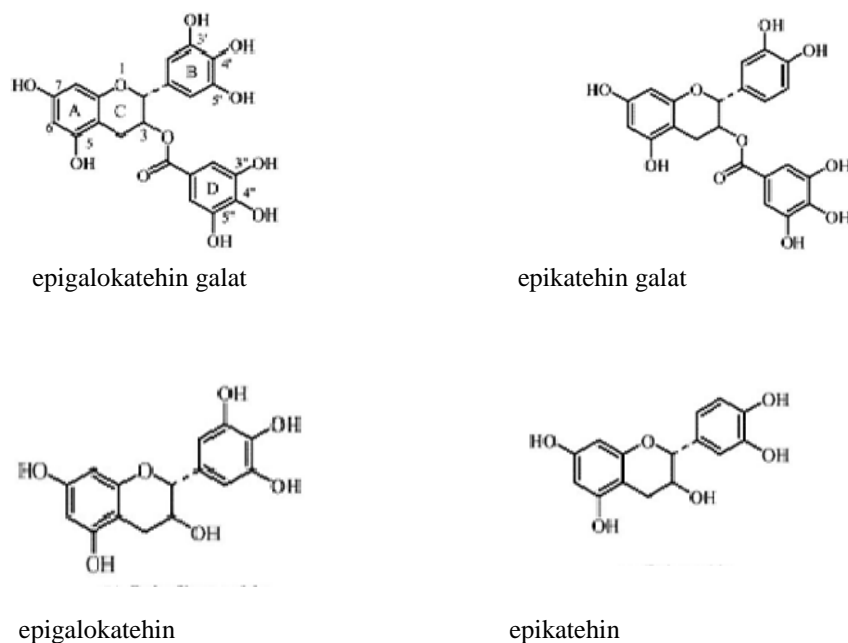
Preglednica 1: Delitev flavonoidov glede na substitucijo na C-obroču (Heim in sod., 2002)

Strukturna formula	Predstavniki flavonoidov	Substitucije	Živilo
<b>Flavanol</b> 	katehin epikatehin epigalokatehin galat	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH, 3-galat	čaj ( <i>Camellia sinensis</i> ) čaj čaj
<b>Flavon</b> 	krizin apigenin rutin luteolin	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 4'-rutinoza 5,7,3',4'-OH	olupki sadja peteršilj, zelena rdeče vino, ajda, citrusi rdeč poper
<b>Flavanol</b> 	kamferol kvercetin	3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH	črni čaj, por, brokoli, endivija, grenivka čaj, čebula, zelena solata, brokoli, rdeče vino, jagode, oljčno olje, jabolčna lupina
<b>Flavanon</b> 	naringin naringenin taksifolin hesperidin	5,4'-OH, 7-ramnoglukoza 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH, 4'-OMe, 7- rutinoza	citrusi, grenivka citrusi citrusi pomaranča
<b>Izoflavon</b> 	genistin genistein daidzin daidzein	5,4'-OH, 7-glukoza 5,4,7'-OH 4'-OH, 7-glukoza 7,4'-OH	soja soja soja soja

#### 2.4.1.1 Flavonoidi v čaju

Glavne komponente čajnih listov spadajo v skupino polifenolov, ki predstavljajo 25–30 % suhe teže čajnih listov. V največji količini so v čaju zastopani flavanoli, bolj znani kot katehini. Glavni katehini so naslednji: (-)-epigalokatehin galat (EGCG), (-)-epigalokatehin (EGC), (-)-epikatehin galat (ECG), (-)-epikatehin (EC), (+)-katehin (C) in (+)-galokatehin (GC). Strukturne formule štirih glavnih flavanolov so predstavljene na sliki 2. Te spojine prispevajo h grenkosti, trpkosti in sladkemu pookusu čajnih napitkov. Čaj vsebuje tudi flavonole, v glavnem prevladujejo kvercetin, kamferol, miricetin in njihovi glukozidi (Chaturvedula in Prakash, 2011).

Flavanoli predstavljajo dve tretjini fenolnih spojin v čaju. Sestavljeni so iz dveh aromatskih obročev, A-obroč in B-obroč, ki sta povezana preko C-atomov, ki tvorijo heterociklični obroč (C-obroč) s kisikovim atomom. Katehine iz čaja sestavljajo 3'-4'-dihidroksilna skupina ali 3'-4'-5'-trihidroksilna skupina na B obroču, galatna skupina na mestu C-3 obroč A in -OH skupina na C-4 in C-7 mestu obroč A (Namal Senanayake, 2013).



Slika 2: Strukturne formule štirih glavnih flavanolov (Khan in Mukhtar, 2007)

Sestava črnega čaja je odvisna predvsem od procesa predelave, kjer okoli 75 % katehinov oksidira v prisotnosti polifenol oksidaze (Khan in Mukhtar, 2007).

Vsebnost epigalokatehin galata se v zelenem in oolong čaju giblje od 22 do 53 mg/g čaja, medtem ko je v črnem čaju precej manjša, znaša okoli 4 mg/g čaja (Namal Senanayake, 2013).

### Nastanek teaflavinov in tearubiginov

V črnem čaju oksidacija polifenolov vodi do nastanka katehinov in kompleksov galne kisline, kot so teaflavini, teaflavinske kisline, rubigini in proantocianidni polimeri, ki prispevajo k okusu in barvi čaja (Chaturvedula in Prakash, 2011).

Večina katehinov v črnem čaju se med fermentacijo oksidira v kompleksnejše tearubigine, ki dajo čaju značilen rdečerrjav odtenek. Sprva katehini oksidirajo v prisotnosti polifenol oksidaze do katehin kinonov. Ti so zaradi visokega oksidacijskega potenciala odgovorni za nastanek teaflavinov. Teaflavini dimerizirajo in nastanejo rdeči ter rjavi pigmenti tearubigini. V zelenem čaju tearubiginov in teaflavinov ne najdemo, kajti tam do oksidacije katehinov ne pride, saj so encimi inaktivirani (Khan in Mukhtar, 2007).

Vsebnost rubiginov se povečuje, če je temperatura fermentacije previsoka (ugodna je med 15 in 30 °C), ali ko je na voljo veliko kisika in malo katehinov (Skvarča in Marin, 2006).

#### 2.4.1.2 Flavonoidi v medu

Fenolni profil medu je odvisen od botaničnega in geografskega porekla ter vremenskih vplivov (Bertoncelj in sod., 2011b). Najbolj zastopan izmed flavonoidov v hrani in tudi v medu je kvercetin (Socha in sod., 2011).

Bertoncelj (2008) je analizirala fenolne spojine v različnih vrstah slovenskega medu z metodo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti z masnim spektrometrom (HPLC/MS). Ugotovila je, da imajo vzorci slovenskega medu podoben, vendar kvantitativno različen fenolni profil. Med flavonoidi, ki so jih identificirali v vzorcih slovenskega medu, so vsi vzorci vsebovali flavonoide, ki izvirajo iz propolisa. Več flavonoidov so vsebovale svetlejšje vrste medu, kot so akacijev, cvetlični in lipov med, manjše vsebnosti pa so določili v kostanjevem in hojevem medu.

Socha in sod. (2011) so analizirali vsebnost skupnih flavonoidov v poljskem lipovem, mešanem cvetlično-gozdnem, gozdnem, akacijevem, ajdovem in cvetličnem medu ter medu oljne ogrščice. Največjo vsebnost so določili v lipovem medu, sledili so mešan gozdno-cvetlični med, med oljne ogrščice, ajdov, cvetlični in gozdni med, najmanjšo vsebnost pa so določili v akacijevem medu.

Največjo vsebnost kvercetina so Socha in sod. (2011) določili v lipovem medu, Bertoncelj in sod. (2011b) pa v hojevem medu.

#### 2.4.2 Fenolne kisline

Druga pomembnejša skupina fenolnih spojin so fenolne kisline, ki so enostavne fenolne spojine, v katerih je na aromatski obroč vezana karboksilna skupina. Karboksilna skupina je lahko na obroč vezana neposredno (hidroksibenzojske kisline) ali posredno preko etilenske skupine (hidroksicimetne kisline) (Abramovič, 2011). Hidroksicimetne kisline, kot so galna, vanilinska in siringinska kislina, imajo strukturo C6–C1, druga podskupina fenolnih kislin – hidroksibenzojske kisline, kot sta *p*-kumarna in kavna kislina, pa imajo C6–C3 strukturo (Haminiuk in sod., 2012).

#### 2.4.3 Mehanizmi antioksidativnega učinkovanja fenolnih spojin

Pomembna vloga antioksidantov je preprečevanje oksidacije. Pomembni so za ohranjanje obstojnosti, senzoričnih lastnosti in prehranske vrednosti živil.

Antioksidativna učinkovitost fenolnih spojin je posledica njihove sposobnosti, da:

- lovijo radikale,
- so reducenti,
- vežejo kovinske ione v stabilne komplekse,
- deaktivirajo prooksidativne encime lipooksigenaze (Abramovič, 2011).

Za fenolne antioksidante predpostavljajo, da zaustavijo oksidacijo lipidov, ker se njihov atom lahko hitro poveže z lipidnim radikalom (enačbi 1 in 2). Učinkovitost antioksidantov je večja, čim manjša je jakost vezi A-H. Zato so zelo dobri antioksidanti tisti, ki imajo nastali fenoksilni radikal ( $A\bullet$ ), ki ne sme sprožiti novih radikalnih reakcij ali hitro oksidirati (Abram, 2000). Zatem fenoksilni radikal reagira z naslednjim prostim radikalom, pri čemer nastane stabilen produkt (enačbi 3 in 4).



#### 2.4.4 Določanje skupnih fenolnih spojin s Folin-Ciocalteujevo metodo

Folin-Ciocalteujeva metoda je ena izmed najstarejših metod za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin.

Glavna analizna mešanica sestoji iz volframata in molibdata v bazičnem okolju (dodatek 5–10 %  $Na_2CO_3$ ). FC reagent v alkalnem okolju oksidira fenolne spojine, pri čemer pride do nastanka  $O_2^{\bullet-}$ , ki reagira z molibdatom do molibdenovega (IV) oksida, ki ima absorpcijski maksimum pri 765 nm. Slabost metode je, da lahko določimo večjo vsebnost fenolnih spojin, kot jih je dejansko prisotnih, saj FC reagent ni specifičen in lahko reagira tudi z ogljikovimi hidrati, vitaminom E, askorbinsko kislino itn. (Roginsky in Lissi, 2005).

Venditti in sod. (2010) so s FC metodo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin v črnem, zelenem in oolong čaju kitajskega porekla in mešanici črnega čaja iz afriških in indijskih listov čajevca. Prvo serijo vzorcev so pripravili s sedemminutnim namakanjem v vodi s temperaturo 90 °C, drugo serijo vzorcev pa so pripravili z namakanjem listov pri 25 °C 2 uri. Večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin so potrdili v čajih, pripravljenih z vročo vodo, izjema je bil le beli čaj, ki je vseboval znatno večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin, ko je bil pripravljen z vodo temperature 25 °C.

Rababah in sod. (2014) navajajo, da različne vrste medu vsebujejo različne skupine in količine fenolnih spojin, odvisno od vrste nektarja oz. mane, sezone, okoljskih in geografskih dejavnikov ter pogojev shranjevanja medu.

Bertoncelj (2008) je v slovenskem medu določila najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin s FC metodo v najsvetlejšem akacijevem medu, 44  $mg_{GA}/kg$ . Sledijo lipov (93,8  $mg_{GA}/kg$ ), cvetlični (138,0  $mg_{GA}/kg$ ) in kostanjev med (191,7  $mg_{GA}/kg$ ). Največ

skupnih fenolnih spojin so v povprečju vsebovali medovi iz mane, gozdni, smrekov in hojev med.

Socha in sod. (2011) so določali vsebnost skupnih fenolnih spojin v gozdnem medu, medu oljne ogrščice, lipovem, akacijevem, ajdovem in cvetličnem medu. Največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin med obravnavanimi medovi so določili v ajdovem medu, najmanjšo pa v akacijevem medu.

Lachman in sod. (2010) so s Folin-Ciocalteujevo metodo v lipovem medu določili 89,9 mg skupnih fenolnih spojin/kg, v medu oljne ogrščice 93,7 mg/kg, v malinovem medu 98,9 mg/kg in v gozdnem medu 215,2 mg/kg. Velik razpon vsebnosti skupnih fenolnih spojin v cvetličnem medu (od 83,6 do 146,9 mg/kg) je posledica različnih geografskih območij pridobivanja te vrste medu.

Al in sod. (2009) so določili vsebnost skupnih fenolnih spojin s Folin- Ciocalteujevo metodo v akacijevem, cvetličnem, lipovem in gozdnem medu. Največjo vsebnost so določili v gozdnem medu, sledijo cvetlični, lipov in akacijev med.

Estevinho in sod. (2008) so analizirali temnejše in svetlejše vzorce portugalskega medu in v temnih vzorcih medu določili večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin kot pri svetlejših vzorcih medu.

Rezultati različnih raziskav kažejo, da je vsebnost skupnih fenolnih spojin močno odvisna od botaničnega porekla medu in barve medu. Več skupnih fenolnih spojin je v povprečju vseboval med iz mane kot med iz nektarja. Vsebnost skupnih fenolnih spojin je v povezavi z barvo medu, temnejši vzorci medu so vsebovali večje količine skupnih fenolnih spojin kot svetlejši vzorci medu.

Toydemir in sod. (2015) so izvedli obsežno študijo vpliva dodatka medu in temperature na vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost čaja. Uporabili so devet različnih vrst čajev in dve vrsti medu (svetlejši in temnejši med). Med so v čaj dodajali pri različnih temperaturah (55 °C, 65 °C, 75 °C in 85 °C). V čajih z dodanim temnejšim medom so določili večjo vsebnost fenolnih spojin in višjo antioksidativno učinkovitost kot v čajih, kjer so dodali svetlejši cvetlični med. Izstopal je le vzorec čaja ameriškega slamnika, katerega so ravno tako sladkali s cvetličnim in gozdnim medom, vendar so določili večjo vsebnost fenolnih spojin in višjo AU v vzorcih, slajenih s svetlejšim medom. V nesladkanem čaju so določili večje vsebnosti skupnih fenolnih snovi kot v sladkanih čajih, izjemi sta bili le čaj ameriškega slamnika in ingverjev čaj. Kot razlog navajajo prisotnost različnih polifenolnih komponent v rastlinah in pomanjkanje specifičnosti Folin-Ciocalteujeve metode, saj naj bi Folin-Ciocalteujev reagent reagiral tudi s sladkorji, aromatskimi amini, askorbinsko kislino, aminokislinami in proteini, zato naj bi prišlo do višjih končnih vrednosti.

Pri različnih avtorjih lahko opazimo različne modifikacije Folin-Ciocalteaujeve metode, zato podatki v literaturi ne predstavljajo posebno uporabnih vrednosti za medsebojno primerjavo rezultatov. Npr. Berretta in sod. (2005) so določili vsebnost skupnih fenolnih spojin v medu v kislem pH območju in se na ta način izognili vplivu sladkorjev ter obarjanju med samo analizo.

## 2.5 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST

Antioksidativna učinkovitost fenolnih spojin je posledica lovljenja radikalov, vezave kovinskih ionov ali sposobnosti inhibicije različnih encimskih sistemov, ki katalizirajo nastanek radikalov (Oh in sod., 2013).

Na antioksidativno učinkovitost fenolnih spojin vplivajo okolje, pogoji, v katerih antioksidant deluje, snov, na katero učinkuje, ter prisotnost drugih antioksidantov. Poleg naštetega pa so pomembne tudi lastnosti antioksidanta (Abramovič, 2011).

Antioksidativna učinkovitost flavonoidov narašča s številom -OH skupin in ustrezno razporeditvijo -OH skupin na B obroču. Kaže, da predvsem orto položaj -OH skupin na B obroču prispeva k višji antioksidativni učinkovitosti (Abramovič, 2011). Pomembna je tudi prisotnost dvojne vezi med drugim in tretjim ogljikovim atomom, prisotnost -OH skupine na mestu 3 in mestu 5 v kombinaciji s 4-okso skupino na C obroču (Namal Senanayake, 2013). Fenol postane antioksidativno učinkovit šele, ko zamenjamo vodikov atom na drugem, četrtem in/ali šestem C-atomu benzenovega obroča z ustrezno skupino, kar vpliva na zvišanje reaktivnosti z radikali (Abramovič, 2011).

Polifenolne spojine imajo hidroksilne in karboksilne skupine, zato imajo sposobnost vezave kovinskih ionov (predvsem bakra in železa) v stabilne komplekse (Namal Senanayake, 2013). Antioksidativna učinkovitost je odvisna tudi od sposobnosti oddaje elektrona. V osnovi lahko predvidevamo, katera zvrst bo uspešen antioksidant, če upoštevamo vrednosti za standardni redukcijski potencial. Kot antioksidant lahko učinkuje spojina, katere redukcijski potencial je nižji od redukcijskega potenciala radikalske zvrsti. Nižji redukcijski potencial pomeni večjo zmožnost oddaje elektrona (Abramovič, 2011).

Običajno je antioksidativna učinkovitost fenolnih spojin močno zmanjšana pri visokih koncentracijah, saj takrat fenolne spojine delujejo kot prooksidanti (Abramovič, 2011).

### 2.5.1 Antioksidativna učinkovitost čaja

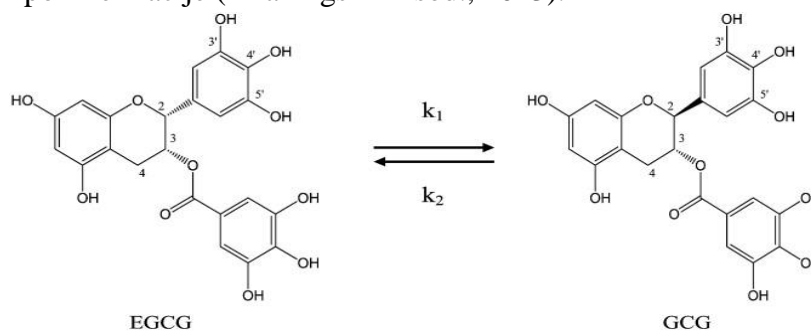
Močno antioksidativno delovanje v čaju imajo fenolne spojine (katehini, flavonoli, teaflavini in teaburigini), ki ščitijo pred aterosklerozo in drugimi kardiovaskularnimi boleznimi ter preprečujejo staranje organizma (Namal Senanayake, 2013).



Lin in sod. (2003) so analizirali vsebnost EGCG, skupnih katehinov in kofeina v črnem, Pu-erh, oolong čaju ter v zelenem čaju, pridobljenem iz mladih in starejših listov čajevca. Vsebnost kofeina in katehinov je odvisna od procesa predelave, predvsem poteka fermentacije. Vsebnost EGCG je bila večja v zelenem čaju, pripravljenem iz starejših listov, kot v čaju pripravljenem iz mladih listov čajevca. Oolong čaj je imel večjo vsebnost EGCG kot črni in Pu-erh čaj. Končna ugotovitev študije je bila, da je vsebnost kofeina večja v črnem čaju in manjša v svežih listih čajevca. Vsebnost EGCG in skupnih katehinov pa je bila sledeča: zeleni čaj > oolong čaj > sveži listi čajevca > črni čaj. Lin in sod. (2003) so potrdili, da proizvodni proces zelenega čaja poveča skupno vsebnost katehinov.

### 2.5.1.1 Vpliv temperature, vrednosti pH in časa ekstrakcije na vsebnost fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost čajev

Pri visokih temperaturah katehini zelenega čaja niso stabilni, zato je pomembna pravilna priprava čaja. Previsoka temperatura lahko povzroči pretvorbo katehinov v ustrezen izomer, saj pride do procesa epimerizacije. Kot primer, pri previsoki temperaturi se epigalokatehin galat pretvori v epimer galokatehin galat, kar je prikazano na sliki 3. Toplotna obdelava zmanjša antioksidativno učinkovitost zelenega čaja zaradi oksidacije, termične razgradnje, epimerizacije in polimerizacije (Ananingsih in sod., 2013).



