



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU



Jovana N. Krstić

**MINERALNI I POLIFENOLNI PROFIL
ZELENOG, CRNOG, BILJNIH I VOĆNIH
FILTER ČAJEVA I NJIHOV
ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2017.



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU



Jovana N. Krstić

**MINERALNI I POLIFENOLNI PROFIL
ZELENOG, CRNOG, BILJNIH I VOĆNIH
FILTER ČAJEVA I NJIHOV
ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Текст ове докторске дисертације ставља се на увид јавности,
у складу са чланом 30., став 8. Закона о високом образовању
("Сл. гласник РС", бр. 76/2005, 100/2007 – аутентично тумачење, 97/2008, 44/2010,
93/2012, 89/2013 и 99/2014)

НАПОМЕНА О АУТОРСКИМ ПРАВИМА:

Овај текст сматра се рукописом и само се саопштава јавности (члан 7. Закона о ауторским и сродним правима, "Сл. гласник РС", бр. 104/2009, 99/2011 и 119/2012).

Ниједан део ове докторске дисертације не сме се користити ни у какве сврхе, осим за упознавање са њеним садржајем пре одбране дисертације.

Niš, 2017.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS
DEPARTMENT OF CHEMISTRY



Jovana N. Krstić

**THE MINERAL AND POLYPHENOL
PROFILE OF GREEN, BLACK, HERBAL
AND FRUIT BAGGED TEAS AND THEIR
ANTIOXIDATIVE CAPACITY**

DOCTORAL THESIS

Niš, 2017.

Mentor:

dr Aleksandra Pavlović, vanredni profesor

Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

Članovi komisije:

dr Snežana Mitić, redovni profesor

Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

dr Gordana Stojanović, redovni profesor

Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

dr Biljana Kaličanin, redovni profesor

Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

dr Milan Mitić, vanredni profesor


Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

Подаци о докторској дисертацији


Ментор:	др Александра Павловић, ванредни професор Природно-математичког факултета, Универзитета у Нишу
Наслов:	Минерални и полифенолни профил зеленог, црног, биљних и воћних филтер чајева и њихов антиоксидативни капацитет
Резиме:	<p>Циљ ове докторске дисертације је испитивање антиоксидативне активности, полифенолног и минералног састава црног, зеленог, биљних и воћних филтер чајева. Имајући у виду чињеницу да различита полифенолна једињења као антиоксиданси могу да реагују <i>in vivo</i> различитим механизмима, за одређивање укупне антиоксидативне активности коришћено је више различитих спектрофотометријских тестова (DPPH, ABTS, FRAP и RP) и електрохемијски метод - циклична волтаметрија. Рачунањем антиоксидативног композитног индекса (ACI) процењена је антиоксидативна способност анализираних узорака. У циљу идентификације и квантификације полифенолних једињења коришћена је HPLC хроматографија, а мулти-елементи састав филтер чајева одређен је ICP-OES методом. У циљу диференцијације испитиваних филтер чајева коришћени су методи мултиваријантне статистичке анализе (PCA и CA). Добијене резултати указују на то да поједини филтер чајеви могу да послуже као добар извор нутријената у људској исхрани.</p>
Научна област:	Хемија
Научна дисциплина:	Аналитичка хемија
Кључне речи:	филтер чајеви, метали, полифеноли, антиоксидативни капацитет, циклична волтаметрија, UV/Vis, HPLC, ICP-OES, мултиваријантна статистичка анализа
УДК:	547.565 : 663.951 577.118 : 663.951 543.64 : 663.951
CERIF класификација:	P 003 и P 300 Хемија и Аналитичка хемија
Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Aleksandra Pavlović, Ph.D., Associate Professor, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš
Title:	Mineral and polyphenol profile of green, black, herbal and fruit bagged teas and their antioxidative capacity
Abstract:	The aim of this doctoral dissertation was estimation of the antioxidant activity, polyphenol and mineral composition of black, green, herbal and fruit bagged teas. Heaving in mind the fact that different polyphenol compounds as antioxidants can react <i>in vivo</i> by various mechanisms, for determination of the total antioxidative activity was used several spectrophotometric tests (DPPH, ABTS, FRAP and RP) and electrochemical method - cyclic voltammetry. The antioxidant capacity of the analyzed samples was estimated using the antioxidant potency composite index (ACI). For identification and quantification of individual polyphenolic compounds, HPLC chromatography was used, and multi-element composition of bagged teas was determined by ICP-OES method. In order to differentiation analyzed bagged teas, methods of multivariate statistical analysis (PCA and CA) were used. In relation to the obtained results, analyzed bagged teas could contribute to the daily dietary requirements.
Scientific Field:	Chemistry
Scientific Discipline:	Analytical chemistry
Key Words:	bagged teas, metals, polyphenols, antioxidative capacity, cyclic voltammetry, UV/Vis, HPLC, ICP-OES, multivariate statistics analysis
UDC:	547.565 : 663.951 577.118 : 663.951 543.64 : 663.951
CERIF Classification:	P 003 and P 300 Chemistry and Analytical chemistry
Creative Commons License Type:	CC BY-NC-ND

	ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ
	КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА
Редни број, РБР:	
Идентификациони број, ИБР:	
Тип документације, ТД:	Монографска
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички
Врста рада, ВР:	докторска дисертација
Аутор, АУ:	Јована Н. Крстић
Ментор, МН:	Александра Н. Павловић
Наслов рада, НР:	Минерални и полифенолни профил зеленог, црног, биљних и воћних филтер чајева и њихов антиоксидативни капацитет
Језик публикације, ЈП:	Српски
Језик извода, ЈИ:	Енглески
Земља публикавања, ЗП:	Србија
Уже географско подручје, УГП:	Србија
Година, ГО:	2017.
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33
Физички опис рада, ФО: <small>(поглавља/страна/ цитата/табела/слика/графика/прилога)</small>	8 поглавља, 317 стране, 201 цитата, 97 табеле, 147 слика /граф
Научна област, НО:	Хемија
Научна дисциплина, НД:	Аналитичка хемија
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	филтер чајеви, метали, полифеноли, антиоксидативни капацитет, циклична волтаметрија, UV/Vis, HPLC, ICP-OES, мултиваријантна статистичка анализа
УДК	547.565 : 663.951 577.118 : 663.951 543.64 : 663.951
Чува се, ЧУ:	Библиотека

Важна напомена, ВН :	Истраживање докторске дисертације је финансирано од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, у оквиру пројекта "Природни производи биљака и лишјајева: изоловање, идентификација, биолошка активност и примена", евиденциони број 172047. Такође, истраживање у оквиру ове дисертације је финансирано и од средстава које је Министарство уплаћивало на име материјалних трошкова за покриће рада стипендисте Мини
Извод, ИЗ :	Циљ ове докторске дисертације је испитивање антиоксидативне активности, полифенолног и минералног састава црног, зеленог, биљних и воћних филтер чајева. Имајући у виду чињеницу да различита полифенолна једињења као антиоксиданси могу да реагују <i>in vivo</i> различитим механизмима, за одређивање укупне антиоксиадтивне активности коришћено је више различитих сектрофотометријских тестова (DPPH, ABTS, FRAP и RP) и електрохемијски метод - циклична волтаметрија. Рачунањем антиоксидативног композитног индекса (ACI) процењена је антиоксидативна способност анализираних узорака. У циљу идентификације и квантификације полифенолних једињења коришћена је HPLC хроматографија, а мулти-елементи састав филтер чајева одређен је ICP-OES методом. У циљу диференцијације испитиваних филтер чајева коришћени су методи мултиваријантне статистичке анализе (PCA и CA). Добијени резултати указују на то да поједини филтер чајеви могу да послуже као добар извор нутријената у људској исхрани.
Датум прихватања теме, ДП :	10.3.2015
Датум одбране, ДО :	
Чланови комисије, КО :	Председник: Члан: Члан: Члан: Члан, ментор:

	ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ
	KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :	
Identification number, INO :	
Document type, DT :	Monograph
Type of record, TR :	textual / graphic
Contents code, CC :	doctoral dissertation
Author, AU :	Jovana N. Krstić
Mentor, MN :	Aleksandra Pavlović
Title, TI :	Mineral and polyphenol profile of green, black, herbal and fruit bagged teas and their antioxidative capacity
Language of text, LT :	Serbian
Language of abstract, LA :	English
Country of publication, CP :	Serbia
Locality of publication, LP :	Serbia
Publication year, PY :	2017
Publisher, PB :	author's reprint
Publication place, PP :	Niš, Višegradaska 33.
Physical description, PD : <small>(chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendixes)</small>	8 chapters, 317 pages, 201 references, 97 tables, 147 pictures
Scientific field, SF :	Chemistry
Scientific discipline, SD :	Analytical chemistry
Subject/Key words, S/KW :	bagged teas, metals, polyphenols, antioxidative capacity, cyclic voltammetry, UV/Vis, HPLC, ICP-OES, multivariate statistics analysis
UC	547.565 : 663.951 577.118 : 663.951 543.64 : 663.951
Holding data, HD :	Library
Note, N :	PhD research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of Republic Serbia, within the project "Natural products of plants and lichens: isolation, identification, biological activity and application" (No. 172047). Also, the part of PhD research was funded by the Ministry within the student scholarship.

Abstract, AB :	The aim of this doctoral dissertation was estimation of the antioxidant activity, polyphenol and mineral composition of black, green, herbal and fruit bagged teas. Heaving in mind the fact that different polyphenol compounds as antioxidants can react <i>in vivo</i> by various mechanisms, for determination of the total antioxidative activity was used several spectrophotometric tests (DPPH, ABTS, FRAP and RP) and electrochemical method - cyclic voltammetry. The antioxidant capacity of the analyzed samples was estimated using the antioxidant potency composite index (ACI). For identification and quantification of individual polyphenolic compounds, HPLC chromatography was used, and multi-element composition of bagged teas was determined by ICP-OES method. In order to differentiation analyzed bagged teas, methods of multivariate statistical analysis (PCA and CA) were used. In relation to the obtained results, analyzed bagged teas could contribute to the daily dietary requirements.
Accepted by the Scientific Board on, ASB :	10.3.2015
Defended on, DE :	
Defended Board, DB :	
President:	
Member:	
Member:	
Member:	
Member, Mentor:	

Ova doktorska disertacija urađena je u Laboratoriji za instrumentalnu analitičku hemiju i fizičku hemiju Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja „Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena“, evidencioni broj OI 172047.

Analiza uzoraka primenom ciklične voltametrije je urađena u Laboratoriji za analitičku hemiju, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu pod rukovodstvom prof. dr Dragana Manojlovića i dr Dalibora Stankovića. Ovom prilikom im zahvaljujem na pruženoj pomoći.

Izradom ove disertacije rukovodila je dr Aleksandra Pavlović, vanredni profesor PMF-a u Nišu. Svojim savetima, smernicama i sugestijama je u velikoj meri doprinela kvalitetu doktorske disertacije. Zahvaljujem joj se na razumevanju, strpljenju i divnoj saradnji.

Takođe, veliku zahvalnost dugujem i dr Snežani Tošić, vanrednom profesoru PMF-a u Nišu, na stručnim savetima, primedbama i podršci.

Najsrdahnije se zahvaljujem članovima komisije, prof. dr Snežani Mitić, prof. dr Gordani Stojanović, prof. dr Biljani Kaličanin i prof. dr Milanu Mitiću, na korisnim savetima i sugestijama u završnoj fazi izrade koje su doprinele samom kvalitetu disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem i svojoj prijateljici i kolegici Jeleni Mrmošanin na ukazanoj pomoći, razumevanju i podršci tokom svih godina timskog rada.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj kćerci, suprugu i roditeljima na strpljenju, pomoći i ljubavi tokom izrade doktorske disertacije.

Svima se najiskrenije zahvaljujem.

Autor

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Teorijski deo	7
2.1. Istorijat čaja	9
2.1.1. Osnovne karakteristike čaja.....	9
2.1.2. Podela i priprema čajeva.....	10
2.1.3. Crni i zeleni čaj.....	13
2.1.4. Biljni čajevi.....	15
2.1.5. Voćni čajevi.....	26
2.2. Polifenolna jedinjenja.....	34
2.2.1. Flavonoidi.....	36
2.2.2. Antocijani	43
2.2.3. Fenolne kiseline	44
2.3. Metali u ljudskoj ishrani.....	46
2.3.1. Mikro i makroelementi u čajevima.....	48
2.4. Antioksidativna aktivnost.....	49
2.4.1. Slobodni radikali.....	49
2.4.2. Antioksidansi.....	52
2.4.3. Mehanizam delovanja antioksidanasa	53
2.4.3.1. Primarna antioksidativna zaštita	53
2.4.3.2. Sekundarna antioksidativna zaštita	55
2.4.4. Metode određivanja antioksidativnog potencijala.....	58
2.4.4.1. ABTS metod	59
2.4.4.2. DPPH metod	60
2.4.4.3. FRAP metod.....	62
2.4.4.4. Redukciona sposobnost (Reducing Power, RP)	64
2.5. UV/Vis spektrofotometrija.....	64
2.5.1. Apsorpcija UV/Vis zračenja	65
2.5.2. Snimanje UV/Vis spektara	68
2.6. HPLC hromatografija.....	69
2.6.1. Kvalitativna HPLC analiza.....	72

2.6.2. Kvantitativna HPLC analiza.....	73
2.7. Atomska emisiona spektrometrija – ICP spektrometrija.....	74
2.7.1. Smetnje u ICP spektrometriji	79
2.7.2. Načini pripreme uzoraka	79
2.8. Voltametrij.....	81
2.8.1. Ciklična voltametrij.....	81
2.9. Multivarijantna statistička analiza.....	88
2.9.1. Metod glavnih komponenti (Principal Component Analysis, PCA)	92
2.9.2. Faktorska analiza	93
2.9.3. Klaster analiza	97
2.9.3.1. Hijerarhijski postupak klasterovanja.....	97
2.9.3.2. Nehijerarhijski postupak klasterovanja.....	100
3. Eksperimentalni deo.....	103
3.1. Aparati.....	105
3.2. Reagensi	107
3.3. Uzorci.....	110
3.4. Priprema uzoraka.....	112
3.4.1. Opšte karakteristike filter čajeva	112
3.4.2. Postupak ekstrakcije uzoraka za HPLC i UV/Vis analizu.....	112
3.5. Spektrofotometrijski metodi.....	113
3.5.1. Određivanje sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja (TP).....	113
3.5.2. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida (TF).....	114
3.6. Metodi antioksidativne aktivnosti	115
3.6.1. TEAC metod (Total Equivalent Capacity Assay)	115
3.6.2. DPPH metod (Scavenging of 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil Radical Assay).....	117
3.6.3. FRAP metod (Ferric Ion Reducing Antioxidant Power Assay)	118
3.6.4. Redukciona sposobnost (Reducing Power, RP)	119
3.6.5. Elektrohemijsko određivanje antioksidativne aktivnosti primenom ciklične voltametrije.....	120
3.6.6. Određivanje sadržaja antocijana (“Singl” pH i pH diferencijalni metod).....	121
3.7. HPLC analiza	123
3.8. Određivanje mineralnog sastava ICP-OES metodom	131
3.8.1. Priprema uzorka mokrom digestijom	131
3.8.2. Priprema infuza.....	131

3.8.3. Parametri instrumenta.....	131
3.9. Statistička obrada podataka.....	132
4. Rezultati i diskusija.....	133
4.1. Opšte karakteristike filter čajeva.....	135
4.2. Ukupni polifenoli i flavonoidi.....	136
4.2.1. Ukupni monomerni antocijani.....	155
4.3. Antioksidativna (antiradikalska) aktivnost - ABTS metod.....	157
4.4. Antioksidativna (radikalska) aktivnost - DPPH metod.....	160
4.5. Antioksidativna aktivnost - FRAP metod.....	162
4.6. Antioksidativna aktivnost - Fe(III)/Fe(II) metod.....	165
4.7. Antioksidativna aktivnost - ciklična voltometrija.....	170
4.8. Pojedinačna polifenolna jedinjenja u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima.....	182
4.9. Makro i mikroelemenati u uzorcima crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva.....	207
4.10. Doprinos makro i mikroelemenata u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima dnevnim potrebama.....	260
4.11. Statistička analiza dobijenih podataka.....	262
5. Izvod.....	275
6. Summary.....	281
7. Literatura.....	287
8. Biografija sa bibliografijom.....	305

1. Uvod

Čaj je jedan od najpopularnijih i najviše konzumiranih napitaka u svetu, obzirom na činjenicu da se dnevno popije oko 18 do 20 milijardi šolja čaja.

Čaj predstavlja mešavinu usitnjenih ili neusitnjenih biljnih delova, a namenjen je za unutrašnju i spoljašnju upotrebu. On otklanja umor, okrepljuje, poboljšava koncentraciju, daje energiju, otklanja različite zdravstvene tegobe.

Glavni lekoviti sastojci čaja su kofein, teobromin, teofilin, adenin, rutin, etarska ulja. Ima još i gume, dekstrina, masti, voska, belančevina, tanina. U zelenom čaju ima i vitamina C, procijanidina B₁ i B₂, nikotinske i pantotenske kiseline.

Kofein nadražuje koru velikog mozga, usled čega se smanjuje pospanost, odnosno povećava budnost i povećava psihomotorna izdržljivost. Deluje i na kardiovaskularni sistem tako što povećava snagu kontrakcije srčanog mišića; relaksira glatke mišiće bronhija što ima terapijski značaj; povećava sekreciju hlorovodonične kiseline u želucu.

Najvažnije komponente u čajevima su flavonoidi. Antioksidativna sposobnost flavonoida je vrlo velika. Smatra se da je aktivnost pojedinih biljnih polifenola veća od aktivnosti već dobro poznatih antioksidativnih supstanci - vitamina C i E. Flavonoidi pre svega pozitivno deluju na funkciju srca, ali i sprečavaju razvoj pojedinih vrsta raka. Osim navedenog, flavonoidi inhibiraju metaboličke reakcije nekih mikroorganizama kao što su npr. *Salmonella typhi*, *Campilobacter jejuni*, *Campilobacter coli*, *Helicobacter pylori*, *Shigella*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Candida* i ostali. Najnovija istraživanja ukazuju da ekstrakti iz čaja mogu pomoći pri mršavljenju time što ubrzavaju oksidaciju masti.

Iako se čaj smatra lekovitim i zdravim napitkom od drevnih vremena, tek nedavno je privukao pažnju istraživača. Pojedini autori posebno ističu povoljan uticaj čaja na zdravlje ljudi jer sadrži, pored polifenola, makro i mikroelemente.

Prisustvo makro i mikroelemenata u hrani i piću je neophodno pratiti zato što su neki esencijalni, kao gvožđe, cink, bakar, hrom (III), kobalt i mangan, a neki toksični (olovo, kadmijum, živa,...). Međutim, kako nedostatak, tako i povišene koncentracije esencijalnih elemenata, mogu da imaju negativan uticaj na zdravlje ljudi. Takođe, povećane koncentracije teških metala u hrani mogu značajno da utiču na zdravlje ljudi. Poseban uticaj imaju metali koji se unose hranom i akumuliraju u organizmu čoveka, kao što je to slučaj sa olovom i kadmijumom. Visoka koncentracija ovih metala u hrani se povezuje sa razvojem brojnih bolesti, posebno kardiovaskularnog sistema, bubrega, nervnog i koštanog tkiva. Dokazano je da su ovi teški metali mutageni i teratogeni.

Detaljnim pregledom literature utvrđeno je da ima malo podataka o filter čajevima. U okviru ove doktorske disertacije sprovedena su sledeća ispitivanja i analize:

1. *Određivanje polifenolnih jedinjenja filter čajeva:*

- ekstrakcija polifenolnih komponenti primenom različitih rastvarača,
- kvantitativno određivanje ukupnih polifenola i flavonoida, kao i identifikacija i kvantifikacija polifenolnih komponenti u ispitivanim filter čajevima primenom UV/Vis spektrofotometrije i HPLC hromatografije.

2. *Ispitivanje antioksidativne aktivnosti uzoraka filter čajeva:*

- spektrofotometrijsko određivanje „skevindžer“ aktivnosti na DPPH[•] radikale,
- spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti na ABTS^{•+} katjon radikale,
- spektrofotometrijsko određivanje $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}/[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ redoks kapaciteta (FRAP),
- spektrofotometrijsko određivanje $[\text{Fe(CN)}_6]^{3-}/[\text{Fe(CN)}_6]^{4-}$ redoks kapaciteta (RP),
- elektrohemijsko određivanje primenom ciklične voltometrije.

3. *Određivanje mineralnog sastava filter čajeva*

4. *Statistička obrada podataka:*

- korelaciona analiza,
- analiza glavnih komponenti (PCA),
- klaster analiza (CA).

Rad je podeljen na: Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Izvod, Summary, Literatura, Biografija sa bibliografijom.

U *Teorijskom delu* dat je istorijski pregled upotrebe čaja, podela čajeva kao i karakteristike ispitivanih filter čajeva. Takođe, dat je i kratak osvrt na podelu polifenolnih jedinjenja i njihov značaj, pojam antioksidanasa i značaj metala u ljudskoj ishrani.

Osnovni principi instrumentalnih metoda korišćenih u ovoj disertaciji: UV/Vis spektrofotometrija, ciklična voltometrija, HPLC hromatografija i optičko-emisiona spektrometrija sa induktivno kuplovano plazmom (ICP-OES), takođe su opisani.

U *Eksperimentalnom delu* je dat program eksperimentalnog rada, opisan je način pripreme uzoraka, i dati su postupci analize uzoraka primenom UV/Vis spektrofotometrije, ciklične voltometrije, ICP-OES spektrometrije i HPLC hromatografije.

U delu *Rezultati i diskusija* izloženi su rezultati do kojih se došlo u određivanju najefikasnijeg ekstragensa, polifenolnog sastava, antioksidativne aktivnosti i mineralnog sastava ispitivanih filter čajeva. Dobijeni rezultati su diskutovani u kontekstu uticaja prirode, koncentracije i kiselosti rastvarača za ekstrakciju na sadržaj i sastav polifenolnih jedinjenja; sa aspekta sadržaja makro i mikro elemenata u cilju određivanja nutritivne vrednosti filter čajeva i sa aspekta sadržaja toksičnih metala kao indikatora zagađenosti životne sredine. Računanjem antioksidativnog kompozitnog indeksa (ACI) procenjena je antioksidativna sposobnost analiziranih uzoraka. Poređenjem primenjenih testova utvrđeno je da li između njih postoje /nepostoje značajne razlike u pogledu mehanizma delovanja. Primenom metoda postepene višestruke regresije objašnjen je udeo ispitivanih varijabli (polifenolna jedinjenja) kao nezavisna promenljiva varijabla ili promenljiva u ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti (zavisna promenljiva).

2. Teorijski deo

2.1. Istorijat čaja

U priču o dragocenim listovima zelenog čaja, utisnute su niti drevnih legendi, mitova i istorijskih prevrata iz gotovo svih krajeva sveta.

Čaj je počeo da se koristi prvi put u Kini pre 5.000 godina. (*Gutman i sar., 1996*). Prema jednoj legendi, kineski car Shen-Nong otkrio je tajnu pripreme ovog napitka prilikom jednog od svojih mnogobrojnih lovačkih izleta godine 2737. pne. Kada je hteo da prokuva nešto rečne vode u posudi na vatri, vetar mu je doneo jedan list sa stabljike čaja koja je tu u blizini rasla. Voda u posudi je brzo promenila boju i car je osetio neobičan i njemu nepoznat miris. Radoznalo je popio nekoliko gutljaja tečnosti i bio je oduševljen aromom. Vrlo brzo je osetio osveženje i umor od dugotrajnog lova je nestao. Tako je, prema legendi, otkriven čaj (*Kakuzo, 2008*; <http://www.stetoskop.info>).

Ispijanje čaja postepeno je preraslo u sastavni deo kineske kulture. U početku je bio i statusni simbol, jer je biljka više vekova bila dostupna samo povlašćenim pripadnicima visokog društva. U Evropu prvi čaj je stigao 1610. godine brodovima jedne holandske kompanije (<http://gastronomija.info>, <http://www.stetoskop.info/Caj-magicni-napitak-528-s5-content.htm>).

Amerika je dala svoj doprinos na polju pripremanja čaja. Filter kesice su američki izum. Od trenutka patentiranja do danas, čaj u kesici je ostao najpopularniji načinitavom Zapadu.

Do kraja XVIII veka čaj postaje dostupan skoro svima (<http://www.stetoskop.info/Caj-magicni-napitak-528-s5-content.htm>).

2.1.1. Osnovne karakteristike čaja

Čaj predstavlja mešavinu usitnjenih ili neusitnjenih biljnih delova, a namenjen je za unutrašnju i spoljašnju upotrebu. Svi listovi čaja (osim biljnih i voćnih) potiču od istog grma zimzelene biljke koja ima latinsko ime - *Camellia sinensis*.

