

## VAISTAŽOLIŲ ARBATŲ KOKYBINIS VERTINIMAS PAGAL FENOLINIŲ JUNGINIŲ KIEKĮ IR ANTIRADIKALINIŲ AKTYVUMĄ

Diana Barragan Ferrer<sup>1</sup>, Jesus Manuel Barragan Ferrer<sup>1,2</sup>, Inga Aukštikalnė<sup>1</sup>,  
Ingrida Viliušienė<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kauno kolegijos Medicinos fakultetas*, <sup>2</sup>*Kauno technologijos universiteto  
Cheminės technologijos fakultetas*

**Raktažodžiai:** vaistažolių arbatos, fenoliniai junginiai, antiradikalinis aktyvumas.

### Santrauka

Oksidacijos reakcijas gali suaktyvinti įvairūs aplinkos veiksniai, tokie kaip šviesa, šiluma, deguonies dariniai. Oksidacijos procesai *in vivo* skatina senėjimo procesus bei gali būti įvairių ligų priežastimi. Natūralūs antioksidantai yra reali alternatyva efektyviai blokuoti oksidacijos procesus. Dėl šių tendencijų per paskutiniuosius 10 metų vykdomi intensyvūs natūralių antioksidantų, gautų iš vaistinių augalų, tyrimai. Vaistažolių arbatose yra aptinkama įvairių fitokomponentų, tokių, kaip fenoliniai junginiai. Jie veikia kaip natūralūs antioksidantai, neutralizuojantys laisvuosius radikalus. Šio tyrimo tikslas nustatyti lietuviškų vaistažolių arbatų kokybę pagal bendrą fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą. Tyrimo metu buvo analizuojamos lietuviškos vaistažolių (liepų, ramunėlių, medetkų, čiobrelių, mėtų, aviečių, melisų, bruknių, kmynų, ažuolo žievės) arbatos.

Vaistažolių arbatų kokybei nustatyti buvo įvertintas bendras fenolinių junginių kiekis ir antiradikalinis aktyvumas. Iš gautų rezultatų nustatyta, kad fenolinių junginių kiekis arbatose priklauso nuo ekstrakcijos laiko. Fenolinių junginių kiekis didėjo ilgėjant ekstrakcijos laikui. Ištyrę vaistažolių arbatas nustatėme, kad visos arbatos pasižymėjo antioksidaciniu aktyvumu, o bendras fenolinių junginių kiekis skirtingose vaistažolių arbatose kito ribose nuo 21,37 iki 664,66 mg/g galo rūgšties ekvivalentų (GEA). Mažiausiu antiradikaliniu aktyvumu ir fenolinių junginių kiekiu pasižymėjo paprastais kmynas. Didžiausias bendras fenolinių junginių kiekis buvo nustatytas vaistiniame čiobrelyje, o antioksidacinis aktyvumas paprastojoje avietėje.

### Įvadas

Antioksidantai yra būtinos organizmui ir natūraliai gaunamos medžiagos iš maisto produktų. Iš aplinkos gauname vis didesnę laisvųjų radikalų dozę, o prekybos centruose įsigyjamuose apdorotuose maisto produktuose maistinių medžiagų ir antioksidantų vienoje porcijose gali būti per mažai, kad jie teiktų realią naudą. Siekiant kompensuoti šiuos praradimus reiktų mitybą papildyti produktais, kurie praturtinti natūraliais antioksidantais. Tyrimais yra įrodyta, kad augalinėje žaliavoje esantys antioksidantai geba mažinti daugelio lėtinių ligų progresavimą ir stabdo senėjimo procesus [1]. Pavyzdžiui, melisos ekstraktai pasižymi anksiolitiniu, antidepresiniu poveikiu [2], todėl yra plačiai naudojami raminaujamųjų preparatų gamyboje. Dėl gausios aktyvių junginių sudėties vaistinės melisos pasižymi nervų sistemą raminauoju [3], apetitą žadinančiu, virškinimo sutrikimus šalinančiu poveikiu, skatina tulžies išsiskyrimą, slopina pykinimą ir vėmimą. Turi skausmą malšinančių, spazmolitinių (atpalaiduojančių) savybių, veikia silpnai antibakteriškai, plečia kraujagysles, mažina kraujo spaudimą [4].