Slika 3: Epimerizacija EGCG v izomero GCG in obratno (Ananingsih in sod., 2013)

Bazinet in sod. (2010) so preučevali vpliv skladiščenja na vsebnost katehinov. Stabilnost katehinov so merili v napitku zelenega čaja, obogatenega z EGCG. Napitke, obogatene z EGCG, so shranjevali pri dveh temperaturah, 4 °C in 25 °C, ter pri dveh vrednostih pH, 4 in 6. Vsebnost katehinov med začetkom in koncem skladiščenja je pokazala pomembne razlike v končni vsebnosti EGCG, EGC, GCG in ECG. Kot povzročitelja sprememb v vsebnosti navajajo vrednost pH in temperaturo. Na vsebnost kofeina in epikatehina pa skladiščenje ni imelo pomembnega vpliva. Pri temperaturi skladiščenja 4 °C je imela vrednost pH vpliv na končno vsebnost EGCG in EGC. Pri tej temperaturi je bila vsebnost EGCG in EGC bolj stabilna pri pH 4, medtem ko je pri vrednosti pH 6 počasi upadala glede na začetno in končno vsebnost EGCG in EGC. Pri temperaturi skladiščenja 25 °C je bila vsebnost katehinov precej bolj stabilna, vendar pa so poskus prekinili zaradi mikrobiološke kontaminacije.

Kar zadeva temperaturo shranjevanja čaja, so tudi Demeule in sod. (2002) potrdili, da katehini počasneje razpadajo pri nižjih temperaturah skladiščenja.

Damiani in sod. (2014) so določili vsebnost skupnih fenolnih spojin, skupnih flavonoidov in teaflavina ter antioksidativno učinkovitost belega čaja in z metodo HPLC analizirali fenolne komponente in kofein v vzorcih belega čaja, pripravljenega pri dveh različnih temperaturah. Prvo serijo vzorcev belega čaja so pripravili pri temperaturi vode 22 °C, kjer so liste čaja namakali dve uri. Drugo serijo vzorcev so prelili z vodo s temperaturo 70 °C in ekstrahirali 7 minut. Večjo vsebnost fenolnih spojin, flavonoidov in katehinov so določili v belem čaju, pripravljenem z vodo temperature 22 °C. Ti rezultati najverjetneje odražajo različne pogoje priprave, ker se snovi izlužujejo v vodo pri 22 °C dalj časa in dobimo napitek bogat z antioksidanti.

Ziaedini in sod. (2010) so v študiji, kjer so preučevali ekstrakcijo antioksidantov in kofeina v zelenem čaju, podali, da ima temperatura pozitiven učinek na ekstrakcijo aktivnih komponent v zelenem čaju, če ta ni previsoka, ker lahko v tem primeru pride do razgradnje komponent. V študiji so ugotovili razgraditev nekaterih katehinov in kofeina v temperaturnem območju med 80 in 90 °C, glede na rezultate so potrdili, da se je koncentracija EGC, EC in kofeina v čaju znižala zaradi degradacije, oksidacije ali epimerizacije.

V dveh študijah (Zhu in sod., 1997; Su in sod., 2003) so poročali o več dejavnikih, ki vplivajo na katehine, oziroma natančneje na stabilnost EGCG. Kot navajajo, so to vrednost pH, temperatura, stopnja kisika, vsebnost antioksidantov, prisotnost kovinskih ionov in koncentracija ostalih snovi v čaju. Katehini iz čaja so bili zelo nestabilni v alkalnih raztopinah (vrednost pH > 8), kjer so popolnoma razpadli v nekaj minutah, medtem ko so bili precej bolj stabilni v kislih raztopinah (vrednost pH < 4).

Na splošno velja, da se antioksidativna učinkovitost in vsebnost skupnih fenolnih spojin v čajih povečujeta do določenega časa namakanja. Shishikura in Khokhar (2005) sta proučevala čas ekstrakcije za čaj v prahu, liste čajevca in filter vrečke, in sicer od 30 sekund do pet minut. Vsebnost skupnih katehinov v čajih se je povečevala do 4-ih minut, po tem času pa vsebnost ni več bistveno naraščala. Potrdila sta tudi večjo vsebnost katehinov v čaju v prahu in čaju, pripravljenem z namakanjem listov čajevca, kot v filter čajih. Največjo vsebnost katehinov, določeno po eni minuti, pa je imel čaj v prahu kot posledica hitrejše ekstrakcije v tekočino zaradi difuzije.

### **2.5.2 Antioksidativna učinkovitost medu**

McKibben in Engeseth (2002) navajata, da lahko med pozitivno učinkuje na zmanjšanje tveganja za nastanek srčnih bolezni, rakavih obolenj, sive mreže, različnih vnetnih procesov in krepi imunski sistem. Med je živilo, ki lahko prepreči oksidacijske procese v živilih, kot so encimsko porjavenje sadja in zelenjave ter zavira oksidacijo lipidov v mesnih izdelkih. Antioksidativno učinkovitost medu pripisujemo encimom katalaza, glukoza oksidaza, peroksidaza in neencimskim komponentam, kot so askorbinska kislina,  $\alpha$ -tokoferoli,

karotenoidi, aminokisline, proteini, organske kisline, produktom Maillardove reakcije in polifenolnim spojinam, kot so flavonoidi, flavonoli, fenolne kisline, katehini in derivati cimetne kisline (Pereira in sod., 2013).

Lachman in sod. (2010) so za vzorce češkega medu potrdili, da ima manin med višjo antioksidativno učinkovitost kot med iz nektarja. Ugotovili so tudi pozitivno korelacijo med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin, saj je koeficient korelacije znašal 0,852 in s tem potrdili, da večja vsebnost fenolnih spojin vpliva na večjo antioksidativno učinkovitost.

Antioksidativna učinkovitost medu je v povezavi z njegovo barvo. O vplivu barve medu na antioksidativno učinkovitost so poročali številni avtorji, ki pa so podali različne zaključke. Bertonec in sod. (2011b) so potrdili, da ima svetli med nižjo električno prevodnost, nižjo vrednost pH, nižjo vsebnost skupnih fenolnih spojin in manjšo antioksidativno učinkovitost kot temnejše vrste medu. Tudi Pyrzynska in Biesaga (2009) sta potrdili, da ima med temnejših barv večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin in posledično večjo antioksidativno učinkovitost.

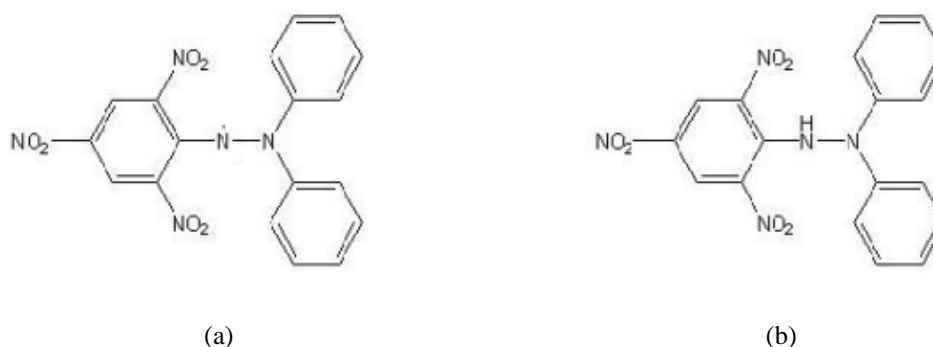
Nasprotno so Khalil in sod. (2010) poročali, da barva medu nima nobene povezave z vsebnostjo skupnih antioksidantov. Ravno tako so Rababah in sod. (2014) poročali, da temnejši vzorci medu niso imeli večje antioksidativne učinkovitosti ali vsebnosti skupnih fenolnih spojin.

Socha in sod. (2011) so potrdili močno povezavo med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin v medu in njegovo antioksidativno učinkovitostjo. Antioksidativna učinkovitost je naraščala z večjo vsebnostjo fenolnih spojin, kot so galna, *p*-kumarna in kavna kislina. Manjši delež k višji AU so doprinesle tudi ostale spojine, kot so askorbinska kislina, tokoferoli, karotenoidi in prolin. Koeficient korelacije je znašal 0,849, kar kaže na močno povezanost med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo fenolnih spojin.

### **2.5.3 Metode za določanje antioksidativne učinkovitosti**

#### **2.5.3.1 DPPH metoda**

Metoda z radikalom DPPH• je ena izmed najstarejših metod za določitev sposobnosti antioksidantov za lovljenje DPPH•, ki jo je prvi predstavil Marsden Blois leta 1958. Temelji na reakciji med stabilnim radikalom DPPH• in antioksidantom (Haminiuk in sod., 2012). DPPH je stabilen radikal vijolične barve. Antioksidant mu odda vodikov atom in DPPH• preide v reducirano obliko, DPPH<sub>2</sub> (slika 4), kar povzroči spremembo barve iz vijolične v rumeno, zaradi prisotnosti pikrilne skupine (Mishra in sod., 2012).



Slika 4: Strukturni formuli DPPH (a) in DPPH2 (b) (Mishra in sod., 2012)

Gre za spektrofotometrično merjenje spremembe koncentracije DPPH. Zmanjšanje koncentracije DPPH• je posledica reakcije med radikalom in antioksidantom. Količina preostalega DPPH• v raztopini je merilo za antioksidativni potencial, ki ga lahko izrazimo kot delež inhibicije (%). Za izračun uporabimo enačbo 5 (Kedale in Singh, 2011).

$$\% \text{ inhibicije} = \left( \frac{\text{A}_{\text{kontrola}} - \text{A}_{\text{vzorec}}}{\text{A}_{\text{kontrola}}} \right) \cdot 100 \quad \dots (5)$$

Legenda: A - absorbanca vzorca

### 2.5.3.2 FRAP metoda

FRAP metoda («Ferric reducing antioxidant power») je posredna metoda, s katero ovrednotimo učinkovitost antioksidantov za redukcijo kovinskih ionov in sta jo prva opisala Benzie and Strain (1996). Metoda temelji na redukciji železa iz feri v fero obliko v prisotnosti antioksidanta, kjer nastali  $\text{Fe}^{2+}$  ioni pri nizki vrednosti pH tvorijo z reagentom fero tripiridiltriazinom modro obarvan kompleks, ki ima absorpcijski maksimum pri 593 nm. Metoda je preprosta in avtomatizirana (Benzie in Strain, 1996).

Pri posrednih metodah ocenimo sposobnost antioksidantov za lovljenje prostih radikalov, ki niso neposredno v povezavi z oksidativno razgradnjo (Roginsky in Lissi, 2005).

## 2.6 VPLIV DODATKA MEDU NA VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN IN ANTIOKSIDATIVNO UČINKOVITOST ČAJA

Belščak in sod. (2011) so ugotavljali vpliv dodanega medu in askorbinske kisline na antioksidativne lastnosti in vsebnost skupnih fenolnih spojin v čaju. Analizirali so čaj brez dodatkov, čaj z dodatkom askorbinske kisline (22,5 mg/100 ml čaja) ter čaj z dodatkom askorbinske kisline in medu (22,5 mg askorbinske kisline in 1,5 g medu/100 ml čaja). Podali so naslednje ugotovitve:

- Rezultati vsebnosti skupnih fenolnih spojin v sadnem čaju iz študije so bili primerljivi le z vzorci podobnih študij, narejenih na črnem, zelenem, belem ali sadnem čaju, ne pa tudi s sokovi. Želeli so primerjati tudi vsebnost skupnih fenolnih spojin v sadnih čajih z vsebnostjo teh v soku granatnega jabolka, vendar je bila vsebnost skupnih fenolnih spojin bistveno večja v soku. Da je vsebnost skupnih fenolnih spojin bistveno večja v sadnem soku kot v sadnem čaju je, kot navajajo avtorji, posledica tega, da so sadni sokovi narejeni iz svežega sadja, sadje za pripravo sadnega čaja pa je obdelano z mehanskimi procesi (sušenje, drobljenje, mletje).
- Na antioksidativno učinkovitost in na vsebnost skupnih fenolnih spojin vpliva tako dodatek askorbinske kisline kot dodatek medu. Čaju dodana askorbinska kislina vpliva na povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin in na antioksidativno učinkovitost, medtem ko je pri vzorcih čaja z dodatkom medu in askorbinske kisline prišlo do statistično značilnega zmanjšanja ( $P < 0,05$ ) vsebnosti skupnih fenolnih spojin. Razlog za to naj bi bile interakcije med ogljikovimi hidrati v medu in fenolnimi spojinami v čaju, kjer hidroksilne skupine polifenolov niso dostopne za reakcije s FC reagentom.
- FRAP vednosti so pokazale pomemben vpliv dodatka medu, prišlo je do rahlega znižanja antioksidativne učinkovitosti ( $\approx 8\%$ ) ob dodatku medu in askorbinske kisline v čaj. Dodatek medu ni imel pomembnega vpliva ( $P < 0,005$ ) na sposobnost redukcije v čaju z dodano askorbinsko kislino.
- Ko so v vzorce čaja dodali askorbinsko kislino, so pri rezultatih določanja AU z metodo DPPH zaznali dvakratno povečanje vrednosti v primerjavi z vzorci čaja brez dodatkov. Kot navajajo, je vzrok za to v boljši sposobnosti lovljenja radikalov v prisotnosti askorbinske kisline in tokoferolov.

Vpliv dodanega medu, sladkorja, stevie in mleka v črni in zeleni čaj so raziskovali Korir in sod. (2014). AU so določali z metodo DPPH. Ugotovili so, da višja koncentracija dodanega mleka v vzorce čaja statistično značilno zniža ( $p < 0,05$ ) AU čajev. Primerjali so tudi vzorce črnega čaja in črnega čaja z dodanim mlekom, ki so jih sladkali z medom, sladkorjem in stevio, ter potrdili statistično značilno višje vrednosti pri čajih brez dodanega mleka. Ravno tako so potrdili, da višja koncentracija dodanega medu, sladkorja ali stevie zniža AU v čajih. Pričakovali so, da bo imel čaj z dodatkom medu najvišjo AU, ker med vsebuje komponente, kot so krizin, pinocembrin, pinobanksin, vitamin C in katalazo, ki delujejo kot antioksidanti in bi lahko bili povezani z večjim antioksidativnim delovanjem, vendar so v čajih z dodanim mlekom in medom določili najnižjo AU. Kot razlog, zakaj je prišlo do znižanja, navajajo, da naj bi ravno sladkor v čaju z mlekom zaviral antioksidativno delovanje, mehanizma delovanja pa še ne poznajo v celoti. Slabše raziskano je tudi področje interakcij med saharozo, beljakovinami in bioaktivnimi komponentami v čaju.

Sharma in sod. (2008) so največjo vsebnost fenolnih spojin določili v črnem čaju brez dodatkov, sledi črni čaj, slajen s sladkorjem. Manjšo vsebnost fenolnih spojin so določili v črnem čaju, slajenem s sladkorjem in dodanim mlekom. Najnižjo koncentracijo so določili v črnem čaju z dodanim mlekom. Kot razlog navajajo kovalentne ali nekovalentne interakcije med rastlinskimi fenoli iz čaja in proteini iz mleka. Preko interakcij pride do obarjanja proteinov, kar povzroči manjšo vsebnost fenolnih spojin.

Toydemir in sod. (2015) so preučevali vsebnost fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost čaja z dodatkom medu. Večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin in skupnih flavonoidov ter večjo antioksidativno učinkovitost so določili v čajih, ki jim je bil med dodan pri višjih temperaturah (75 °C in 85 °C) kot pri nižjih (55 °C in 65 °C). Kot navajajo, naj bi pri višjih temperaturah nastajali rjavo obarvani produkti Maillardove reakcije, ki prispevajo k višjim vrednostim obravnavanih parametrov.

## 2.7 SENZORIČNA ANALIZA

### 2.7.1 Definicija senzorične analize

Pri senzorični analizi merimo, analiziramo in interpretiramo reakcije na tiste značilnosti živil, ki jih zaznamo z vidom, okusom, vonjem, sluhom in tipom oz. dotikom. Senzorična analiza obsega niz tehnik, ki omogočajo natančno merjenje človekovega odziva na hrano in pijačo. Tehnike, ki jih uporabimo, omogočajo kvalitativno ali kvantitativno oceno. Dobljene podatke lahko tudi statistično obdelamo (Golob in sod., 2006).

### 2.7.2 Hedonski preskusi v senzorični analizi

Senzorična analiza je uporabna na veliko področjih, kot so inšpekcijski pregledi surovin, razvoj novih izdelkov, nadzor kakovosti, pri izboru embalažnega materiala, pri načrtovanju roka uporabnosti, pri vzpostavitvi analitskih/instrumentalnih/senzoričnih analiz in razvojnega procesa. Na senzorično sprejemljivost živila vplivajo videz, okus, aroma, tekstura in različni priokusi (Singh-Ackbarali in Maharaj, 2014).

Danes obstajajo različne tehnike, s katerimi pridemo do kvalitativnih in kvantitativnih informacij o senzoričnih lastnostih živil in njihovi sprejemljivosti. Imamo preproste tehnike, kot so hedonski preskusi, in kompleksnejše tehnike, kjer je potrebno zaznane senzorične lastnosti opisati ter povezati s fizikalnimi in kemijskimi lastnostmi živil (Singh-Ackbarali in Maharaj, 2014).

Hedonski ali afektivni preskusi se uporabljajo v potrošniških raziskavah. Služijo za ugotavljanje sprejemljivosti ali všečnosti ocenjevanega izdelka pri določeni skupini potrošnikov. Primeri hedonskih preskusov so različne hedonske lestvice, ki omogočajo oceno izdelka z uporabo preprostih lestvic (obrazne, grafične ali opisne lestvice), preskus s

primerjavo v parih in prednostni preskus, ki omogoča potrošniku, da izbere izdelek, ki mu je bolj všeč (Golob in sod., 2006).

### 2.7.3 Senzorična analiza čajev

Vonj in aroma čaja sta ključna pokazatelja kakovosti čaja, s katerima ugotovimo, ali je čaj sprejemljiv ali ne. Aroma čaja je prvi raziskoval in opisal Mulder leta 1837. Veliko več podatkov o aromi čaja je po letu 1960 omogočil razvoj sodobnih analitičnih metod, kot je plinska kromatografija. Glavni cilj pri raziskavi arome je ugotoviti komponente, ki so odgovorne za samo aromo čaja. Ugotovili so, da je aroma čaja sestavljena iz več kot 630 različnih aromatičnih spojin, kot so alifatske, aciklične, aromatske in druge spojine. V čajih lahko zaznamo sladke, cvetlične, sadne in sveže arome (Chaturvedula in Prakash, 2011).

Za oster, pikanten okus čaja so odgovorne polifenolne spojine, teaflavini in tearubigini, za mesni okus aminokislina in za trpek okus čaja kofein. Sam okus in aroma čaja postaneta polnejša med samo fermentacijo čajnih listov. Barva čaja je odvisna od komponent, prisotnih v čaju. Za rumenkasto rjave odtenke čaja so odgovorni teaflavini, za rdečkasto rjave tearubigini, za svetlo rumene flavonoidni glikozidi, za rjave odtenke je odgovorna spojina feoforbid, za črne feofitin in za rumene karoten. Če je zaznan siv odtenek čaja, je to pokazatelj kvara, slabe kakovosti ali ponaredba čaja (Chaturvedula in Prakash, 2011).

Zeleni čaj vsebuje sestavine, kot so katehini, kofein, tanini, aminokislina in prosti sladkorji, ki prispevajo k okusu. Katehini prispevajo 70–75 % grenkosti v okusu čaja. Kofein ima grenek, tanini imajo trpek okus (Lee in Chambers, 2009).