Drvo čaja može da naraste i do 5 m visine, ali uzgajivači se trude da njegova visina ne pređe 1 m da bi se lakše bralo. Ono treba da bude što mlađe, da bi čaj bio kvalitetniji.

Listovi su tamnozeleno boje i bez mirisa, dok su cvetovi beli, krupni i imaju vrlo prijatan miris koji podseća na jasmín. Biljni delovi (biljne droge) koji se najčešće koriste za izradu čajeva su: cvet, list i koren ali u njima se, pored lekovitih sastojaka, nalaze i balastne materije koje su nepoželjne i mogu umanjiti delovanje lekovitih supstanci (belančevine, masti, smole).

Od važnijih sastojaka čaj sadrži: tanin, katehin, flavonoid, teanin i kofein. Pored ovih jedinjenja čaj sadrži i teobromin, teofilin i zanemarljive količine ugljenih hidrata, masti i proteina.

Tanini su heterogena grupa polifenola, tj. polimernih flavonoida, prisutnih u biljkama. Zeleni čaj sadrži znatne količine tanina. Tanini daju gorak ukus. Što duže biljka sazreva, količina tanina se smanjuje, a time i njena lekovitost (*Šarkanj i sar., 2010*).

Katehini pripadaju grupi polifenola. Imaju fenolnu strukturu i antioksidativna svojstva. Najviše katehina imaju beli i zeleni čaj, a crni čaj manje.

Flavonoidi su heterociklična jedinjenja sa kiseonikom kao heteroatomom. Flavonoidi se u velikim količinama mogu naći u voću, zelenom i belom čaju itd.

Tanini su složena polifenolna i bezazotna jedinjenja. Tanini su vrlo rasprostranjeni u biljnom svetu i predstavljaju zaštitu od insekata i ostalih štetoina. Određene karakteristike čaja, kao boja i jačina, zavise direktno od polifenola. Čaj bogat taninima ima veću gustinu i gorčinu, koja se javlja kada se čaj ostavi da odstoji (<http://www.tehnologijahrane.com>).

Kofein je alkaloid. Količina kofeina u čaju zavisi od vrste čaja. Najviše kofeina sadrži crni čaj, gde u jednoj šoljici ima prosečno 50–70 mg kofeina. Kofein draži koru velikog mozga, zbog čega osoba lakše shvata i brže povezuje misli (<http://mediko.sveznadar.info/20Lijekoviti/Caj/Caj.html>).

2.1.2. Podela i priprema čajeva

Postoje tri velike grupe čajeva koje imaju različitu namenu:

- čaj (en. *tea*) - koji se dobija od biljke čaj (*Camellia sinensis*),
- biljni čaj (*herbal tea*) - koji se dobija od raznih lekovitih biljaka,
- voćni čaj (*fruit tea*) – koji se dobija od cvetova, semena, kore raznovrsnih plodova voća (*Piljac-Zegarac i sar., 2010; Khokhar i sar., 2002; Cabrera i sar., 2003;*

Atoui i sar., 2005; Yao i sar., 2006; Anesini i sar., 2008; Naithani i sar., 2006; Fu i sar., 2011).

Pravi čaj ima u sebi kofeina, dok se biljni čaj u najvećoj meri koristi kao lekovito sredstvo narodne medicine.

Osnovne vrste pravih čajeva su (*Wang i sar., 2000*):

- Crni čaj (slika 2.1.3.1.) je potpuno fermentisan i ima tamnu boju. Pije se uglavnom u Americi i Engleskoj.
- Zeleni čaj (slika 2.1.3.2.) nije fermentisan i ima zlatnozelenu boju, prijatnog je ukusa i jako je zdrav. Pije se u Aziji, ali i na Zapadu.
- Oolong (polufermentisani čaj) predstavlja mešavinu crnog i zelenog čaja (*Wang i sar., 2000*).
- Beli čaj je jedna podvrsta zelenog čaja. Sastoji se od najmlađih vršnih listića koji su još uvek prekriveni belom ili srebrnastom dlakom.

Zeleni i crni čaj dobijaju se iz sušenog lišća biljke čajevac (*lat. Camellia sinensis*), ali procesi kojima se dobija konačan proizvod od iste biljke su različiti. Ukoliko se lišće biljke *Camellie sinensis* pre procesa sušenja potpuno fermentiše, dobiće se sušeno lišće za pripremanje crnog čaja, a ukoliko se to isto lišće pre procesa sušenja blanšira, odnosno kasnije ne podleže procesu fermentacije, dobiće se proizvod za pripremu zelenog čaja.

Biljni čaj je biljna infuzija napravljena od svežih ili suvih listova, cvetova ili semena različitih vrsta biljaka. U biljne čajeve ne spada pravi čaj koji se dobija od grma čaja i sa njim nema mnogo zajedničkog. Biljni čajevi nemaju u sebi kofeina. To su napici koji se dobijaju kada se vrelom vodom preliju različite usitnjene biljke. Usitnjene biljke se često prodaju u filter kesicama radi lakšeg korišćenja.

Biljni čajevi mogu da ublaže stres, poboljšaju varenje i ojačaju imunitet. Prepuni su antioksidanasa (*Dufresne i sar., 2001; Wiseman i sar., 2001*). Takođe, biljni čajevi su jako zastupljeni u narodnoj medicini kao alternativni lekovi.

Voćni čajevi ne potiču od biljke *Camellia sinensis*, pa ne spadaju u prave čajeve. Takođe, ne sadrže kofein. Mogu da se konzumiraju u neograničenim količinama.

U današnje vreme sve vrste voća se koriste za pripremu voćnih čajeva. Od toga se najviše koriste: agrumi (limun, pomorandža itd.), jagode, jabuke, borovnica, malina, kupina, kajsija i južno voće (nar, mango, ananas). Voćni delovi (voćne droge) koji se najčešće koriste za izradu čajeva su: cvet, list i koren, ali se u njima, pored lekovitih sastojaka, nalaze i

balastne materije koje su nepoželjne i mogu da umanje delovanje lekovitih supstanci (belančevine, masti, smole).

Na kvalitet kako pravih, tako i ostalih čajeva, utiču procesi primarne (transport i prečišćavanje) i sekundarna prerade (sušenje, usitnjavanje pakovanje i čuvanje) koji slede nakon berbe biljnih sirovina. Dužina i uslovi čuvanja takođe utiču na kvalitet droge. Sušenje se smatra najznačajnijom fazom u proizvodnji čajeva. Svi delovi biljke, uključujući koru i stabljike moraju da se suše na pravilan način, jer u protivnom mogu da istrule. Biljke se pre sušenja ne peru i seku se na sitne delove. Biljke se suše u hladu, ili u toploj prostoriji sa dobrim vazдушnim strujanjem. Osušene biljke treba da su zaštićene od sunčeve svetlosti.

Čajevi mogu da se pakuju na više načina i prema tome se dele na: rinfuz čajeva, filter čajeva i instat čajeva.

Rinfuz čajevi se pakuju u kesice veće zapremine i predstavljaju višedozna pakovanja. Čaj se priprema tako što se svaki put količina čaja odmerava kašikom. Odmerena količina čaja se prelije vrućom vodom, ostavi da stoji poklopljeno nekoliko minuta u zavisnosti od vrste čaja koji se priprema i profiltrira.

Filter čajevi, predstavljaju čajeva ili čajne mešavine čiji je stepen usitnjenosti manji nego kod rinfuz čajeva. Usitnjeni biljni materijali se pakuju u filter kesice koje predstavljaju pojedinačne doze. Filter kesice se najčešće prave od papira, najlona ili svile. Ovako aktivne materije difunduju u rastvor, a biljni material ostaje u kesici. Filter kesice se posle pakuju u sekundarnu i zbirnu ambalažu.

Instant čajevi su postali jako popularni na tržištu u poslednje vreme. Mogu se pripremati kao topli ili kao hladni osvežavajući napici leti. Proizvode se tako što se infuz čaja uparava pod sniženim pritiskom do koncentrovanog rastvora, a ostatak rastvarača se uklanja sušenjem u spray-dryer-u, liofilizacijom ili sušenjem u vakuumu. Tokom sušenja se moraju koristiti niske temperature kako ne bi došlo do gubitka lako isparljivih komponenata. Za pripremu napitka instant čajeva nije neophodna ključala voda i zbog toga se mogu piti kao hladni.

Način spremanja čaja ima uticaja na njegovo dejstvo i zato ga treba pripremati na pravilan način:

- INFUZI se izrađuju od biljaka nežnije strukture, koje sadrže termolabilne supstance (etarska ulja). Lako je znati od kojih biljaka se priprema infuz, jer kada se biljni delovi aromatičnih biljaka protrljaju prstima, oseća se prijatan miris

etarskog ulja (menta, limun). Pripremaju se tako što se biljna droga prelije ključalom vodom, poklopi i ostavi da stoji 10 min. Kvalitet infuza zavisi od kvaliteta samog bilja od koga se sprema čaj, postupka pripreme, ali i od kvaliteta vode.

- DEKOKTI se izrađuju ekstrakcijom biljne droge na povišenoj temperaturi. Npr., dekokt šipurka se priprema tako što se droga prelije vodom i ostavi da ključa na povišenoj temperaturi.
- MACERATI se izrađuju ekstrakcijom biljne droge na sobnoj temperaturi. Biljni delovi se preliju hladnom vodom i ostave da stoje na sobnoj temperaturi. Na ovaj način se pripremaju biljne droge koje sadrže sluzi i termolabilne supstance (beli slez) (<http://www.stetoskop.info/Caj-magicni-napitak-528-s5-content.htm>).

2.1.3. Crni i zeleni čaj

Crni čaj

English breakfast je verovatno jedan od najpoznatijih brendova crnog čaja. To je mešavina više različitih vrsta crnog čaja, uglavnom cejlonskih, indijskih i afričkih. Ovo je jak čaj i obično se pije sa malo mleka.

Earl Gray je još jedna izuzetno poznati brend čaja. On se može naći i u varijanti zelenog čaja, ali originalni *Earl Gray* je crni kineski čaj kome je dodato ulje bregamona. Ima izuzetno prepoznatljivu aromu, miris i ukus i pije se bez ikakvih dodataka (šećera, mleka, limuna itd.).

Crnom čaju je stepen oksidacije viši u odnosu na zeleni čaj, ima jaku aromu i sadrži više kofeina od drugih čajeva sa nižim stepenom oksidacije.

Lekovita svojstva crnog čaja (slika 2.1.3.1.) se prvenstveno ogledaju u smanjenju kardiovaskularnih bolesti. Redovno ispijanje crnog čaja sprečava začepljenje arterija koje dovodi do infarkta srca i mozga. Crni čaj direktno deluje i na srce, mozak, funkcije disanja, zatim umanjuje osećaj umora i pospanosti. Utiče i na bolji rad mišića i refleksa, pa pogoduje sportistima i drugim osobama kod kojih su bitne brze reakcije. Crni čaj ima antioksidativna svojstva (<http://www.stetoskop.info/Caj-magicni-napitak-528-s5-content.htm>).



Slika 2.1.3.1. Crni čaj

Zeleni čaj

Zeleni čaj se gaji na plantažama gde se grm seče do visine 1 m radi većeg broja izdanaka i lakšeg branja listova. Najkvalitetnije vrste se beru u martu, kada su listovi još sasvim mali. Lekoviti delovi biljke zelenog čaja su list i cvet (slika 2.1.3.2.).

Ispitivanje ekstrakta polifenola dobijenih iz listova biljke zelenog čaja pokazalo je da zeleni čaj smanjuje nivo lipida, triglicerida i holesterola u krvi, a time i opasnost od bolesti krvnog sistema. Čaj sadrži i minerale važne za čovekovo zdravlje poput kalijuma, bakra, gvožđa i mangana (*Markos i sar., 1998*).

Odavno je poznato da deluje i diuretski, pomaže protiv celulita jer ograničava apsorpciju masnoće i podstiče površinsku cirkulaciju. Ekstrakt čaja koristi se za negu kože, protiv peruti u kosi, kod opekotina kao i protiv akni. Medicinska istraživanja su potvrdila da ova biljka pokazuje i antikancerogeno dejstvo.

Na plantažama zelenog čaja se između stabljika čaja sadi jasmin. Vremenom listići čaja upijaju ulja jasmína i tako poprimaju njegov miris i aromu (*Chen i Chan, 1996; Chen i sar., 1996*). Često se u kutije ovog čaja dodaju i suvi cvetovi jasmína, međutim njihovo prisustvo je više estetske prirode, jer glavna aroma jasmína dolazi iz eteričnih ulja koja su upili listići samog čaja, tokom zajedničkog rasta na plantažama. Ovo je čaj izuzetno delikatnog ukusa i pije se bez ikakvih dodataka.



Slika 2.1.3.2. Zeleni čaj

2.1.4. Biljni čajevi

Biljni čajevi se dobijaju od raznih lekovitih biljaka. U tu grupu se ubrajaju vitaminsko-lekoviti čajevi, kao što su: čaj od kamilice, čaj od zove, čaj od koprive, čaj od šipaka, čaj od lipe, čaj od hibiskusa, čaj od kantariona, kao i mnogi drugi.

Kineski izraz za biljni čaj znači “čaj za hlađenje”, jer se u Kini smatra da on hladi pregrejani ljudski organizam.

Biljni čajevi su jako zastupljeni u narodnoj medicini kao alternativni lekovi. U našem narodu reč čaj podrazumeva lekoviti biljni čaj (poput čaja od kamilice, čaja od nane, čaja od lipe, čaja od hajdučke trave itd.) i on se neuporedivo više koristi od crnog ili zelenog čaja (<http://www.stetoskop.info>).

Čaj od uve

Uva ili medveđe grožđe (slika 2.1.4.1.) je višegodišnji zimzelena žbun iz porodice vresova (lat. *Ericaceae*) čiji su listovi poznati kao uvin čaj. Raste u borovim i drugim četinarskim šumama i među grmljem po sunčanim obroncima i planinskim pašnjacima. Uglavnom je polegnuti grm obrastao jajastim, čvrstim i kožastim listovima. Cvetovi su beli ili svetloružičasti, rastu u grozdovima, a plod je crvena bobica. Za lek se sakupljaju listovi od maja do jula dok je biljka u cvatu, jer je tada najviše lekovita (*Jančić, 1988*).

Arbutin je najvažnija komponenta sadržana u uvi. Arbutin se u bubrezima razlaže u glukozu i hidrohinon. Ova kombinacija ima antiseptička svojstva koja mogu pomoći u eliminisanju bakterija (<http://www.prirodnamedicina.com>). List se upotrebljava u obliku čaja za lečenje organa za mokrenje. Uva pomaže i kod uvećane prostate i šećerne bolesti (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.1. Čaj od uve

Čaj od kantariona

Kantarion (slika 2.1.4.2.) je višegodišnja zeljasta biljka sa razgranatim koren timer iz istoimene porodice (lat. *Hypericaceae*). Stabljika je uspravna, gola, visine od 20 cm do 100 cm. Cvetovi su žuti, dok je plod bradavičasta čaura. Listovi kantariona su mali, jajasti i bez peteljke, a veličine 1-4 cm. Ova biljka lako se može prepoznati, kada se njen cvet protrlja rukom, tečnost koja izlazi iz njega boji ruku u ljubičasto. Biljka cveta od maja do septembra i tada se i bere (Jančić 1988).

Čaj od kantariona je bogat flavonoidima, glikozidima, fenolnim kiselinama, rutinom, taninom, esencijalnim uljima. Deluje umirujuće, antiseptički, pomaže kod bolesti jetre, bubrega i ima diuretičko svojstvo. Kantarion leči i nemiran san, napade histerije, mesečarenje kao i depresiju. Preporučuje se kod nemogućnosti zadržavanja mokraće, pomaže kod otekline, iščašenja, reumatičnih bolova u zglobovima (*Srećković, 1991*).



Slika 2.1.4.2. Čaj od kantariona

Čaj od hibiskusa

Hibiskus (slika 2.1.4.3.) je biljka malog i patuljastog rasta iz porodice slezova (lat. *Malvaceae*). Postoje i neke vrste hibiskusa koje dostižu visinu i do 4 m, dok im je u sobnim uslovima maksimalna visina oko 150 cm. Hibiskus cveta najčešće od kasnog proleća do rane jeseni. Broj cvetova zavisi od veličine biljke. Najčešće se radi o cvetu sa 4 do 8 latica, čija veličina iznosi od 1 cm do 20 cm. Cvetovi su raznobojni i oni se koriste za pripremu čaja (*Jančić, 1988*).

Čaj od hibiskusa je boje rubina i kiselog je ukusa. Brojna istraživanja dokazala su da čaj od hibiskusa snižava krvni pritisak i visok nivo holesterola. Zbog toga smanjuje rizik od pojave srčanih oboljenja. Prirodan je blagi diuretik. Posедуje brojne antioksidante koji štite krvne sudove i srčani mišić od štetnog dejstva slobodnih radikala (*Srećković, 1991*).



Slika 2.1.4.3. Čaj od hibiskusa

Čaj od majčine dušice

Majčina dušica, divlji bosiljak ili mala mažurana (slika 2.1.4.4.) je višegodišnja poludrvenasta biljka sa veoma razvijenim i razgranatim korenom iz porodice usnatica (lat. *Lamiaceae*). Stablo je razgranato i obraslo sitnim lišćem izduženog oblika. Lišće izbija naspramno na stablu i povijeno je ka zemlji. Na obe strane lista nalaze se mnogobrojne žlezdice. Cvetovi su ružičasto-beli i izbijaju u pazuhu listova. Plod je sastavljen od četiri oraščića u kojima je smešteno sitno seme. Bere se u doba cvetanja cveta i mladica; suši u hladu i na promaji (*Jančić, 1988*). Sadrži gvožđe, eterično ulje, smolu, kalcijum, karvakol, bornol, linalol, pinen.

Čaj od majčine dušice ima antiseptičko dejstvo, efikasan je protiv spazma u bronhijama. Sa uspehom se primenjuje protiv kašlja kod dece (*Životić, 1985*).



Slika 2.1.4.4. Čaj od majčine dušice

Rtanjski čaj

Rtanjski čaj, planinski čubar ili vrijesak (slika 2.1.4.5.) je višegodišnja žbunasta biljka iz porodice usnatica (lat. *Lamiaceae*), visoka od 10 cm do 40 cm čiji su donji delovi stabla i grana odrveneli, poluuspravni ili uspravni. Listovi su kožasti i sjajni linearno-lancelastog oblika, celog oboda pokriveni svetlucavim žlezdama. Cvetovi su dvousno sakupljeni u pazuh listova, sa kruničnim listićima bele, ružičaste ili ljubičaste boje. Plod je jajasta i svetlomrka orašica sa žlezdanim tačkama. Skupljaju se vrhovi cvetova.

Sastav rtanjskog čaja varira od porekla biljke i pravi se od cvetova. Sadrži etarsko ulje i tanine. Koristi se u narodu za lečenje bolesti organa za disanje, varenje i mokraćnog sistema. Spolja se upotrebljava kod upala kože i sluzokože. Uspešno se koristi u lečenju bronhitisa, astme, kašlja i upale disajnih organa kod dece (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.5. Rtanjski čaj

Čaj od koprive

Kopriva (slika 2.1.4.6.) je višegodišnja zeljasta biljka iz porodice usnatica (lat. *Lamiaceae*). Može da naraste do 80 cm, listovi su sroliki, nazubljeni i prekriveni dlačicama. Cvetovi su sivozeleni, viseći. Kopriva izaziva reakciju na koži (crvenilo i peckanje). U ishrani je potpuno bezopasna i lekovita. Kopriva se bere od juna do septembra. List koprive sadrži organske kiseline (oksalnu i mravlju), slobodne amine (acetilholin, betain, holin, histamine i serotonin), flavnoide, karotenoide, tanine, kumarine. Koren koprive sadrži polisaharide, lektine, kumarine i triterpene.

Osušeni list, koren i seme koprive se koriste za čaj. Čaj od koprive je dobar za povećanje broja crvenih krvnih zrnaca, kod upale mokraćnih puteva, čisti lice od akni, leči infekcije usta i desni (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.6. Čaj od koprive

Čaj od šipka

Šipak (slika 2.1.4.7.) je biljka iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*). To je listopadni žbun visok 2-3 m sa dugim debelim i razgranatim granama. Listovi su perasto složeni, dugi do 9 cm. Cvetovi su sa bledoružičastim ili belim kruničnim i zelenim čašičnim listićima i mogu biti pojedinačni ili grupisani. Plodovi su orašice duge do 2 cm. Sazreva u septembru i oktobru. Plod šipka se koristi za pripremu čaja (Jančić, 1988).

Šipak je bogat izvor vitamina C, B, P, K, provitamina A, natrijuma, tanina i flavonoida. Sadrži i limunovu i jabučnu kiselinu, pektin, šećer i etarska ulja. Čaj od šipka jača imunološki sistem, ublažava i sprečava infekciju bešike, glavobolju i vrtoglavicu. Deluje i preventivno u borbi protiv gripa (Životić, 1985).



Slika 2.1.4.7. Čaj od šipka

Čaj od zove

Zova ili bazga (slika 2.1.4.8.) je višegodišnja drvenasta biljka iz porodice kozokrvnica (lat. *Caprifoliaceae*). Niskog je rasta sa uzdužno ispucalom, sivo-smeđom korom. Mlade grane su zelene, prošarane svetlim crticama i sa unutrašnjošću ispunjenom belom srži. Listovi su neparno perasti, naspramni sa listićima čiji je obod testerasto nazubljen. Cvetovi su žućkasto-beli, sićušni, prijatnog mirisa sakupljeni u krupne, štitaste, pljosnate cvetove čija širina dostiže 20 cm. Plod je okrugla u početku zelena, a kasnije crna koštunica sa 3-4 semena. Cvet zove sadrži flavonoide, glikozid sambunigrin, etarsko ulje, hlorogensku kiselinu, triterpene i tanine. Plod zove sadrži šećere, vitamin C, A i B (Jančić, 1988).

Za pripremu čaja se koriste list i cvet. Čaj od listova zove koristi se za pospešivanje izlučivanja mokraćne, nakupljene tečnosti u telu, za lečenje šećerne bolesti kao i za čišćenje i poboljšanje krvi.

Čaj od cvetova zove koristi se u lečenju prehlade, bronhitisa, kašlja, gripa, početne upale pluća, jake kijavice, ospica, teškog disanja, astme, kod početne tuberkuloze i kod svih reumatičnih oboljenja (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.8. Čaj od zove

Čaj od lipe

Lipa (slika 2.1.4.9.) je listopadna drvenasta biljka iz porodice slezova (lat. *Malvaceae*). Doseže visinu od 25 m do 30 m, a starost od nekoliko stotina godina. Listovi lipe su sa dugom peteljkom, većinom srcasti i po obodu testerasti. Cvetovi lipe su mali, petočlani zelenkasto-žute boje, prijatnog mirisa. Cvetanje u junu traje 2 do 3 nedelje, a nekad se desi da prođe i za 5 do 6 dana. Cvet lipe sadrži flavonoide, sluz i etarsko ulje (Jančić, 1988).

Čaj od lipe se tradicionalno koristi kod prehlada, gripa i drugih infektivnih oboljenja disajnih puteva praćenih groznicom, gde je poželjno pojačano znojenje. Koristi se i za ublažavanje grčeva, za smirenje, kao i protiv nesаницe. Oporavlja organizam izložen psihičkim naporima. Čaj od lipe nesme da se upotrebljava u velikim količinama, jer može da izazove srčane tegobe (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.9. Čaj od lipe

Čaj od žalfije

Žalfija, kadulja, kuš, ili slavulja (slika 2.1.4.10.) je višegodišnja, polugrmovita biljka iz porodice usnativa (lat. *Lamiaceae*). Raste do visine od 30 cm do 60 cm. Ima jak koren. Donji delovi stabljike su drvenasti, a gornji zeljasti. Stabljika je uspravna četvorouglasta. Listovi su uski, oblika elipse, sitno naborani sa dugačkim peteljka; na stabljici su nasuprotno poređani. Cvetovi su veliki, tamnoljubičasti i skupljeni u cvasti poput klasova (Jančić 1988).

Lekoviti delovi žalfije su listovi i mlade grančice. List sadrži etarsko ulje čiji su glavni sastojci tujon, cineol i kamfor. Žalfija deluje antiseptično, pa se primenjuje za ispiranje grla kod upala grla i afti. Žalfija deluje i antimikrobno i spazmolitično (opušta glatke mišiće). Reguliše znojenje, podiže tonus i prirodni je antibiotik je širokog spektra dejstva. Efikasan je regulator hormona, lek za čišćenje jetre, za bolesti bubrega i protiv noćnog znojenja. Efikasna je za održavanje zdravlja desni i zuba (Životić, 1985).