Gydomasis poveikis ramunėlių preparatais žinomas nuo senų laikų. Ramunėlės naudojamos profilaktikai esant virškinimo trakto sutrikimams, teigiamai veikia nervų sistemą, slopina skausmą, stabdo uždegiminius procesus, stiprina imuninę sistemą, plečia kraujagysles. Išoriškai ramunėlių nuovirais gydomos ginekologinės, odos ligos, dezinfekuojamos žaizdos, padeda nudegimų atvejais [4-6].

Avietes patariama vartoti tiek gydymui, tiek profilaktikai, sklerozės, avitaminozės atvejais, sutrikus medžiagų apykaitai [7]. Jos pasižymi sutraukiamuoju, stimuliuojančiu, stiprinančiu gimdą, šlapimo, prakaito išsiskyrimą skatinančiu, virškinimą gerinančiu poveikiu [5].

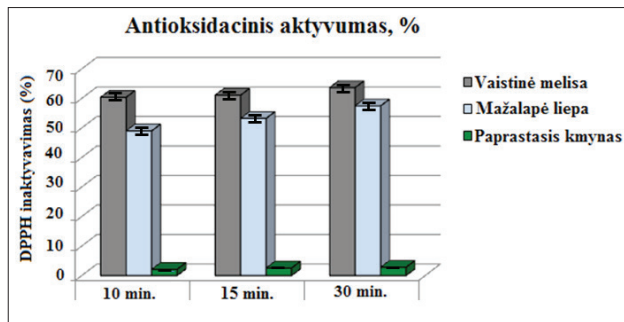
Per paskutinį dešimtmetį didėja susidomėjimas augaluose aptinkamų fenolinių junginių, kaip natūralių antioksidantų su apsauginėmis savybėmis ir jų taikymu profilaktiniams tikslams, tačiau šie tyrimai yra atlieka-

mi su egzotiškais augalais. Todėl šiame darbe siekiama išsiaiškinti, ar lietuviškose vaistažolių arbatose (liepų, ramunėlių, medetkų žieduose, čiobrelių žolėje, mėtų, aviečių, melisų, bruknių lapuose, kmynų vaisiuose, ažuolo žievėje) yra fenolinių junginių, kurie pasižymi antioksidaciniu aktyvumu ir jas priskirti prie natūralių antioksidantų šaltinių ir sveikatą gerinančių funkcinių gėrimų.

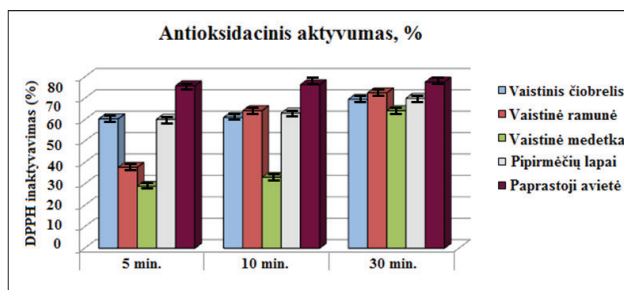
**Tyrimo tikslas** - nustatyti lietuviškų vaistažolių arbatų kokybę pagal bendrą fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą.

### Tyrimo objektas ir metodika

Tiriamajam darbui buvo pasirinktos vaistažolės: liepų, ramunėlių, medetkų žiedai, čiobrelių žolė, mėtų, aviečių, melisų, bruknių lapai, kmynų vaisiai, ažuolo žievės arbatos. Mėginiai (vaistažolių arbatų vandeniniai ekstraktai) buvo ruošiami užvirimo ir užpylimo metodu pagal gamintojo nurodymus ir supilstomi į sterilius indelius. Kiekvienai arbatai buvo ruošiami trys mėginiai. Užpylimo metodu arbatos buvo ruošiamos pagal gamintojo nurodymus, imant 2 gramus rekomenduojamą vaistinės arbatos kiekį ir užpilant verdančiu vandeniu. Bandiniai tyrimui paimami atitinkamai po 5 min., 10 min. ar 15 min. nuo užpylimo. Užvirimo metodu bandiniai paimami nuo arbatos užvirimo momento praėjus 30 minučių.