V raziskavi so Lee in Chambers (2009) ugotovili, da se koncentracija tanina in prostih sladkorjev povečuje z višjo temperaturo vode za pripravo čaja in daljšim časom namakanja čajnih listov, vsebnost kofeina pa se poveča v primeru višje temperature vode za pripravo, zato so v čajih, pripravljenih z vodo s temperaturo 100 °C, ugotovili, da so bolj grenkega okusa. V študiji so ocenjevali zeleni čaj, pripravljen pri treh različnih temperaturah (50 °C, 70 °C in 90 °C), in čajne liste namakali različno dolgo (1, 2, 5 in 20 minut). Ugotovili so, da se je okus zelenega čaja spremenil glede na način priprave čaja. Pri višji temperaturi so ugotovili večjo grenkost in trpkost čajev. Podobne rezultate so potrdili v primeru daljšega namakanja čajnih listov, kjer so v vzorcih čaja ravno tako določili bolj grenek in trpek okus.

Yamanishi (1977) je opisal terminologijo za senzorično oceno zelenega, oolong in črnega čaja. Podane deskriptorje, to je 16 senzoričnih izrazov, so kasneje v svoji študiji uporabili Togari in sod. (1995). Za aromo čaja so določili deskriptorje, kot so svež in sladek cvetlični okus, po citrusih, po sadju, po zelenem, po smolnatem, po praženem in po dimetil sulfidu.

Ramirez in sod. (2010) so izvedli senzorično analizo hibiskusovega čaja s potrošniki, največ vprašanih je spadalo v starostno skupino od 19 do 24 let. V raziskavi so potrošniki ocenjevali

hibiskusov čaj, ki je bil pripravljen z različnimi razmerji dodanega hibiskusa in vode, zato so bili nekateri vzorci čaja intenzivnejše barve, drugi manj. Vsi vzorci čaja so bili slajeni. Potrošniki so najbolje ocenili čaj intenzivnejše barve, kar pomeni, da je imela barva čaja najpomembnejšo vlogo, sledila sta okus in aroma. Potrošniki so aromo hibiskusovega čaja najpogosteje opisali z izrazi eksotična, kislá, nenavadna in cvetlična. Ugotovili so tudi, da želijo mlajši močnejši in intenzivnejši okus ter ne želijo zaznave trpkosti, zato je starost igrala pomembno vlogo pri pripravi napitka.



### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 VZORCI

Analizirali smo tri vrste medu, tri vrste čajev in čaje, slajene z medom pri dveh različnih temperaturah. Cvetlični, lipov in gozdni med so bili slovenskega porekla, letnika 2012. Med je bil hranjen v zaprtih steklenih kozarcih pri sobni temperaturi. Vzorcem medu smo določili vsebnost vode, električno prevodnost in vrednost pH. V raziskavo smo vključili čaje, ki jih pogosto uživajo slovenski potrošniki, to so angleški čaj oz. črni čaj, hibiskusov čaj in metin čaj. Čaji v filter vrečkah so bili kupljeni v lokalni trgovini. Hranjeni so bili v suhem prostoru na sobni temperaturi. Preglednica 2 prikazuje vrsto vzorca in oznako vzorca.

Preglednica 2: Vrste čajev in medu, vključenih v raziskavo

Vzorec	Med			Čaj		
	cvetlični med	lipov med	gozdni med	angleški čaj (Twinings)	hibiskusov čaj (1001 cvet)	metin čaj (Mogota)
Oznaka vzorca	C	L	G	A	H	M

Vzorci čaja so bili pripravljani po navodilih proizvajalca, eno vrečko čaja smo za 5 minut namočili v 2 dcl vode s temperaturo 100 °C. Ta vzorec je predstavljal čaj brez dodatkov. Za vzorce čaja, slajene z medom, smo 5 g medu raztopili v 100 ml čaja. Prvo serijo vzorcev čaja smo sladkali z medom pri doseženi temperaturi 70 °C, drugi seriji vzorcev čaja smo med dodali pri doseženi temperaturi čaja 40 °C. Pri tem smo v stekleno čašo odtehtali 5,0 g medu in ga raztopili v 20 ml čaja s temperaturo 70 °C oz. v 20 ml čaja s temperaturo 40 °C. Nato smo vsak vzorec kvantitativno prenesli v 100 ml bučko in ga dopolnili do oznake s čajem. Vzorce medu pa smo pripravili tako, da smo 5 g medu raztopili v 100 ml vode sobne temperature. Pri tem smo v čašo odtehtali 5 g medu, ga raztopili v 20 ml destilirane vode, kvantitativno prenesli v 100 ml bučko in z vodo dopolnili do oznake.

Kombinacije vzorcev (vzorci posameznih vrst medu in čajev ter čajev, slajenih z medom pri dveh različnih temperaturah oz. čajev, slajenih s sladkorjem) so podane v preglednici 3. S kemijsko analizo (vsebnost skupnih fenolnih spojin, vsebnost skupnih flavonoidov in antioksidativna učinkovitost) smo tako analizirali 24 vzorcev, s senzorično analizo pa 12 vzorcev čaja z dodatkom medu oz. sladkorja. Za senzorično analizo smo uporabili samo slajen čaj, poleg kombinacij vzorcev čaja, slajenega z medom, smo obravnavane čaje sladkali tudi s sladkorjem. Za čaj, slajen s sladkorjem, smo se odločili zaradi lažje primerjave med vzorci čajev, slajenih z medom, in čajev, slajenih s sladkorjem.

Preglednica 3: Vzorci medu in čaja za kemijsko in senzorično analizo

Vzorec				Kemijska analiza (24 vzorcev)	Senzorična analiza (12 vzorcev)	
Raztopina medu	cvetlični	C		+		
	lipov	L		+		
	gozdni	G		+		
Čaj brez dodatkov	angleški	A		+		
	hibiskusov	H		+		
	metin	M		+		
Čaj z dodatki	angleški čaj s cvetličnim medom	AC	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	angleški čaj z lipovim medom	AL	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	angleški čaj z gozdnim medom	AG	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	hibiskusov čaj s cvetličnim medom	HC	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	hibiskusov čaj z lipovim medom	HL	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	hibiskusov čaj z gozdnim medom	HG	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	metin čaj s cvetličnim medom	MC	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	metin čaj z lipovim medom	ML	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	metin čaj z gozdnim medom	MG	40 °C	+	+	
			70 °C	+		
	angleški čaj s sladkorjem	AS				+
	hibiskusov čaj s sladkorjem	HS				+
	metin čaj s sladkorjem	MS				+

## 3.2 METODE DELA

### 3.2.1 Določanje osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov medu

#### 3.2.1.1 Določanje vsebnosti vode v medu z ročnim refraktometrom (AOAC 969.38, 1999)

##### Princip:

Določanje vsebnosti vode s pomočjo ročnega refraktometra temelji na osnovi merjenja lomnega količnika medu.

##### Aparatura in oprema:

- ročni refraktometer ATAGO HHR-2N (Atago Co., LTD),
- steklene čaše,
- steklene palčke.

##### Priprava vzorca:

Vzorci medu, ki so tekoči, pred analizo dobro premešamo s stekleno palčko. Če je med kristaliziran, ga damo v zaprto posodico v sušilnik in segrevamo na 40 °C. Med segrevanjem je potrebno vzorce premešati s palčko. Nato vzorce medu hitro ohladimo.

##### Izvedba analize:

Na merilno prizmo smo s stekleno palčko nanegli tanko plast vzorca medu. Nato smo poklopec refraktometra zaprli in pritisnili, da se vzorec medu enakomerno razporedi po celotni površini prizme. Refraktometer obrnemo proti viru svetlobe in na skali neposredno očitamo vsebnost vode v %. V primeru, da temperatura odstopa od 20 °C, upoštevamo korekcijsko vrednost na korekcijski skali na refraktometru, ki jo odštejemo ali prištejemo od izmerjene vrednosti.

#### 3.2.1.2 Merjenje električne prevodnosti medu z laboratorijskim konduktometrom (Kropf in sod., 2008)

##### Princip:

Določanje električne prevodnosti 20 % (w/w) vodne raztopine medu pri 20 °C s konduktometrom temelji na merjenju električne upornosti, ki je recipročna vrednost električne prevodnosti. Uporabili smo modifikacijo opisane metode (Kropf in sod., 2008).

#### Aparatura in oprema:

- konduktometer CyberScan 515 PC,
- plastične čaše,
- steklene palčke.

#### Reagenti:

- 0,1 M raztopina KCl za umerjanje refraktometra,
- destilirana voda.

#### Priprava vzorca:

Odtehta medu v plastično čašo je odvisna od količine vode, ki jo med vsebuje. Po določanju vode v medu je potrebno preračunati, kakšna mora biti odtehta medu, da bo končna raztopina medu (100 g) vsebovala 20 ut. % suhe snovi. V plastično čašo odtehtamo izračunano količino medu in dopolnimo z destilirano vodo do 100 g. Raztopino medu in vode mešamo toliko časa, da se med raztopi.

#### Izvedba:

Konduktometer je potrebno vedno pred začetkom merjenja vzorcev umeriti z 0,1 M raztopino kalijevega klorida, katerega električna prevodnost pri 25 °C znaša 12,88 mS/cm. Pred vsakim merjenjem je potrebno konduktometer sprati z destilirano vodo in osušiti. Elektrodo potopimo v pripravljeno raztopino medu in izmerjeno vrednost, ki je podana v mS/cm (miliSimens/centimeter), neposredno odčitamo na zaslonu konduktometra.

### **3.2.2 Določanje vrednosti pH v čajih in medu (AOAC 962.19, 1999)**

#### Princip:

Neposredno merjenje vrednosti pH vzorcev čaja in raztopin medu s pomočjo pH metra.

#### Aparature in pribor:

- pH meter MA 5736 s stekleno elektrodo 4581,
- magnetno mešalo,
- steklene čaše,
- steklene paličice.

### Izvedba:

Za analizo smo vzorce prelili v čašo, dodali magnet, čašo postavili na magnetno mešalo, potopili elektrodo pH metra v raztopino medu oz. čaja ter po 2 minutah odčitali vrednost pH.

### **3.2.3 Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v čajih in medu s Folin-Ciocalteujevo metodo (Wanyo in sod., 2011)**

#### Princip:

Vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili z modificirano metodo, ki so jo objavili Wanyo in sod. (2011). Metoda temelji na oksidaciji fenolnih spojin s FC-reagentom, ki vsebuje fosfomolibdensko-fosfovolframovo kislino, kjer nastane modro obarvan kompleks, ki absorbira svetlobo pri 765 nm.

Za umeritveno krivuljo smo uporabili galno kislino, ki se uporablja kot standardna raztopina za določanje skupnih fenolnih spojin, in rezultate izrazili kot ekvivalent galne kisline/100 ml.

#### Reagenti:

- Folin-Ciocaltejev reagent (Merck, Nemčija), razredčen z vodo v razmerju 1:10,
- galna kislina (Merck),
- natrijev karbonat (Sigma-Aldrich, Nemčija) (75 g/l),
- destilirana voda.

#### Aparatura:

- Spektrofotometer Cecil CE 2021 (valovna dolžina 765 nm).

### Izvedba:

Za analizo smo odpipetirali 100 µl vzorca, dodali 1,0 ml FC reagenta in 1,0 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Po 60 minutah smo na spektrofotometru izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu pri 765 nm. Analize smo opravili v treh paralelkah.

#### Umeritvena krivulja:

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v čaju oz. raztopini medu smo določili s pomočjo umeritvene krivulje (priloga A), ki smo jo pripravili z raztopinami galne kisline v koncentraciji od 0-320 mg/l.

### 3.2.4 določanje skupnih flavonoidov v čajih in medu (Pereira in sod., 2013)

#### Princip:

Metoda temelji na reakciji med flavonoidi in aluminijevim kloridom, pri čemer se tvori obarvani kompleks rožnate barve, ki ima absorpcijski maksimum pri 510 nm. Absorbanca obarvanih kompleksov je sorazmerna s skupno koncentracijo flavonoidov (Pereira in sod., 2013).

#### Reagenti:

- 5 % natrijev nitrat ( $\text{NaNO}_2$ ),
- katehin (Sigma, Nemčija),
- 10 % raztopina aluminijevega klorida ( $\text{AlCl}_3$ ),
- 4 % raztopina natrijevega hidroksida ( $\text{NaOH}$ ),
- destilirana voda.

#### Aparatura:

- Spektrofotometer Cecil CE 2021 (valovna dolžina 510 nm).

#### Vzorci:

Za analizo smo odpipetirali 0,5 ml vzorca, dodali 2,0 ml destilirane vode in 0,15 ml 5 % raztopine  $\text{NaNO}_2$ . Epruveto smo dobro premešali in po šestih minutah dodali 0,15 ml 10 % raztopine  $\text{AlCl}_3$ . Ponovno smo dobro premešali ter pustili stati še šest minut na sobni temperaturi. Po šestih minut smo dodali 2,0 ml  $\text{NaOH}$  in dopolnili z destilirano vodo do končnega volumna 5,0 ml. Po 15 minutah smo na spektrofotometru izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu pri 510 nm. Analize smo opravili v treh paralelkah.

#### Umeritvena krivulja:

Vsebnost skupnih flavonoidov v raztopini smo določili s pomočjo umeritvene krivulje katehina, ki smo jo pripravili v koncentraciji od 8,7 do 29 mg/100 ml. Rezultate vsebnosti skupnih flavonoidov smo izrazili kot ekvivalent katehina (CE) v mg/100 ml raztopine čaja oz. medu (priloga B).

### 3.2.5 Določanje antioksidativne učinkovitosti čajev in medu s FRAP metodo (Benzie in Strain, 1996)

#### Princip:

FRAP metoda temelji na redukciji  $\text{Fe}^{3+}$  v  $\text{Fe}^{2+}$  ob prisotnosti antioksidanta. Nastali  $\text{Fe}^{2+}$  ioni ob prisotnosti TPTZ reagenta (2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin) tvorijo obarvan kompleks, ki doseže absorpcijski maksimum pri 593 nm. Reakcija poteka v kislem mediju (Benzie in Strain, 1996).

#### Reagenti:

- 20 mM železov klorid ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Nemčija),
- 10 mM TPTZ (2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin),
- 40 mM HCl (Merck, Nemčija),
- 300 mM acetatni pufer ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), pH 3,6 (Merck, Nemčija),
- 20 mM železov sulfat ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ) (Merck, Nemčija),
- destilirana voda.

#### Aparatura:

- Spektrofotometer Cecil CE 2021 (valovna dolžina 593 nm).

#### Izvedba:

Na analitski tehtnici smo odtehtali 31,0 mg TPTZ reagenta in mu dodali 10 ml 40 mM HCl ter mešanico popolnoma raztopili v vodni kopeli pri 50 °C. Za tem smo odtehtali 54,0 mg železovega klorida in ga raztopili v 10 ml destilirane vode. Za pripravo FRAP reagenta smo odpipetirali TPTZ reagent, železov klorid in acetatni pufer v razmerju 1:1:10. FRAP reagent pripravimo tik pred analizo in ga hranimo v vodni kopeli pri 37 °C.

#### Vzorci:

Za analizo smo odpipetirali 100  $\mu\text{l}$  posameznega vzorca in mu dodali 1,8 ml FRAP reagenta ter vzorce inkubirali 10 minut pri temperaturi 37 °C in na spektrofotometru izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu pri 593 nm. Vsak vzorec smo analizirali v treh paralelkah. Rezultate smo podali kot  $\mu\text{M Fe(II)}/100 \text{ ml}$ .

#### Umeritvena krivulja:

Pripravili smo standardne raztopine železovega sulfata s koncentracijami od 0 do 1400  $\mu\text{M Fe(II)}$ . Odpipetirali smo 100  $\mu\text{l}$  standardne raztopine in dodali 1,8 ml FRAP reagenta, premešali in

inkubirali 10 minut pri 37 °C. Nato smo na spektrofotometru pri 593 nm izmerili absorbanco standardnih raztopin proti slepemu vzorcu. Iz izmerjenih absorbanco in znanih koncentracij standardnih raztopin smo narisali umeritveno krivuljo (priloga C).

### 3.2.6 Določanje antioksidativne učinkovitosti čajev in medu z metodo DPPH (Brand-Williams in sod., 1995)

#### Princip:

Metoda temelji na redukciji radikala DPPH<sup>•</sup> z antioksidantom, kar povzroči spremembo barve iz vijoličaste v rumeno.

#### Reagenti:

- absolutni etanol,
- 0,1 mM DPPH v etanolu (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Sigma, Nemčija),
- 96 % etanol,
- destilirana voda.

#### Aparatura:

- Spektrofotometer Cecil CE 2021 (valovna dolžina 517 nm).

#### Vzorci:

Odpiptirali smo 0,1 ml vzorca ter dodali 2,9 ml DPPH reagenta. Vzorce smo dobro premešali in po 30 minutah v temi izmerili absorbanco pri 517 nm proti slepemu vzorcu (96 % etanol). Izmerili smo tudi absorbanco kontrolnega vzorca, kjer smo k 2,9 ml raztopine DPPH<sup>•</sup> dodali 0,1 ml 96 % etanola.

Sposobnost lovljenja prostih radikalov smo izrazili kot delež inhibicije v % (enačba 6).

$$\% \text{ inhibicije} = \left( \frac{A_{\text{kontrola}} - A_{\text{vzorec}}}{A_{\text{kontrola}}} \right) \cdot 100 \quad \dots (6)$$

### 3.2.7 Senzorična analiza slajenih čajev

Senzorično ocenjevanje smo izvedli s študenti 2. letnika študija Živilstvo in prehrana. Skupino preskuševalcev je sestavljalo 60 študentov.

Ocenili smo vsečnost posameznih vzorcev čaja (angleški, hibiskusov in metin čaj) z dodanim medom (gozdni, lipov in cvetlični med) oziroma sladkorjem. Študenti so bili seznanjeni, da je



čaj slajen, niso pa vedeli s čim smo sladkali vzorce čaja. Da bi bili vzorci čaja, slajeni z medom oz. sladkorjem primerljivi, smo za slajenje 100 ml čaja uporabili 5 g sladkorja. Vsak študent je dobil v oceno 12 različnih vzorcev (preglednica 3), ki so bili pripravljene po navodilih proizvajalca, slajeni z medom oz. sladkorjem in ohlajeni na sobno temperaturo. Namen senzorične analize je bil ugotoviti všečnost slajenega čaja. Za vsako vrsto čaja smo pripravili svoj ocenjevalni list. Všečnost posameznega vzorca čaja so študenti ocenili na 7-točkovni lestvici, ki je bila prikazana na obrazcu na sliki 5.

Vzorec	NIKAKOR NE UGAJA						ZELO UGAJA
	1	2	3	4	5	6	7

Slika 5: 7-točkovna hedonska lestvica

### 3.2.8 Anketni vprašalnik

Anketa je raziskovalna tehnika zbiranja podatkov, s pomočjo katere pridobimo podatke o stališčih in mnenjih anketirancev, na relativno velikem vzorcu. Pridobljene kvantitativne informacije sistematično zberemo in obdelamo (Mathers in sod., 2009).

Raziskava o uživanju čaja in navadah pitja čaja med izbranimi študenti je potekala dne 18.11.2013 na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Anketiranje je potekalo v naslednjem vrstnem redu:

- priprava ankete za študente,
- izvedba ankete, ki jo je vsak posameznik rešil samostojno,
- statistična obdelava podatkov.

Anketa je obsegala 15 vprašanj, kjer so bili poleg vprašanj ponujeni tudi odgovori, anketiranec pa je izbral enega ali več izmed naštetih odgovorov. Zadnje vprašanje v anketi je bilo lestvično, kjer so morali anketiranci oceniti pogostost uporabe medu v čaju od *1-nikoli* do *5-zelo pogosto*. Anketni vprašalnik je priložen v prilogi D.

## 3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Rezultate kemijske in senzorične analize smo uredili in statistično obdelali s programom Microsoft Office Excel, nadaljnjo statistično obdelavo podatkov smo izvedli s programom IBM SPSS Statistic 2009. Podatke smo ovrednotili z naslednjimi statističnimi parametri:

- aritmetična sredina – povprečna vrednost,
- standardni odklon (SD),
- koeficient variacije (KV),
- minimalna vrednost (min),
- maksimalna vrednost (max),
- parametrični testi (t-test, ANOVA – analiza variance, Duncanov test),
- Pearsonov koeficient korelacije.