Slika 2.1.4.10. Čaj od žalfije

Čaj od mente

Menta, nana ili metvica (slika 2.1.4.11.) je višegodišnja zeljasta biljka, visine od 30 cm do 80 cm, sa uspravno-razgranatom stabljikom iz porodice usnatica (lat. *Lamiaceae*). Biljka je prijatnog i vrlo aromatičnog mirisa. Vreme cvetanja joj je od juna do avgusta. List mente sadrži etarska ulja, flavonoide, tanine i triterpene (Jančić, 1988).

U medicini se upotrebljava kao sredstvo protiv nadimanja, za poboljšanje rada želudca, protiv nervne napetosti, iznemoglosti, glavobolje, doprinosi otklanjanju raznih

tegoba u probavnom traktu. Čaj od nane, osim toga, olakšava i izlučivanje žuči (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.11. Čaj od nane ili mente

Čaj od hajdučke trave

Hajdučka trava (slika 2.1.4.12.) je višegodišnja zeljasta biljka iz porodice glavočika (lat. *Asteraceae*). Stablo dostiže visinu do 1 m i grana se samo u gornjem delu. Listovi su trojno perasto deljeni na veliki broj sićušnih režnjeva. Stablo i listovi su pokriveni dlakama, ali samo kod mladih biljaka, dok kasnije većina dlaka otpada. Osušena biljka je aromatičnog mirisa i ima gorško-aromatičan ukus. Hajdučka trava sadrži flavonoide, etarsko ulje, alkaloidne, poliacetilene, triterpene i sterole (Jančić, 1988).

Čaj od hajdučke trave se koristi u narodnoj medicini upravo zbog svog blagotvornog dejstva na ljudski organizam. Najčešće se upotrebljava kod želudačno-crevnih oboljenja, povišenog krvnog pritiska, kao antitrombičko sredstvo kod moždane i srčane tromboze. U narodnoj medicini je poznato njeno lekovito dejstvo u smirivanju upala kože i sluzokože, lečenju rana i gnojnih procesa, kao i zaustavljanju krvarenja (Životić, 1985).



Slika 2.1.4.12. Čaj od hajdučke trave

Čaj od kamilice

Kamilica (slika 2.1.4.13.) je jednogodišnja biljka i jedna od najpoznatijih lekovitih biljaka iz porodice glavočika (lat. *Asteraceae*). To je biljka sa razgranatom stabljikom visine od 20 cm do 50 cm. Cvet je posebno prijatnog mirisa. Za pripremanje čaja beru se cvetovi i listovi biljke. Glavna aktivna supstanca kamilice jeste etarsko ulje, ali ona sadrži i druge značajne supstance, kao što su: smola, tanin, flavonoidi, guma, sluzi, kumarin i lakton (Jančić 1988).

Koristi se u lečenju razdražljivosti, krstobolje, unutrašnjeg nemira, nesаницe, duševne klonulosti, premorenosti i sl. Korisna je kod oboljenja želudca i creva (grčeva u želudcu, nadutosti želudca, kod viška želudačne kiseline, upale debelog creva i proliva), u lečenju bubrega, jetre i žuči, kao i za ispiranje i pripremanje obloga kod bolesti oka i raznih kožnih bolesti (Srećković, 1991).



Slika 2.1.4.13. Čaj od kamilice

2.1.5. Voćni čajevi

Čaj od višnje

Višnja je plod drvenastih skrivenosemenica iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*). Rasprostranjena je u većem delu Evrope i jugozapadne Azije (Jančić, 2004).

Čaj od višnje je bogat je antocijanima i drugim biljnim pigmentima, koji daju tamnocrvenu boju višnjama i svojim antioksidansnim dejstvom štite ćelije od mutacija i smanjuju rizik od pojave malignih bolesti. Čaj od višnje sadrži kumarin te smanjuje sklonost krvi ka zgrušavanju. Time se smanjuje i rizik od tromboze. Zbog velikog sadržaja kalijuma podstiče izbacivanje tečnosti i tako utiče na sniženje krvnog pritiska. Čaj od višnje sadrži i dosta gvožđa (slika 2.1.5.1.) (Butorac, 1999).



Slika 2.1.5.1. Čaj od višnje

Čaj od jagode

Jagoda je plod skrivenosemenica iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*). Listovi biljke su složeni, sastavljeni od tri liske, cvetovi imaju bele krunične listiće, plod je zbirni (jagoda), a u mesnatoj cvetnoj loži nalaze se brojne orašice (Jančić, 2004) (slika 2.1.5.2.).

List i koren jagode podjednako su lekoviti, kao i plod. Čaj se koristi kao lek protiv probavnih tegoba, upale grla i prehlade. Neutrališe otrove u telu, a koristi se i kod tegoba jetre, srčanih oboljenja i reumatskih oboljenja. Popravlja krvnu sliku, snižava krvni pritisak, umiruje živce i pomaže rastvaranje mokraćne kiseline u krvi. Kod nekih korisnika (naročito kod dece) može da izazove alergiju (Butorac, 1999).



Slika 2.1.5.2. Čaj od jagode

Čaj od maline

Malina je višegodišnja listopadna biljka, žbunastog, ili poližbunastog rasta sa višegodišnjim korenima i jednogodišnjim i drugim dvogodišnjim izdancima. Pripada porodici ruža (lat. *Rosaceae*) (Jančić, 2004).

Čaj od maline sadrži elaginsku kiselinu koja blagotvorno deluje na ćelije koje su oštećene kancerom. Osim elaginske kiseline i drugi sastojci maline, antocijanini i polifenoli, imaju preventivno dejstvo protiv raka. Čaj od listova maline je dobro sredstvo za čišćenje jajovoda i lečenje neplodnosti (slika 2.1.5.3.) (Butorac, 1999).



Slika 2.1.5.3. Čaj od maline

Čaj od šumskog voća

Šumsko voće raste slobodno u prirodi i bogato je vitaminima, vlaknima, pigmentima i polifenolnim jedinjenjima. Ima malu energetska vrednost. Čaj od šumskog voća je obično mešavine lekovitog bilja i voća. Maline, kupine, ribizle, borovnice, šumske jagode, grožđe..., ili kraće, bobičasto voće, pravi su rezervoar lekovitih supstanci. Ove mešavine najčešće sadrže i šipak, pa je čaj bogat i vitaminom C.

Čaj od šumskog voća smanjuju rizik od nastajanja raka. Ublažava umor i iscrpljenost organizma, a preporučuju se i trudnicama (slika 2.1.5.4.) (www.stetoskop.info; www.snagabilja.com; www.lucardo.co.rs).



Slika 2.1.5.4. Čaj od šumskog voća

Čaj od kajsije

Kajsija je kontinentalno koštuničavo voće koje pripada porodici ruža (lat. *Rosaceae*). Sadrži dosta vode i ima malu energetska vrednost. Izuzetno je bogata provitaminom A (beta-karotenom), prirodnim antioksidansom koji štiti organizam od delovanja slobodnih radikala i čuva epitel i sluznicu (slika 2.1.5.5).

Čaj od kajsije sadrži dosta kalijuma, kao i joda, cinka, hroma i mangana. Pomaže kod anemije, jer sadrži folnu kiselinu i bakar. Takođe, čaj od kajsije reguliše krvni pritisak, pomaže u lečenju astme i anksioznosti. Zbog visokog sadržaja šećera, ne preporučuje se dijabetičarima (*Butorac, 1999*).



Slika 2.1.5.5. Čaj od kajsije

Čaj od divlje trešnje

Trešnja je listopadna drvenasta biljka iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*) čiji se plodovi koriste u ljudskoj ishrani kao voće. Na Balkanu se nalazi u mezofilnim šumama. Heliofitna je vrsta i zahteva puno svetlosti (*Kojić, 2003*).

Čaj od divlje trešnje sadrži antocijane, vitamin C, folnu kiselinu, kalcijum i gvožđe. Antocijani u čaju od divlje trešnje imaju i kozmetičko dejstvo. Oni jačaju vezivno tkivo i sprečavaju nastanak bora tako što uništavaju štetne enzime koje kožu čine starom i naboranom (slika 2.1.5.6.) (www.lekovitebiljke.com/voce).



Slika 2.1.5.6. Čaj od divlje trešnje

Čaj od borovnice

Borovnica je žbunasta biljka iz porodice vresova (lat. *Ericaceae*). Plod je bobica plavocrvene boje i kiselog ukusa, u njemu se nalazi veliki broj semena (slika 2.1.5.7.).

Plod borovnice je bogat izvor biljnih pigmenta, flavonoida i anticijana, Antocijani borovnice povećavaju proizvodnju rodopsina, pigmenta, koji pomaže oku da se adaptira na promene količine svetlosti (*Butorac, 1999*).

Čaj od borovnice deluje povoljno na srce, krvne sudove, kožu i imuni sistem. Pomaže u sprečavanju slepljivanja krvnih zrnca, čime se smanjuje rizik od stvaranja ugruška, što je bitno kod srčanog i moždanog udara.



Slika 2.1.5.7. Čaj od borovnice

Čaj od jabuke sa cimetom

Jabuka je plod drvenastih biljaka iz porodice ruža (lat. Rosaceae). Jabuka je bogata pektinima, taninima i voćnim kiselinama. Koristi se za uspostavljanje normalnog funkcionisanja creva, kao i za uspostavljanje elektrolitičke ravnoteže (*Bushway i sar., 2002*).

Cimet uspeva u tropskoj Aziji, Indiji i Indoneziji, a prvi put je pomenut 2800 godina pre nove ere. Sadrži hranljive materije i lekovite sastojke: biljna vlakna, vosak, gvožđe, kalcijum, mangan, minerale i tanine. Jača srce, želudac i živce, osvežava krv, pomaže kod slabe probave, ima značajno antioksidativno dejstvo, pomaže varenje hrane.

Čaj od jabuke je u suštini crni čaj sa aromom jabuke (slika 2.1.5.8.). Izuzetno je popularan u Turskoj gde se smatra nacionalnim napitkom. Čaj od jabuke u svom sastavu ima antioksidante (katehin i kvercetin), minerale (magnezijum, natrijum, kalijum,...), aminokiseline i vitamine B, C i E (<http://cajeviza.net/caj-od-jabuke/>).



Slika 2.1.5.8. Čaj od jabuke sa cimetom

Čaj od nara

Nar je plod grma ili drveta koje uspeva u krajevima sa toplijom klimom. Biljka ima uspravne i razgranate grane, cvetovi su zvonoliki, a plod veličine jabuke je žućkasto-crvene boje. Unutar ploda nalaze se jestive, slatke i sočne semenke koje imaju po jednu ovalnu košticu.

Čaj od nara je bogat fosforom, kalijumom, kalcijumom i gvožđem, a sadrži i vitamin B3 (niacin) i vitamine B1, B2, B6 i B5 (slika 2.1.5.9.) (www.herbateka.eu/node/2542).



Slika 2.1.5.9. Čaj od nara

Čaj od ananasa

Ananas je plod monokotiledonih biljaka iz porodice bromelija (lat. *Bromeliaceae*). Ananas se uvrstava među najlekovitije biljke. Kod ananasa je sve upotrebljivo i korisno za ljudski organizam.

List ananasa se može koristiti kao čaj. Osim listova i kora ananasa je takođe jako bitna i lekovita. Čaj od ananasa štiti organizam od negativnih posledica stresa. Njegovi sastojci, pogotovo bromelain, utiču na rad creva i uništavaju bakterije u njima (slika 2.1.5.10.) (www.zdravlje-bilje.com/srp/voce-i-povrce.36/ananas-egzoticna).



Slika 2.1.5.10. Čaj od ananasa

Čaj od južnog voća

Južno voće (nar, mango, grejpfrut...) je lekovito bilje koje se u kombinaciji sa plodom kafe tradicionalno koristi za poboljšanje opšteg stanja organizma.

Čajna mešavina je obogaćena sa 10 vitamina, koji dodatno podstiču mehanizam odbrane organizma. Plod kafe je veoma snažan antioksidans jer sadrži hlorogensku, ferulinsku i kafeinsku kiselinu, kao i visok sadržaj polifenola koji pozitivno utiču na metaboličke procese u organizmu, oslobađajući ga štetnih slobodnih radikala (slika 2.1.5.11.) (www.zdravlje-bilje.com/srp/voce-i-povrce.36/ananas-egzoticna).



Slika 2.1.5.11. Čaj od južnog voća

Čaj od aronije

Aronija je listopadno žbunje koje pripada grupi porodice ruža (lat. *Rosaceae*).

Naučnici širom sveta su se početkom 90-tih godina prošlog veka zainteresovali za ovu biljku i od tada počinje veliki broj studija u SAD, Poljskoj i Rusiji o njenim lekovitim svojstvima, tako da ubrzo dobija status lekovite biljke (*Bran, 2010*).

Zreli plodovi aronije sadrže velike količine biofenola, tanina, katehina, flavonida, antocijanina, folne kiseline, vitamina A, C, E, B2, B6, B9 i veoma redak vitamin P. Od minerala tu su kalijum, kalcijum, gvožđe, mangan, molibden, jod i fosfor. Pored toga sadrži i voćni šećer sorbitol.

Čaj od aronije zadržava sve osobine ovog lekovitog bobičastog voća. Kod nas je u širokoj upotrebi čaj od lista aronije, dok se u nekim zemljama pravi i čaj od bobica. Čaj od lista aronije se koristi za stomadne i probavne smetnje, kao i za podsticanje zarastanja rana.

Takođe, čaj od aronije se može koristiti i za lečenje zdravstvenih problema koji su vezani za oksidativni stres: kardiovaskularne bolesti, arteroskleroza, artritis i određene neurološke bolesti.



Slika 2.1.5.12. Čaj od aronije

2.2. Polifenolna jedinjenja

Polifenolna jedinjenja su veoma rasprostranjeni proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka i antioksidativno delovanje biljnih ekstrakata uglavnom se vezuje za njihovo prisustvo. Poznato je više od 8000 polifenolnih jedinjenja, koja se po svojoj strukturi veoma razlikuju, od jednostavnih molekula kao što su fenolne kiseline do visoko polikondenzovanih jedinjenja kao što su tanini. Zajednička karakteristika polifenolnih jedinjenja je da sadrže aromatični prsten sa jednom ili više hidroksilnih grupa koje mogu biti metilovane ili esterifikovane. Do danas je identifikovano više od hiljadu različitih prirodnih polifenola, u slobodnom obliku ili češće u obliku glikozida (*Leucuta i sar., 2005*).

Postoje različite klasifikacije polifenolnih jedinjenja i većina je zasnovana na hemijskoj strukturi. Ova jedinjenja se mogu podeliti u sledeće grupe (*Hurtado-Fernández i sar., 2010*):

1. Prosti polifenoli

- fenolne kiseline (derivati benzoeve i cimetne kiseline),
- kumarini.

2. Polifenoli

- flavonoidi (flavanoni, flavoni, flavonoli, katehini, antocijani),
- tanini (hidrolizabilni i kondenzovani).

Takođe postoji podela na osnovu broja C-atoma koji čine skelet polifenolnih jedinjenja (tabela 2.2.1.) (Robards i sar., 1999). Najzastupljenija polifenolna jedinjenja su: fenolne kiseline (derivati benzoeve i cimetine kiseline), flavonoidi i dihidrohalkoni. U tabeli 2.2.1. data je podela polifenolnih jedinjenja po klasama.

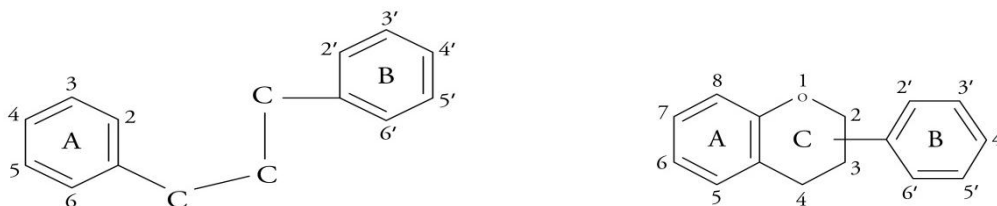
Tabela 2.2.1. Podela polifenolnih jedinjenja

Broj C-atoma skeleta	Grupa	Odabrani predstavnik grupe
	benzohinoni	
C ₆ -C ₁	fenolne kiseline	<i>p</i> -hidroksibenzeova kiselina
C ₆ -C ₂	fenilsirćetne kiseline	<i>p</i> -hidroksifenilsirćetna
C ₆ -C ₃	cimetine kiseline	kafena kiselina, ferulna kiselina
	fenilpropeni	eugenol, miristicin
	kumarini	umbeliferon, eskuletin, skopolin
	hromoni	eugenin
C ₆ -C ₄	naftohinoni	juglon
C ₆ -C ₁ -C ₆	ksantoni	mangostin, magniferin
C ₆ -C ₂ -C ₆	stilbeni	razveratrol
	antrahinoni	
	fmodini	
C ₆ -C ₃ -C ₆	flavonoidi	
	flavoni	apigenin, luteolin, sinensitin, nobiletin, izosinensitin, tangeretin, diosmin
	flavonoli	kvercetin, kemferol
	flavonol glikozidi	rutin
	flavanoli	dihidrokvercetin i dihidrokemferol glikozidi
	flavanoni	hesperidin, naringenin
	flavanon glikozidi	hesperidin, neohesperidin, narirutin, naringinin, eriocitrin
	antocijani	glikozidi peralgonidina, peonidina, delphinidina,

		petunidina, cijanidina
	katehini	katehin, epikatehin, galokatehin, epigalokatehin
	halkoni	floridžin, arbutin, halkonarigenin
$(C_6-C_3)_2$	lignini	pinorezinol
$(C_6-C_3-C_6)_2$	biflavonoidi	agatisflavon, amentoflavon

2.2.1. Flavonoidi

Flavonoidi su najzastupljenija grupa fenolnih jedinjenja u biljkama, čija osnovna struktura je difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$). Poznato je oko 4000 - 5000 raznih vrsta flavonoida (Milić i sar., 2000). Ugljenikov skelet flavonoida sadrži dva benzenova prstena (A i B) međusobno povezana tročlanim ugljeničnim nizom, koji sa atomom kiseonika formira heterociklični prsten C.



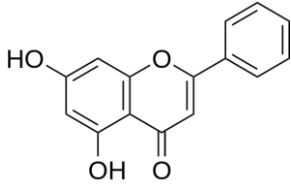
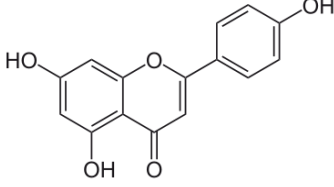
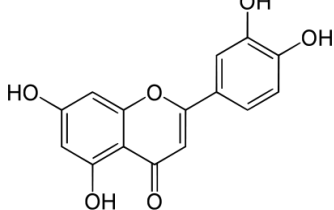
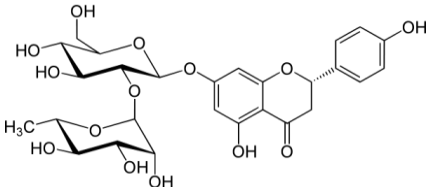
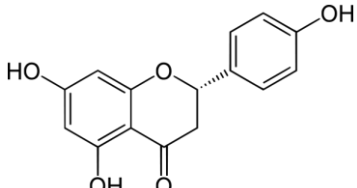
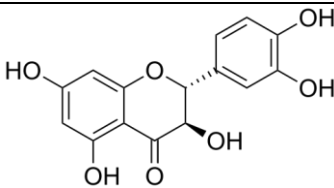
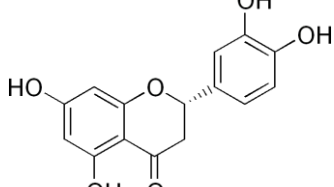
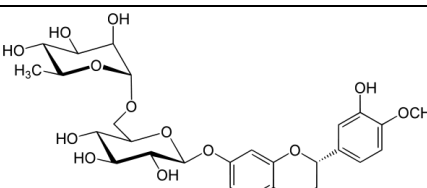
Slika 2.2.1.1. Osnovni skelet flavonoida

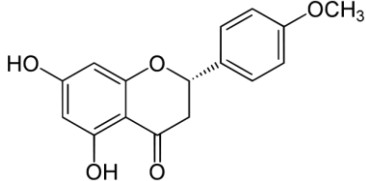
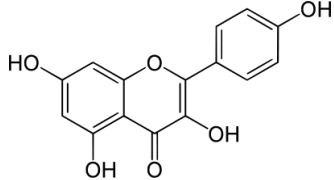
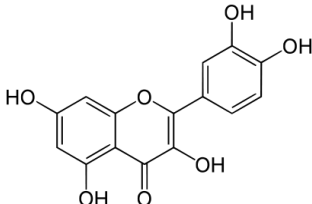
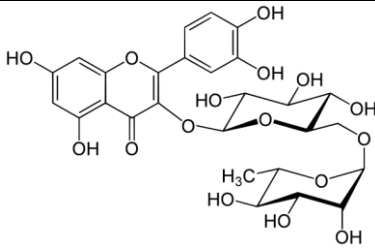
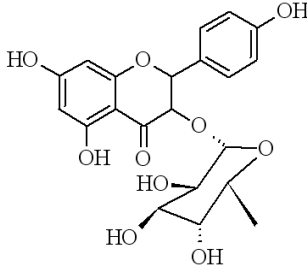
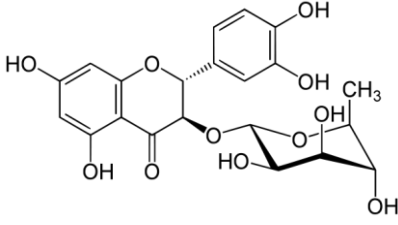
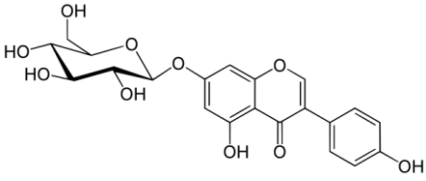
Osnovno jedinjenje, po kojem je čitava grupa dobila ime, izolovao je 1985. godine Kostanesku i nazvao ga flavon po latinskoj reči *flavus*, što znači žut.

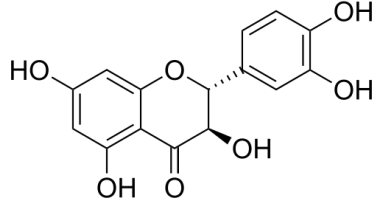
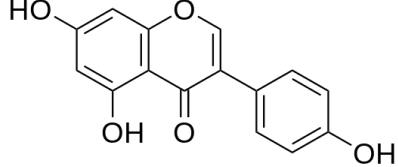
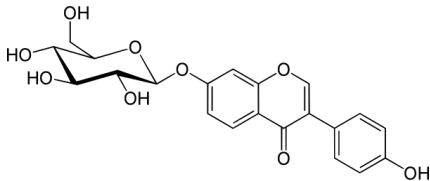
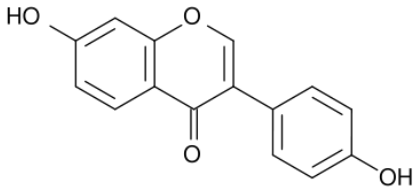
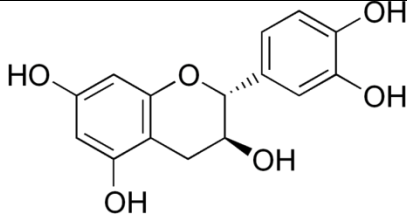
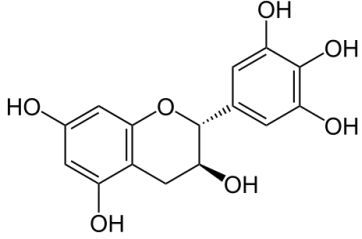
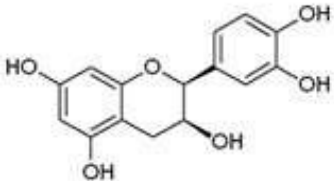
U tabeli 2.2.1.1. data je podela flavonoida, a u tabeli 2.2.1.2. njihovo prisustvo u namirnicama.