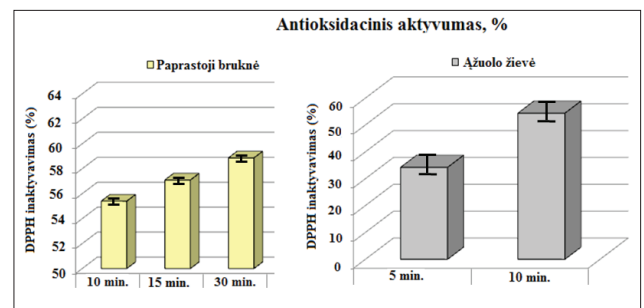
1 pav. Vaistinio čiobrelio, vaistinės ramunės, vaistinės medetkos, pipirmėčių lapų, paprastosios avietės antioksidacinis aktyvumas



2 pav. Vaistinės melisos, mažalapės liepos, paprastojo kmyno antioksidacinis aktyvumas

Suminis fenolinių junginių kiekis nustatytas Folin – Ciocalteu metodu [8], arbatos mėginiai veikiami Folin – Ciocalteu ir 7,5 % natrio karbonato tirpalu. Folin – Ciocalteu reagentas skiedžiamas vandeniu santykiu 1:10, 5 ml šio tirpalo sumaišoma su 1 ml tiriamojo mėginio ir 4 ml 7,5 % natrio karbonato tirpalo. Paruoštas mėginys vėl paliekamas kambario temperatūroje tamsioje vietoje ir po valandos atliekama spektrofotometrinė analizė. Mišinio absorbcija matuojama esant 765 nm bangos ilgiui. Suminis fenolinių junginių kiekis išreiškiamas galo rūgšties ekvivalentais (GAE) vienam gramui žaliavos (arbatos). Kalibracinei kreivei naudojama galo rūgšties vandeninį tirpalą (0,0125-0,4 mg/ml). Fenolinių junginių kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:  $GAE = c \times V / m$ , mg/g, kur  $c$  – galo rūgšties koncentracija mg/ml nustatyta iš kalibracinės kreivės;  $V$  – ekstrakto tūris ml;  $m$  – tikslus atsvertas žaliavos kiekis g.

Arbatos ekstraktų antioksidacinis aktyvumas nustatytas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>) radikalo sujungimo metodu [9]. Arbatos antiradikalinis aktyvumas įvertinamas matuojant, kiek procentų stabilus 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH<sup>\*</sup>) radikalo neutralizuoja arbatos sudėtyje esantys ir antioksidaciniu aktyvumu pasižymintys junginiai. 50 μl vandeniniai arbatos ekstraktai sumaišomi 1 cm kiuvetėje su 2 ml  $6 \times 10^{-5}$  M etanolinio DPPH<sup>\*</sup> tirpalo. Spektrofotometru buvo matuojamas mėginių absorbcijos sumažėjimas, kai bangos ilgis buvo 515 nm ir kol pasiekama pusiausvyra (apie 30 min.). Antioksidacinis aktyvumas apskaičiuojamas inaktyvuoto DPPH<sup>\*</sup> kiekio procentais:  $DPPH_{inaktiv. proc.} = [(A_b - A_a) / A_b] \times 100$ , kur:  $A_b$  – tuščiojo bandinio absorbcija ( $t=0$  min.),  $A_a$  – bandinio su tiriamuoju arbatos ekstraktu absorbcija ( $t=30$  min.). Vaistažolių arbatų ekstraktuose esančių antiradikalškai aktyvių junginių aktyvumas vertinamas pagal standartinį (etaloninį) antioksidantų troloksą. Vaistažolių arbatų ekstraktuose nesurištų radikalų kiekis išreiškiamas mM/l, ekvivalentiškais troloksui.