Korelacija je lahko pozitivna ali negativna, lahko je večja ali manjša ali pa ne obstaja (Adamič, 1989). Koeficient korelacije po Pearsonu lahko zavzame vse vrednosti med -1 in +1. Vrednost -1 dobimo, če gre za maksimalno negativno korelacijo, pri vrednosti +1 pa govorimo o pozitivni korelaciji. V primeru, da je koeficient korelacije enak nič, spremenljivki med seboj nista linearno povezani. Na osnovi korelacijskega koeficienta lahko sklepamo, kako močna je povezava med dvema statističnima enotama, ne pove pa nam, če je povezanost značilna ali ne (Adamič, 1989; Blejec in sod., 2003). V preglednici 4 so prikazane mejne vrednosti za presojo moči povezanosti spremenljivk.

Preglednica 4: Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk

Korelacijski koeficient (r)	Povezanost
od 0,00 do $\pm 0,20$	povezanosti ni
nad $\pm 0,20$ do $\pm 0,40$	šibka
nad $\pm 0,40$ do $\pm 0,70$	zmerna
nad $\pm 0,70$ do $\pm 1,00$	močna

## 4 REZULTATI

V nadaljevanju so podani rezultati nekaterih fizikalno-kemijskih parametrov (vsebnost vode, električna prevodnost in vrednost pH) za obravnavane vzorce medu ter vsebnost skupnih fenolnih spojin, skupnih flavonoidov in antioksidativna učinkovitost posameznih vzorcev medu in čaja ter vzorcev čaja, slajenih z različnimi vrstami medu pri dveh različnih temperaturah. Sledijo rezultati ankete o uživanju čaja med študenti ter rezultati ocenjevanja všečnosti obravnavanih čajev z dodatkom medu oz. sladkorja.

S statistično analizo smo ugotavljali, če so med vrstami čajev značilne razlike in če vrsta medu pri istem čaju značilno vpliva na proučevane parametre oz. če so merjeni parametri odvisni tudi od temperature čaja, ko smo mu dodali med. Predhodno smo vedno uporabili Levenov test, s katerim smo ugotavljali homogenost varianc. Ker je bil pogoj homogenosti varianc izpolnjen, smo uporabili parametrične teste (t-test, ANOVA).

### 4.1 REZULTATI DOLOČANJA NEKATERIH OSNOVNIH FIZIKALNO-KEMIJSKIH PARAMETROV, VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN IN FLAVONOIDOV TER ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI MEDU

V preglednici 5 so prikazani rezultati analiz nekaterih osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov medu (vsebnost vode, električna prevodnost in vrednost pH) in rezultati vsebnosti skupnih fenolnih spojin (Folin-Ciocalteu metoda) in skupnih flavonoidov ter antioksidativne učinkovitosti (FRAP metoda, DPPH metoda).

Preglednica 5: Vsebnost vode, električna prevodnost (EP), vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin in skupnih flavonoidov ter antioksidativna učinkovitost (AU) analiziranih vzorcev medu

Parameter	Statistični parameter	Vrsta medu		
		Gozdni med	Lipov med	Cvetlični med
Vsebnost vode(g/100g)	$\bar{x} \pm SD$	15,9 ± 0,07	16,0 ± 0,14	15,6 ± 0,00
EP (mS/cm)	$\bar{x} \pm SD$	1,361 ± 0,002	0,772 ± 0,004	0,294 ± 0,006
Vrednost pH	$\bar{x} \pm SD$	4,61 ± 0,07	3,91 ± 0,05	3,75 ± 0,01
Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg <sub>GA</sub> /100 ml)	$\bar{x} \pm SD$	3,04 ± 0,07	1,12 ± 0,02	0,99 ± 0,02
Vsebnost skupnih flavonoidov (mg <sub>CE</sub> /100 ml)	$\bar{x} \pm SD$	1,19 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,39 ± 0,03
AU - FRAP metoda (μM Fe(II))	$\bar{x} \pm SD$	236,2 ± 3,2	84,7 ± 0,5	61,9 ± 1,0
AU - DPPH metoda (% inhibicije)	$\bar{x} \pm SD$	6,99 ± 0,09	4,06 ± 0,23	1,74 ± 0,84

Legenda:  $\bar{x}$  - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, EP - električna prevodnost, AU - antioksidativna učinkovitost

Iz prikazanih rezultatov v preglednici 5 je razvidno, da je vsebnost vode v vzorcu medu maninega izvora (gozdni med) zelo podobna vsebnosti vode v dveh vzorcih medu nektarnega izvora (lipov in cvetlični med), vsebnost vode je v območju od 15,6 do 16,0 g/100 g. Električna prevodnost je bila najnižja v cvetličnem medu, 0,294 mS/cm, ki vsebuje najmanj mineralov med obravnavanimi vrstami medu, ter najvišja, 1,361 mS/cm, v gozdnem medu, ki ima večjo vsebnost mineralov. Vrednost pH je bila najvišja v gozdnem medu, znašala je 4,61, in nižja v cvetličnem in lipovem medu, 3,75 oz. 3,91.

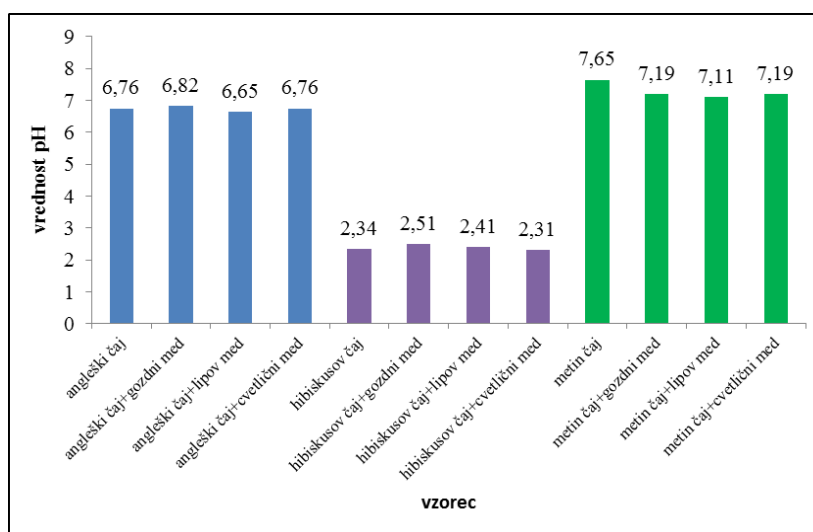
Največjo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v gozdnem medu, znašala je 3,04 mg<sub>GA</sub>/100 ml 5 % raztopine medu in najmanjšo v vzorcu cvetličnega medu, 0,99mg<sub>GA</sub>/100 ml. V vzorcu lipovega medu smo določili 1,12 mg<sub>GA</sub>/100 ml.

Pri določanju skupnih flavonoidov smo največjo vsebnost določili v gozdnem medu, sledita lipov in cvetlični med.

Največjo antioksidativno učinkovitost z metodama FRAP in DPPH smo določili v gozdnem medu, 236,2 μM Fe(II) in % inhibicije 6,99, najmanjšo AU je imel cvetlični med, 61,9 μM Fe(II) in % inhibicije 1,74.

#### 4.2 REZULTATI DOLOČANJA VREDNOSTI pH V ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM

Slika 6 prikazuje izmerjene vrednosti pH čajev in čajev, slajenih z medom. Vrednosti pH čajev smo izmerili pri sobni temperaturi, znašale so med 2,31 in 7,65. Najnižjo vrednost pH smo določili v hibiskusovem čaju, od 2,31 do 2,51, medtem ko smo v angleškem in metinem čaju izmerili bistveno višje vrednosti pH, od 6,65 do 6,82 pri angleškem čaju in od 7,11 do 7,65 pri metinem čaju. Tudi pri senzoričnem vrednotenju okusa čaja je hibiskusov čaj bistveno bolj kisel kot angleški in metin čaj. Med čaji brez dodanega medu in čaji z dodanim medom pri isti vrsti čaja ni bilo bistvenih razlik, kot je razvidno s slike 6.



Slika 6: Vrednost pH obravnavanih čajev

#### 4.3 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN V ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v čajih in čajih, slajenih z medom, pri temperaturi 70 °C oz. 40 °C smo določali s pomočjo modificirane Folin-Ciocalteujeve metode. Meritve smo opravili v treh paralelkah. Povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin za posamezne čaje ter za čaje, slajene z medom, so podane v preglednici 6, v mg<sub>GA</sub>/100 ml čaja.

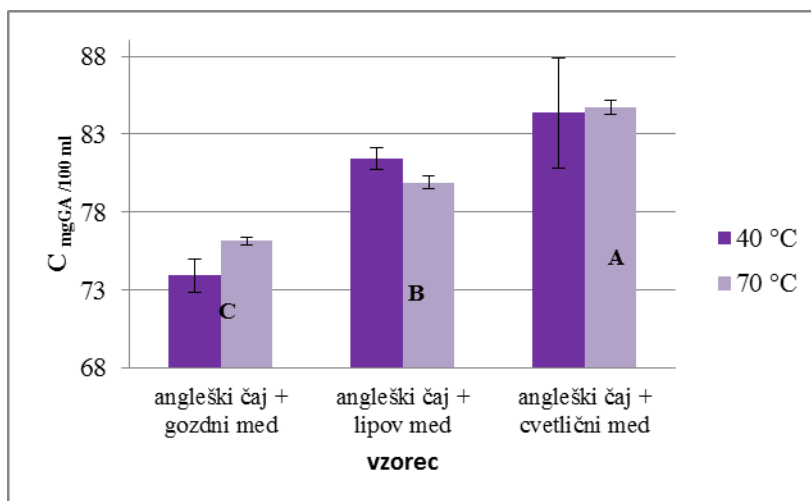
Iz preglednice 6 je razvidno, da je največ skupnih fenolnih spojin med vzorci čaja vseboval angleški čaj (81,8 mg<sub>GA</sub>/100 ml), sledita metin čaj (44,3 mg<sub>GA</sub>/100 ml) in hibiskusov čaj (30,0 mg<sub>GA</sub>/100 ml). V vzorcih čaja, slajenih z medom, je največ skupnih fenolnih spojin vseboval angleški čaj, slajen s cvetličnim medom pri temperaturi 70 °C (84,7 mg<sub>GA</sub>/100 ml), najmanj pa hibiskusov čaj, slajen s cvetličnim medom pri temperaturi 70 °C (33,9 mg<sub>GA</sub>/100 ml).

Preglednica 6: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih čaja in vzorcih čaja z dodanim medom

Vzorec		Statistični parameter	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg <sub>GA</sub> /100 ml)	
Čaj	A	$\bar{x} \pm SD$	81,8 ± 0,8	
	H	$\bar{x} \pm SD$	30,0 ± 0,4	
	M	$\bar{x} \pm SD$	44,3 ± 0,3	
			<b>70 °C</b>	<b>40 °C</b>
Čaj z medom	AG	$\bar{x} \pm SD$	76,2 ± 0,2	73,9 ± 1,1
	AL	$\bar{x} \pm SD$	79,9 ± 0,4	81,5 ± 0,7
	AC	$\bar{x} \pm SD$	84,7 ± 0,5	84,4 ± 3,5
	HG	$\bar{x} \pm SD$	35,3 ± 1,7	37,5 ± 0,7
	HL	$\bar{x} \pm SD$	34,5 ± 0,4	36,3 ± 0,4
	HC	$\bar{x} \pm SD$	33,9 ± 1,3	34,1 ± 0,3
	MG	$\bar{x} \pm SD$	47,3 ± 0,6	46,4 ± 0,6
	ML	$\bar{x} \pm SD$	46,2 ± 0,5	46,4 ± 0,6
MC	$\bar{x} \pm SD$	45,6 ± 0,6	45,6 ± 0,2	

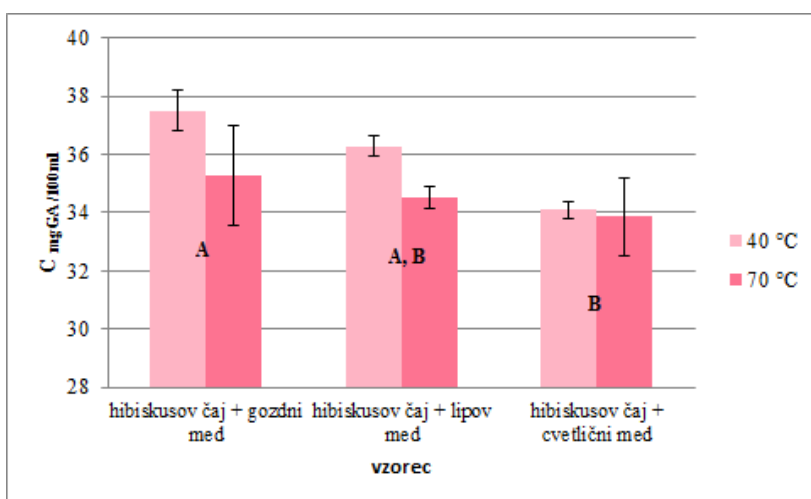
Legenda:  $\bar{x}$  - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, 70 °C/40 °C - temperatura čaja ob dodatku medu

Za primerjavo razlik med aritmetičnimi sredinami vzorcev čaja in čaja z dodanim medom smo uporabili Studentov t-test, s katerim smo pri izbrani stopnji tveganja  $\alpha \leq 0,05$  potrdili, da dodatek medu statistično značilno ne vpliva na vsebnost skupnih fenolnih spojin v čaju. Zato smo posamezne vrste čajev obravnavali na nivoju vzorcev in spremljali, kako dodatek medu in vrsta medu ter temperatura ob času dodatka medu vplivajo na opazovani parameter ter na podlagi tega potrdili ali zavrnili ničelno hipotezo in sprejeli alternativno hipotezo.

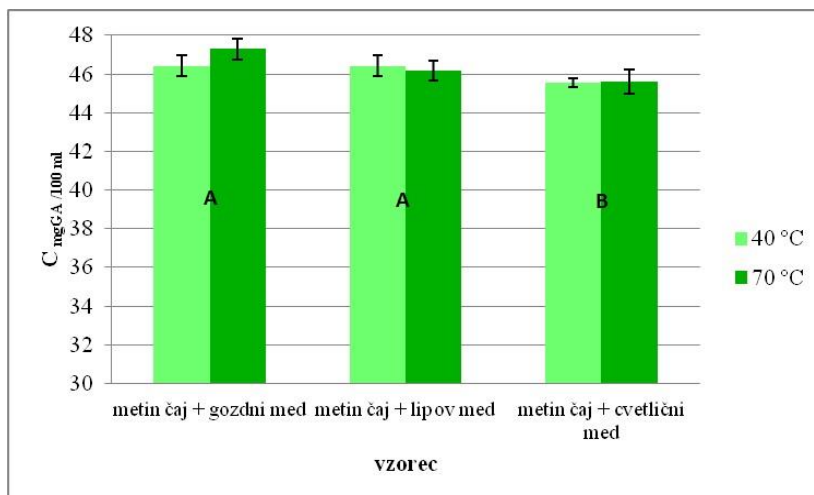


Slika 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih angleškega čaja, slajenega z medom

S pomočjo t-testa smo potrdili da, dodatek medu v angleški čaj in temperatura nista imela statistično značilnega vpliva na vsebnost skupnih fenolnih spojin. Vrsta dodanega medu je imela statistično značilen vpliv na vsebnost skupnih fenolnih spojin, in sicer so se angleški čaji z dodanimi različnimi vrstami medu med seboj statistično značilno razlikovali, kar smo potrdili z Duncanovim testom (oznake A, B in C na sliki 7). V angleškem čaju z dodanim cvetličnim medom smo določili največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin, sledi angleški čaj, slajen z lipovim medom, najmanjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v angleškem čaju, slajenim z gozdnim medom.



Slika 8: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih hibiskusovega čaja, slajenega z medom



Slika 9: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih metinega čaja, slajenega z medom

Iz preglednice 6 lahko razberemo, da je dodatek medu v hibiskusov in metin čaj statistično značilno vplival na povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin, kar smo dokazali s t-testom pri upoštevanju stopnji tveganja 0,05. Temperatura čaja v času slajenja z medom ima statistično značilen vpliv na vsebnost skupnih fenolnih spojin le v hibiskusovem čaju, kjer smo večje vsebnosti določili v vzorcih, pripravljenih pri temperaturi 40 °C (slika 8). V metinem čaju tega ni bilo zaznati (t-test). Vpliv vrste dodanega medu ima statistično značilen vpliv na vsebnost skupnih fenolnih spojin v obeh obravnavanih vrstah čaja. Hibiskusov čaj z dodanim gozdnim medom se statistično značilno razlikuje od hibiskusovega čaja z dodanim cvetličnim medom (oznake A in B na sliki 8). Metin čaj z dodanim gozdnim oz. lipovim medom se statistično značilno razlikuje od metinega čaja z dodanim cvetličnim medom, kar so pokazali rezultati Duncanovega testa (oznake A in B na sliki 9).

#### 4.4 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FLAVONOIDOV V POSAMEZNIH ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM

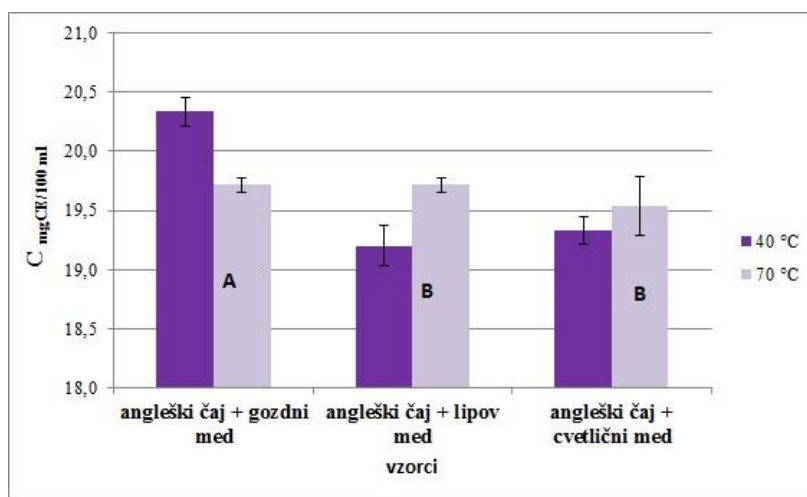
Vsebnost skupnih flavonoidov v čajih in čajih z dodanim medom pri dveh temperaturah (70 °C in 40 °C) smo določali s pomočjo spektrofotometrične metode z  $AlCl_3$ . Rezultati vsebnosti flavonoidov so podani v preglednici 7 kot ekvivalent katehina:  $g_{CE}/100$  ml čaja oz. raztopine čaja in medu.

Preglednica 7: Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih čaja in vzorcih čaja z dodanim medom

Vzorec		Statistični parameter	Vsebnost skupnih flavonoidov (mg <sub>CE</sub> /100 ml)	
Čaj	A	$\bar{x} \pm SD$	21,5 ± 0,15	
	H	$\bar{x} \pm SD$	8,90 ± 0,00	
	M	$\bar{x} \pm SD$	41,5 ± 0,4	
			<b>70 °C</b>	<b>40 °C</b>
Čaj z medom	AG	$\bar{x} \pm SD$	19,7 ± 0,1	20,3 ± 0,12
	AL	$\bar{x} \pm SD$	19,7 ± 0,1	19,2 ± 0,17
	AC	$\bar{x} \pm SD$	19,5 ± 0,3	19,3 ± 0,12
	HG	$\bar{x} \pm SD$	9,3 ± 0,06	9,0 ± 0,00
	HL	$\bar{x} \pm SD$	8,7 ± 0,06	8,8 ± 0,12
	HC	$\bar{x} \pm SD$	8,5 ± 0,00	8,7 ± 0,23
	MG	$\bar{x} \pm SD$	41,6 ± 0,01	42,0 ± 0,6
	ML	$\bar{x} \pm SD$	33,0 ± 0,6	34,2 ± 0,1
	MC	$\bar{x} \pm SD$	38,9 ± 0,1	39,9 ± 0,3

Legenda:  $\bar{x}$  - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, 70 °C/40 °C - temperatura čaja ob dodatku medu

Iz preglednice 7 lahko razberemo, da splošno gledano dodatek medu v čaj bistveno ne vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov. Opazna razlika je samo pri metinem čaju, slajenim z lipovim medom, kjer dodatek medu zmanjša vsebnost skupnih flavonoidov za približno 20 %. Rezultati t-testa pri izbrani stopnji tveganja  $\alpha \leq 0,05$  so pokazali, da dodatek medu v čaj statistično značilno ne vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov. Zato bomo posamezne vrste čajev obravnavali na nivoju vzorcev, kjer bomo spremljali razlike, kako vrsta dodanega medu in temperatura vplivajo na opazovani parameter.