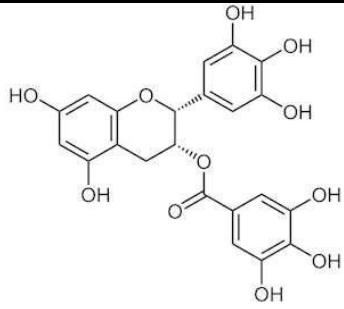
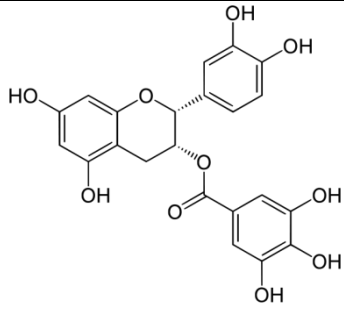
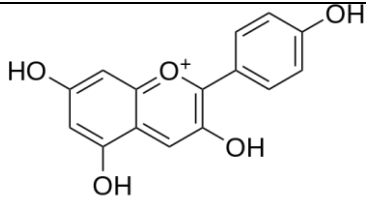
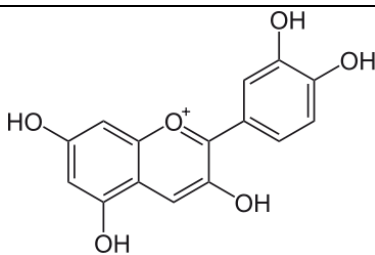
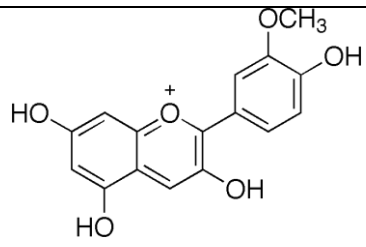
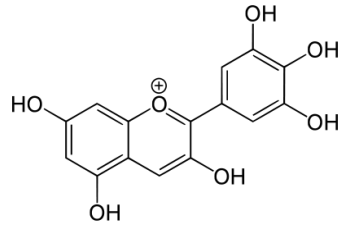
Tabela 2.2.1.1. Podela flavonoida

Klasa	Ime	Položaj i vrsta substitucije	Struktura
-------	-----	------------------------------	-----------

Flavoni	krizin	5,7 - OH	
	apigenin	5,7,4' - OH	
	luteolin	5,7, 3',4'- OH	
Flavanoni	naringin	5,4' - OH; 7- glukoza	
	naringenin	5,7,4' - OH	
	taksifolin	3,5,7,3'4' - OH	
	eriodiktiol	5,7,3'4' - OH	
	hesperidin	3,5,3'- OH; 4' - OMe; 7 - rutinoza	

	isosakuranetin	5,7 - OH; 4' - Ome	
Flavonoli	kamferol	3, 5,7,4' - OH	
	kvercetin	3, 5,7,3',4' - OH	
	rutin	5,7,3',4' - OH; 3 - rutinoza	
Flavononoli	engeletin	5,7,4' - OH; 3 - O-ramnoza	
	astilbin	5,7,4',5' - OH; 3 - O-ramnoza	
	genistin	5,4' - OH; 7 - glukoza	

	taksifolin	3,5,7,4',5' - OH	
Izoflavoni	genistin	5,7,4' - OH	
	daidzin	4' - OH; 7 - glukoza	
	daidzein	4',7- OH	
Flavanoli	(+)-katehin	3,5,7,3',4' - OH	
	(+)-galokatehin	3,5,7,3',4',5'-OH	
	(-)-epikatehin	3,5,7,4',5' - OH	

	(-)- epigalokatehin	5,7,3',4',5'-OH; 3 – galat	
	(-)-epikatehin galat	5,7,3',4'- OH; 3 – galat	
Antocijani	pelargonidin	3,5,7,4' – OH	
	cijanidin	3,5,7,4',5'- OH	
	peonidin	3,5,7,4'- OH 3' – Ome	
	delfinidin	3,5,7,3',4',5'- OH	

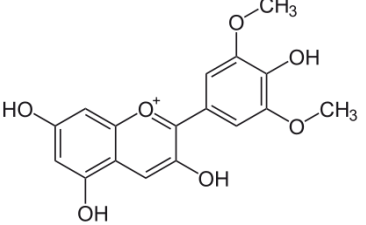
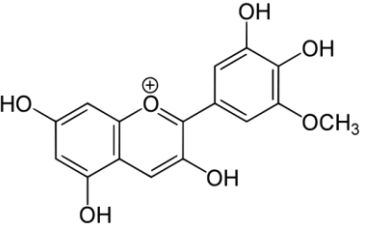
	malvidin	3,5,7,4' - OH; 3',5' - OMe	
	petunidin	3,5,7, 3',4'-OH; 5' - OMe	

Tabela 2.2.1.2. Prisustvo flavonoida u namirnicama

Klasa	Ime	Nalaženje u namirnicama
Flavoni	krizin	ljuska voća
	apigenin	peršun, celer, zeleni čaj, zelena salata
	luteolin	celer, zelena paprika, šargarepa, majčina dušica, kamilica, ruzmarin, nana, maslinovo ulje, origano, pomorandža
Flavanoni	naringin	citrusno voće, grejfrut
	naringenin	citrusno voće
	taksifolin	citrusno voće
	eriodiktiol	limun
	hesperidin	pomorandža
	isosakuranetin	citrusno voće
Flavonoli	kamferol	praziluk, brokoli, grejfrut, crni čaj
	kvarcetin	crni luk, zelena salata, brokoli, paradajz, čaj, jabuke, maslinovo ulje
	rutin	heljda, citrusno voće, crvena paprika, crveno vino, kožica paradajza
Flavononoli	engeletin	belo grožđe
	astilbin	belo grožđe
	genistin	soja

	taksifolin	voće
Izoflavoni	genistin	soja
	daidzin	soja
	daidzein	soja
Flavanoli	(+)-katehin	zeleni i crni čaj, kakao, kafa, crno vino, čokolada
	(+)-galokatehin	crni i zeleni čaj, kakao
	(-)-epikatehin	crni i zeleni čaj, kakao, crno vino, čokolada
	(-)-epigalokatehin	crni i zeleni čaj, kakao
	(-)-epikatehin galat	crni i zeleni čaj, čokolada
Antocijani	pelargonidin	jagoda, brusnica, borovnica, šljiva, kupina, ribizla, aronija
	cijanidin	višnja, malina, jagoda
	peonidin	sveža brusnica, borovnica, šljiva, grožđe, višnja, sirovi crni pirinač
	delfinidin	borovnica, crna ribizla, aronija, kupina
	malvidin	pasulj, borovnica, višnja, crno grožđe, crno vino
	petunidin	borovnica, višnja, crno grožđe, crno vino

U zavisnosti od stepena oksidacije centralnog piranovog prstena, kao i od pozicije sekundarnog aromatičnog prstena flavonoidi su podjeljeni u više klasa i potklasa:

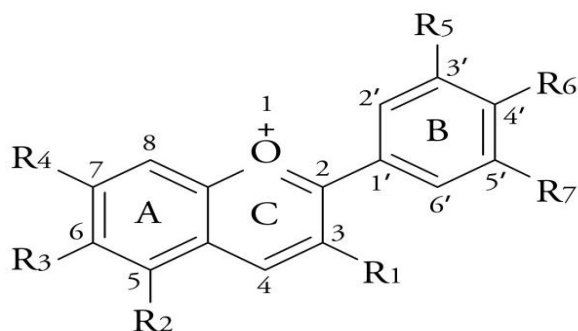
1. Fenilhromoni (pravi flavonoidi)
 - flavoni, flavanoli (monomerni i dimerni),
 - flavanoni i dihidroflavonoli,
 - izoflavoni i izoflavononi,
2. Fenilhromani (gradivne jedinice tanina)
 - flavani,
 - flavan-3-oli i flavan-3,4-dioli,
3. Halkoni i dihidrohalkoni
4. Auroni i antocijani.

2.2.2. Antocijani

Antocijani su glikozidovani antocijanidini. Reč antocijani, potiče od grčke reči *antho*, što znači cvet i *kyanos*, što znači plav. To su prirodni pigmenti koji daju jarke boje različitim biljkama. Konjugovane veze u njihovoj strukturi uzrokuju apsorpciju svetlosti na oko 500 nm, što je osnova pojave boja kao što je plava, crvena ili ljubičasta.

Potklasa flavonoida su antocijanidini, koji strukturno predstavljaju aglikone, dakle neglikozidovane molekule. To su biljni pigmenti rastvorljivi u vodi koji cveću, voću i povrću daju plavu, purpurnu i crvenu boju (*Milić i sar., 2000*) Sastoje se od aromatičnog prstena,

kondenzovanog sa heterociklusom sa kiseonikom, koji je vezan za treći aromatični prsten (slika 2.2.2.1.).



Slika 2.2.2.1. *Struktura antocijanidina*

U prirodi je poznato šest antocijanidina: pelargonidin, cijanidin, peonidin, delfinidin, petunidin i malvidin (tabela 2.2.1.1.). Razlikuju se po broju i položaju hidroksilnih grupa, kao i broju metilovanih hidroksilnih grupa. Varijacije u strukturi potiču i od glikozidnih delova, kao i zbog acilovanja šećernih grupa različitim kiselinama. Najzastupljeniji u prirodi su glikozidni derivati cijanidina, delfinidina i pelargonidina. Smatra se da čine 80% pigmenata u lišću, 50% pigmenata u cvetovima.

Glavni izvori antocijana u jestivim biljkama su porodice biljaka *Vitaceae* (grožđe), *Rosaceae* (višnja, šljiva, jagoda, malina, kupina), *Saxifragaceae* (crvena i crna ribizla) i *Ericaceae* (borovnica i brusnica). Antocijani su važni zbog svoje antioksidativne aktivnosti, ali se sve više koriste i kao prirodne boje u prehrambenoj industriji. Vrlo su nestabilni i brzo se razlažu do bezbojnih derivata, a na kraju do nerastvornih braon pigmenata.

Veliki je broj faktora koji utiču na stabilnost antocijana, uključujući pH, svetlost, kiseonik, enzime, askorbinsku kiselinu, šećere, metalne jone i kopigmente. Temperaturna obrada je najčešći način konzervisanja hrane. To je ujedno i najznačajniji faktor koji utiče na stabilnost antocijana, a time i na njihovu boju i nutritivne osobine. Što se tiče uticaja pH, antocijani reverzibilno trpe strukturne promene sa promenom pH, što se najviše odražava na boju. Pojavu i promenu boja je prvi objasnio Poling, navodeći da je rezonantna struktura flavijum katjona odgovorna za boju. Flavijum katjon je stabilan jedino na niskoj pH vrednosti. Kako pH vrednost raste do pH=4-5 boja flavijum katjona (crvena) prelazi u bezbojnu (hromenol). Na pH=6-7 boja je ljubičasta a na pH=7-8 je tamnoplava. Nakon pH=8, dobija se halkan žute boje. Na višim pH vrednostima, boja se može stabilizovati viševalentnim katjonima (Al^{3+} , Fe^{3+}). Takođe je utvrđeno da povećanje broja hidroksilnih grupa vodi ka plavoj boji, a građenje glikozida i metilovanje ka crvenoj.

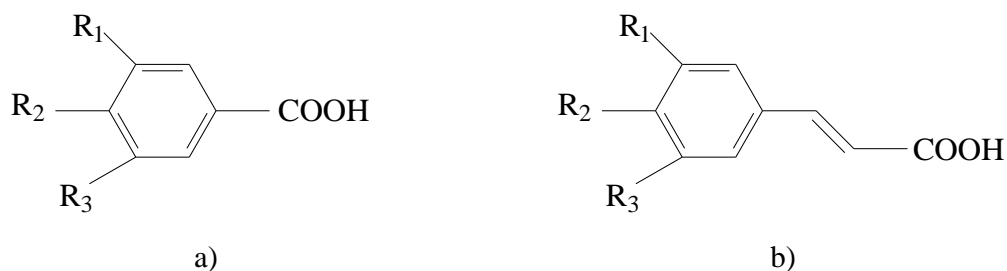
Mnoge *in vivo* studije pokazuju da unos flavonoida smanjuje rizik nastanka raka želuca, debelog creva i dojke. Istraživanja pokazuju da flavonoidi maskiraju mesta vezivanja kancerogenih agenasa na DNK, štiteći na taj način nasledni materijal ćelije od mogućeg uticaja kancerogenih agenasa.

2.2.3. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su sekundarni metaboliti rasprostranjeni isključivo u biljnom svetu. Ova jedinjenja su zaslužna za jedinstven ukus i aromu povrća i voća (*Tomas-Barberan i sar., 2001*). Fenolne kiseline su jedinjenja koja obuhvataju veliku gupu široko rasprostranjenih hidroksi-derivata cimetine i benzojeve kiseline (slike 2.2.3.1. i 2.2.3.2.) (*Robbins, 2003*).

Hidroksicimetine kiseline se u biljkama mogu naći u slobodnom obliku ili u obliku mnogobrojnih estara, kao na primer sa hinskom kiselinom (hlorogenska kiselina), vinskom kiselinom (kaftarna kiselina), glukozom (1-*O* cinamoilglukoza), holinom (sinapin) i drugim. Galna kiselina ulazi u sastav mnogih tanina (galotanini, kao što je pentagaloilglukoza), jedinjenja nađenih ubiljkama, a korišćenih od davnina za štavljenje kože.

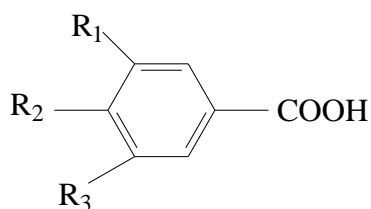
Od ukupne količine unetih polifenolnih jedinjenja, jedna trećina su fenolne kiseline (slika 2.2.3.1.), a preostale dve trećine su flavonoidi. U tabeli 2.2.3.1. je prikazana podela fenolnih kiselina (*Robards i sar., 1999*).



Slika 2.2.3.1. Fenolne kiseline: a) derivati benzojeve kiseline, b) cimetne kiseline

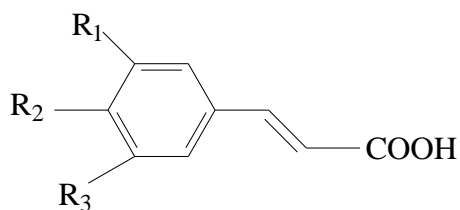
Tabela 2.2.3.1. Podela fenolnih kiseline

Derivati benzojeve kiseline



Kiselina		R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	4-hidroksi-benzojeva kiselina	H	OH	H
protokatehinska kiselina	3,4-dihidroksi-benzojeva kiselina	OH	OH	H
vanilinska kiselina	4-hidroksi-3-metoksi-benzojeva kis.	OCH ₃	OH	H
siringinska kiselina	3,5-dimetoksi-benzojeva kiselina	OCH ₃	OH	OCH ₃
galna kiselina	3,4,5-trihidroksi-benzojeva kiselina	OH	OH	OH

Derivati cimetne kiseline



Kiselina		R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -kumarna kiselina	4-hidroksi-cimetna kiselina	H	OH	H
kafena kiselina	3,4-dihidroksi-cimetna kiselina	OH	OH	H
ferulinska kiselina	4-hidroksi-3-metoksi-cimetna kiselina	OCH ₃	OH	H
sinapinska kiselina	4-hidroksi-3,5-dimetoksi-cimetna kiselina	OCH ₃	OH	OCH ₃

U tabelama 2.2.3.2 i 2.2.3.3. je dato nalaženje fenolnih u namirnicama.

Tabela 2.2.3.2. Nalaženje fenolnih kiselina (derivata benzoeve kiseline) u namirnicama

Kiselina	Nalaženje u namirnicama
<i>p</i> -hidroksibenzoeva kiselina	akai, zeleni čaj, pivo
protokatehinska kiselina	akai, zeleni čaj, pivo, pečurke
vanilinska kiselina	akai, crveno vino, sirće
siringinska kiselina	akai, crveno vino, sirće
galna kiselina	vino, pivo, crna čokolada, zeleni čaj, kupina, mango

Tabela 2.2.3.3. Nalaženje fenolnih kiselina (derivata cimetine kiseline) u namirnicama

Kiselina	Nalaženje u namirnicama
<i>p</i> -kumarna kiselina	kikiriki, paradajz, vino, šargarepa, beli luk, pasulj, sirće, pivo
kafena kiselina	čaj, pivo, vino
ferulinska kiselina	kafa, jabuka, artičoka, kikiriki, pomorandža, ananas, akai, pasulj, pirinač, zob, pšenica
sinapinska kiselina	seme slačice, sirće

2.3. Metali u ljudskoj ishrani

Mineralne materije predstavljaju neorganske elemente koji čine posebnu grupu bitnih faktora ishrane. Održavaju hemijsku ravnotežu organizma, učestvuju u njihovoj izgradnji i posreduju u mnogim životnim funkcijama. U prirodi se nalaze u zemljištu i u vodi, a odatle dospevaju u biljni i životinjski organizam. Živi organizmi ih ne stvaraju sami, te ih moraju unositi putem ishrane.

Biljke se snabdevaju mineralnim materijama iz zemljišta, a životinje i ljudi raznovrsnom ishranom. Kod odrasle osobe minerali čine čak oko 4% telesne mase. Najviše ih ima u kostima.

Danas je poznato da mineralne materije imaju sledeće uloge:

- održavaju koncentraciju vodonikovih jona na određenom nivou,
- izgrađuju skelet i koštano tkivo,
- učestvuju u izgradnji gotovo svih ostalih ćelija organizma, uključujući tu i izgradnju telesnih tečnosti: krvi, limfe, citoplazme, protoplazme,
- održavaju osmotski pritisak, od koga zavisi normalan mehanizam ishrane ćelije i ravnoteže tečnosti u organizmu,
- regulišu metabolizam vode,
- održavaju koloidno stanje, koje je važno pri nekim hemijskim reakcijama u ćelijama i tkivima organizama.

Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (*eng. World Health Organization-WHO*, 1996), elementi u tragovima se na osnovu hranljivog značaja koji imaju za ljudski organizam dele u tri grupe:

- esencijalni elementi,
- elementi koji su najverovatnije esencijalni i
- potencijalno toksični elementi koji nemaju nikakvu esencijalnu funkciju.

Prema Daničiću (2012), minerali se dele na:

- esencijalne ili glavne: kalcijum, magnezijum, fosfor, natrijum, kalijum, hlor,
- esencijalne u tragovima: gvožđe, bakar, hrom, cink, jod, selen, fluor, kobalt, mangan, molibden,
- verovatno esencijalne u tragovima: silicijum, nikel, kalaj, vanadijum i
- neesencijalne: arsen, živa, olovo, aluminijum, bor, zlato, srebro, titan, litijum, stroncijum, germanijum, kadmijum, bizmut, rubidijum, brom.

Nedostatak, kao i povišene koncentracije neesencijalnih elemenata, mogu imati negativan uticaj na zdravlje ljudi. Sadržaj metala u namirnicama je definisan maksimalno dozvoljenim koncentracijama, koje predstavljaju onu količinu toksične supstance koja kod odrasle osobe od 70 kg, konzumiranjem tokom celog života, neće izazvati neželjene, toksične efekte.

Koji metal, odnosno metali su prisutni u čajevima obično zavisi od tipa (zeleni ili crni) i geološkog porekla. Do kontaminacije čaja teškim metalima može doći tokom gajenja biljnih vrsta (utiče sastav zemljišta, veštačka đubriva), kao i tokom procesa proizvodnje i pakovanja.

Određivanje sadržaja metala u čajevima je veoma važno da bi se odredilo da li se njihova koncentracija nalazi u okviru dozvoljenih vrednosti, odnosno da li je kvalitet čaja zadovoljavajući, tako da ne utiče negativno na zdravlje ljudi koji ga konzumiraju (*Perić-Grujić, 2009*).

2.3.1. Mikro i makroelementi u čajevima

Čaj je bogat kako organskim, tako i neorganskim komponentama. Odličan je izvor kalijuma, magnezijuma i gvožđa.

Pored ovih metala u čaju se mogu naći i teški metali. Zbog svoje postojanosti, visoke toksičnosti i sklonosti da se akumuliraju u ekosistemu, teški metali su opasni za žive organizme. Teški metali koji najčešće kontaminiraju čajeve su: nikl, olovo, kobalt i kadmijum.

Maksimalno dozvoljene vrednosti (MDK) ovih elemenata u hrani regulisani su *Pravilnikom o količinama metala, metaloida i drugih otrovnih supstanci, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstanci koje se mogu naći u namirnicama (Sl. gl. RS 25/2010 i 28/2011)*. Dozvoljene koncentracije za Pb i As u čaju i domaćem čaju date su u tabeli 2.3.1.1., dok za Cd, Hg, Zn, Sn, Cu i Fe nisu propisane dozvoljene koncentracije. Takođe, MDK vrednosti za teške metale u čajevima nisu propisane evropskim i svetskim regulativama. Sa druge strane, prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (*WHO, 1998*) i Američkoj administraciji za hranu i lekove (US FDA, 2001), maksimalno dozvoljena koncentracija olova u biljnom materijalu je 10 mg/kg. Takođe, prema Američkoj administraciji za hranu i lekove (US FDA, 2001), maksimalno dozvoljene koncentracije Cd i As u biljnom materijalu su 0,3 mg/kg i 10 mg/kg, a prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (*WHO, 1998*), MDK vrednost za Cd u hrani je 0,3 mg/kg.

Tabela 2.3.1.1. Dozvoljene koncentracije (mg/kg) metala u čaju

	Pb	Cd	Hg	Zn	Sn	As	Cu	Fe
Čaj	2	-	-	-	-	1	-	-
Domaći čaj	5	-	-	-	-	1	-	-

2.4. Antioksidativna aktivnost

2.4.1. Slobodni radikali

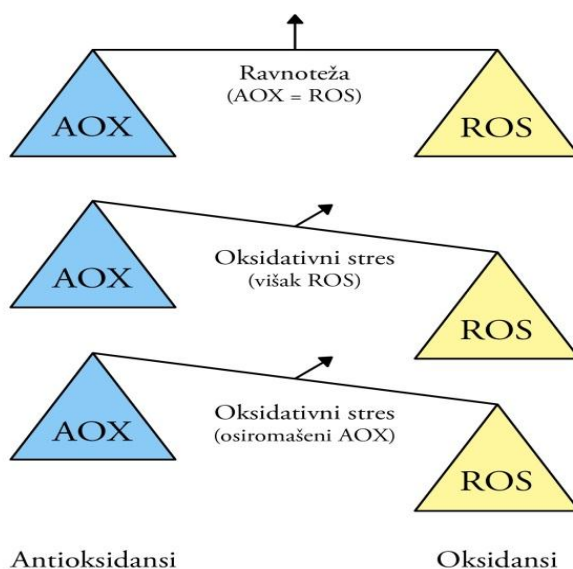
Slobodni radikali predstavljaju jone, atome i molekule koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u svojoj strukturi. Nespareni elektroni su uzrok njihove visoke i neselektivne aktivnosti i nestabilnosti. Elektroni mogu biti neutralni, ali i negativno (radikal-anjon) i pozitivno (radikal-katjon) naelektrisani. Slobodni elektronski par se može nalaziti na atomima različitih elemenata pa se slobodni radikali dele na radikale (slobodnoradikalske vrste) kiseonika, hlora, azota itd (Čeković, 2000).

Reaktivne vrste se dele na reaktivne slobodnoradikalske i neradikalske (oksidaciona sredstva koja lako prelaze u slobodne radikale). Najvažnije reaktivne vrste kiseonika date su u tabeli 2.4.1.1.

Tabela 2.4.1.1. Najvažnije reaktivne vrste kiseonika

Slobodnoradikalske vrste	Neradikalske vrste
superoksid anjon radikal, $O_2^{\cdot-}$	vodonik peroksid, H_2O_2
hidroksil radikal, OH^{\cdot}	hipobromna kiselina, HOBr
hidroperoksil radikal, HOO^{\cdot}	hipohlorna kiselina, HOCl
peroksil radikal, ROO^{\cdot}	ozon, O_3
alkoksil radikal, RO^{\cdot}	singletni kiseonik, 1O_2
karbonatni radikal, $CO_3^{\cdot-}$	organski peroksid, ROOH
ugljenoksidni radikal, $CO_2^{\cdot-}$	peroksinitrit, ONOO

U normalnim uslovima, nastajanje toksičnih i drugih slobodnih radikala u ravnoteži je sa antioksidativnim sistemom odbrane organizma. Stanje u kome je ravnoteža između oksidanata i antioksidanata pomeren u stranu oksidanata, naziva se oksidativni stres (Halliwell i sar., 2004; Zirojević i sar., 2002). Nastajanje reaktivnih vrsta kiseonika i drugih slobodnih radikala u biološkim sistemima može biti indukovano različitim endogenim (prooksidativni enzimski sistemi, proces ćelijske respiracije, fagocitoze, itd) i egzogenim (zračenje, kontaminiran vazduh, itd) faktorima. Oksidativni stres dovodi do oksidativnih oštećenja primarnih biomolekula i nastanka mnogih oboljenja, kao što su: arteroskleroza, kancer, kardiovaskularna oboljenja, astma artitis, gastritis, dermatitis, dijabetes, bolesti jetre, bolesti bubrega, zapaljenski procesi, Alchajmerova bolest, Parkinsonova bolest itd (slika 2.4.1.1).