3 pav. Paprastosios bruknės ir ažuolo žievės antioksidacinis aktyvumas

## Tyrimo rezultatai

**Vaistažolių arbatų vandeninių ekstraktų antiradikalinių savybių įvertinimas laisvųjų radikalų modelinėje sistemoje.** DPPH radikalo sujungimo metodas plačiai naudojamas siekiant įvertinti augalinių ekstraktų antioksidacines savybes. DPPH radikalas yra stabilus organinis azoto radikalas. J. Damašius ir kt. (2007) teigimu „laisvųjų radikalų sujungimas yra pagrindinis lipidų oksidaciją stabilizuojantis antioksidantų mechanizmas, ekstraktų geba sujungti laisvuosius radikalus yra svarbus ir informatyvus tokių ekstraktų rodiklis“ [10].

DPPH efektyvioji ekstraktų radikalų sujungimo geba pateikta 1-3 pav. Tyrimo rezultatai parodė, kad visos tirtos vaistažolių arbatos DPPH modelinėje sistemoje turėjo antioksidacinį aktyvumą ir jo inaktyvavimo rodiklis buvo nuo 2,11% iki 77,66%. Vertinant ekstrakcijos laiko įtaką antioksidaciniam aktyvumui, buvo nustatyta, kad laikas tiesiogiai koreliuoja su antioksidaciniu aktyvumu, kuo ilgesnis ekstrakcijos laikas, tuo ekstraktas pasižymi stipresniu antioksidaciniu efektyvumu. Visų tirtų vaistažolių arbatų antioksidacinis aktyvumas didėja ilgėjant ekstrakcijos laikui. Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo paprastoji avietė, po 30 min. antioksidacinis aktyvumas buvo 77,66%. Mažiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo paprastasis kmynas, jo aktyvumas siekė vos 2,11% po 10 min. ekstrakcijos, o po 30 min. - 2,82%. J. Damašius ir kt., tyrė kmynų antioksidacinį aktyvumą, nustatė, jog kmynai pasižymi silpnu antioksidaciniu aktyvumu [10], tai patvirtina ir mūsų gauti rezultatai.

**Bendras fenolinių junginių kiekis ir antioksidacinis aktyvumas vaistažolių arbatų ekstraktuose.** Vertinant vaistažolių arbatų kokybę svarbu nustatyti arbatų ekstraktuose esančių fenolinių junginių kiekį, literatūros duomenimis, radikalų sujungimo geba augalinės kilmės ekstraktuose priklauso nuo juose esančių fenolinių junginių koncentracijos [11]. Fenoliniai junginiai yra augalų antriniai metabolitai ir aptinkami visuose augaluose skirtingais kiekiais.

1 lentelėje pateikti vaistažolių arbatų suminiai fenolinių junginių kiekiai pagal skirtingą ekstrakcijos laiką ir palyginti su troloksui ekvivalentiška antioksidacinia galia (TEAC).

Bendras fenolinių junginių kiekis vaistažolių arbatų ekstraktuose kito nuo 21,37 mg/g iki 664,66 mg/g, žaliavos. Fenolinių junginių kiekis pagal arbatų ekstrakcijos laiką nuo 5 min. iki 30 min. didėjo visose tirtose arbatose. Iš gautų rezultatų matome, jog čiobrelių ekstrakto po 30 min. yra 664,66 g/mg (žaliavos), fenolinių junginių, o antioksidacinis aktyvumas yra didelis ir lygus 1,38 mMol/l, todėl galime teigti, jog čiobrelių arbata yra gausus antioksidantų šaltinis. Kita vertus, ramunėlių arbata turi nedidelį fenolinių junginių kiekį lyginant su čiobrelių arbata (109,00 g/

mg (žaliavos), po 30 min.), tačiau pasižymi didele antioksidacine galia (1.44 mM/l po 30 min.), tai gali lemti fenolinių junginių struktūra [11]. Iš literatūros duomenų galime daryti prielaidą, jog ramunėlių arbatai antioksidacinį akty-