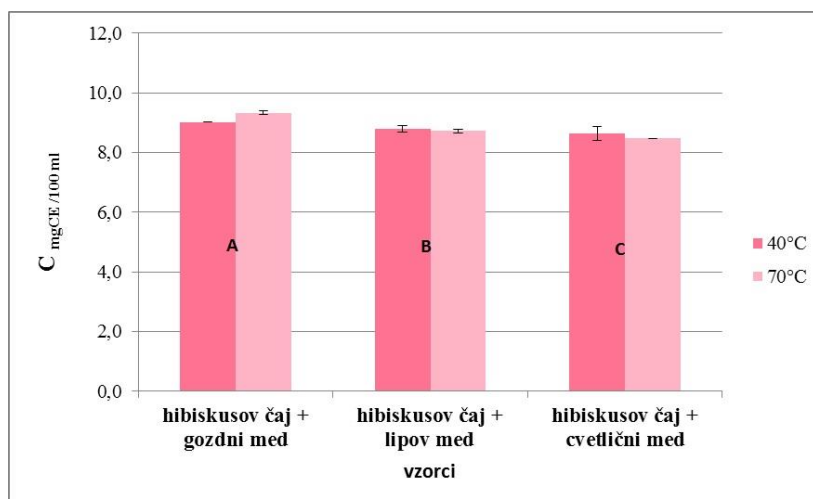


Slika 10: Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih angleškega čaja z dodanim medom

Iz preglednice 7 je razvidno, da dodatek medu v angleški čaj vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov, saj se je vsebnost glede na angleški čaj brez dodatkov znižala, kar smo potrdili s pomočjo t-testa. Vpliv temperature priprave čaja smo prav tako preverili s t-testom, kjer smo med seboj primerjali skupino čajev iste vrste pri temperaturi slajenja 40 °C in 70 °C.

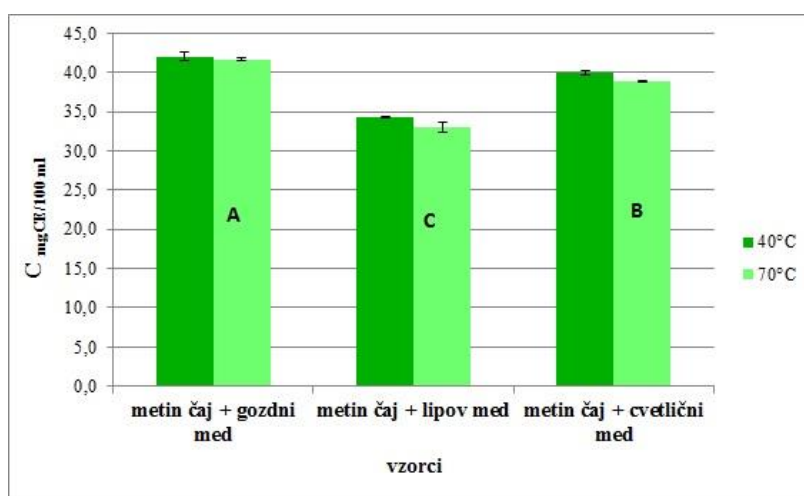


Temperatura čaja ob dodatku medu ni imela statistično značilnega vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov. Vrsta medu pa je imela statistično značilen vpliv na vzorce slajenega čaja. Angleški čaj z gozdnim medom se je statistično značilno razlikoval od angleškega čaja z dodanim lipovim ali cvetličnim medom, kar smo potrdili z Duncanovim testom (oznake A in B na sliki 10).



Slika 11: Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih hibiskusovega čaja z dodanim medom

Dodatek medu v hibiskusov čaj in temperatura nista imela značilnega vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov, kar smo potrdili s t-testom. Vrsta dodanega medu je imela statistično značilen vpliv na vsebnost skupnih flavonoidov. Hibiskusovi čaji z dodanim gozdnim, lipovim in cvetličnim medom so se med seboj statistično značilno razlikovali, kar smo potrdili z Duncanovim testom. Največjo vsebnost skupnih flavonoidov smo določili v hibiskusovem čaju, slajenim z gozdnim medom, najmanjšo pa v čaju te vrste z dodanim cvetličnim medom, razlike smo grafično ponazorili (oznake A, B in C na sliki 11).



Slika 12: Vsebnost skupnih flavonoidov v vzorcih metinega čaja z dodanim medom

S pomočjo t-testa smo med seboj primerjali vzorce metinega čaja z vzorci metinega čaja, slajenega z medom, potrdili smo da dodatek medu v metin čaj ni imel statistično značilnega vpliva na vsebnost skupnih flavonoidov, ravno tako ne temperatura. S pomočjo Duncanovega testa pa smo potrdili, da je vrsta dodanega medu statistično značilno vplivala na vsebnost opazovanega parametra. Metini čaji z dodanim gozdnim, lipovim in cvetličnim medom so se glede na rezultate Duncanovega testa statistično značilno razlikovali med seboj (oznake A, B in C na sliki 12). Največjo vsebnost skupnih flavonoidov smo določili v metinem čaju, slajenim z gozdnim medom, najmanjšo vsebnost pa v metinem čaju, slajenim z lipovim medom.

#### 4.5 REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI V POSAMEZNIH ČAJIH IN ČAJIH Z DODANIM MEDOM

Antioksidativno učinkovitost vzorcev čaja smo določali z dvema metodama, FRAP in DPPH. V preglednici 8 so podane povprečne vrednosti antioksidativne učinkovitosti čajev in čajev z dodanim medom.

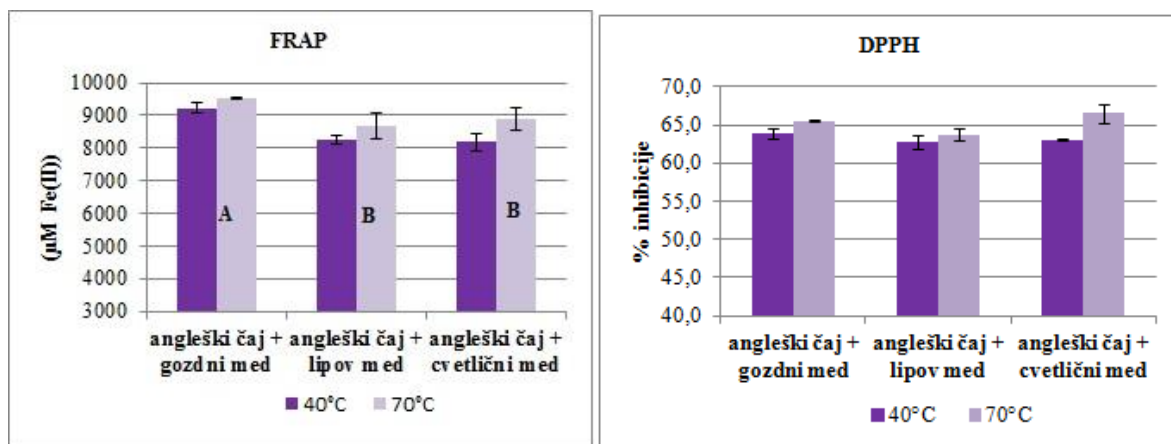
Najvišjo antioksidativno učinkovitost smo s FRAP metodo določili v angleškem čaju (8752,5  $\mu\text{M Fe(II)}$ ), z DPPH metodo pa v hibiskusovem čaju (% inhibicije 83,2). Pri čajih, slajenih z medom pri 70 °C, smo najvišjo antioksidativno učinkovitost z metodo FRAP določili v angleškem čaju, slajenim z gozdnim medom (9536,7  $\mu\text{M Fe(II)}$ ), z metodo DPPH pa v hibiskusovem čaju, slajenim z lipovim medom, % inhibicije je znašal 82,7. Pri čajih, kjer smo med dodali pri temperaturi 40 °C, smo ravno tako določili najvišjo AU, določeno z metodo FRAP, v angleškem čaju, slajenim z gozdnim medom (9227,6  $\mu\text{M Fe(II)}$ ), z metodo DPPH pa v hibiskusovem čaju, slajenim s cvetličnim medom (79,7 %).

Preglednica 8: Rezultati določanja antioksidativne učinkovitosti vzorcev čaja in čaja z dodanim medom s FRAP in DPPH metodo

Vzorec		Statistični parameter	FRAP metoda ( $\mu\text{M Fe(II)}$ )		DPPH (% inhibicije)	
Čaj	A	$\bar{x} \pm \text{SD}$	8752,5 $\pm$ 36,6		58,8 $\pm$ 0,1	
	H	$\bar{x} \pm \text{SD}$	5700,4 $\pm$ 78,7		83,2 $\pm$ 0,3	
	M	$\bar{x} \pm \text{SD}$	7613,1 $\pm$ 102,9		53,2 $\pm$ 1,4	
			<b>70 °C</b>	<b>40 °C</b>	<b>70 °C</b>	<b>40 °C</b>
Čaj z medom	AG	$\bar{x} \pm \text{SD}$	9536,7 $\pm$ 21,8	9227,6 $\pm$ 138,8	65,6 $\pm$ 0,6	63,9 $\pm$ 0,6
	AL	$\bar{x} \pm \text{SD}$	8655,8 $\pm$ 403,7	8260,4 $\pm$ 195,4	63,7 $\pm$ 0,9	62,8 $\pm$ 0,9
	AC	$\bar{x} \pm \text{SD}$	8880,4 $\pm$ 338,2	8175,5 $\pm$ 279,4	66,6 $\pm$ 1,2	63,1 $\pm$ 0,2
	HG	$\bar{x} \pm \text{SD}$	5613,1 $\pm$ 72,7	4940,4 $\pm$ 128,6	79,2 $\pm$ 0,2	64,1 $\pm$ 1,1
	HL	$\bar{x} \pm \text{SD}$	5551,3 $\pm$ 3,7	5320,0 $\pm$ 51,6	82,7 $\pm$ 0,5	66,3 $\pm$ 0,6
	HC	$\bar{x} \pm \text{SD}$	5302,8 $\pm$ 18,3	5419,2 $\pm$ 51,6	80,5 $\pm$ 0,4	79,7 $\pm$ 0,2
	MG	$\bar{x} \pm \text{SD}$	6505,2 $\pm$ 83,7	5736,7 $\pm$ 98,4	52,3 $\pm$ 0,7	50,1 $\pm$ 0,5
	ML	$\bar{x} \pm \text{SD}$	5552,5 $\pm$ 195,3	6409,5 $\pm$ 87,4	51,9 $\pm$ 1,3	56,1 $\pm$ 0,1
	MC	$\bar{x} \pm \text{SD}$	6468,8 $\pm$ 125,4	6024,0 $\pm$ 138,9	53,2 $\pm$ 0,9	53,5 $\pm$ 0,1

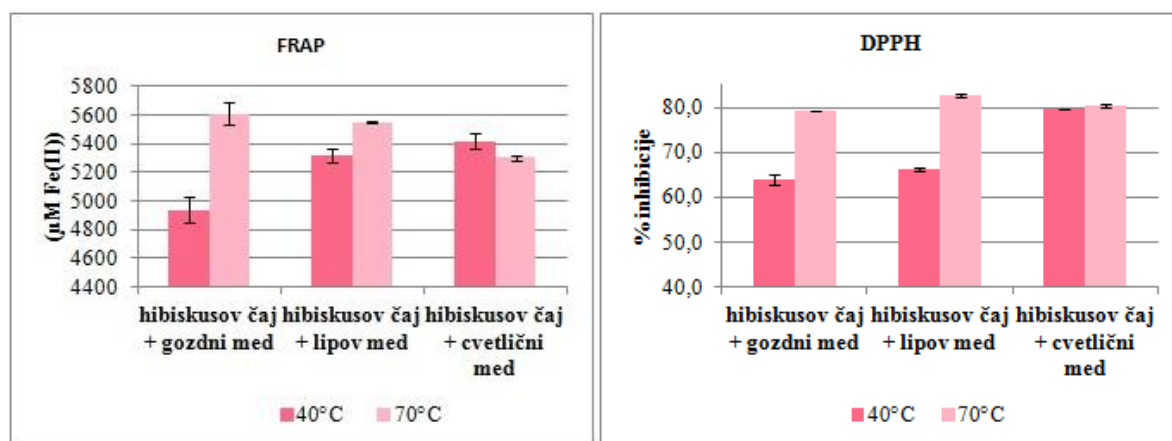
Legenda:  $\bar{x}$  - povprečna vrednost, SD - standardni odklon, 70 °C/40 °C - temperatura čaja ob dodatku medu

Glede na statistično obdelavo podatkov z uporabo t-testa pri izbrani stopnji tveganja  $\alpha \leq 0,05$  lahko rečemo, da dodatek medu različno vpliva na antioksidativno učinkovitost čajev. V nadaljevanju bomo posamezne vrste čajev in medu obravnavali na nivoju vzorcev ter spremljali kako dodatek medu, vrsta medu in temperatura vplivajo na AU.



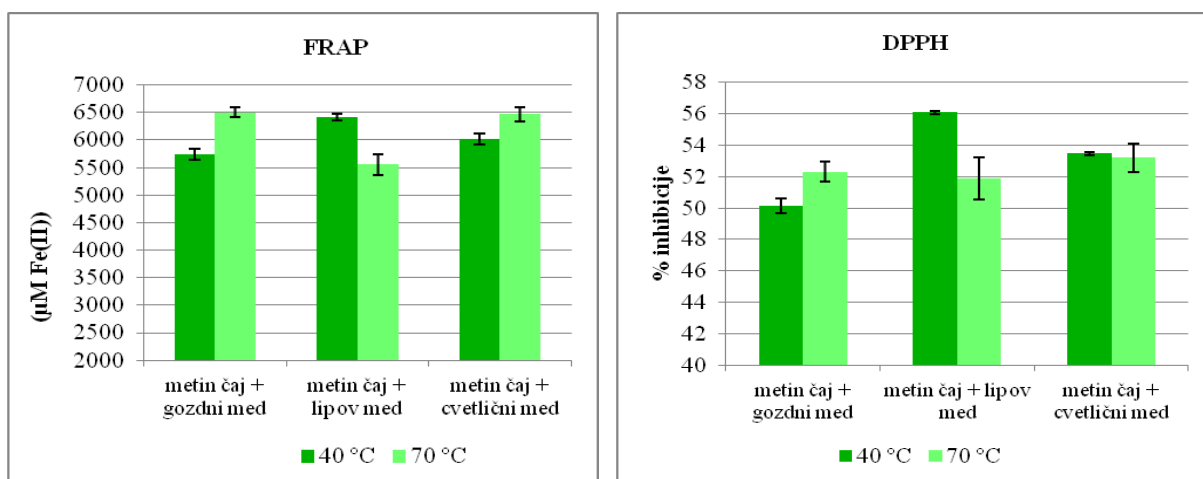
Slika 13: Antioksidativna učinkovitost angleškega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH

Na splošno dodatek medu v angleški čaj statistično značilno vpliva na povišanje AU čajev, določene z DPPH metodo, medtem ko pri FRAP metodi statistično značilnega vpliva s t-testom ni zaznati. Temperatura čaja ob dodatku medu je statistično značilno vplivala na AU, določeno tako s FRAP kot z DPPH metodo, kar smo potrdili s t-testom. Z obema metodama smo večjo povprečno AU določili pri temperaturi 70 °C. Vrsta dodanega medu v angleški čaj je imela statistično značilen vpliv na AU, določeno z metodo FRAP, kjer je bila stopnja značilnosti 0,003. Angleški čaj z dodanim gozdnim medom se statistično značilno razlikuje od angleškega čaja z dodanim lipovim oz. cvetličnim medom, kar smo potrdili z Duncanovim testom (oznake A in B na sliki 13).



Slika 14: Antioksidativna učinkovitost hibiskusovega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH

Slika 14 prikazuje AU hibiskusovega čaja z dodanimi različnimi vrstami medu. Dodatek medu v hibiskusov čaj statistično značilno ne vpliva na AU. Temperatura statistično značilno vpliva na AU, določeno z metodo DPPH, kjer smo višje povprečne vrednosti določili v čajih, kjer smo med dodali pri temperaturi 70 °C, pri AU, določeni z metodo FRAP, vpliva temperature ni bilo zaznati (t-test). Z Duncanovim testom smo potrdili, da vrsta dodanega medu ni imela statistično značilnega vpliva na AU.



Slika 15: Antioksidativna učinkovitost metinega čaja, slajenega z različnimi vrstami medu, določena z metodama FRAP in DPPH

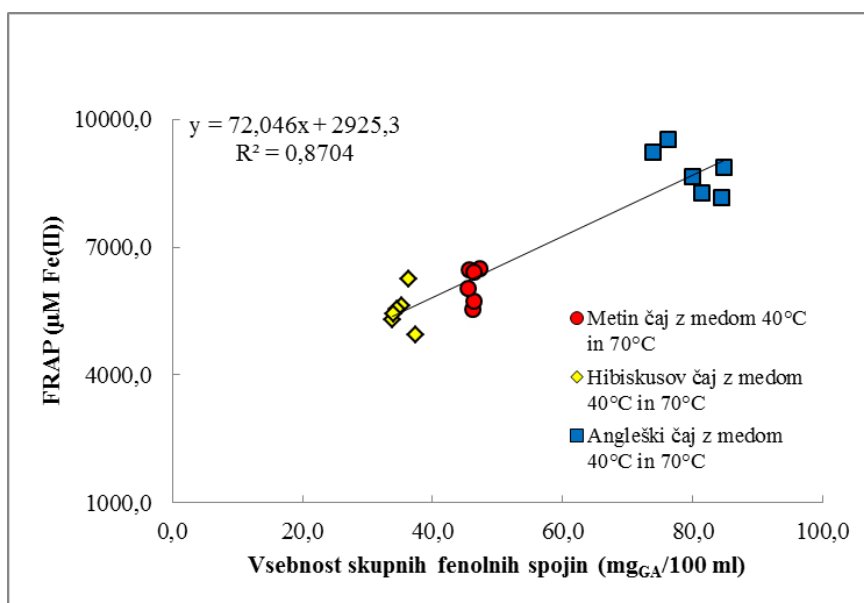
Preglednica 8 in slika 15 prikazujeta rezultate AU metinega čaja, določene s FRAP in DPPH metodo, iz rezultatov je razvidno da ima sam dodatek medu statistično značilen vpliv na znižanje AU, kar smo potrdili s t-testom, kjer smo med seboj smo primerjali vzorce metinega čaja z vzorci metinega čaja slajenega z medom pri stopnji tveganja  $\alpha \leq 0,05$ . Temperatura (t-test) in vrsta dodanega medu (Duncanov test) nista imela statistično značilnega vpliva na AU.

#### 4.6 KORELACIJE MED VSEBNOSTJO SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN, SKUPNIH FLAVONOIDOV IN ANTIOKSIDATIVNO UČINKOVITOSTJO

Korelacija je povezanost med dvema spremenljivkama. Za posamezne zveze smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije ( $r$ ), ki pove, kakšna je povezava med posameznima neodvisnima, analiziranimi parametroma. V nadaljevanju so predstavljene nekatere zveze med obravnavanimi parametri.