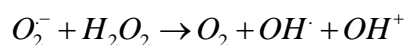
Slika 2.4.1. 1. Oksidativni stres

Neki slobodni radikali nastaju i u toku normalnog metabolizma. Preko 90% kiseonika iz vazduha u organizmu sisara redukuje se do vode primanjem četiri elektrona od transportnog sistema elektrona u respiratornom lancu mitohondrija (Acworth, 2003).

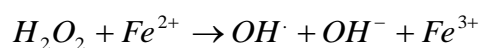
Superoksid anjon radikal ($O_2^{\cdot-}$) odnosno njegov protonovani oblik, perhidroksilni radikal (HO_2^{\cdot}), nastaje jednoelektronskom redukcijom molekuskog kiseonika, a može se dobiti i jednoelektronskom oksidacijom vodonik peroksida.

Hidroksil radikal, ($\cdot\text{OH}$) je najreaktivniji od svih ROS i najodgovorniji za citotoksične efekte kiseonika. U ćelijama se stvara kada postoje uslovi za:

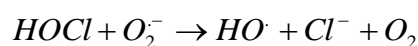
1. Haber-Vajsovu reakciju:



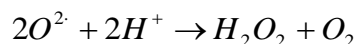
2. Fentonovu reakciju:



Ovaj radikal može nastati i dejstvom γ -zračenja na molekul vode, u procesu fagocitoze, troelektronskom redukcijom iz molekuskog kiseonika u respiratornom lancu mitohondrija, kao i iz hipohloraste kiseline (Mimić, 1999):



Vodonik peroksid nije slobodni radikal, ali se ubraja u reaktivne vrste kiseonika (Wu i Cederebaum, 2003). Nastaje dvoelektronskom redukcijom molekuskog kiseonika, jednoelektronskom redukcijom superoksid anjon radikala, ili njegovom enzimskom mutacijom, dejstvom superoksid dismutaze:

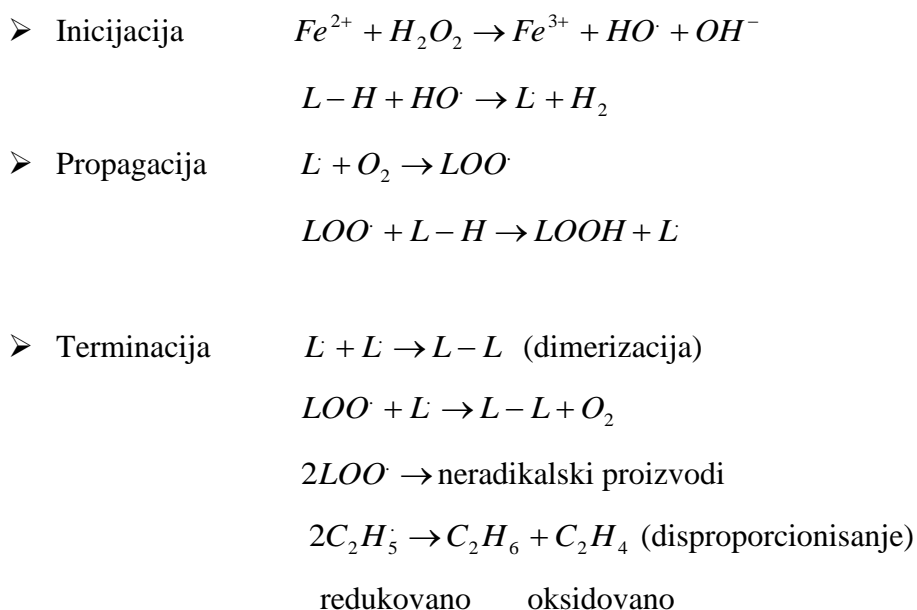


Singletni kiseonik ($^1\text{O}_2$) je izrazito reaktivan, nastaje enzimskim putem u prisustvu mieloperoksidaza i laktoperoksidaza, kao i u procesu fagocitoze.

Peroksil i alkoksil radikali ($\text{RO}_2\cdot$ i $\text{RO}\cdot$) nastaju u lančanoj, slobodnoradikalskoj reakciji lipidne oksidacije (Mimić-Oka i sar., 1999).

Oksidativni stres dovodi do oštećenja primarnih biomolekula: proteina, lipida, nukleinskih kiselina i ugljenih hidrata, što može biti uzrok čitavog niza poremećaja u metabolizmu i izazvati disfunkciju i smrt ćelija.

Lipidna oksidacija predstavlja i najvažniji proces koji dovodi do kvarenja masti i ulja, što dovodi do smanjenja nutritivne vrednosti, pojave neprijatnog ukusa i mirisa i nastajanja toksičnih proizvoda. Lipidna oksidacija je proces u kome slobodnoradikalne i neradikalne vrste kiseonika reaguju sa lipidima izazivajući oksidativnu destrukciju nezasićenih, polinezasićenih masnih kiselina. Mehanizam kompleksne lančane reakcije lipidne oksidacije koja se odvija u tri faze, kao i mehanizam delovanja antioksidanata, prikazani su na slici 2.4.1.3. (Wright i sar., 2001).



Slika 2.4.1.3. Šema lipidne oksidacije

2.4.2. Antioksidansi

Prvi stepen ćelijskog odgovora na oksidativni stres je antioksidativna odbrana i aktiviranje sistema za reparaciju ćelijskih struktura oštećenih dejstvom slobodnih radikala. Antioksidansi predstavljaju supstance koje su u organizmu prisutne u malim koncentracijama u odnosu na supstrat (biomolekul) koji se oksiduje i značajno usporavaju ili sprečavaju oksidaciju tog supstrata. Antioksidansi mogu da deluju kao "hvatači" slobodnih radikala, tj. deluju kao donori elektrona ili H-atoma peroksil ili hidroksil radikalima ili kao akceptori elektrona ili H-atoma ugljenikovih slobodnih radikala, pri čemu se slobodni radikali stabilizuju. Mogu da deluju i tako što kompleksiraju jone metala čime sprečavaju katalizu reakcije stvaranja inicijatora oksidacije lipida (npr. $\cdot OH$ radikal) (Vaya i Aviram, 2001), razgrađuju hidroperokside, eliminišu dejstvo singletnih oblika kiseonika.

Prema načinu delovanja u ljudskom organizmu antioksidansi su podeljeni na:

1. Preventivne antioksidanse – antioksidansi koji sprečavaju nastanak slobodnih radikala i iniciranje lančane reakcije peroksidacije dekompozicijom vodonik peroksida i lipidnih hidroperoksida, kompleksiranjem jona metala i eliminacijom ROS.

2. "Skevindžer" antioksidanse – antioksidansi koji poseduju sposobnost da "hvataju" slobodne radikale i tako inhibiraju inicijaciju i prekidaju propagaciju reakcije lipidne oksidacije, pa se nazivaju i "prekidači" lančanih radikalskih reakcija. Prema rastvorljivosti ovi antioksidansi dele se na:
 - hidrosolubilne - rastvorljive u vodi (vitamin C, mokraćna kiselina, bilirubin, albumin, glutation, neki polifenoli) i
 - liposolubilne - nerastvorljive u vodi a rastvorljive u lipidima (vitamini E i A, karotenoidi, neki polifenoli) (*Vaya i Aviram, 2001*).
3. "Reparacione" antioksidanse – antioksidansi posebnim mehanizmima, obnavljajući ili uklanjajući oštećene vitalne biomolekule koji nastaju u uslovima oksidativnog stresa.

Antioksidansi značajni za ljudski organizam dele se na endogene i egzogene. Endogeni antioksidansi predstavljaju antioksidanse koji nastaju u ljudskom organizmu i izgrađuju sistem antioksidantsne zaštite organizma.

Tu spadaju: enzimski sistemi (superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza), mokraćna kiselina, bilirubin, tioli (glutation, lipolna kiselina, N-acetil cistein), koenzim Q10 (ubihinon), proteini koji kompleksiraju jone metala.

Antioksidansi koji se u organizam unose putem hrane ili lekova predstavljaju egzogene antioksidanse (vitamin C, vitamin E, karotenoidi (β -karoten)), oksikarotenoidi (likopen) i polifenolna jedinjenja (flavonoidi, fenolne kiseline, proantocijanidoli) (*Percival, 1998*).

2.4.3. Mehanizam delovanja antioksidanasa

Mehanizam delovanja antioksidantsne zaštite aerobnih organizama obuhvata: primarnu i sekundarnu antioksidativnu zaštitu.

2.4.3.1. Primarna antioksidativna zaštita

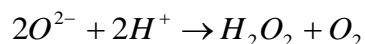
Primarnu antioksidativnu zaštitu čine enzimi i neenzimski molekuli.

1. Enzimi

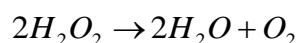
Primarnu ulogu u antioksidativnoj zaštiti, kod živih organizama, imaju enzimi. Enzimi mogu direktno da reaguju sa prooksidativnim vrstama, a mogu i da regenerišu molekule antioksidanata malih molekulskih masa.

Enzimi koji sačinjavaju primarnu antioksidativnu zaštitu su:

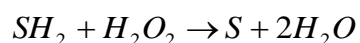
➤ Superoksid dismutaza (SOD) je enzim koji razgrađuje superoksid anjon radikal ($O_2^{\bullet-}$) uz formiranje H_2O_2 i O_2 , sprečavajući na taj način građenje hidroksi radikala (OH^\bullet):



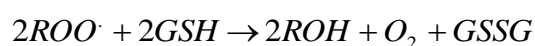
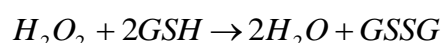
➤ Katalaza (CAT) je jedan od najrasprostranjenijih enzima u prirodi. Osnovna biološka uloga katalaze zasnovana je na razlaganju, odnosno redukciji, toksičnog vodonikperoksida:



➤ Peroksidaza (Px) je enzim koji katalizuje oksidaciju različitih supstrata u prisustvu H_2O_2 :



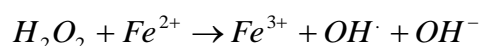
➤ Glutation peroksidaza (GSH-Px) predstavlja selen-zavistan enzim čija je uloga da katalizuje reakcije redukcije vodonik-peroksida (H_2O_2) i hidroperoksida (ROO^\bullet) masnih kiselina u prisustvu redukovanog glutaciona (GSH). GSH-Px se nalazi u citosolu, gde štiti fosfo- i sfingolipide membrana od oksidativne destrukcije:



2. Neenzimski biomolekuli

U neenzimske biomolekule, koji takođe predstavljaju primarnu antioksidativnu zaštitu, spadaju:

- Redukovani glutation (GSH), enzim koji ima ulogu u sprečavanju oksidacije tiolnih grupa enzima, proteina i peptidnih hormona, pri čemu prelazi u oksidovani oblik (GSSG).
- Apoceruloplazmin, apotransferin i apoferitin, proteini koji ograničavaju put slobodnog gvožđa i sprečavaju njegovo uključivanje u Fentonovu reakciju, odgovornu za produkciju hidroksilnog radikala (Koračević i sar., 2003):



2.4.3.2. Sekundarna antioksidativna zaštita

Sistem sekundarne antioksidativne zaštite čine brojna niskomolekularna jedinjenja koja mogu biti enzimске i neenzimске prirode.

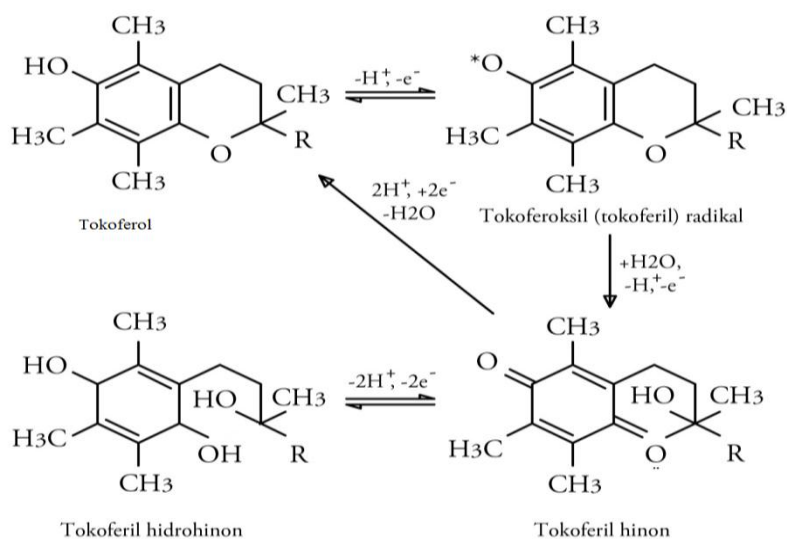
1. Enzimски antioksidansi

U sekundarnu antioksidansnu zaštitu ubrajaju se enzimi koji učestvuju u “popravljanju” nastalog oksidativnog oštećenja nukleinskih kiselina, proteina i lipida. To su prvenstveno proteolitički enzimi, fosfolipaza A2 (fosfolipid-nezavisna i fosfolipid zavisna), glikozilaze, endo- i egzo- nukleaze, DNK ligaze, DNK polimeraze, itd. Ovi enzimi “popravljaju” oštećene molekule DNK, odstranjuju oksidovane masne kiseline membranskih lipida i kroz procese degradacije i resinteze obnavljaju oksidovane aminokiseline, odnosno proteine.

2. Neenzimски antioksidansi

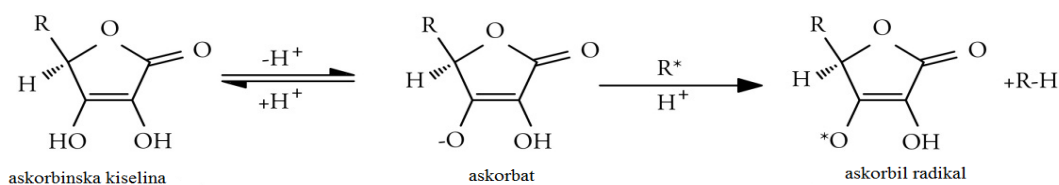
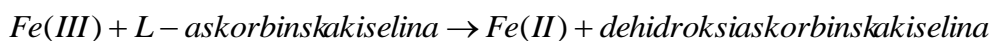
U neenzimске antioksidanse spadaju brojna niskomolekulska jedinjenja, hidrofilnog ili lipofilnog karaktera. Najznačajniji prirodni antioksidansi koji se koriste su tokoferoli (vitamin E), askorbinska kiselina (vitamin C), karotenoidi, ubihinon (koenzim Q), fenoli i njihove kiseline, flavonoidi, derivati hidroksicinamata. Pošto je struktura ovih jedinjenja veoma različita, tako su različiti i mehanizmi kojima ona ostvaruju svoju aktivnost u sistemu antioksidativne zaštite. Većinom deluju tako što uklanjaju već stvorene slobodne radikale i predstavljaju “hvatače” slobodnih radikala, zatim služe kao donori elektrona, razgrađuju lipid-perokside nastale u fazi propagacije, vezuju metalne jone, a neki od njih inhibiraju i enzimске sisteme koji produkuju reaktivne vrste kiseonika (ROS) (*Božin i sar., 2008*).

α -Tokoferol, ili vitamin E (2,5,7,8-tetrametil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hromanol) predstavlja grupu od osam prirodnih lipofilnih molekula, od kojih je najvažniji α -tokoferol. U membranama, na svakih 2000 do 3000 molekula dolazi 1 molekul α -tokoferola koji deluje kao antioksidans i zaustavlja lančanu reakciju peroksidacije lipida, deluje kao “hvatač” singletnog kiseonika, a reaguje i sa superoksid anjon radikalom (*Ha i Csallany, 1992*). Tokoferoli reaguju sa alkil, hidroperoksil, peroksinitrit i hidroksil radikalima. Prekidanje propagacije lančane reakcije lipidne oksidacije odigrava se reakcijom otpuštanja protona tokoferola lipidnim peroksil radikalima (LO_2^{\bullet}) koji tako prelaze u stabilnije produkte, lipidne hidroperokside (LOOH). Tokom ove reakcije tokoferol prelazi u slobodnoradikalски oblik – tokoferil radikal (slika 2.4.3.2.1.).



Slika 2.4.3.2.1. *Mehanizam nastajanja tokoferil radikala*

L-askorbinska kiselina ili vitamin C je najefikasniji redukujući hidrosolubilni antioksidans. Pri pH=7,4 čak 99,95% vitamina C je u obliku monoanijona AscH^- (askorbat), 0,05% kao AscH_2 i 0,004% kao dianjon AscH_2^{2-} . Monoanjon AscH^- je donorski antioksidans koji predaje vodonikov atom reaktivnim slobodnim radikalima R^\bullet sa visokim vrednostima redukcionog potencijala (OH^\bullet , RO^\bullet , LOO^\bullet), formirajući stabilan askorbil radikal, koji u biološkim sistemima nije protonovan (AscH^\bullet), već je prisutan u formi anijona semidehidroaskorbil radikala ili askorbil anjon radikala ($\text{Asc}^{\bullet-}$). Unosom velikih doza ovog vitamina i u uslovima povećane koncentracije metala, odnosno u procesu destrukcije tkiva i oslobađanja metala iz kompleksa sa proteinima, vitamin C može delovati prooksidativno redukujući Fe(III) u Fe(II), uslovljavajući Fentonovu reakciju i nastajanje hidroksil radikala (slika 2.4.3.2.2.):



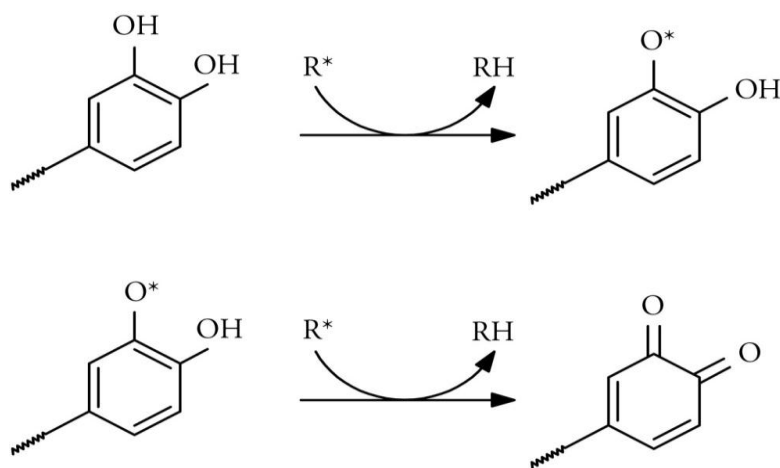
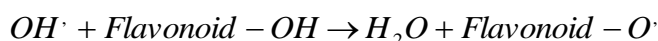
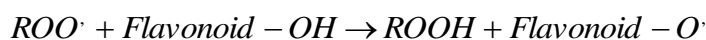
Slika 2.4.3.2.2. *Mehanizam nastajanja askrobil radikala*

Karotenoidi predstavljaju grupu pigmenata koja se sintetise u biljnim organizmima, među kojima je najzastupljeniji β karoten – prekursor vitamina A, za koga se smatra da je najefikasniji u neutralizaciji singletnog kiseonika.

Koenzim Q (ubihinon) se sintetise u svim životinjskim ćelijama i služi kao nosač elektrona i protona u respiratornom lancu u mitohondrijama. Ubihinon direktno sprečava fazu inicijacije (redukcijom perferil radikala) i propagacije (redukcijom lipidnog peroksil radikala) reakcije peroksidacije lipida. Postoji 10 vrsta koenzima Q od kojih je za čoveka od najvećeg značaja koenzim Q10. Smatraju ga “eliksirom mladosti”, jer usporava proces starenja, upravo zbog sposobnosti neutralisanja radikala.

Fenolna jedinjenja su veoma rasprostranjeni proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka i antioksidativno delovanje biljnih ekstrakata uglavnom se vezuje za njihovo prisustvo.

Flavonoidi su prirodni antioksidansi. Prisustvo flavonoida dovodi do prekidanja slobodno-radikalskih reakcija, pri čemu oni predaju vodonikov atom radikalima i sami prelaze u slobodne radikale (slika 2.4.3.2.3.). Ovako nastali slobodni radikali stabilizovani rezonancijom i nemaju dovoljno energije da pokrenu lančanu reakciju sa supstratom:



Slika 2.4.3.2.3. Mehanizam delovanja flavonoida

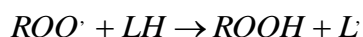
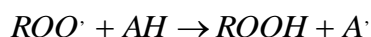
Flavonoidi pokazuju sledeća dejstva antiinflamatorno, antimikrobno, antifungalno, diuretičko, antihepatotoksično, antihipertenzivno, antiaritmično, antikoagulirajuće, spazmolitičko, kardiotonično, antialergijsko, antiulkusno, analgetsko, antimalarično, hipoglihemijsko i antioksidativno (*Eastwood, 1999; Hollman i Katan, 1999*).

Flavonoidi su sekundarni metaboliti, što znači da predstavljaju organske spojeve koji nemaju direktnog uticaja na rast i razvoj biljaka, ali su moćni antioksidansi koji odstranjuju slobodne radikale. Slobodni radikali uzrokuju oštećenje naslednog materijala (DNA), ubrzavaju proces starenja i učestvuju u razvoju mnogih bolesti.

2.4.4. Metode određivanja antioksidativnog potencijala

Metode koje se koriste za određivanje antioksidativne moći mogu se podeliti u tri velike grupe:

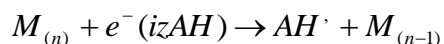
1. Metode koje uključuju reakcije prenosa H-atoma



U ovu grupu metoda spadaju:

- ORAC (*Oxygen Radical Obsorbance Capacity*),
- TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*),
- Crocin test izbeljivanja,
- IOU (*Inhibited Oxygen Uptake*) i
- Inhibicija oksidacije linoleinske kiseline.

2. ET (elektron-transfer) – metode



U ovu grupu metoda spadaju:

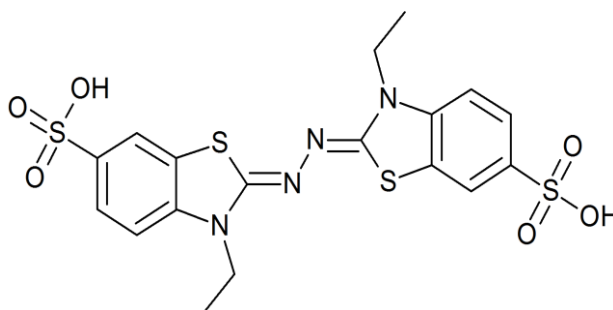
- TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*),
- DPPH (difenil-1-pikrilhidrazil),
- FRAP (*Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter*),
- Cu(II) redukcionu kapacitet i
- Određivanje ukupnih fenola Folin–Ciocalteu (FC) reagensom.

3. Ostale metode

- TOSC (*Total Oxidant Scavenging Capacity*) i
- Hemiluminiscencija (CL).

2.4.4.1. ABTS metod

2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) ili ABTS (slika 2.4.4.1.1.) je organsko jedinjenje koje se dosta koristi u enzimskoj kinetici kao supstrat. Takođe, ABTS se koristi i za određivanje antioksidativne aktivnosti prirodnih proizvoda, a test je poznat kao ABTS eksperiment.



Slika 2.4.4.1.1. Struktura ABTS-a

Formalni potencijal redukcije ABTS-a je visok tako da on reaguje kao donor elektrona u reakciji redukcije fenolnih jedinjenja i uopšte kiseoničnih jedinjenja kao što su molekularni kiseonik i vodonik peroksid.

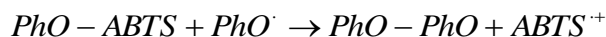
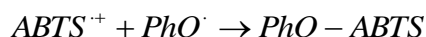
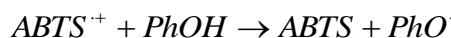
U biološkim sistemima reakcija redukcije se odvija u neutralnoj sredini pri čemu dolazi do deprotonacije sulfonskih grupa u molekulu:



Kada se ABTS koristi za određivanje antioksidativne aktivnosti prirodnih proizvoda ovo jedinjenje se pomoću natrijum-persulfata ($Na_2S_2O_8$) konvertuje u radikal jon ($ABTS^{\cdot+}$).