**1 lentelė.** Bendras fenolinių junginių kiekis ekstraktuose ir Troloksui ekvivalentiška antioksidacinė galia (TEAC)

Augalas	Ekstrakcijos laikas, min.	Bendras fenolinių junginių kiekis ekstrakto, mg/g	TEAC, mM/L
Vaistinis čiobrelis	5	166,66±0,55	1,20±0,05
	10	283,73±0,55	1,21±0,02
	30	664,51±1,50	1,38±0,00
Vaistinė ramunė	5	54,75±0,10	0,75±0,00
	10	56,50±0,30	1,28±0,01
	30	109,00±0,80	1,44±0,01
Vaistinė medetka	5	101,50±0,25	0,58±0,02
	10	115,30±0,50	0,66±0,00
	30	151,30±0,50	1,28±0,01
Vaistinė melisa	10	277,50±1,50	1,20±0,00
	15	304,20±1,35	1,21±0,01
	30	329,50±0,95	1,26±0,00
Pipirmėčių lapai	5	69,00±0,05	1,20±0,01
	10	78,75±0,75	1,25±0,01
	30	155,25±0,65	1,39±0,01
Mažalapė liepa	10	48,00±0,05	0,97±0,00
	15	88,50±0,25	1,06±0,00
	30	116,47±0,85	1,14±0,03
Paprastasis kmynas	10	21,37±0,50	0,05±0,00
	15	22,50±0,01	0,06±0,00
	30	27,37±0,03	0,06±0,00
Paprastoji avietė	5	165,50±0,15	1,51±0,00
	10	182,00±0,50	1,51±0,00
	30	206,00±1,50	1,54±0,01
Paprastoji bruknė	10	101,70±0,95	1,10±0,00
	15	107,62±0,75	1,13±0,01
	30	115,20±0,50	1,17±0,00
Ažuolo žievė	5	64,20±0,95	0,68±0,00
	10	73,20±0,50	1,08±0,01

vumą suteikia flavanoidai, tokie kaip: apigeninas, kvercetas, liuteolinas, apinas, kosmosinas [5]. Vertinant kmynų arbatos ekstraktus, nustatėme, kad bendras fenolinių junginių kiekis yra mažiausias 21,37 g/mg (žaliavos), o antioksidacinė galia siekia tik 0.05 mM/l. Pagal bendrą fenolinių junginių pasiskirstymą tirtose arbatose jas galima išdėstyti tokia didėjimo tvarka: vaistinis čiobrelis > vaistinė melisa > paprastoji avietė > vaistinė medetka > paprastoji bruknė > pipirmėčių lapai > mažalapė liepa > vaistinė ramunė > ažuolo žievė > paprastasis kmynas.

Įvertinę arbatų kokybę pagal bendrą fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą nustatėme, kad tirtos lietuviškos arbatos pasižymi aukšta kokybe ir gali būti vartojamos kaip natūralių antioksidantų turintys funkciniai gėrimai. Kita vertus, apskaičiavus fenolinių junginių kiekio priklausomybę nuo ekstrakcijos laiko, nustatėme, kad optimalus laikas, per kurį išsilaisvina fenoliniai junginiai, yra tarp 15 - 30 min., priklausomai nuo arbatos rūšies, todėl norint arbatos gėrimus praturtinti fenoliniais junginiais būtina prailginti vaistažolių kontaktą su vandeniu.

### Išvados

1. Fenolinių junginių kiekis vaistažolių arbatų vandiniuose ekstraktuose tiesiogiai priklauso nuo ekstrakcijos laiko. Tirtų vaistažolių arbatų ekstraktuose fenolinių junginių kiekis didėja, ilgėjant ekstrakcijos laikui, todėl rekomenduojama laikytis ilgiausio gamintojo nurodyto arbatos užplikymo laiko.

2. DPPH radikalo sujungimo metodo modelinėje sistemoje nustatyta, kad devynios iš dešimties vaistažolių arbatų pasižymi antioksidaciniu aktyvumu ir jų sudėtyje esantys fenoliniai junginiai veikia kaip pirminiai antioksidantai.