##### 4.6.1 Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo

Na sliki 16 smo v grafični obliki predstavili zvezo med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in zraven podali enačbo premice. Vrednost korelacijskega koeficienta  $R$ , ki znaša 0,933 ( $R^2 = 0,870$ ) nakazuje, da so za AU slajenih čajev odgovorne fenolne spojine.



Slika 16: Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih čaja z dodanim medom

#### 4.6.2 Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno z DPPH metodo

Določili smo tudi zvezo med antioksidativno učinkovitostjo, določeno z DPPH metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin. Koeficient determinacije ( $R^2$ ) je znašal 0,047, koeficient korelacije ( $R$ ) pa 0,217, kar kaže, da je zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno z DPPH metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin šibka.

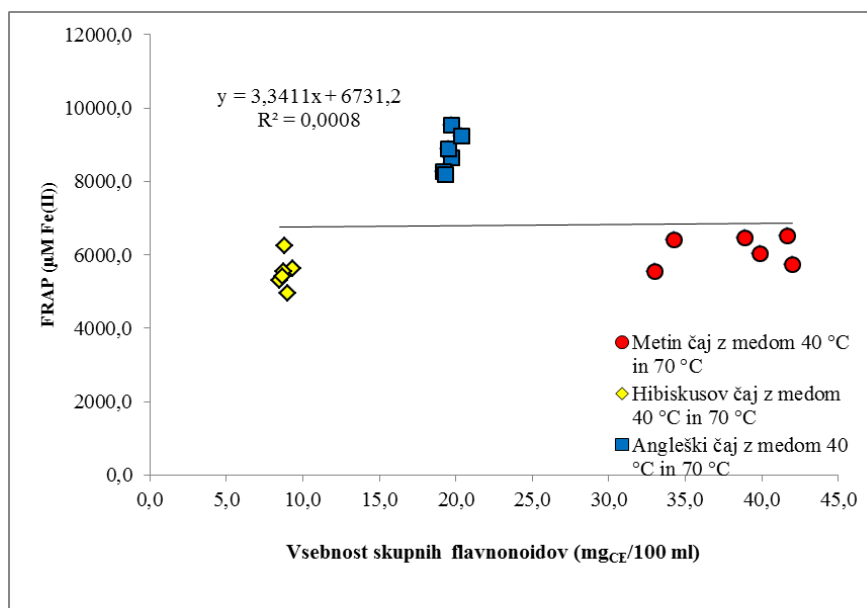
#### 4.6.3 Zveza med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin, določeno s FC metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov

Med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin, določeno s FC metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov v čajih z dodatkom različnih vrst medu ni povezave. Koeficient determinacije ( $R^2$ ) je znašal 0,007, koeficient korelacije ( $R$ ) pa 0,084.

#### 4.6.4 Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov

Na sliki 17 je prikazana zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov v čajih z dodanimi izbranimi vrstami medu. Zvezo lahko opišemo z regresijskim modelom  $y = 3,3411x + 6731,2$ . Koeficient determinacije ( $R^2$ ) znaša 0,0008, koeficient korelacije ( $R$ ) pa 0,028, kar kaže, da zveze med parametroma ni. Močno povezavo med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih flavonoidov pa lahko potrdimo med slajenimi vzorci hibiskusovega in angleškega

čaja, v primeru da vzorce metinega čaja izločimo, kjer koeficient determinacije ( $R^2$ ) znaša 0,942, koeficient korelacije pa 0,971.



Slika 17: Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo in vsebnostjo skupnih flavonoidov v analiziranih vzorcih čaja z dodanim medom.

#### 4.7 REZULTATI SENZORIČNE ANALIZE SLAJENIH ČAJEV

S pomočjo 7-stopenjske hedonske lestvice so študenti ocenjevali všečnost obravnavanih čajev (angleški, hibiskusov in metin čaj), slajenih z gozdnim, cvetličnim in lipovim medom oziroma s sladkorjem. Ocena 1 je pomenila, da jim vzorec nikakor ne ugaja, 7 pa, da jim vzorec zelo ugaja.

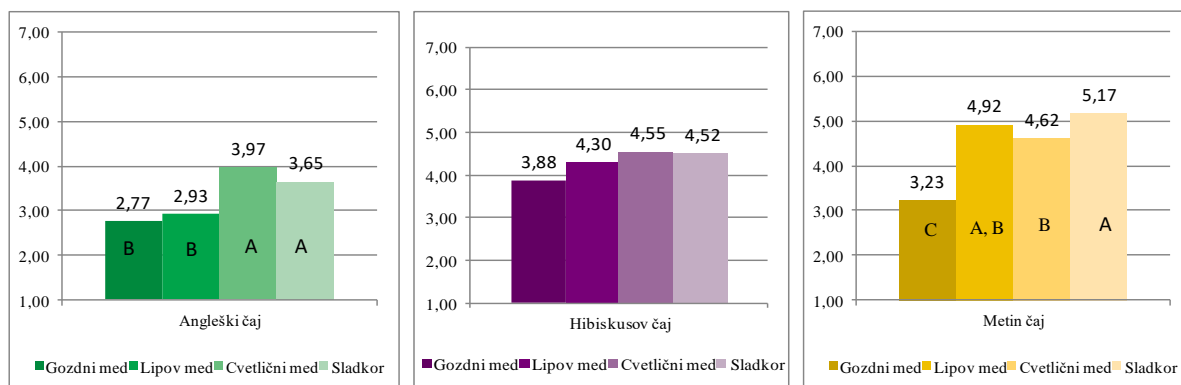
V preglednici 9 je prikazano, da so študenti najvišjo povprečno oceno za všečnost določili v vzorcu metinega čaja, slajenega s sladkorjem, najnižjo pa v črnem (angleškem) čaju, slajenim z gozdnim medom. Študenti so z oceno 7 največkrat ocenili metin čaj z dodanim sladkorjem, z oceno 1 pa so največkrat ocenili angleški čaj, slajen z gozdnim medom.

Preglednica 9: Povprečne vrednosti in mediane všečnosti izbranih čajev, slajenih z gozdnim, lipovim in cvetličnim medom ter s sladkorjem

Napitek	Všečnost	
	povprečna vrednost	mediana
Angleški čaj slajen:		
z gozdnim medom	2,8	3
z lipovim medom	2,9	3
s cvetličnim medom	4,0	4
s sladkorjem	3,7	3
Hibiskusov čaj slajen:		
z gozdnim medom	3,9	4
z lipovim medom	4,3	4
s cvetličnim medom	4,6	5
s sladkorjem	4,5	5
Metin čaj slajen:		
z gozdnim medom	3,2	3
z lipovim medom	4,9	5
s cvetličnim medom	4,6	4
s sladkorjem	5,2	5

S programom za statistično obdelavo podatkov SPSS smo na podlagi testa ANOVA ugotovili, da statistična značilnost v všečnosti čaja glede na uporabljeni dodatek (med oz. sladkor) obstaja, zato smo nadaljevali z Duncanovim testom.

Kot je razvidno s slike 18, je bil študentom izmed vseh vzorcev v povprečju najbolj všečen metin čaj, slajen s sladkorjem. V nadaljevanju je podana primerjava znotraj iste vrste čaja, slajenega z različnimi vrstami medu oz. s sladkorjem. Na osnovi Duncanovega testa smo ugotovili, da se vzorca angleškega čaja, slajena s cvetličnim medom oz. s sladkorjem, statistično značilno razlikujeta od vzorcev angleškega čaja, slajenih z gozdnim oz. lipovim medom (oznake A in B). Metin čaj, slajen s sladkorjem, in metin čaj, slajen z lipovim medom, se statistično značilno ne razlikujeta med seboj, se pa statistično značilno razlikujeta od vzorca metinega čaja, slajenega z gozdnim medom (oznake A, B in C). Pri vzorcih hibiskusovega čaja nismo ugotovili statistično značilnih razlik.



Oznake na stolpcih (A,B,C) prikazujejo statistično značilne razlike v oceni vsečnosti znotraj izbrane vrste čaja

Slika 18: Prikaz vsečnosti, na podlagi aritmetične sredine, angleškega, hibiskusovega in metinega, čaja, slajenega z gozdnim, lipovim in cvetličnim medom ter s sladkorjem

#### 4.8 REZULTATI ANKETE O UŽIVANJU ČAJA

S pomočjo anketnega vprašalnika (priloga D) smo od študentov pridobili informacije o uživanju čaja in navadah pitja čaja. Anketirance smo uvrstili v dve skupini glede na starost in spol. Vseh sodelujočih je bilo 60, od tega 82 % žensk in 18 % moških. 20 % anketirancev je spadalo v starostno skupino do 20 let, 80 % pa v starostno skupino od 21 do 30 let.

Prvi sklop ankete je vključeval vprašanja o navadah uživanja čaja. Vsi anketirani so na vprašanje, »Ali uživajo čaj?«, odgovorili z da, največ anketiranih, 68,3 %, uživa čaj pozimi, 28,3 % jih uživa čaj skozi celo leto, dva izmed sodelujočih študentov pa nista odgovorila na vprašanje. Na vprašanje, »Kako pogosto si pripravljajo čaj?«, je 28 % študentov odgovorilo z vsak dan, 18 % je odgovorilo, da si čaj pripravijo vsaj 5-krat tedensko, 28 % si ga pripravi dvakrat tedensko in 25 % manj kot dvakrat. Največ anketirancev, 38 %, čaj uživa v primeru bolezni, 29 % anketiranih ga uživa zaradi okusa, 18 % vprašanih uživa čaj za sprostitev, 22 % ob druženju in le 5 % v času različnih diet, en študent je izbral odgovor drugo in navedel, da čaj uživa v primeru žeje. Zanimalo nas je tudi, katero vrsto čaja si najpogosteje pripravijo. Kar 50 % anketirancev si najpogosteje pripravi zeliščne čaje, sledijo sadni (25 %) in črni čaji (25 % vprašanih). Anketirance smo spraševali tudi, katere izmed naštetih čajev so že pili. Največ anketirancev, 36 %, je že pilo zeleni čaj, sledijo črni, beli, cvetoči (blooming tea), pu erh in oolong čaj. Kot zadnje vprašanje prvega sklopa smo jim zastavili vprašanje, ali se pri pripravi čaja držijo navodil proizvajalca. 60 % vprašanih se drži navodil proizvajalca, medtem ko 40 % anketirancev čaja ne pripravlja po navodilih.

V drugem sklopu so se vprašanja navezovala na slajenje čaja. Na vprašanje, »S čim najpogosteje sladkate čaj?«, je 43 % študentov odgovorilo, da čaj sladkajo z medom, 33 % jih pije nesladkan čaj, 22 % vprašanih sladka čaj s sladkorjem in 2 % z umetnimi sladili. Anketirane smo spraševali tudi, kako pogosto dodajo med v čaj, kjer je 8 % anketiranih odgovorilo, da dodajo med v čaj vedno, 38 % anketiranih ga doda pogosto, 27 % včasih, 23 %



redko, medtem ko 3 % vprašanih medu v čaj ne doda nikoli. Kot razlog, zakaj dodajo med v čaj, je 37 % študentov odgovorilo zaradi zdravilnih učinkov, 35 % zaradi okusa, 22 % kot nadomestilo sladkorja. Dva izmed anketiranih ne uporabljata medu, eden doda med v čaj brez razloga in en študent doda med v čaj, ker ga imajo veliko doma. Ker smo v naši raziskavi ugotavljali tudi vpliv temperature čaja ob dodatku medu na vsebnost antioksidantov, smo študente vprašali tudi, pri kateri temperaturi dodajo med v čaj. 65 % študentov je odgovorilo, da dodajo med v mlačen čaj (približno 40 °C), 30 % jih doda med v vroč čaj (približno 70 °C) in 3 % v hladen čaj, dva izmed študentov pa ne uporabljata medu za slajenje čaja.

Na zadnje vprašanje ankete je odgovarjalo 58 študentov, saj dva študenta ne uživata medu. Vprašanje se je glasilo, »Kako pogosto določen med uporabite v čaju? Pogostost ocenite na lestvici od ena do pet.« V preglednici 10 so prikazani odgovori, ki so podani kot število študentov, ki so morali oceniti pogostost uporabe določenega medu na lestvici od ena (nikoli) do pet (zelo pogosto).

Preglednica 10: Pogostost uporabe določene vrste medu za slajenje čaja

Vrsta medu	Pogostost uporabe				
	nikoli	zelo poredko	občasno	pogosto	zelo pogosto
Akacijev med	25	16	8	7	2
Lipov med	28	11	8	7	4
Cvetlični med	1	4	8	20	25
Hojev med	42	7	4	3	2
Gozdni med	14	13	13	9	9
Kostanjev med	29	9	7	7	6

Iz preglednice 10 je razvidno, da 42 študentov nikoli ne uporablja hojevega medu za slajenje čaja, kar je največ glede na rezultate za druge vrste medu. Iz tega lahko sklepamo, da je hojev med manj v uporabi kot ostale vrste ali pa je na trgu manj dostopen, oziroma se pojavlja v manjših količinah. Izmed naštetih vrst medu, študenti za slajenje čaja najpogosteje uporabljajo cvetlični med, ki je med potrošniki tudi najbolj poznan in dostopen v trgovinah in pri čebelarjih, ki prodajajo med.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Eksperimentalni del raziskave je obsegal določanje osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov (vsebnost vode, električna prevodnost in vrednost pH) posameznih vzorcev medu in določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin, skupnih flavonoidov in antioksidativne učinkovitosti z metodama FRAP in DPPH v vzorcih medu, čaja in čaja, slajenega z medom. Vsi trije vzorci medu (gozdni, lipov in cvetlični med) so bili letnik 2012 in smo jih dobili od čebelarjev. Posamezne čaje (angleški, hibiskusov in metin čaj) pa smo kupili v lokalni trgovini. Vzorce čajev smo pripravili po navodilih proizvajalca, čajno vrečko smo namočili v vodo s temperaturo 100 °C za 5 minut. Čaje, slajene z medom, smo pripravili na dva načina in sicer smo med dodali v čaj pri dveh temperaturah, 40 °C oz. 70 °C.

Dobljene rezultate smo obdelali s pomočjo statističnih metod, saj smo želeli ugotoviti vpliv samega dodatka in vrste dodanega medu ter temperature (40 °C in 70 °C) čaja v času slajenja na antioksidativne lastnosti čajev ter poiskati zveze (korelacije) med analiziranimi parametri. Z analizo vsebnosti vode v vzorcih medu smo ugotovili, da analizirane vrste medu vsebujejo precej podoben delež vode. Vsebnost vode je bila največja v vzorcu lipovega medu (16,0 %) in najmanjša v vzorcu cvetličnega medu (15,6 %), kar je v skladu s Pravilnikom o medu in rezultati raziskave Bertoncelej in sod. (2011a), ki navajajo, da so vzorci slovenskega medu v povprečju vsebovali med 13,5 % in 18,5 % vode.

Pravilnik o medu navaja, da je lahko električna prevodnost medu iz nektarja (z izjemo kostanjevega medu) največ 0,8 mS/cm, medtem ko mora biti pri maninem in kostanjevem medu večja od 0,8 mS/cm. V vzorcu gozdnega medu, ki je maninega izvora, smo določili električno prevodnost 1,4 mS/cm, v vzorcu nektarnega izvora, v cvetličnem medu pa 0,3 mS/cm. Za lipov med električna prevodnost ni predpisana s pravilnikom, znašala je 0,8 mS/cm. Bertoncelej in sod. (2011a) navajajo, da so se vrednosti za električno prevodnost slovenskega medu gibale med 0,19 in 1,61 mS/cm.

Vrednost pH 10 % raztopin medu je bila med 3,75 in 4,6, najvišjo vrednost pH smo določili v vzorcu gozdnega medu, najnižjo pa v cvetličnem medu. Rezultati so v skladu z vrednostmi, ki so za obravnavane vrste medu dostopne v literaturi. Vrednost pH ima pomembno vlogo pri mikrobiološki stabilnosti in okusu medu. Različna vrednost pH v vzorcih medu je posledica različnih kislin prisotnih v medu, ki v največji meri izvirajo iz ustnih žlez čebel (Doner, 2003).

Botanično poreklo medu vpliva na vsebnost skupnih fenolnih spojin. Te smo v medu določili s Folin-Ciocalteujevo metodo. Bertoncelej in sod. (2011a) navajajo, da imajo svetlejšje vrste medu nižjo električno prevodnost, nižjo vrednost pH, manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin in nižjo antioksidativno učinkovitost kot temnejše vrste medu, kar potrjujejo tudi naši

rezultati. Da temnejši med, kamor spada tudi gozdni med, vsebuje več skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter ima večjo antioksidativno učinkovitost, je znano iz literature (Lachman in sod., 2010; Rabarah in sod., 2014); to smo potrdili tudi na naših vzorcih medu. Najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v cvetličnem medu (0,99 mg<sub>GA</sub>/100 ml), največjo pa v gozdnem medu, kjer je znašala 3,4 mg<sub>GA</sub>/100 ml.

Vsebnost flavonoidov je odvisna od vsebnosti propolisa v medu. Najmanjšo vsebnost skupnih flavonoidov smo določili v cvetličnem medu (0,39 mg<sub>CE</sub>/100 ml), nekoliko večjo v lipovem (0,46 mg<sub>CE</sub>/100 ml) in največjo v gozdnem medu (1,19 mg<sub>CE</sub>/100 ml). Socha in sod. (2011) navajajo, da je povprečna vsebnost flavonoidov v vzorcih gozdnega medu 170,31 µg/100 g in v vzorcih cvetličnega medu 178,69 µg/100 g.

Antioksidativna učinkovitost medu je variirala glede na botanično poreklo. Z obema metodama, FRAP in DPPH, smo največjo AU določili v vzorcu gozdnega medu, najmanjšo pa v cvetličnem medu. Lachman in sod. (2010) so analizirali 40 vzorcev medu češkega porekla in določili antioksidativno učinkovitost z metodami FRAP, DPPH in ABTS. Najnižjo antioksidativno učinkovitost so z vsemi tremi metodami določili v cvetličnem medu, ki je nektarnega izvora, najvišjo pa v gozdnem medu.

Po analizi medu smo pripravili tri vrste čajev: angleški oz. črni čaj, hibiskusov čaj in metin čaj. Vzorci čaja so bili pripravljene po navodilih proizvajalca. Za slajenje čaja smo na 100 ml čaja dodali 5 g medu pri temperaturi 40 °C oz. 70 °C. V posameznih vzorcih čaja smo določili vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin, vsebnost skupnih flavonoidov in antioksidativno učinkovitost z metodama FRAP in DPPH.

Vrednosti pH čajev smo izmerili pri sobni temperaturi, povprečna vrednost pH hibiskusovega čaja je bila 2,35, za angleški in metin čaj pa 6,77 oz. 7,65. Musah in sod. (2014) so določili pH v 40 vzorcih hibiskusovega čaja, v katerih se je pH vzorcev gibal med 2 in 5,2. Dyab in sod. (2015) so proučevali različne vrste čajev, med njimi tudi metin čaj, ki je imel povprečno vrednost pH 7,1.

V angleškem čaju smo določili največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin (81,8 mg<sub>GA</sub>/100 ml), sledi metin čaj (44,3 mg<sub>GA</sub>/100 ml) in hibiskusov čaj (30 mg<sub>GA</sub>/100 ml). Karakaya in Nehir El (2006) sta v črnem čaju določila 37,46 mg skupnih fenolnih spojin/l čaja, izraženih kot ekvivalent katehina. Musah in sod. (2014) so v hibiskusovem čaju določili bistveno večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin, in sicer 90,1 mg<sub>GA</sub>/100 ml. Dyab in sod. (2015) so v metinem čaju določili 90 mg<sub>GA</sub>/100 ml, kar je približno dvakrat večja vsebnost skupnih fenolnih spojin v primerjavi z našim rezultatom.