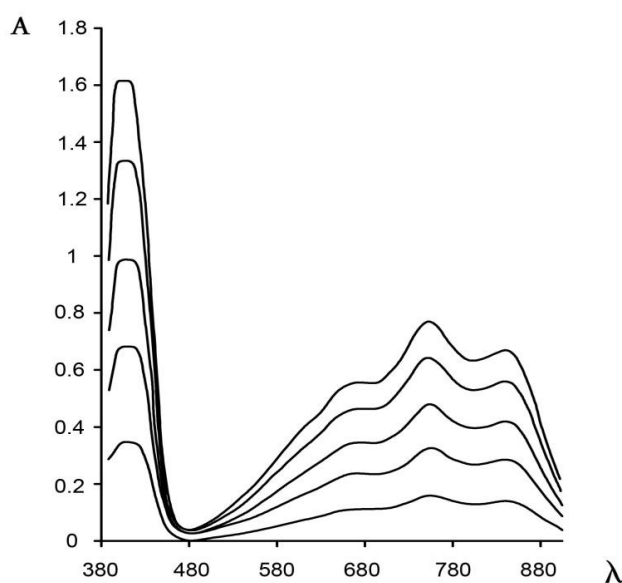
ABTS radikal jon je plavo-zelena obojen sa maksimumima apsorpcije na 645, 734 i 815 nm (slika 2.4.4.1.2.) (*Re i sar., 1999*). Stabilan je oko dva dana ako se čuva na sobnoj temperaturi u mraku. Veoma je reaktivan. Reaguje sa fenolima, tiolima, vitaminom C, Trolox-om, bilirubinom, mokraćnom kiselinom, i td.

U reakciji sa radikalima dolazi do obezbojavanja, odnosno ABTS radikal katjon se redukuje i vraća u svoj neutralni, bezbojni oblik tj. ABTS (*Campos i Lissi, 1997*):



Reakcija obezbojavanja se prati na 734 nm (slika 2.4.4.1.2.). Smanjenje apsorbance je u funkciji koncentracije antioksidanasa, odnosno Trolox-a kao referentnog standarda.

ABTS test se uspešno primenjuje za određivanje kako vodenno-rastvornih, tako i lipidno-rastvornih antioksidanasa.



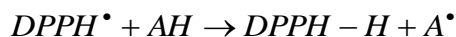
Slika 2.4.4.1.2. *Absorpcioni spektar ABTS radikal katjona*

2.4.4.2. DPPH metod

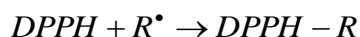
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal (DPPH[•]) je stabilan radikal sa maksimumom apsorpcije na 515 nm (*Brand-Williams i sar., 1995*). Antioksidanti, donori vodonika, kao i slobodni radikali u reakciji sa DPPH radikalom vrše njegovu redukciju do žuto obojenog difenilpikrilhidrazina, što dovodi do smanjenja apsorbance na 515 nm.

Prior i sar. (2005) su predložili dva moguća mehanizma uklanjanja DPPH radikala:

- prenosom vodonika (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT)



- prenosom elektrona (*Single Electron Transfer*, SET).



Mehanizam uklanjanja DPPH radikala zavisi od energije veze i jonizacionog potencijala (IP) reaktivnih funkcionalnih grupa u antioksidantima.

HAT reakcije zavise od prirode rastvarača i pH. Vreme njihovog odigravanja je od nekoliko sekundi do nekoliko minuta. Prisustvo redukujućih jedinjenja, uključujući i metale, ima za posledicu nešto veće vrednosti za antioksidativnu, DPPH, aktivnost.

SET reakcije zavise od pH. Sa povećanjem pH rastvora, vrednosti za jonizacioni potencijal opadaju. To ima za posledicu deprotonovanje reaktivnih grupa. SET reakcije su obično spore i antioksidativna aktivnost se zasniva na merenju procenta smanjenja DPPH[•] koncentracije. Procenat neizreagovalog DPPH radikala izračunava se na osnovu jednačine:

$$\% DPPH_{rem}^{\bullet} = \frac{DPPH_{rem}}{DPPH^{\bullet}} \times 100$$

gde je

$\% DPPH_{rem}^{\bullet}$ - (eng. *remaining*) procenat neizreagovalog DPPH radikala.

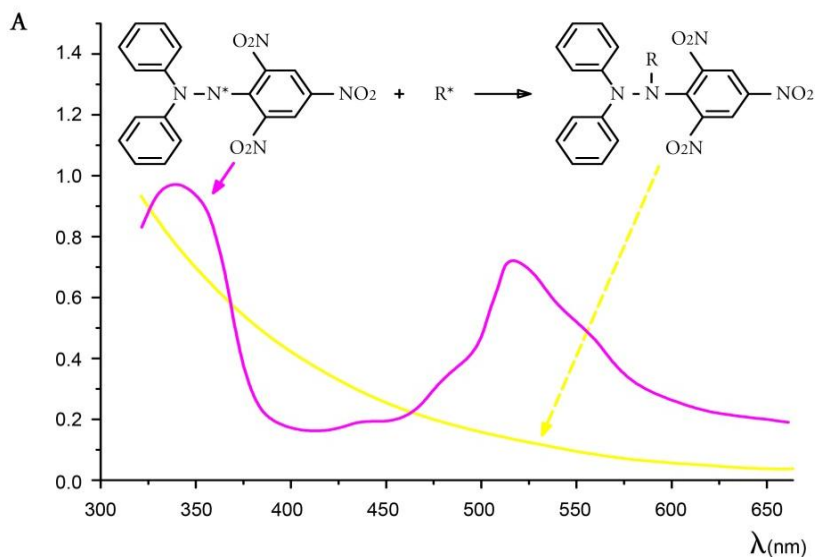
Procenat neizreagovalog DPPH[•] ($DPPH_{rem}^{\bullet}$) je proporcionalan koncentraciji oksidanata. Koncentracija antioksidanata koja je potrebna za inhibiranje 50% DPPH radikala naziva se "*efektivna koncentracija*" ("*efficiency concentration*") i obeležava se EC_{50} . Vreme potrebno da se dostigne EC_{50} obeležava se kao T_{EC50} .

Sanchez-Moreno i sar. (1998) su uveli i pojam "*antiradikalaska efikasnost*" ("*antiradical efficiency*") u cilju definisanja antioksidativne aktivnosti:

$$AE = 1/EC_{50}T_{EC50}$$

Kao i kod HAT metode i kod SET metode, redukujuća jedinjenja i metali interferiraju prenos elektrona.

Literaturni podaci (Ou i sar., 2005; Wright i sar., 2001) ukazuju na činjenicu da se metoda uklanjanja DPPH radikala bazira na SET mehanizmu (slika 2.4.4.2.1).

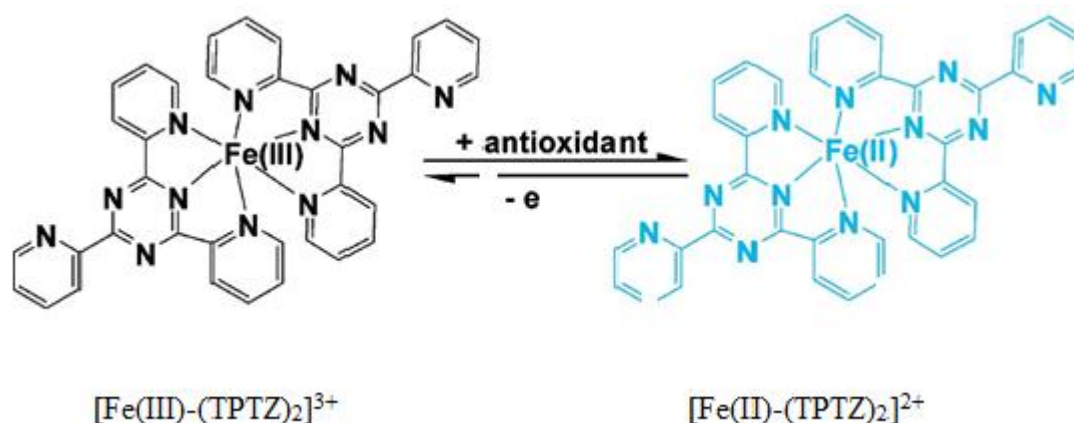


Slika 2.4.4.2.1. Šema procesa na kojima se zasniva određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom

Smanjenje apsorbance na 515 nm je u funkciji koncentracije antioksidanata, odnosno Trolox-a kao referentnog standarda. Kalibraciona kriva je linearna u intervalu koncentracija do 2 reda veličine.

2.4.4.3. FRAP metod

FRAP - metod se zasniva se na sposobnosti antioksidanasa da redukuju gvožđe-2,4,6-tripiridil-S-triazin kompleks $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ do intenzivno plavo obojenog kompleksa $[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$. FRAP vrednosti se izračunavaju merenjem rasta apsorpcije i upoređivanjem istih sa standardnim rastvorom obojenih jona, ili standardnim rastvorom antioksidansa (npr. askorbinska kiselina).



Slika 2.4.4.3.1. Redukcija kompleksa $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ do kompleksa $[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$

Reakcija se odvija u kiseloj sredini, pri pH=3,6 kako bi se zadržala dobra rastvorljivost gvožđa (slika 2.4.4.3.1). Pri nižim pH vrednostima smanjuje se jonizacioni potencijal koji omogućava prenos elektrona, a ujedno se povećava redoks potencijal, koji dodatno omogućuje pomeranje ravnoteže u smeru transfera elektrona (Hagerman i sar., 1998). Svako jedinjenje sa redoks potencijalom nižim od redoks potencijala para Fe(III)/Fe(II), teorijski može redukovati Fe(III) do Fe(II) i usloviti lažno visoke rezultate FRAP vrednosti. Sa druge strane, mnogi antioksidansi ne mogu dovoljno brzo redukovati Fe(III) kako bi se brzina reakcije mogla meriti u posmatranom vremenskom intervalu (obično 4 minuta). U zavisnosti od vremena analize, red njihove reaktivnosti se menja. Polifenoli sa takvim ponašanjem su: kvercetin, feruminska kiselina, kofeinska kiselina, taninska kiselina.

FRAP-metoda određuje redukcionu moć na osnovu redukcije jona gvožđa. Produkcija Fe(II) jona, koji je veoma poznati pro-oksidans, može da dovede do stvaranja dodatnih radikala u reakcionom medijumu, kao što je OH^\bullet iz H_2O_2 .

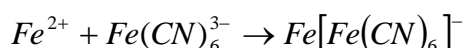
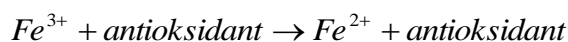
Jedinjenja koja apsorbuju na talasnoj dužini određivanja mogu interferirati i izazvati precenjivanje FRAP vrednosti. Neobično visoke vrednosti za bilirubin (duplo više od askorbinske kiseline i Troloxa), jer se oksiduje do biliverdina koji značajno apsorbuje na 593 nm. Niska vrednost pH, koja je neophodna za metodu, može da dovede do precipitacije nekih proteina, kao što je kazein iz mleka. Uprkos niskim pH vrednostima koje se primenjuju kada se porede sa fiziološkim uslovima (pH=7,4), sposobnost redukcije gvožđa indirektno izražava antioksidativni kapacitet.

2.4.4.4. Redukciona sposobnost (Reducing Power, RP)

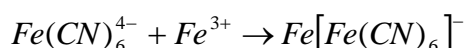
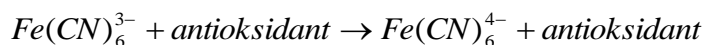
Za određivanje redukcionne sposobnosti koristi se metoda po Oyaizu (1986).

Ova metoda se zasniva na građenu obojenog produkta $KFe[Fe(CN)_6]$ poznatog kao "prusko plavo".

Ovaj produkt nastaje u reakciji Fe^{3+} ili $Fe(CN)_6^{3-}$ jona sa antioksidantima:

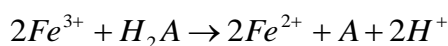


ili

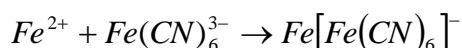


Reakcija nastajanja obojenog produkta se prati merenjem apsorbance rastvora na 700 nm u puferskom rastvoru ($H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$) pri pH=6,6. Kao referentna supstanca koristi se rastvor butilovanog hidroksi-anizola (BHA) ili askorbinska kiselina.

Fe^{3+} joni reaguju sa askorbinskom kiselinom u slabo kiseljoj sredini (pH~6) prema reakciji (Hsieh i Hsieh, 2000):



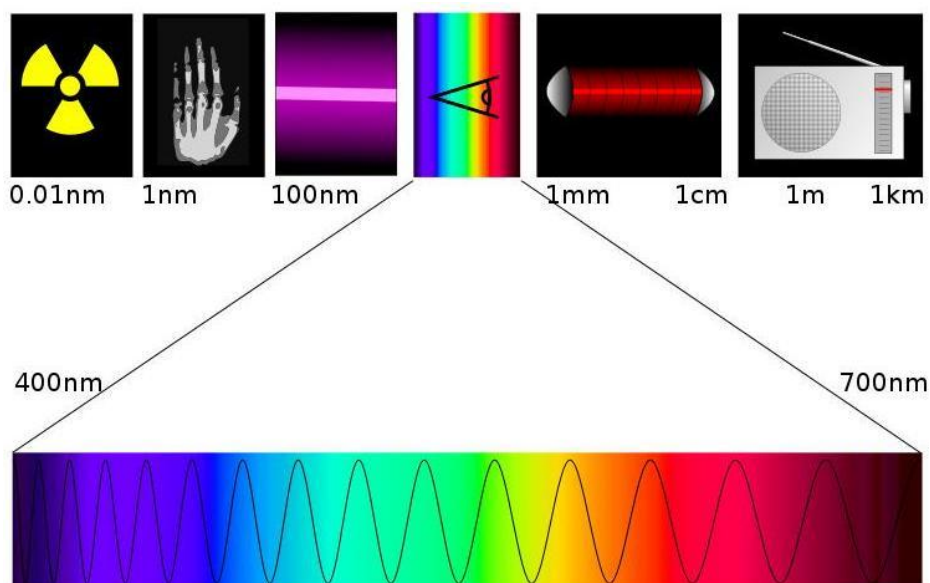
a građenje obojenog produkta dalje teče prema reakciji:



Redukciona sposobnost povezana je sa antioksidativnom aktivnošću i može da služi kao značajan indikator antioksidativne aktivnosti (Oktay i sar., 2003).

2.5. UV/Vis spektrofotometrija

UV/Vis spektrofotometrija je spektroskopska metoda koja proučava apsorpciju elektromagnetnog zračenja u oblasti između 200 nm i 800 nm (slika 2.5.1). Taj deo je podeljen na blisku ultraljubičastu (200-400 nm) i vidljivu oblast (400-800 nm). Na nižim talasnim dužinama (<200 nm) nalazi se vakuumska ultraljubičasta oblast, koja nije od interesa za strukturalna određivanja zbog apsorpcije kiseonika iz vazduha.



Slika 2.5.1. *Spektar elektromagnetnog zračenja*

Kako veliki broj jedinjenja ne apsorbuje u ovom delu spektra, to UV/Vis spektrofotometrija, u poređenju sa drugim strukturnim metodama (IC, NMR, MS), ima daleko manju primenu za strukturna određivanja i uglavnom se koristi kao komplementarna metoda za identifikaciju delova molekula koji apsorbuju u navedenoj oblasti, takozvanih hromofora. U tim slučajevima dobijeni UV/Vis spektri mogu da pruže veoma korisne informacije o strukturi ispitivanog jedinjenja i ona je često nezamenljiva pomoćna (a često i glavna) metoda za identifikaciju prirodnih polikonjugovanih jedinjenja, kao što su: biljni pigmenti (karotenoidi), poliacetileni, porfirini, flavonoidi itd.

Po načinu nastanka spektri mogu biti emisijski i apsorpcijski, a prema nosiocu zračenja spektri se dele na atomske i molekulske. Molekulski spektri najčešće se posmatraju kao apsorpcijski spektri.

Pored primene za identifikaciju organskih jedinjenja (kvalitativna analiza), UV/Vis spektrofotometrija se danas dosta primenjuje u kvantitativnoj analizi.

2.5.1. Apsorpcija UV/Vis zračenja

Apsorpcione metode se zasnivaju na merenju inteziteta elektromagnetnog zračenja usled apsorpcije pri prolasku kroz ispitivanu supstancu. Apsorbovano zračenje dovodi do

energetskih promena u atomima, molekulima i jonima ispitivane supstance. Apsorpcija vidljivog i ultraljubičastog zračenja dovodi do elektronskih prelaza, koji su u molekulima i njihovim jonima kombinovani sa nizom vibracionih i rotacionih prelaza. Apsorpcijom zračenja molekula može preći iz osnovnog stanja na neki od mnogobrojnih vibracionih i rotacionih nivoa određenog pobuđenog stanja. Energije fotona koji se tom prilikom apsorbuju vrlo se malo razlikuju tako da se apsorpcioni spektar molekula sastoji iz stotine pa i hiljade linija, koje su tako blizu jedna drugoj, da se javljaju kao kontinualne apsorpcione trake.

Energetski sadržaj zračenja u oblasti od 200 nm do 800 nm nalazi se između 600 kJ/mol i 150 kJ/mol, što je dovoljno za pobuđivanje elektrona i njihov prelazak iz osnovnih u pobuđena stanja. Zbog toga što UV/Vis zračenje apsorbuju elektroni, ova vrsta spektrofotometrije naziva se još i elektronska spektroskopija.

UV/Vis spektrofotometrija se najčešće koristi za kvalitativna i kvantitativna određivanja prelaznih metala ili konjugovanih organskih molekula. Prolaskom zračenja iz vidljivog dela spektra kroz obojeni rastvor, joni prelaznih metala apsorbuju deo svetlosti pri čemu se pobuđuju elektroni iz d-orbitale, dok se kod organskih molekula najčešće pobuđuju π -elektroni. Najčešće se snimaju spektri razblaženih rastvora, a mogu se snimati i spektri gasova ili para.

Kvantitativna spektrofotometrijska analiza zasniva se na Beer-ovom zakonu ($A = \varepsilon \cdot l \cdot c$), koji kaže da je apsorbanca rastvora direktno proporcionalna koncentraciji apsorbujuće vrste i debljini sloja kroz koje zračenje prolazi. Za kvantitativnu analizu je bitno da se merenja apsorbance vrše sa najvećom mogućom tačnošću i osetljivošću. Da bi se to postiglo bitan je izbor talasne dužine na kojoj se merenje vrši. Ona mora da ispuni nekoliko uslova (Todorović, 1997):

- da se merenjem postiže maksimalna osetljivost,
- da mala promena talasne dužine ne utiče na reproduktivnost i
- da važi Beer-ov zakon.

Intenzitet apsorpcije zračenja definisan je Lambert-Beer-ovim zakonom:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

gde je:

ε - molarna apsorptivnost

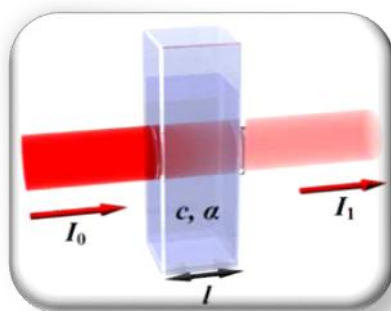
l - debljina sloja (cm)

c - koncentracija apsorbujuće supstance (mol/l)

A - apsorbanca

I_0 - intenzitet upadnog zraka

I - intenzitet zraka po prolasku kroz uzorak



Slika 2.5.1.1. Prolazak zračenja kroz uzorak

Prilikom prolaska elektromagnetskog zračenja kroz uzorak (slika 2.5.1.1.) dolazi do smanjenja intenziteta upadnog snopa zračenja. Fizički procesi koji dovode do slabljenja intenziteta zračenja su: apsorpcija, rezonancija, fluorescencija (fosforescencija), refleksija i rasipanje svetlosti. Primenujući zakon o održanju energije, može se napisati:

$$I_0 = I_a + I_p + \sum I_r$$

gde je:

I_0 - intenzitet upadnog zračenja

I_a - intenzitet apsorbovanog zračenja

I_p - intenzitet propuštenog zračenja

$\sum I_r$ - označava zbir intenziteta reflektovanog, rasutog, rezonantnog i fluorescentnog (fosforescentnog) zračenja.

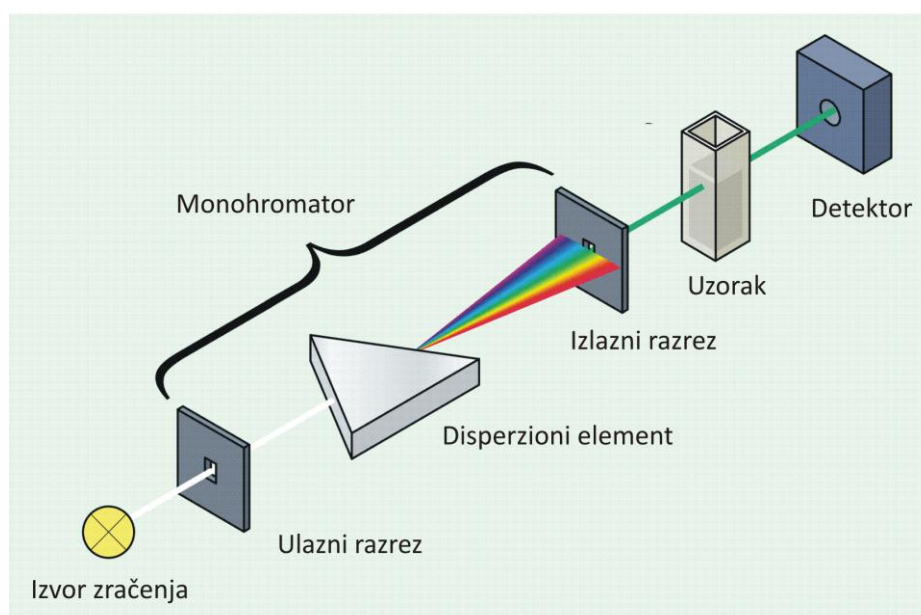
U rastvoru koji sadrži više komponenti koje apsorbuju elektromagnetno zračenje, a koje međusobno ne reaguju, apsorbanca rastvora jednaka je zbiru pojedinačnih apsorbanca svih komponenti

$$A = \sum A_i = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n$$

tj. pod ovim uslovima apsorbanca je aditivna veličina.

2.5.2. Snimanje UV/Vis spektara

Spektrofotometar (slika 2.5.2.1) se sastoji iz svetlosnog izvora iz koga se svetlost deli na dva jednaka zraka (referentni i analitički), monohromatora, detektora i uređaja za pojačavanje, merenje i beleženje signala. Kao izvor zračenja koristi se kombinacija volframove (za vidljivu oblast, $\lambda > 375$ nm) i deuterijumske lampe za blisku ultraljubičastu oblast. Kao detektor se najčešće koristi fotomultiplikator.



Slika 2.5.2.1. Osnovni delovi UV/Vis spektrometra

Koncentracija uzorka zavisi od intenziteta apsorpcije i podešava se tako da vrh apsorpcionog maksimuma bude u oblasti najveće tačnosti, što odgovara vrednostima između 0,2 i 0,7 jedinica apsorpcije. Najbolje je napraviti koncentrovaniji rastvor od kojeg se postupnim razblaživanjem dobija rastvor koncentracije pogodan za snimanje. Pripremljeni rastvor se prebacuje u analitičku ćeliju (standardne debljine od 1 cm) od kvarca (sistem propustljiv za blisku UV) ili stakla (sistem propustljiv samo za vidljivu oblast). Takođe se priprema i istovetna referentna ćelija sa čistim rastvaračem. Za vreme kontinualne promene talasne dužine porede se intenziteti referentnog (I_0) i analitičkog (I) signala. Spektar se beleži kao zavisnost apsorpcije (A) od talasne dužine (λ) (Milosavljević, 1994).

Svaki apsorpcioni maksimum okarakterisan je talasnom dužinom (λ_{max}) na kojoj se nalazi i molarnom apsorptivnošću (ϵ) na toj talasnoj dužini.

Prilikom opisivanja spektra nekog jedinjenja ove vrednosti se obavezno navode za svaki maksimum. Pored toga, zbog mogućeg uticaja na izgled spektra, uvek se navodi i rastvarač. Zbog veoma velike osetljivosti detekcije rastvarači moraju biti izuzetno čisti ("spektroskopske čistoće").

2.6. HPLC hromatografija

Hromatografija je naziv za grupu laboratorijskih tehnika za odvajanje i određivanje komponenti smeša (Synder i sar., 2011, Milovanović, 1985).

Hromatografske metode uključuju kretanje smeše koja se ispituje i koja je rastvorena u mobilnoj fazi i kreće se kroz stacionarnu fazu. Hromatografija može biti analitička i preparativna. Preparativne hromatografske metode se bave razdvajanjem komponenti smeše radi dalje analize i smatraju se i metodom prečišćavanja. Sa druge strane, analitičke hromatografske metode određuju kvantitativni sastav uzorka.

Hromatografske metode se dele prema fizičkom stanju faza, prema fizičko-hemijskim procesima koje se dešavaju prilikom razdvajanja komponenti ili mehanizmu razdvajanja (tabela 2.6.1.).