3. Tyrimo duomenys rodo, jog vaistažolių arbatas galima priskirti prie sveikatą gerinančių funkcinių gėrimų, kurie mitybą praturtina natūraliais antioksidantais.

### Literatūra

- Didžiapetrienė J., Uknevičiūtė G., Bublevič J., Uleckienė S., Kazbarienė B., Stukas R. Antioksidantų vartojimo galimybės onkologijoje. Sveikatos mokslai, 2011; 21(7):154–159.
- Taiwo AE, Leite FB, Lucena GM, Barros M, Silveira D, Silva MV, Ferreira VM. Anxiolytic and antidepressant – like effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) extract in rats: Influence of administration and gender. *Indian J Pharmacol* 2012; 44(2):189–192.  
<http://dx.doi.org/10.4103/0253-7613.93846>
- Kalasauskienė SM. Vaistiniai augalai, gydymui, kosmetikai, kulinarijai. Asveja, Vilnius. 2009.
- Juodišius E., Šimonėlienė A. Maistui skirtu sirupo su biologiškai aktyviomis medžiagomis gamybos, panaudojant natūralią medaus invertazę, tyrimai. *Žemės ūkio mokslai*, 2011;18(4):162–170.  
<http://dx.doi.org/10.6001/zemesukiomokslai.v18i4.2213>
- Gudžinskas Z., Balvočiūtė J. Lietuvos vaistiniai augalai: pažįstami, bet nežinomi, kūno sveikatai, sielos džiaugsmui. Šviesa, Kaunas, 2008.
- Mekienė R., Ruzgienė R. Fitoterapija akušerijoje ir ginekologijoje. Katikauga, Vilnius, 2005.
- Vasiliauskas J. Gamtos vaistinė: žolelių antpilai, nuovirai, pavilgai, vonios nuo visų ligų. *Alma littera*, Vilnius, 2011.
- Folin O, Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 1927; 73(2):627–650.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 1995; 28(1):25–30.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Damašius J., Škėmaitė M., Kirkilaitė G., Vinauskienė R., Venskutonis PR. Paprastojo kmyno (*Carum Carvi L.*) ir kumino (*Cuminum cyminum L.*) ekstraktų antioksidacinės ir antimikrobinės savybės. *Veterinarija ir zootechnika*, 2007; 40(62):9–13.
- Dobravalskytė D, Venskutonis PR, Talou T. Antioxidant properties and essential oil composition of *Calamintha grandiflora L.* *Food Chemistry* 2012;135(3):1539-1546.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.094>

### THE QUALITATIVE EVALUATION OF HERBAL TEAS BY PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIRADICAL ACTIVITY

D. Barragan Ferrer, J. M. Barragan Ferrer, I. Aukštikalnė, I. Viliušienė

Key words: Herbal teas, phenolic compounds, antiradical activity.

#### Summary

The interest in natural antioxidants as an alternative for inhibiting the oxidation processes that cause various human diseases has led to an increase in the analysis of natural antioxidant sources, particularly in herbal teas. The herbal tea is a valuable source of phenolic compounds that act as natural antioxidants to neutralize free radicals. Thus, the aim of this research is to analyze the total phenolic content (TPC) and antioxidant activity of different Lithuanian herbal teas (lime, chamomile, calendula, thyme, mint, raspberry, lemon balm, cranberry, cumin, oak bark). The (TPC), expressed as gallic acid equivalents (GAEs), was measured by Folin-Ciocalteu method. The value of antioxidant activity was determined by DPPH radical scavenging method. Summarizing the results of the work, we can conclude that phenolic compounds content depend on the extraction time of tea. In other words, the phenolic compounds content in the studied teas was increasing by the increasing of the extraction time. Examination of selected medicinal teas found that all the teas analyzed exhibited antioxidant activity and total phenolic content in the range of 21.37 mg/g and 664.66 mg/g. It is found that while the lowest antiradical activity and phenolic compounds content were found in the cumin tea, the highest were found in the raspberry tea.

Correspondence to: [diana.barragan.ferrer@go.kauko.lt](mailto:diana.barragan.ferrer@go.kauko.lt)