V posameznih vzorcih čaja smo določili tudi vsebnost skupnih flavonoidov. V čajih so v največji meri zastopani flavanoli, bolj znani kot katehini. Največjo povprečno vsebnost smo določili v metinem čaju, 41,5 mg<sub>CE</sub>/100 ml, najmanjšo v hibiskusovem čaju 8,9 mg<sub>CE</sub>/100 ml.

Dyab in sod. (2015) so v metinem čaju določili dvakrat večjo vsebnost v primerjavi z našim rezultatom.

Antioksidativno učinkovitost v čajih smo določili s FRAP in DPPH metodo. Najvišjo AU smo s FRAP metodo določili v angleškem čaju (8752,5  $\mu\text{M}$  Fe(II)), AU, določena z DPPH, kjer smo rezultat izrazili kot % inhibicije, je bila največja v hibiskusovem čaju (83,2 % inhibicije). Najmanjšo AU smo s FRAP metodo določili v hibiskusovem čaju, z DPPH metodo pa v metinem čaju. Zakaj je prišlo do tega, da z metodo DPPH in FRAP nismo določili največje oz. najmanjše AU v isti vrsti čaja, lahko pripišemo napaki pri izvajanju metode ali sami barvi vzorca, saj so se barve med tremi vzorci čaja zelo razlikovale. Možen je tudi vpliv vrednosti pH, ki je bila v hibiskusovem čaju bistveno nižja kot v angleškem in metinem čaju. Pękal in sod. (2011) so v aromatiziranih črnih čajih in črnih čajih z dodanim sadjem in zelišči določili antioksidativno učinkovitost z DPPH metodo, % inhibicije je znašal med 39,6 in 68,4. V naši raziskavi smo za angleški čaj z DPPH metodo določili % inhibicije 58,8.

Čajem, slajenim z medom, smo določili vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin, vsebnost skupnih flavonoidov in AU. Povprečne vrednosti pH čajev, slajenih z medom, se niso bistveno razlikovale glede na raztopino samega čaja. Najvišjo vrednost pH je imel metin čaj, slajen z gozdnim oz. cvetličnim medom, 7,19, najnižjo vrednost pH pa smo določili v hibiskusovem čaju, slajenim s cvetličnim medom, 2,31.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin se je ob slajenju hibiskusovega in metinega čaja z medom statistično značilno povečala. V angleškem (črnem) čaju, slajenem z medom, pa je prišlo do zmanjšanja vsebnosti skupnih fenolnih spojin glede na sam črni čaj. Temperatura slajenja čaja je statistično značilno vplivala na vsebnost skupnih fenolnih spojin le v hibiskusovem čaju, kjer smo večje vsebnosti določili pri temperaturi slajenja 40 °C.

Turkmen in sod. (2006) so proučevali segrevanje medu pri različnih temperaturah (50 °C, 60°C in 70 °C) in ugotovili, da je bila vsebnost skupnih fenolnih spojin največja pri temperaturi medu 70 °C, zaradi nastankov produktov Maillardove reakcije. Slednji pa lahko reagirajo s FC reagentom in posledično pride do povečane vsebnosti skupnih fenolnih spojin. Zaradi opisane reakcije bi lahko prišlo tudi v naših vzorcih do povečanja vsebnosti ob dodatku medu v sam čaj. Belščak in sod. (2009) navajajo, da je prišlo do zmanjšanja vsebnosti skupnih fenolnih snovi v čajih z dodano askorbinsko kislino in medom v primerjavi s čajem, ki je imel dodano le askorbinsko kislino. Razlog naj bi bile interakcije med ogljikovimi hidrati v medu in fenolnimi spojinami v čaju, kjer hidroksilne skupine polifenolov niso dostopne za reakcije s FC reagentom (Sharma in sod., 2008). Vrsta dodanega medu je vplivala na vsebnost skupnih fenolnih spojin v vseh čajih. Največje vsebnosti smo določili ob dodatku gozdnega medu, kar smo tudi pričakovali, izjema je bil le angleški čaj, kjer smo določili največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin, ko smo angleški čaj sladkali s cvetličnim medom. Pereira in sod. (2013) so v čajih z aromo limone določili večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin kot v aromatiziranem čaju z dodanim medom.

Dodatek medu in temperatura nista statistično značilno vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov. Vrsta medu je imela vpliv pri vseh obravnavanih čajih, saj so imeli vsi čaji največjo vsebnost skupnih flavonoidov v primeru slajenja z gozdnim medom, ki je bil med uporabljenimi vzorci medu najtemnejši in je vseboval največ skupnih flavonoidov. Podobno navajajo tudi Pereira in sod. (2013), ki so v čajih z dodanim temnejšim medom določili največjo vsebnost skupnih flavonoidov.

Kako slajenje čaja z medom vpliva na AU, smo določali z metodama FRAP in DPPH. Ugotovili smo, da slajenje čaja z medom ne vpliva značilno na povečanje antioksidativne učinkovitosti, saj se je le-ta glede na čaj brez dodanega medu povečala le v vzorcu angleškega čaja. Vpliv temperature na AU je bilo zaznati pri angleškem in hibiskusovem čaju, kjer smo določili višje vrednosti pri temperaturi slajenja 70 °C. Vrsta dodanega medu ni imela statistično značilnega vpliva na samo povečanje AU, z izjemo vzorcev angleškega čaja, kjer smo s FRAP metodo določili večjo AU v čaju, slajenem z gozdnim medom.

Toydemir in sod. (2015) so proučevali vpliv dodatka medu in temperature na vsebnost skupnih fenolnih spojin, skupnih flavonoidov in antioksidativno učinkovitost čaja. Uporabili so devet različnih vrst čajev in dve vrsti medu. V čajih, slajenih s temnejšim medom, so določili večjo vsebnost fenolnih spojin in večjo antioksidativno učinkovitost kot v čajih, kjer so dodajali svetlejši cvetlični med. V nesladkanem čaju so določili večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin kot v sladkanih čajih, izjemi sta bila le čaj ameriškega slamnika in ingverjev čaj. Povečanje so zabeležili pri višjih temperaturah, kar lahko potrdimo tudi mi za štirinajst vzorcev od osemnajst preiskovanih. Podobno statistično značilno znižanje AU v črnih čajih z dodanim mlekom, medom ali sladkorjem, glede na črni čaj brez dodatkov, navajajo Korir in sod. (2014).

Pereira in sod. (2013) so podobno potrdili večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v čajih, slajenih s temnejšim medom, v primerjavi s čaji, slajenimi s svetlejšimi vrstami medu, kar kažejo tudi naši rezultati. Ugotovili so tudi, da imajo črni čaji, slajeni z medom, v primerjavi z neslajenim črnim čajem večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin.

Analiza povezav med obravnavanimi parametri je pokazala, da obstajajo zveze (korelacije) med določenimi parametri. Močno pozitivno zvezo s stopnjo značilnosti  $p < 0,01$  smo zabeležili med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo ( $R = 0,933$ ). Zveza med antioksidativno učinkovitostjo, določeno z DPPH metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin je šibka, povezave med vsebnostjo skupnih flavonoidov in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP oz. DPPH metodo, pa ni. Ravno tako ni povezave med vsebnostjo skupnih flavonoidov in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ( $R = 0,084$ ). Fu in sod. (2011) so v študiji analizirali 51 vzorcev posameznih čajev in potrdili močno povezanost med antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ( $R = 0,793$ ). Podobno, močno zvezo med vsebnostjo

skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo navajajo številni avtorji za čaj in druga živila.

Povzamemo lahko, da dodatek medu ne prispeva pomembno k bioaktivnim lastnostim čajev, zlasti tistih, ki imajo večji antioksidativni potencial. Rezultate raziskave bi bilo potrebno potrditi z analizo večjega števila vzorcev čaja.

Obravnavane vzorce čaja smo tudi senzorično ocenili s panelom, ki ga je sestavljalo 60 študentov. Namen senzoričnega ocenjevanja je bil oceniti všečnost obravnavanih čajev (angleški, hibiskusov in metin čaj) z dodanim medom (gozdni, lipov in cvetlični med) oziroma sladkorjem. Študenti so bili seznanjeni, da je čaj slajen, niso pa vedeli, s čim smo sladkali vzorce čaja. Pred začetkom senzorične analize smo pričakovali, da bo najbolj všečen izmed vseh vzorcev metin čaj, slajen s sladkorjem, najmanj všečen pa angleški čaj, slajen z gozdnim medom, in rezultati so naše domneve potrdili. Da je imel metin čaj največjo všečnost, bi lahko pripisali temu, da se metin čaj v Sloveniji uživa pogosteje v primerjavi z angleškim in hibiskusovim čajem ter ima za večino ljudi prijetnejši, bolj poznan okus. Lipov in cvetlični med imata za ljudi prijetnejši okus in vonj kot gozdni med, kar se kaže tudi pri rezultatih senzorične analize. Večina ljudi pa sladka čaj s sladkorjem, zato jim je okus čaja s sladkorjem najbolj poznan. Hibiskusov čaj je bil ocenjen povprečno, razlog, zakaj ni bil ocenjen bolje, je verjetno večja prepoznavnost in pogostejše uživanje metinega čaja v primerjavi s hibiskusovim čajem. Razlog za to, da je bil angleški čaj med študenti ocenjen kot najmanj všečen, je lahko tudi način uživanja te vrste čaja, saj se črnemu čaju običajno doda mleko, v našem primeru pa mleka nismo dodali.

Med študenti smo opravili tudi anketo o uživanju čaja. Vsi anketirani so na vprašanje, »Ali uživajo čaj?«, odgovorili z da, največ anketiranih uživa čaj pozimi. Večina študentov si čaj pripravi vsaj 5-krat tedensko. Največ anketirancev uživa čaj v primeru bolezni. Največ anketirancev si najpogosteje pripravi zeliščne čaje, sledijo sadni in črni čaji.

V drugem sklopu ankete so se vprašanja navezovala na slajenje čaja. Največ študentov je odgovorilo, da čaj sladkajo z medom. Ker smo v naši raziskavi ugotavljali tudi vpliv temperature ob dodatku medu v čaj na vsebnost antioksidantov, smo študente vprašali tudi, pri kateri temperaturi dodajo med v čaj. 65 % študentov je odgovorilo, da dodajo med v mlačen čaj (približno 40 °C), 30 % jih doda med v vroč čaj (približno 70 °C) in 3 % v hladen čaj, dva izmed študentov ne uporabljata medu za slajenje čaja. Za slajenje čajev študenti najpogosteje uporabljajo cvetlični med. Odgovor je bil pričakovan, saj je to med, ki je najpogosteje dostopen v trgovinah in pri čebelarjih ter tudi najbolj iskan med potrošniki.

Raziskava je pokazala, da so študentom bolj všečni čaji, slajeni z medom, ki nima grenkega okusa. Ker so bili študenti smeri živilstva in prehrane, smo predvidevali, da si čaj z medom sladkajo pri nižjih temperaturah, saj naj bi bili seznanjeni s tem, da med ohrani več komponent, ki pozitivno vplivajo na zdravje, pri nižjih temperaturah.

## 5.2 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov analiz in statistične obdelave podatkov lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Vzorci medu so glede vsebnosti vode in električne prevodnosti ustrezali Pravilniku o medu (2011).
- Svetlejša medova (cvetlični in lipov med) sta imela nižjo električno prevodnost, nižjo vrednost pH, manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin in nižjo antioksidativno učinkovitost kot temnejši gozdni med.
- Dodatek medu v čaj ni pomembno prispeval k povečanju bioaktivnih lastnosti čajev.
- Dodan med je povzročil le manjše povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vseh slajenih čajih, razen v angleškem čaju z dodanim lipovim oz. gozdnim medom. Vpliv temperature čaja v času slajenja na vsebnost skupnih fenolnih spojin pa smo potrdili le pri vzorcih hibiskusovega čaja.
- Dodatek medu in temperatura nista statistično značilno vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov. Vrsta dodanega medu je vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov, in sicer smo največjo vsebnost določili v čajih, slajenih z gozdnim medom.
- Slajenje čaja z medom ne vpliva značilno na povečanje antioksidativne učinkovitosti, saj se je le-ta glede na čaj brez dodanega medu povečala le v vzorcih angleškega čaja.
- S korelacijsko analizo smo določili močno pozitivno zvezo med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo. Med ostalimi pari obravnavanih parametrov ni značilnih povezav.
- Pri ocenjevanju všečnosti čajev, slajenih z medom, so študenti najboljše ocenili metin čaj z lipovim oz. cvetličnim medom ter hibiskusov čaj s cvetličnim medom, medtem ko je bil najslabše ocenjen angleški čaj z dodatkom gozdnega medu.
- Rezultati ankete o uživanju čaja so pokazali, da največ vprašanih čaj uživa pozimi, čaj si študenti največkrat pripravijo v primeru bolezni, največkrat uživajo zeliščnečaje, čaj pa si najpogosteje sladkajo s cvetličnim medom, ki ga dodajo v mlačen čaj (približno 40 °C).
- Pred začetkom raziskave postavljenih hipotez, da dodatek medu v čaj, vrsta dodanega medu ter temperatura čaja v času slajenja, vplivajo na antioksidativne lastnosti čaja, ne moremo potrditi.

## 6 POVZETEK

Različne vrste čajev in medu so dober vir antioksidantov, saj vsebujejo različne fenolne spojine, ki ugodno vplivajo na naš organizem, poleg tega pa so vir mineralov, vitaminov, encimov in aminokislin.

Namen magistrskega dela je bil ugotoviti vpliv vrste dodanega medu in temperature čaja v času slajenja (40 °C in 70 °C) na antioksidativne lastnosti čajev. Uporabili smo tri vrste čajev (angleški – črni čaj, hibiskusov čaj in metin čaj) in tri vrste medu (lipov, cvetlični in gozdni med).

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v medu, čajih in slajenih čajih smo določili s Folin-Ciocalteujevo metodo, vsebnost skupnih flavonoidov smo določili z metodo, ki temelji na reakciji med flavonoidi in aluminijevim kloridom, antioksidativno učinkovitost pa smo določili s FRAP in DPPH metodo. V vzorcih medu, vključenih v raziskavo, smo določili tudi osnovne fizikalno-kemijske parametre (vsebnost vode, vrednost pH in električno prevodnost). Dodatno smo izvedli še anketo o uživanju čaja in senzorično ocenili všečnost obravnavanih čajev s potrošniškim panelom, ki so ga sestavljali študenti Biotehniške fakultete.

Rezultati za vsebnost vode in električno prevodnost analiziranih vzorcev medu so ustrezali Pravilniku o medu (2011). Lipov in cvetlični med, ki sodita med svetlejšje vrste medu sta imela nižjo električno prevodnost, nižjo vrednost pH, manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin in flavonoidov ter manjšo antioksidativno učinkovitost kot temnejši gozdni med.

Čajem, slajenim z medom, smo določili vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin in flavonoidov ter AU z metodama FRAP in DPPH. Povprečne vrednosti pH čajev, slajenih z medom se niso bistveno razlikovale glede na raztopino samega čaja. Najvišjo pH vrednost čaja z medom smo določili v metinem čaju, slajenem z gozdnim medom in metinem čaju, slajenem s cvetličnim medom, kjer smo določili isto vrednost, 7,19, najnižji pH pa smo določili v hibiskusovem čaju, slajenem s cvetličnim medom (2,31).

Ugotovili smo, da dodatek medu v čaj ni pomembno prispeval k povečanju bioaktivnih lastnosti čajev. Dodan med v čaj je povzročil manjše povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v vseh slajenih čajih, razen v angleškem čaju z dodanim lipovim oz. gozdnim medom. Vpliv temperature čaja v času slajenja na povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin pa smo potrdili le pri vzorcih hibiskusovega čaja. Vpliv temnejšega medu na povečanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin lahko potrdimo le delno, in sicer za vzorec hibiskusovega in metinega čaja.

Na vsebnost skupnih flavonoidov sam dodatek medu in temperatura čaja v času slajenja nista imel statistično značilnega vpliva. Vrsta dodanega medu je vplivala na vsebnost skupnih flavonoidov, in sicer smo največjo vsebnost določili v čajih, slajenih z gozdnim medom.



AU smo določali z dvema metodama, DPPH in FRAP. Ugotovili smo, da slajenje čaja z medom ne vpliva značilno na povečanje antioksidativne učinkovitosti, saj se je le-ta glede na čaj brez dodanega medu povečala le v vzorcih angleškega čaja. Višjo AU, določeno z DPPH metodo, smo določili v angleškem čaju in hibiskusovem čaju v primeru slajenja pri 70 °C. Vrsta dodanega medu na samo AU ni imela vpliva, z izjemo angleškega čaja, kjer je bila AU, določena s FRAP metodo, večja v čaju, slajenem z gozdnim medom.

Zveza med vsebnostjo fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo, določeno s FRAP metodo, je v slajenih čajih močna, kar nakazuje da so fenolne spojine odgovorne za antioksidativno učinkovitost.

S senzorično analizo čajev, slajenih z medom, smo poskušali ugotoviti, kateri čaj je študentom najbolj všečen. Pri ocenjevanju všečnosti čajev, slajenih z medom, so študenti najbolje ocenili metin čaj z lipovim oz. cvetličnim medom ter hibiskusov čaj s cvetličnim medom, medtem ko je bil najslabše ocenjen angleški čaj z dodatkom gozdnega medu.

Navade uživanja in slajenja čajev med študenti smo dobili z analizo odgovorov, ki so nam jih posredovali študenti v izpolnjenih anketnih vprašalnikih. Rezultati ankete o uživanja čaja so pokazali, da največ vprašanih čaj uživa pozimi, čaj si študenti največkrat pripravijo v primeru bolezni, največkrat uživajo zeliščne čaje, čaj pa si najpogosteje sladkajo s cvetličnim medom, ki ga dodajo v mlačen čaj (približno 40 °C). Raziskava je pokazala, da so študentom bolj všečni čaji slajeni z medom, ki nima grenkega okusa.