Tabela 2.6.1. Podela hromatografskih metoda

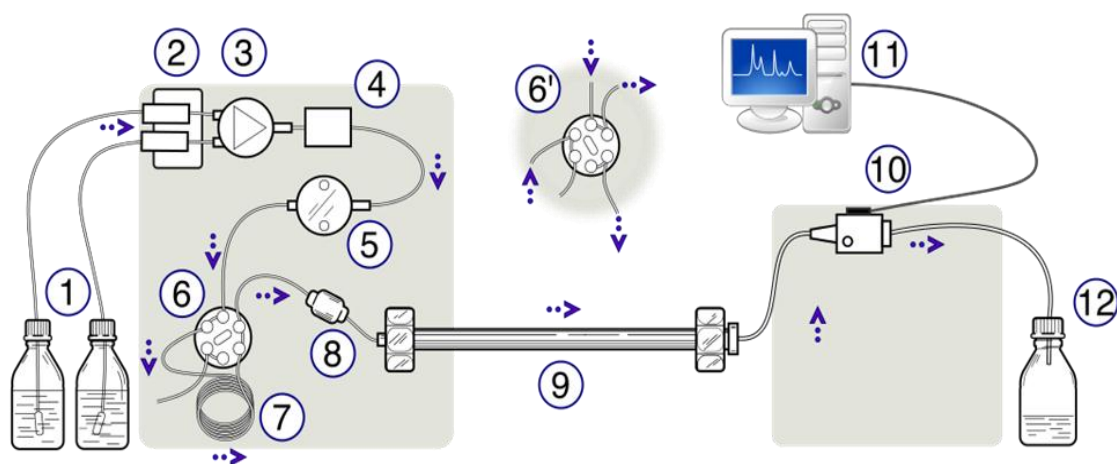
Pokretna faza	Nepokretna faza	Tehnike	Fizičko-hemijski procesi
gasna	čvrsta	hromatografija gasne faze u koloni i kapilarnoj koloni	adsorpcija
gasna	tečna	hromatografija gasne faze u koloni i kapilarnoj koloni	podela, reverzno-fazna podela
tečna	čvrsta	kolona, hromatografija na tankom sloju i na hartiji	adsorpcija, jonska izmena, gel filtracija
tečna	tečna	Kolona	podela, reverzno fazna podela

U zavisnosti od prirode smeše supstanci zavisi koja će se hromatografska metoda primeniti za razdvajanje smeše. Orijetaciono se može koristiti tabela 2.6.2.

Tabela 2.6.2. Vrsta hromatografije za razdvajanje smeše

Razdvajanje supstanci	Vrsta hromatografije
gasovi i isparljive supstance	gasna hromatografija
supstance sličnog hemijskog sastava	podeona hromatografija i reverzno-fazna podeona hromatografija
supstance različitog hemijskog sastava	adsorpciona hromatografija
neorganske i jonske supstance	jonska izmena, hromatografija na tankom sloju i na hartiji
jonske od nejonskih supstanci	jonska izmena i gel hromatografija
biološki materijali i jedinjenja velike molekulske mase	gel hromatografija

Na slici 2.6.1. je prikazana šema sistema za HPLC hromatografiju.



Slika 2.6.1. Šematski prikaz uređaja za HPLC: (1) rezervoar mobilne faze (2) degasifikator mobilne faze (3) ventil (4) ventil za doziranje mobilne faze (5) pumpa (6) ulazni ventil za nadzor (6) izlazni ventil za nadzor (7) petlja za injektiranje uzorka (8) filter (9) kolona (10) detektor (11) računar (12) kolektor otpada

Važan deo HPLC (tečna hromatografija visokih performansi (High Performance Liquid Chromatography)) sistema je pumpa koja može stvarati pritisak do 10^6 Pa, što omogućava kontinualnu promenu brzine mobilne faze. Uzorak se ubacuje u injekcioni blok, nakon čega prelazi u mobilnu fazu pod visokim pritiskom, podleže razdvajanju na koloni, a zatim detekciji. Registrovanje ispitivanih supstanci vrši se detektorom koji na izlazu daje signal proporcionalan koncentraciji analita. Upotrebljavaju se detektori visoke osetljivosti, najčešće UV/Vis i fluorescentni, a u novije vreme se sve više koriste maseni, infracrveni, atomsko-apsorpcioni, elektrohemijski detektori (*Lough i Wainer, 1995*).

Mobilnu fazu predstavlja rastvarač ili smeša rastvarača. Izbor rastvarača je sličan kao i kod drugih podeonih hromatografija. Ako se koristi UV detektor za detekciju razdvojenih jedinjenja rastvarači bi trebalo da budu što je više UV transparentni, mada ni značajnija apsorpcija mobilne faze ne bi trebalo da značajnije utiče na kvalitet razdvajanja. Mnogo je bitnije da se odredi optimalan protok mobilne faze. Protok mobilne faze se kreće u opsegu od $0,1-2,0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$.

Kolona predstavlja srce HPLC sistema. Dimenzije kolona su standardne 3-4 mm×30 cm, ali i specifične 8 mm×10 cm (pogodne za visoke pritiske mobilnih faza). Kolone su najčešće ispunjene silika česticama (nosač), a na njihovoj površini je hemijski vezan tanak film, molekulskih dimenzija, koji igra ulogu tečne stacionarne faze. Čestice silika gela imaju vrlo razučenu površinu: $30-800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Njihova površina je pokrivena polarnim silanolnim grupama koje lako reaguju sa polarnim komponentama smeše (klasična adsorpciona hromatografija). Silanolne grupe se tretiraju hemijski sa jedinjenjima koja sadrže kraći ili duži ugljovodonični lanac da se dobije supstituisana površina sa pretežno nepolarnim karakteristikama (ugljovodonični sloj se vezuje na silika čestice-pokriva ih). Nepolarne komponente smeše će regovati sa takvom površinom – hromatografija obrnutih faza (eng. *Reversed Phase Liquid Chromatography - RPLC*). Maksimalni prinos vezivanja ugljovodoničnog sloja na silika čestice je 70-80% (20-30% silanolnih grupa ostaje nepokriveno). Prema tome, razdvajanje na tipičnoj HPLC koloni je rezultat ukupnih polarnih i nepolarnih interakcija. Vezani ugljovodonični sloj sadrži uglavnom 18 C atoma i takve kolone se zovu C-18 kolonama. Koriste se i druge kolone. Neke su prikazane u tabeli 2.6.3. (*Marković i sar., 1996; Mišović, 1981*).

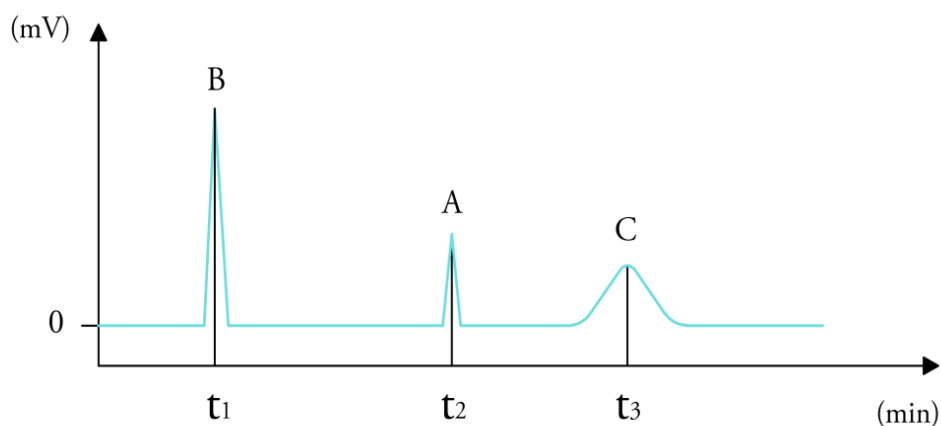
Tabela 2.6.3. Kolone koje se koriste za HPLC

Organska grupa	Polarnost	Primene
CH ₃ (CH ₂) ₂₁ -	ekstremno nepolarna	lipidi, jodoamino kiseline
CH ₃ (CH ₂) ₁₇ -	ekstremno nepolarna	sve klase jedinjenja
CH ₃ (CH ₂) ₂₁ -	nepolarna	peptidi, proteini
CH ₃ CH ₂ -	srednje polarna	aminokiseline
CH ₃ O-	srednje polarna	proteini, ugljeni hidrati
CH ₂ OH-CH(OH)-	polarna	molekulska sita
NH ₂ -	polarna	ugljeni hidrati
R ₃ N ⁺ -	anjonski izmenjivač	nukleotidi
OH ₃ S-	katjonski izmenjivač	peptidi i proteini

2.6.1. Kvalitativna HPLC analiza

Dobijen hromatogram sa pikovima koji predstavljaju izdvojene komponente ukazuje samo na broj komponenti u nekom uzorku, odnosno smeši, ali ništa ne kazuje o vrsti supstance. Kod kvalitativne analize identifikacija se vrši poređenjem standarda sa nepoznatom komponentom ispitivanog uzorka. Upoređuje se vreme zadržavanja standarda i izdvoene komponente u hromatografskoj koloni. Vreme zadržavanja se naziva *retenciono vreme* (lat. *retentio* - zadržavanje) meri se od trenutka kada se uzorak injektuje u kolonu do izlaska, odnosno pojave na detektoru.

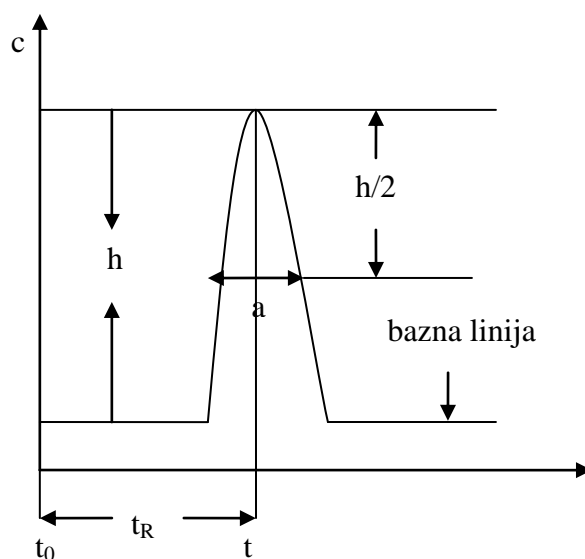
Za identifikaciju komponenti metodom standardnog dodatka, retenciono vreme standardnog dodatka i izdvojene komponente mora da se poklapa. Pričemu dolazi do povećanja visine pika izdvojene komponente.



Slika 2.6.1.1. *Kvalitativna HPLC analiza*

2.6.2. *Kvantitativna HPLC analiza*

Visina pika izdvojene komponente direktno je proporcionalna koncentraciji (slika 2.6.2.1.). Kada se radi o simetričnom piku tada se najčešće koristi metoda poluvisine. Naime, kada se visina pika h pomnoži sa njegovom širinom a na poluvisini $h/2$ dobija se vrednost koja približno predstavlja 94% površine ispod pika. Ako se ista metoda koristi i za standard i za uzorak greška od 6% se poništava, a dobijeni rezultati potpuno zadovoljavaju.



Slika 2.6.2.1. *Kvantitativna HPLC analiza*

Treba voditi računa da izračunate površine pikova predstavljaju meru relativnih koncentracija komponenti u smeši. Ukoliko se žele apsolutne koncentracije komponenata potrebno je napraviti kalibracioni dijagram koji će povezati površine pikova sa apsorbcijama odgovarajućih komponenti. Osnov za povezivanje je kalibracioni dijagram $A = f(S)$, prikazan na Slici 2.6.2.1, gde je A – apsorbcija, a S – integrisana površina pikova. Apsorbance A su određene za niz standardnih koncentracija rastvora supstanci, koje se analiziraju HPLC-om. Kada se nakon izvršene HPLC analize odredi integrisana površina za dati pik, sa kalibracionog dijagrama pročitava se odgovarajuća vrednost apsorbcije A na ordinati, a odatle se preko *Beer*-ovog zakona ($A = abc$) izračuna i tačna koncentracija (Mišović, 1981).

2.7. Atomska emisiona spektrometrija – ICP spektrometrija

Metode analize teških metala u uzorcima namirnica i uzorcima iz životne sredine se zasnivaju na različitim spektrometrijskim analitičkim tehnikama kao što su: plamena atomska apsorpciona spektrometrija (FAAS), elektrotermalna atomska apsorpciona spektrometrija (ETAAS), atomska fluorescentna spektrometrija (AFS), atomska/optička emisiona spektrometrija sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-AES ili ICP-OES) i induktivno spregnuta plazma-masena spektrometrija (ICP-MS) (Perić-Grujić i sar., 2009).

ICP spektrometrija je relativno nova metoda emisione spektrohemijske analize koja koristi ICP kao izvor pobuđivanja u kombinaciji sa spektrometrima.

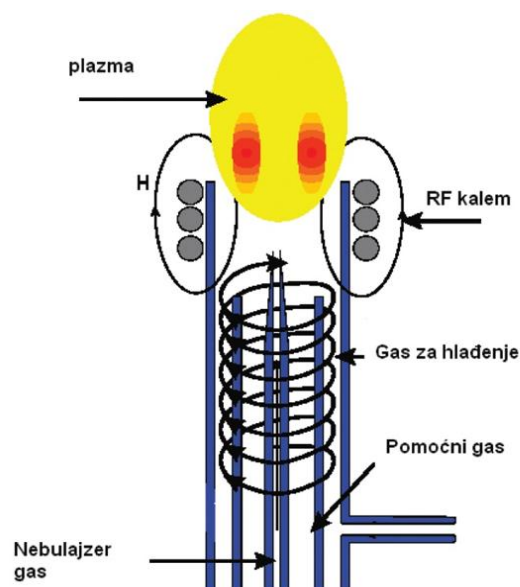
Velika prednost ove metode jeste ta da se zbog visoke temperature plazme metoda u principu može koristiti za određivanje svih elemenata periodnog sistema, osim za argon. Upotrebom hidridne tehnike mogu se odrediti niske koncentracije elemenata koji grade hidride (arsen, bizmut, germanijum, selen, kalaj i telurijum). Međutim, u praksi se primenjuje za određivanje nekih elemenata koji zahtevaju posebne uslove (npr. radioaktivnih) ili posebnu optiku (kao što su hlor, bor i fluor) ili se određuju sa manjom osetljivošću nego pomoću drugih metoda (kao azot ili rubidijum).

Prednosti ICP-spektrometrije nad drugim metodama emisione spektrohemijske analize su (Antić-Jovanović, 2006):

- mogućnost izvođenja višeelementne analize: može da se odredi 20-60 elemenata u probi za manje od dva minuta zavisno od tipa aparata, sa tačnošću koja je istog reda veličine ili veća nego u drugim instrumentalnim metodama;
- široka dinamička oblast: kao posledica malog efekta samoapsorpcije u posmatranoj zoni plazme, analitička kriva je linearna u intervalu koncentracija od nekoliko redova veličine, tako da podjednako mogu da se određuju i mikro i makro elementi;
- analiza uzoraka u obliku rastvora: prevođenje analita u rastvor, uz eventualno prethodno topljenje, razaranje i slično, znatno uprošćava analizu, posebno heterogenog materijala i redukuje efekte matriksa;
- relativno dugo vreme boravka čestica u plazmi: zadržavanje čestica u plazmi nekoliko milisekundi i njena inertna atmosfera doprinose efikasnosti atomizacije i pobuđivanja, a time i osetljivosti određivanja.

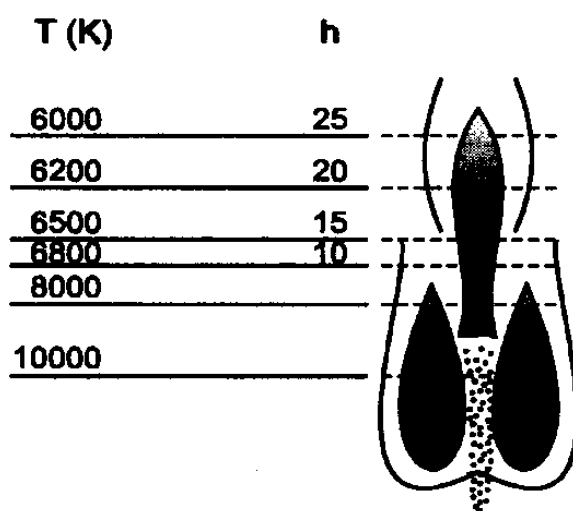
Izgled plazme

Zbog visokih temperatura u ICP izvorima dobijaju se dosta složeni spektri koji se potom analiziraju pomoću spektrometra (*Montaser i Golightly, 1988*). Tipična plazma ima vrlo intenzivno, blistavo belo jezgro prekriveno repom sličnoplamenu (slika 2.7.1).



Slika 2.7.1. *Plazmenik*

U plazmi mogu da se razlikuju tri oblasti različitih spektralnih osobina (slika 2.7.2.): visoko temperaturno jezgro u čijem centralnom delu (kanalu plazme) uzorak podleže efikasnom isparavanju i atomizaciji; analitička zona koja se nalazi 15-20 mm iznad indukcionog kalema, u kojoj se pobuđuje većina elemenata i, niskotemperaturni deo – rep plazme, u kome se pobuđuju elementi sa niskim energijama pobuđivanja.



Slika 2.7.2. Temperaturne zone u plazmi

Uvođenje analita u plazmu

ICP-spektrometrija se uspešno koristi za analizu različitih uzoraka (stena, minerala, vode, bioloških materijala itd.) u rastvoru. Određivani elementi se po pravilu prevode u rastvor koji se u obliku aerosola uvodi u plazmu.

Za raspršivanje rastvora koriste se uglavnom koncentrični pneumatski raspršivači istog tipa kao u plamenoj spektrometriji, od kojih se razlikuju samo po veličini protoka gasa i prečniku kapilare.

Tačnost i osetljivost metode

Tačnost metode je istog reda veličine kao i RSD i kreće se od 1-10% u zavisnosti od koncentracije određivanog elementa. U tabeli 2.7.1. su date granice detekcije za veći broj elemenata (ICP spektrometrija) u vodenim rastvorima postignute primenom pneumatskih raspršivača, kao i za neke druge apsorpcione i emisione tehnike. U praksi, sa komercijalnim aparatima namenjenim analitičkim potrebama, LD (limit detekcije) mogu da budu veće za

faktor 10 i više, pošto zavise u velikoj meri od kvaliteta (moći razlaganja i svetlosne jačine) spektrometra i tipa raspršivača.

Tabela 2.7.1. Granice detekcije (LD, ng/cm³) za neke elemente postignute metodama atomske spektrometrije*

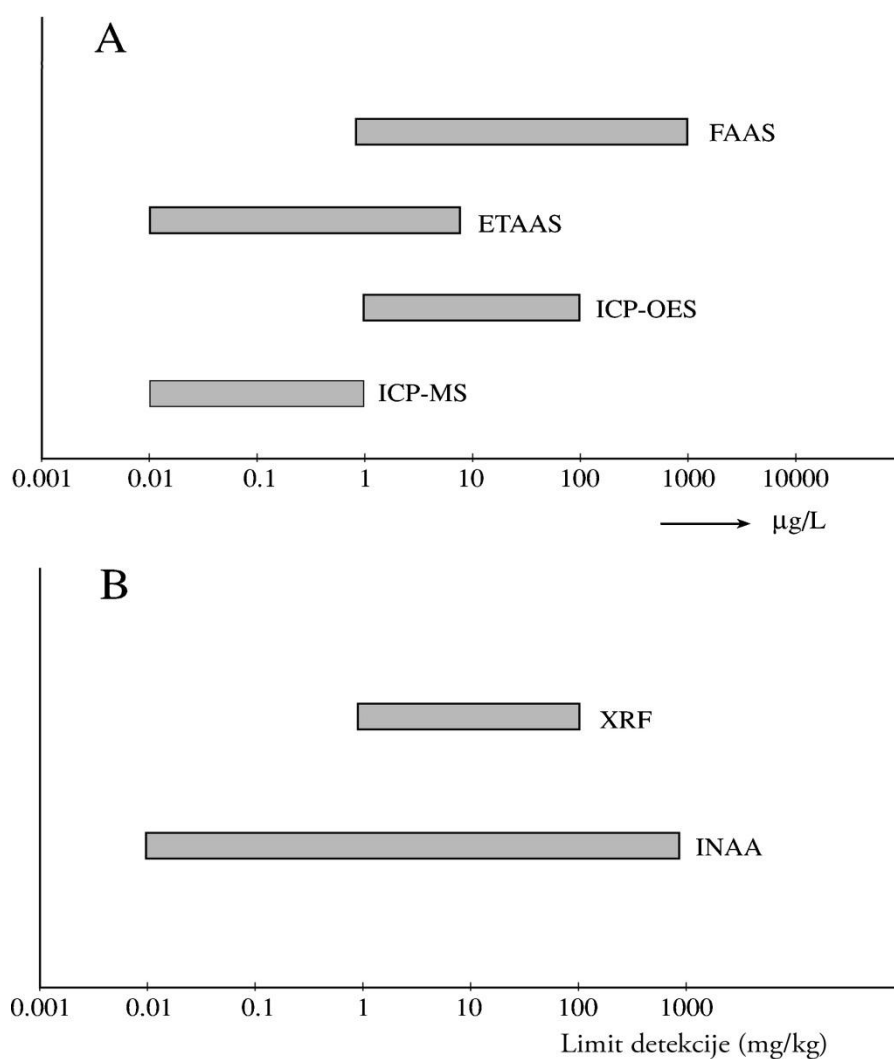
Element	FAAS	ETAAS	FAES	AES/OES (ICP)	FAFS
Al	30	0,005	5	2	5
As	100	0,002	0,0005	40	100
Ca	1	0,002	0,1	0,02	0,001
Cd	1	0,0001	800	2	0,01
Cr	3	0,01	4	0,3	4
Cu	2	0,002	10	0,1	1
Fe	5	0,005	30	0,3	8
Hg	500	0,1	0,0004	1	20
Mg	0,1	0,0002	5	0,05	1
Mn	2	0,002	5	0,06	2
Mo	30	0,005	100	0,2	60
Na	2	0,0002	0,1	0,2	-
Ni	5	0,02	20	0,4	3
Pb	10	0,002	100	2	10
Sn	20	0,1	300	30	50
V	20	0,1	10	0,2	70
Zn	2	0,00005	0,0005	2	0,02

*FAAS - plamena atomska apsorpciona spektrometrija; ETAAS - elektrotermalna atomska apsorpciona spektrometrija; FAES - plamena atomska emisiona spektrometrija; FAFS - plamena atomska fluorescentna spektrometrija; AES/OES – atomska/optička emisiona spektrometrija; ICP - induktivno spregnuta plazma.

Ako se uporede LD navedene u tabeli 2.7.1., lako se uočava da je ICP spektrometrija superiornija u detekciji elemenata sa većom energijom pobuđivanja, dok su LD-ovi za alkalne metale znatno niži u plamenoj spektrometriji.

Najmanja koncentracija koja se može odrediti LQ (limit kvantifikacije) nekom analitičkom metodom je 5-10 puta manja od LD. Limit detekcije može biti i do 10 puta veći od onog koju su propisali proizvođači u zavisnosti od uslova rada u laboratoriji.

Postoji mnogo razloga za to, kao što su starost i tehničko stanje aparata, intenzitet lampi u slučaju AAS, efekat matriksa itd. Tipične granice detekcije koje se mogu očekivati primenom nekih analitičkih metoda date su na slici 2.7.3. Veće granice detekcije su dobijene u složenim matriksima. Povećanjem kompleksnosti matriksa dolazi do smanjenja preciznosti u svim koracima (priprema uzorka, raspršivanje i na kraju detekcija). Manja preciznost dovodi do manje osetljivosti i veće vrednosti LQ. U mnogim sličajevima kada su koncentracije daleko iznad LQ, osetljivost nije primarni kriterijum.



Slika 2.7.3. Limit detekcije nekih analitičkih metoda

2.7.1. Smetnje u ICP spektrometriji

Emisija analita u plazmi manje je podložna smetnjama nego u bilo kom drugom izvoru pobuđivanja. Nespecifične smetnje prouzrokovane su problemima raspršivanja koji dovode do promene količine raspršivanjem unetog rastvora u plazmu, a time i do promene intenziteta analitičkih linija. Zbog visoke temperature plazme, dužeg vremena boravka čestica u plazmi, hemijskih interferencija u ICP spektrometriji praktično nema. Na primer, poznata smetnja fosfatnog jona i aluminijuma pri određivanju kalcijuma u plamenu, u ICP spektrometriji se ne zapaža. Zbog visoke koncentracije elektrona u plazmi, jonizacione smetnje su takođe manje izražene nego u drugim izvorima, posebno u plamenovima. Međutim, ni ove, ni hemijske smetnje ne mogu da se ignorišu u svim slučajevima, posebno u plazmama niže snage tako da, kada se efekti utvrde, treba težiti njihovoj redukciji. Najznačajnije smetnje u ICP-spektrometriji su spektralne smetnje, kao posledica pojave spektara bogatih linijama u UV i Vis oblasti, koje se ne javljaju u drugim izvorima pobuđivanja.