## 7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno učinkovanje 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
- 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.
- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta: 27–36
- Al M.L., Daniel D., Moise A., Bobis O., Laslo L., Bogdanov S. 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112: 863–867
- Ananingsih V.K., Sharma A., Zhou W. 2013. Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection. *Food Research International*, 50, 2: 469–479
- AOAC Official Method 962.19. Acidity (free, lactone and total) of honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC international. Vol. 2. Cunniff P. (ed.). 16<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 44: 31–31
- AOAC Official Method 969.38. Moisture in honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. Cunniff P. (ed.) 16<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, AOAC International, chapter: 44: 21–21
- Bazinet L., Araya-Farias M., Doyen A., Trudel D., Tetu B. 2010. Effect of proces unit operations and long-term storage on catechin contents in EGCG-enriched tea drink. *Food Research International*, 43: 1692–1701
- Belščak A., Bukovac N., Piljac-Žegarac J. 2011. The influence of ascorbic acid and honey addition on the anti-oxidant properties of fruit tea infusions: antioxidants in fruit tea infusions. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 1: 195–212
- Benzie I.F.F., Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70–76
- Berretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Maffei Facino R. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 2: 185–191

- Bertoncelj J. 2008. Identifikacija in vsebnost nekaterih antioksidantov v slovenskem medu. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 124 str.
- Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M., Golob T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105: 822–828
- Bertoncelj J., Golob T., Kropf U., Korošec M. 2011a. Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. *Journal of Food Science and Technology*, 46, 8: 1661–1671
- Bertoncelj J., Polak T., Kropf U., Korošec M., Golob T. 2011b. LC-DAD-ESI/MS analysis of flavonoids and abscisic acid with chemometric approach for the classification of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 127: 296–302
- Blejec M., Lovrenčič-Saražin M., Perman M., Štraus M. 2003. Statistika. Ljubljana, Visoka šola za podjetništvo: 149 str.
- Božnar A., Senegačnik J. 1998. Med. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 376–413
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 1: 25–30
- Chaturvedula V.S.P., Prakash I. 2011. The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 11: 2110–2124
- Chen Y., Kuo P., Yang M., Li F., Tzen J.T. 2013. Effects of baking and aging on the changes of phenolic and volatile compounds in the preparation of old Tieguanyin oolong teas. *Food Research International*, 53: 732–743
- Damiani E., Bacchetti T., Padella L., Tiano L., Carloni P. 2014. Antioxidant activity of different white teas: comparison of hot and cold tea infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33: 59–66
- Demeule M., Michaud-Levesque J., Annabi B., Gingras D., Boivin D., Jodoin J., Lamy S., Bertrand Y., Beliveau R. 2002. Green tea catechins as novel antitumor and antiangiogenic compounds. *Current Medicinal Chemistry Anticancer Agents*, 2: 441–463
- Doner L. W. 2003. Honey. V: Encyclopedia of food and nutrition. Vol. 5. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 3125–3130

- Dyab A.S., Aly A.M., Matuk H. I. 2015. Enhancement and evaluation of peppermint (*Mentha Piperita L.*) beverage. *International Journal of Life Sciences Research* 3, 1: 175–185
- Estevinho E., Pereira A.P., Moreira L., Dias L.G., Pereira E. 2008. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3774–3779
- Fu L., Xu B.-T., Gan R.-Y., Zhang Y., Xu X.-R., Xia E.-Q., Li H.B. 2011. Total phenolic contents and antioxidant capacities of herbal and tea infusions. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 2112–2124
- Golob T., Bertonec J., Doberšek U., Jamnik M. 2006. Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81 str.
- Golob T., Korošec M., Jamnik M., Kropf U., Kandolf A., Božič J., Zdešar D., Meglič., Goljat A. 2008. Med: značilnosti slovenskega medu. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 84 str.
- Graham H.N. 1992. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prevent Medicine*, 21: 334–350
- Haminiuk C.W.I., Maciel G.M., Plata-Oviedo M.S.V., Peralta R.M. 2012. Phenolic compounds in fruits - an overview. *International Journal of Food Science and Technology* 47: 2023–2044
- Haslam E. 1989. Plant polyphenols: vegetables tannins revisited. Phillipson J.D., Ayres D.C., Baxter H. (eds.). Cambridge, Cambridge University Press: 230–220
- Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572–584
- Karakaya S., Nehir El S. 2006. Total phenols and antioxidant activities of some herbal teas and *in vitro* bioavailability of black tea polyphenols. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 23, 1: 1-8
- Kedale S.B., Singh R.P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48: 412–422
- Khalil M.I., Sulaiman S.A., Boukraa L. 2010. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. *The Open Nutraceuticals Journal*, 3: 6–16

- Khan N., Mukhtar H. 2007. Tea polyphenols for health promotion. *Life Science*, 81: 519–533
- Korir M.W., Wachira F.N., Wanyoko J.K., Ngure R.M., Khalid R. 2014. The fortification of tea with sweeteners and milk and its effect on *in vitro* antioxidant potential of tea product and glutathione levels in an animal model. *Food Chemistry*, 145: 145–153
- Kropf U., Jamnik M., Bertonec J., Golob T. 2008. Linear regression model of the ash mass fraction and electrical conductivity for Slovenian honey. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 3: 335–340
- Lachman J., Orsák M., Hejtmánková A., Kovářová E. 2010. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. *Food Science and Technology*, 43: 52–58
- Lee J. Chambers D.H. 2009. Sensory descriptive evaluation: brewing methods affect flavour of green tea. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3, 2: 293–300
- Lin Y.S., Tsai Y.J., Tsay Y.S., Lin J.K. 2003. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7: 1864–73
- Lv H., Zhang Y., Lin Z., Liang Y. 2013. Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: a review. *Food Research International*, 53: 608–618
- Mathers N., Fox N., Hunn A. 2009. Surveys and questionnaires. V: *Research approaches in primary care*. Wilson A., Williams M., Hancock B. (eds.). Oxon, Radcliffe Medical: 77–111
- McKay D.L., Blumberg J.B. 2007. A review of the bioactivity of South African herbal teas: Rooibos (*Aspalathus linearis*) and honeybush (*Cyclopia intermedia*). *Phytotherapy Research*, 21: 1–16
- McKibben J., Engeseth N.J. 2002. Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3: 592–595
- Mishra K., Ojha H, Chaudhury N.K. 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: a critical review and results. *Food Chemistry*, 130: 1036–1043.
- Mlakar V. 2001. Čaj. 2. natis. Ljubljana, Rokus: 175 str.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211–219

- Musah B.O., Nii-Trebi N.I., Nwabugo M.A. Asmah R.H. 2014. Microbial quality of locally prepared hibiscus tea in Accra metropolis, Ghana. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8, 11: 23–27
- Namal Senanayake S.P.J. 2013. Green tea extract: chemistry, antioxidant properties and food applications – a review. *Journal of Functional Foods*, 5: 1529–1541
- Oh J., Jo H., Cho A.R., Kim S., Han J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Food Control*, 31: 403–409
- Pereira C., Barros L., Vilas-Boas M., Ferreira I.C. 2013. Potentiating effects of honey on antioxidant properties of lemon-flavoured black tea. *Journal of Food Science and Nutrition*, 64, 2: 230–234
- Pękal A., Drózd P., Biesaga M., Pyrzynska K. 2011. Evaluation of the antioxidant properties of fruit and flavoured black teas. *The European Journal of Nutrition*, 50, 8: 681–688
- Plumb G.W., De Pascual T.S., Santos Buelga C., Cheynier V., Williamson G. 1998. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: effect of polymerisation, galloylation and glycosylation. *Free Radical Research*, 29, 4: 351–358
- Pravilnik o kakovosti čaja. 2003. Uradni list Republike Slovenije, 13, 48: 5649-5650
- Pravilnik o medu. 2011. Uradni list Republike Slovenije, 21, 4: 345–346
- Pyrzynska K., Biesaga M. 2009. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 28, 7: 893–902
- Sharangi A.B. 2009. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) - a review. *Food Research International*, 42: 529–535
- Rababah T.M., Al-omoush M., Brewer S., Alhamad M., Yang W., Alrababah M., Al-Ghzawi A.A., Al-U'datt M., Ereifej K., Alsheyab F., Esoh R., Almajwal A. 2014. Total phenol, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins and color of honey as affected by floral origin found in the arid and semiarid mediterranean areas. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38: 1119–1128
- Ramirez M.M., Wysocki A.F., Ramirez A.M., Sims C.A., Balaban M.O. 2010. Sensory and marketing characteristics of a hibiscus beverage. *Journal of Food Distribution Research*, 42: 52–62

- Roginsky V., Lissi E.A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235–254
- Sharma V., Kumar H.V., Rao L.J.M. 2008. Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International*, 41: 124–129
- Shishikura Y., Khokhar S. 2005. Factors affecting the levels of catechins and caffeine in tea beverage: estimated daily intakes and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 2125–2133
- Singh-Ackbarali D., Maharaj R.. 2014. Sensory evaluation as a tool in determining acceptability of innovative products developed by undergraduate students in Food Science and Technology at the University of Trinidad and Tobago. *Journal of Curriculum and Teaching* 3, 1: 10–27
- Skvarča M., Marin K. 2006. Čaj in kava pri preprečevanju raka. V: *Karcenogene in antikarcenogene komponente v živilih*. 24. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, 9. in 10. november 2006. Žlender B., Gašerlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 137–148
- Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S., Gałkowska D., Fortuna T., Witczak T. 2011. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 528-534
- Su Y.L., Leung L.K., Huang Y., Chen Z.Y. 2003. Stability of tea flavins and catechins. *Food Chemistry*, 83: 189–195
- Togari N., Kobayashi A., Aishima T. 1995. Relating sensory properties of tea aroma to gas chromatographic data by chemometric calibration methods. *Food Research International*, 28: 485–493.
- Toydemir G., Capanoglu E., Kamiloglu S., Firatligil-Durmus E., Sunay A.E., Samanci T., Boyacioglu D. 2015. Effects of honey addition on antioxidative properties of different herbal teas. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65: 127–135
- Turkmen N., Sari F., Poyrazoglu E.S., Velioglu Y.S. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95: 653–657.
- Venditti E., Bacchetti T., Tiano L., Carloni P., Greci L., Damiani E. 2010. Hot vs. cold water steeping of different teas: do they affect antioxidant activity? *Food Chemistry*, 119: 1597–1604

Wanyo P., Siriamornpun S., Meeso N. 2011. Improvement of quality and antioxidant properties of dried mulberry leaves with combined far-infrared radiation and air convection in Thai tea process. *Food and Bioprocess Technology*, 89: 22–30

Yamanishi T. 1977. Aroma of teas (in Japanese). *Koryo (Flavour)*, 119: 89–92

Zhu Q.Y., Zhang A., Tsang D., Huang Y., Chen Z.Y. 1997. Stability of green tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 4624–4628

Ziaedini A., Jafari A., Zakeri A. 2010. Extraction of antioxidants and caffeine from green tea (*Camelia sinensis*) leaves: kinetics and modeling. *Food Science Technology International*, 16: 505–510



## ZAHVALA

Najprej bi se rada iskreno zahvalila svoji mentorici izr. prof. dr. Jasni Bertoncelej za pomoč, strokovnost in podporo pri nastajanju magistrskega dela, ter za njeno potrpežljivost in spodbudne besede. Zahvala gre tudi doc. dr. Mojci Korošec za strokovno in praktično pomoč in prof. dr. Tereziji Golob za praktične nasvete. Univ. dipl. inž. Marinki Jan se zahvaljujem za vso pomoč pri praktičnem delu naloge in številne uporabne nasvete.

Lepo se zahvaljujem tudi recenzentki iz. prof. dr. Heleni Abramovič za strokoven in hiter pregled dela ter vse strokovne nasvete.

Zahvala gre tudi vsem ostalim profesorjem in asistentom na oddelku, ki so pripomogli k mojemu napredku tekom izobraževanja.

Univ. dipl. bibl. Barbari Slemenik se zahvaljujem za hiter končni pregled magistrskega dela in spodbudne besede.

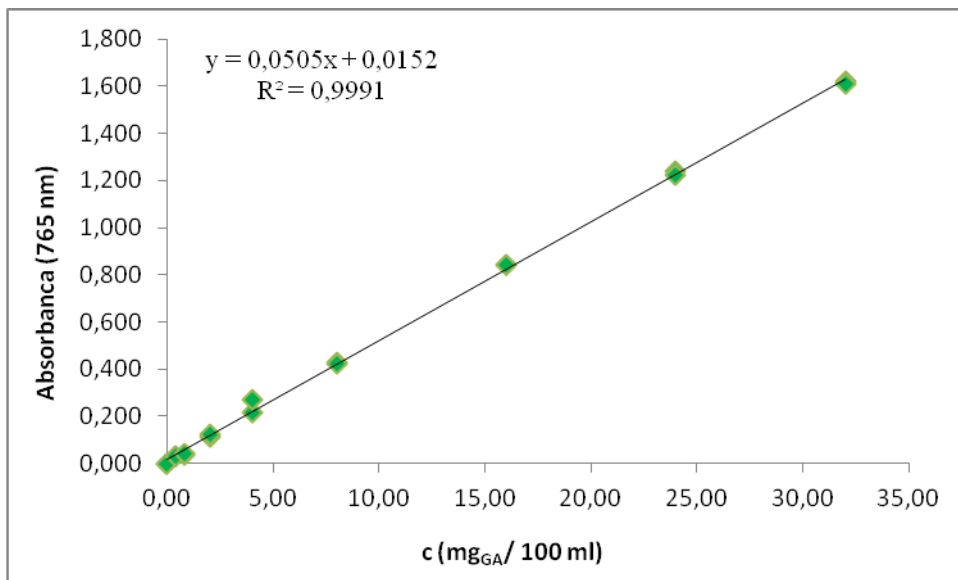
\*\*\*

Največja zahvala gre mojim staršema za vse spodbudne besede, za podporo tekom celotnega študija, tudi ko ni vse potekalo kot bi pričakovali niso izgubili upanja vame, hvala. Hvala sestrama, Simoni in Suzani, ki sta me spodbujali in zaupali vame v težkih trenutkih, ter fantu Leonu za vso ljubezen in podporo ter razumevanje. Posebna zahvala gre mojima starima staršema, pri katerih sem tekom študija preživela veliko časa, hvala vama za vso podporo in pogovore.

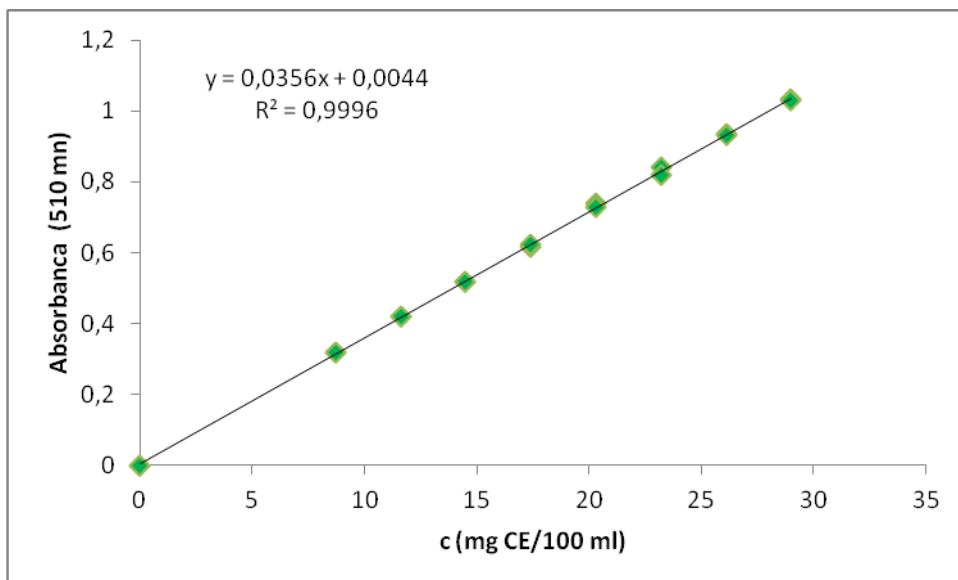
Zahvala gre tudi dr. Aljažu Zrnecu za pomoč pri oblikovanju magistrske naloge, ter vsem ostalim sorodnikom, ki so me spodbujali tekom celotnega študija.

## PRILOGE

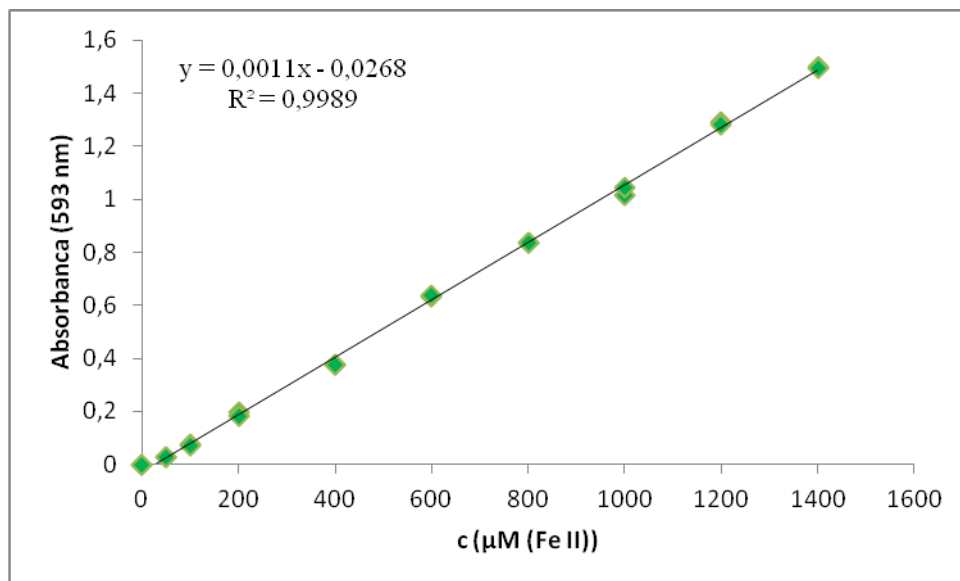
### Priloga A: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin



### Priloga B: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti skupnih flavonoidov



### Priloga C: Umeritvena krivulja za določanje AU v medu in čajih z metodo FRAP



### Priloga D: Anketa o uživanju čaja

#### PRVI DEL

1. Spol:      **Ž**      **M**

2. V katero starostno skupino spadate:

1- (do 20 let)    2- (od 20 do 30 let)    3- (od 30 do 40 let)    4 - (od 40 do 50 let)

5 - (več kot 50 let)

3. Ali uživete čaj? DA    NE

4. V katerem letnem času najpogosteje uživete čaj?

1 - spomladi

4 - pozimi

2 - poleti

5 - vse leto

3 - jeseni

5. Kako pogosto si pripravite čaj?

1 - vsak dan

3 - vsaj 2x na teden

2 - vsaj 5x na teden

4 - manj kot 2x na teden

6. Kdaj/ob kateri priložnosti najpogosteje uživete čaj?

1 - ob druženju

4 - med shujševalno dieto

2 - v primeru bolezni

5 - drugo (prosim navedite): \_\_\_\_\_

3 - za sprostitvev

**7. Zakaj uživate čaj? Možnih več odgovorov.**

- |                                  |                                    |
|----------------------------------|------------------------------------|
| 1 - zaradi zdravilnih učinkov    | 4 - ni posebnega razloga           |
| 2 - zaradi okusa                 | 5 - drugo (prosim navedite): _____ |
| 3 - zaradi poživljajočega učinka |                                    |

**8. Katero vrsto čaja si najpogosteje pripravite?**

- |               |                  |               |
|---------------|------------------|---------------|
| 1 - sadni čaj | 2 - zeliščni čaj | 3 - pravi čaj |
|---------------|------------------|---------------|

**9. Katerega od spodaj naštetih čajev ste že pili? (možnih več dogovorov!)**

- |                |  |
|----------------|--|
| 1 - zeleni čaj | 4 - pu erh čaj                                   |
| 2 - beli čaj   | 5 - oolong čaj                                   |
| 3 - črni čaj   | 6 - cvetoči čaj (blooming tea oz. flowering tea) |

**10. Pri pripravi čaja se držim navodil proizvajalca. Obkrožite!      DA    NE**

**DRUGI DEL**

**11. S čim najpogosteje sladkate čaj?**

- |                                  |                     |
|----------------------------------|---------------------|
| 1 - s sladkorjem                 | 4 - s stevio        |
| 2 - z medom                      | 5 - z natrenom      |
| 3 - z različnimi vrstami sirupov | 6 - čaja ne sladkam |

**12. Kako pogosto dodate med v čaj?**

- |             |            |
|-------------|------------|
| 1 - vedno   | 4 - redko  |
| 2 - pogosto | 5 - nikoli |
| 3 - včasih  |            |

**13. Glavni razlog zakaj v čaj dodate med?**

- |                           |                               |
|---------------------------|-------------------------------|
| 1 - nadomestilo sladkorja | 3 - zaradi zdravilnih učinkov |
| 2 - zaradi okusa          | 4 - Drugo: _____              |

**14. Pri kateri temperaturi dodate med v čaj?**

- |                                       |
|---------------------------------------|
| 1 - približno 70 stopinj (vroč čaj)   |
| 2 - približno 40 stopinj (mlačen čaj) |
| 3 - hladen čaj                        |

**15. Kako pogosto določeno vrsto medu uporabite v čaju. Prosim, da pogostost ocenite na lestvici od ena do pet.**

**KAKO POGOSTO UPORABITE NAVEDENE VRSTE MEDU V ČAJU?**

	<b>NIKOLI</b>	<b>ZELO POREDKO</b>	<b>OBČASNO</b>	<b>POGOSTO</b>	<b>ZELO POGOSTO</b>
AKACIJEV MED	1	2	3	4	5
LIPOV MED	1	2	3	4	5
CVETLIČNI MED	1	2	3	4	5
HOJEV MED	1	2	3	4	5
GOZDNI MED	1	2	3	4	5
KOSTANJEV MED	1	2	3	4	5

---