Ove smetnje su prouzrokovane preklapanjem linije analita sa linijom prisutnog elementa bliske talasne dužine; preklapanjem sa krilom proširene susedne linije ili preklapanjem sa kontinualnim zračenjem neke osnovne komponente ili rasutim zračenjem u aparatu. Ovaj tip smetnji u tesnoj je vezi sa karakteristikama korišćenog spektrometra (disperzijom i moći razlaganja).

2.7.2. Načini pripreme uzoraka

Određivanju sadržaja makro i mikroelemenata u uzorcima prethodi mineralizacija uzorka. Dve tehnike koje se najduže i još uvek najčešće primenjuju, baziraju se na suvom spaljivanju na definisanoj temperaturi i vlažnoj digestiji sa oksidansima u otvorenim i zatvorenim sistemima (*Lamble i Hill, 1995; Fernandez-Cacers i sar., 2001;* http://www.cecra.dh.pmf.uns.ac.rs/pdf/drugiseminar/priprema_Maletic.pdf).

Suva mineralizacija

Suva mineralizacija se primenjuje za uzorke koji sadrže veliku količinu organske materije i analiziraju se na nevolatilne elemente. Najčešće su to uzorci hrane (nutritivni elementi u hrani), biljni materijali, biološki materijali, itd. Metoda podrazumeva spaljivanje uzoraka na temperaturama od 450-500 °C 16 sati, u porculanskim ili platinskim posudama (lončićima). Zatim, sledi rastvaranje dobijenog pepela koncentrovanom azotnom kiselinom, filtriranje kroz kvantitativni filter parir u normalnim sudovima i dopunjavanje istih do crte razblaženim rastvorom azotne kiseline. Prednosti suve mineralizacije jesu: mogućnost spaljivanja velike količine uzoraka, mala potreba za reagensima i pogodnost tehnike za pripremu velikog broja uzoraka. Nedostaci se ogledaju u: gubicima usled zaostajanja na zidovima suda, kontaminaciji od suda za spaljivanje i peći za žarenje, gubitku pepela male gustine usled strujanja vazduha (otvorena vrata peći za žarenje) i teškoćama pri rastvaranju određenih metalnih oksida.

Mokra mineralizacija

Mokra mineralizacija služi za prevođenje komponenata iz kompleksnog matriksa u jednostavne hemijske forme. Uzorci se tretiraju azotnom kiselinom i vodonik peroksidom. Potom, sledi filtracija kroz mikrofilter i dopunjavanje normalnog suda do određene zapremine. To je relativno brza i jeftina tehnika (primenjuje se oprema koja se koristi u rutinskoj analizi), a njeni nedostaci su: niske temperature mineralizacije (temperature ključanja kiseline ili primenjene smeše), rizik od kontaminacije iz laboratorijskog vazduha, potrebna veća količina reagenasa, veliki gubici elemenata u tragovima.

Mineralizacija u mikrotalasnoj pećnici

Mineralizacija u mikrotalasnoj pećnici je savremeni postupak mineralizacije uzoraka i mnogo efikasniji i brži od konvencionalnog zagrevanja, jer zagrevanje se vrši unutar uzorka, primenom mikrotalasne energije. Moguća je automatizacija postupka. Potrebna je manja količina uzoraka i manje vreme pripreme u odnosu na ostale tehnike.

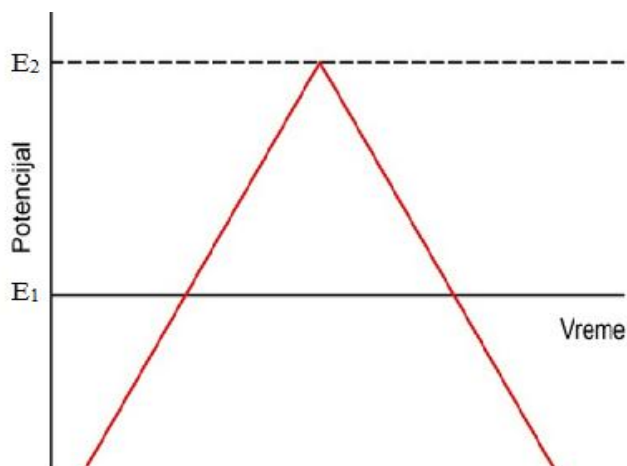
2.8. Voltimetrija

Voltometrijske metode se zasnivaju na promeni potencijala stacionarne radne elektrode sa vremenom i merenju odgovarajuće struje koja se javlja kao posledica redukciono-oksidacionih procesa, a ispitivana vrsta na elektrodu dospeva procesom difuzije.

Dobijeni voltamogram predstavlja „elektrohemijski spektar“, koji pokazuje potencijale na kojima se dešavaju oksidacioni ili redukcionni procesi; učešće homogenih reakcija u ukupnom elektrohemijskom procesu i adsorpciju elektroaktivnih vrsta.

2.8.1. Ciklična voltimetrija

Snimanje cikličnih voltamograma se zasniva na reversnoj promeni potencijala od vrednosti E_1 do vrednosti E_2 i ponovo do vrednosti E_1 odgovarajućom brzinom skeniranja (slika 2.8.1.1.).



Slika 2.8.1.1. Promena potencijala sa vremenom kod ciklične voltimetrije

U nekom rasponu potencijala od katodne do anodne granice najpre se registruje neka konstantna struja, često zanemarljivo mala. Kada se postigne izvesna vrednost E , dovoljna da se aktivira neki elektrodni proces, da faradejsku struju merljive jačine, struja počinje naglo da se povećava. Tada se ostvaruju uslovi za elektrohemijsku polarizaciju. U nekom trenutku povećanje struje se ublažava, dobija se strujni maksimum, posle koga struja naglo ili manje

naglo opada na početnu vrednost. Ovo može više puta da se ponavlja, kad god potencijal dostigne vrednost za iniciranje nekog elektrodnog procesa (Mitić, 2008).

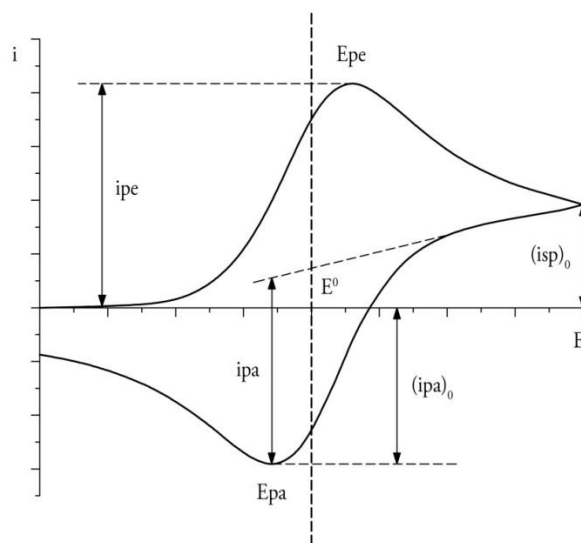
Elektrodni potencijal u određenom trenutku ima vrednost:

$$E_{(t)} = E_i + vt$$

Nakon postizanja konačne vrednosti elektrodnog potencijala koja se za primer oksidacije obično postavlja na vrednost nešto manju od potencijala oksidacije rastvarača ili osnovnog elektrolita, elektrodni potencijal se vraća na početnu vrednost, a elektrodni potencijal u određenom trenutku ima vrednost:

$$E_{(t)} = E_i - vt$$

Brzina promene potencijala v , odnosno brzina polarizacije ili brzina skeniranja, kao i kod linearne voltametrije, zahteva upotrebu mikroelektroda i posebnih instrumenata, kao i Faradejevih kaveza. Ciklični voltamogram za reverzibilni proces dat je na slici 2.8.1.2.



Slika 2.8.1.2. Ciklični voltamogram reverzibilnog procesa

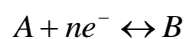
Uobičajeno je da redukcijom procesu odgovara pozitivna struja, a oksidacijom negativna. Sa slike 2.8.1.2. može se videti da je u prvom ciklusu količina naelektrisanja povezana sa anodnim procesom manja u odnosu na redukcionu proces. Uzrok ovome je što tokom redukcionog procesa, elektroaktivna vrsta difunduje ka unutrašnjosti rastvora usled postojanja koncentracionog gradijenta. Na taj način, izvesna količina elektroaktivne vrste se

ne može oksidovati tokom ograničenog trajanja eksperimenta, a otud i nejednakost naelektrisanja pri katodnom i anodnom procesu (Mitić, 2008).

Eksperimentalni parametri koji karakterišu ciklične voltametrijske krive su: struja pika (I_p), potencijal pika (E_p) i poluširina pika ($E_p - E_{p/2}$).

Reverzibilni (Nernstovski) sistemi

Ovo su sistemi kada se na početku u rastvoru nalazi samo vrsta na višem oksidacionom stanju, a reakcija je tako brza u oba smera da se na elektrodi sve vreme održava ravnotežni potencijal, tako da struju određuje brzina dolaska reaktanata iz dubine rastvora i odlaska produkata reakcije (difuziona ograničenja). Razmatranjem jednostavne reverzibilnu reakciju redukcije oksidovane vrste A u redukovanu vrstu B, koja se može predstaviti jednačinom:



Polazi se od drugog Fikovog zakona difuzije za oksidovani i redukovani oblik elektroaktivne vrste. Krajnje rešenje diferencijalnih jednačina daje izraz za krivu struja-potencijal:

$$I_p = k \cdot n^{\frac{3}{2}} \cdot A \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot v^{\frac{1}{2}} \cdot c$$

gde je I_p struja pika izražena u amperima, A površina pika izražena u cm^2 , D difuzioni koeficijent (cm^2/s), v brzina promene potencijala izražena u V/s i c koncentracija oksidovanog oblika izražena u mol/l . Struja pika je proporcionalna koncentraciji ispitivane vrste, a zavisi od svih parametara u izrazu (Bard i sar., 2000).

Povećanjem brzine polarizacije povećava se i struja pika. Od interesa za određivanje su dva merna parametra: intenzitet struje, tj. odnos intenziteta pikova struje I_{pa}/I_{pc} i razlika potencijala pikova $E_{pa}-E_{pc}$.

Odnos I_{pa}/I_{pc} za reverzibilni iznosi 1 i nezavistan je od brzine polarizacije i koeficijenta difuzije, a sama struja pika se povećava sa povećanjem brzine polarizacije. Intenzitet struje povratnog pika (I_{pa}) ne meri se u odnosu na osu potencijala, već u odnosu na smanjenu katodnu struju. Razlog tome je što redukovana vrsta, koja nastaje u toku redukcionog procesa, difunduje ka unutrašnjosti rastvora usled postojanja koncentracionog gradijenta, pa se izvesna količina ne može oksidovati u povratnom procesu. Ako se promena potencijala zaustavi u trenutku obrtanja polarizacije i dozvoli da struja padne, dobijena

anodna kriva ima identičan oblik kao katodna kriva, samo se nalazi na drugoj osi potencijala i tada se intenzitet pika računa u odnosu na osu potencijala. Ovo se dešava zbog toga što sa opadanjem struje u difuzionom sloju dolazi do potpunog smanjenja koncentracije oksidovane vrste i povećanja koncentracije redukovane vrste do koncentracije koja je približna vrednosti početne koncentracije oksidovane vrste pre početka snimanja, tako da je anodno snimanje praktično isto kao da se snima u rastvoru u kome je prisutna samo redukovana vrsta. Ukoliko osnovna linija za merenje I_a ne može da se odredi, odnos I_{pa}/I_{pc} može da se izračuna iz netačnog anodnog pika $(I_{pa})_0$ dobijenog u odnosu na E-osu i struje na potencijalu promene polarizacije $(I_{sp})_0$ (slika 2.8.2.2.)

Kao i kod svih elektrohemijskih metoda, tačnost određivanja je ograničena kapacitivnom strujom (*Bard i sar., 2000*). Kapacitivna struja potiče od pada napona zbog otpora osnovnog elektrolita i pada napona zbog kapacitivnog otpora dvojnog električnog sloja i najbolje se meri u odsustvu elektroaktivnih vrsta. Ako se u sistemu nalazi redoks par, faradejska struja se sabira sa kapacitivnom. Nepovoljna osobina kapacitivne struje je ta što je direktno proporcionalna brzini polarizacije za razliku od faradejske struje koja je proporcionalna korenu brzine polarizacije. Stoga, pri velikim brzinama polarizacije i malim koncentracijama oksidovane vrste dolazi do izobličavanja talasa. Ovaj efekat često postavlja ograničenja za maksimalnu brzinu polarizacije i minimalnu koncentraciju. Zbog nepouzdanosti korekcije kapacitivne struje, merenje intenziteta pika ima malu tačnost tako da ciklična voltometrija nije idealna metoda za kvantitativno određivanje.

Potencijal katodnog pika E_{pc} se može predstaviti izrazom:

$$E_{pc} = E_{\frac{1}{2}} - \frac{1,09RT}{nF}$$

$$E_{pc} = E_{\frac{1}{2}} - \frac{28,5}{n} \quad (\text{na } 25 \text{ } ^\circ\text{C})$$

gde je $E_{1/2}$ polutalasi potencijal polarografskog talasa istog elektrohemijskog procesa.

Određivanje E_{pc} iz eksperimentalne krive je neprecizno, jer je pomena struje u blizini vrha pika minimalna, pa se često kao referentna tačka uzima potencijal koji odgovara polovini visine pika $E_{p/2}$. $E_{p/2}$ je definisan kao potencijal na kojem struja postiže polovinu svoje maksimalne vrednosti, a koji je jednak:

$$E_{\frac{p}{2}} = E_{\frac{1}{2}} + \frac{1,09RT}{nF}$$

$$E_{\frac{p}{2}} = E_{\frac{1}{2}} + \frac{28}{n} \text{ (na } 25 \text{ } ^\circ\text{C)}$$

Poluširina pika:

$$E_p - E_{\frac{p}{2}} = \frac{2,20RT}{nF}$$

$$E_p - E_{\frac{p}{2}} = \frac{56,5}{nmV}$$

Izrazi za karakteristične potencijale anodnih pikova su analogni navedenim izrazima za katodne pikove osim što se uzimaju suprotni predznaci drugih sabiraka u jednačinama.

Osnovni kriterijumi reverzibilnosti elektrodnog procesa su:

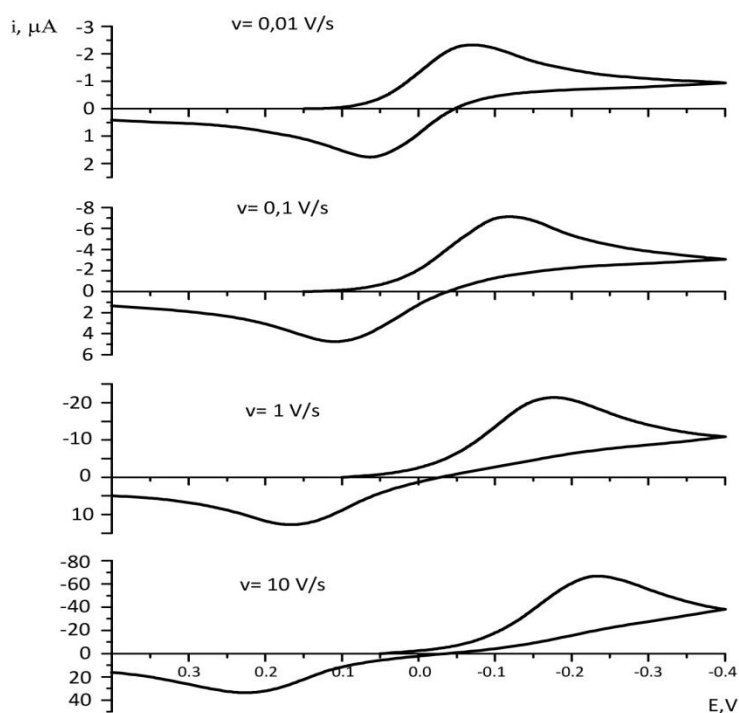
- razlika potencijala katodnog i anodnog pika je konstantna na $t=25 \text{ } ^\circ\text{C}$ bliska 59 mV/n ,
- prilikom uzastopnih snimanja uspostavlja se stacionarno stanje pri kome je razlika potencijala 58 mV/n ,
- apsolutna vrednost razlike E_p i $E_{p/2}$ je jednaka $56,5 \text{ mV/n}$
- struje katodnog i anodnog pika su posle izvesnog broja uzastopnih snimanja (višestrukih ciklusa) jednake,
- struja pika je proporcionalna $v^{1/2}$,
- potencijal pika je nezavistan od brzine promene potencijala i
- pri potencijalima iza E_p , kvadratni koren recipročne vrednosti struje je srazmeran vremenu.

Ciklična voltometrija je veoma dobra metoda za proučavanje kinetike elektrohemijskih procesa. Prethodno opisane karakteristike cikličnih voltamograma odnose se na elektrohemijske reakcije ograničene samo difuzijom (tzv. reverzibilni), dok ciklični voltamogram za ireverzibilni (potpuno ograničen kinetikom prenosa naelektrisanja) i kvazireverzibilni (delimično ograničen) imaju nešto drugačiji izgled.

Ireverzibilni sistemi

Kada je brzina prenosa elektrona nedovoljna da omogući ravnotežno stanje i oblik cikličnih voltamograma se menja. Pri tom oblik voltamograma zavisi od brzine polarizacije. Pri nižim vrednostima brzine polarizacije, prenos elektrona je brži od transporta mase elektroaktivne vrste, što se manifestuje dobijanjem cikličnog voltamograma za reverzibilni

proces. Međutim, sa porastom brzine polarizacije raste i brzina transporta mase, tako da ove dve veličine postaju uporedive i dolazi do remećenja ravnoteže na površini elektrode. Najvidljiviji efekat ovakvog ireverzibilnog ponašanja je povećanje razlike potencijala katodnog i anodnog pika sa povećanjem brzine polarizacije.



Slika 2.8.1.3 Ciklični voltamogrami ireverzibilnog procesa za različite brzine promene potencijala

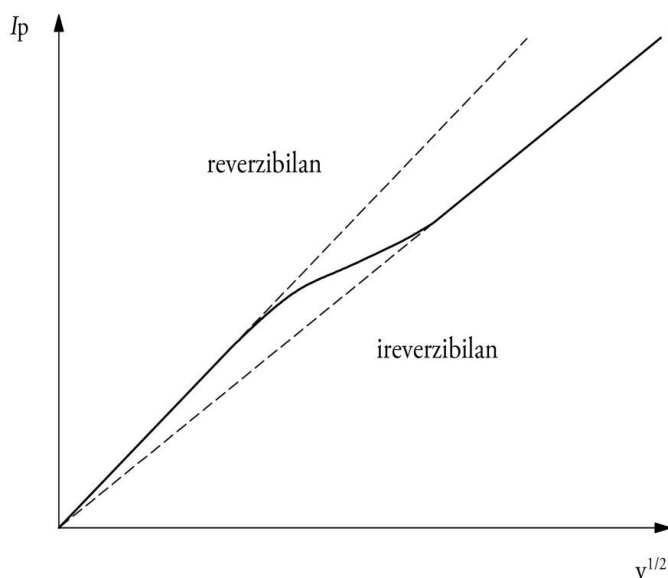
Struja pika ireverzibilnog procesa na 25 °C data je izrazom:

$$I_p = k \cdot n^{\frac{1}{2}} \cdot a^{\frac{1}{2}} \cdot A \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot v^{\frac{1}{2}} \cdot c$$

Pokazalo se da potencijal pika zavisi od brzine promene potencijala. Ta zavisnost nije velika s obzirom da pri promeni brzine promene potencijala za deset puta dolazi do promene potencijala pika od svega 30 mV.

Moguće je da se isti elektrodni proces pri nižim brzinama potencijala ponaša kao reverzibilni, a da pri većim brzinama postaje ireverzibilni. Između ta dva slučaja postoji oblast u kojoj se elektrohemijski proces odvija kao kvazireverzibilni. Kvazireverzibilni procesi se javljaju kada postoji ograničenje u brzini prenosa naelektrisanja.

Ovaj prelaz od reverzibilnog preko kvazireverzibilnog do potpuno ireverzibilnog se može zapaziti sa dijagrama koji daje zavisnost I_p od $v^{1/2}$ (slika 2.8.2.4.).



Slika 2.8.1.4. Dijagram zavisnosti struje pika od kvadratnog korena brzine promene potencijala

Najsigurnija identifikacija ireverzibilnosti nekog elektrohemijskog procesa je odsustvo reverzibilnog pika na cikličnom voltamogramu (Mitić, 2008).

Međutim, u nekim slučajevima pik se može izgubiti kao posledica neke naknadne i vrlo brze hemijske reakcije, te ne treba odmah i bez drugih provera odsustvo pika pripisati ireverzibilnosti elektrohemijskog procesa. Danas, na osnovu Matsudinih parametara postoje opšte prihvaćeni uslovi koje moraju da ispunjavaju vrednosti standardne konstante brzine prenosa elektrona k^0 (izražene u cm/s) i brzine promene potencijala v , da bi se elektrodni proces svrstao u jednu od grupa reverzibilnosti:

$$\text{Za reverzibilne procese} \quad k^0 > 0,3 \cdot v^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{Za kvazireverzibilne} \quad 2 \cdot 10^{-5} \cdot v^{\frac{1}{2}} \leq k^0 \leq 0,3 \cdot v^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{Za ireverzibilne} \quad k^0 < 2 \cdot 10^{-5} \cdot v^{\frac{1}{2}}$$

Kod elektrohemijskih ireverzibilnih procesa, povratna reakcija je toliko spora da se može zanemariti. U ovom slučaju sa opadanjem konstante brzine elektrodne reakcije dolazi do pomeranja pika struje, ali je jačina struje kao i kod reverzibilnih procesa proporcionalna kvadratnom korenu brzine polarizacije.

2.9. Multivarijantna statistička analiza

Multivarijantna statistička analiza je prisutna u nauci gotovo jedan vek. Ova tehnika može da analizira međusobne odnose između više varijabli (više od dve), i to simultano prema odgovarajućem modelu na kojem se bazira ta tehnika. Većina metoda ove tehnike identifikuju šablone (obrasce) podudarnosti ili odnosa između mnogo varijabli, ocenjuju relativnu važnost svake varijable i predviđaju ili objašnjavaju moguće ishode. Sve multivarijantne statističke metode mogu da se podele u dve grupe:

- metode koje analiziraju zavisnost i
- metode koje analiziraju međuzavisnost.

Kod metoda koje analiziraju zavisnost cilj je da se jedna zavisna varijabla objasni i predvide njene varijacije na osnovu ostalih, nezavisnih varijabli. Kod metoda koji analiziraju međuzavisnost, sve pojave u modelu se posmatraju na isti način, a cilj je da se utvrdi obrazac ponašanja varijabli, odnosno koje varijable su međusobno slične, a koje ne.

Na osnovu podele metoda multivarijantne analize na metode zavisnosti i međuzavisnosti, konkretni metodi mogu da se klasifikuju u svaku od navedenih grupa (Kovačić, 1994).

Metodi zavisnosti

1. *Multivarijantna regresija.* Ovo je najpoznatiji metod multivarijantne analize. U njegovom nazivu se koristi izraz multivarijantna da bi se na taj način razlikovala dva slučaja. Prvi, koji se bavi analizom zavisnosti jedne promenljive (zavisna promenljiva) od skupa drugih promenljivih (nezavisne promenljive). Ovaj metod analize poznatiji je pod nazivom metod višestruke regresije. Drugi slučaj je kad skup zavisnih promenljivih sadrži više od jednog člana. Za ovaj slučaj se kaže da predstavlja opštiji model multivarijantne regrsije. Kod oba modela zadatak je

ocenjivanje ili predviđanje srednje vrednosti zavisne, odnosno srednjih vrednosti zavisnih promenljivih na bazi poznatih vrednosti nezavisnih promenljivih.

2. *Kanonička korelaciona analiza*. Ova analiza se može smatrati uopštenjem višestruke regresione analize. Naime, njome se uspostavlja linearnu zavisnost između skupa nezavisnih i skupa zavisnih promenljivih. Kod izračunavanja kanoničke korelacije formiraju se dve linearne kombinacije, jednu za skup nezavisnih, a drugu za skup zavisnih promenljivih. Koeficijent ovih linearnih kombinacija određuje se tako da koeficijent korelacije između njih bude maksimala.
3. *Diskriminaciona analiza*. Bavi se problemom razdvajanja grupa i alokacijom opservacija u ranije definisane grupe. Primena diskriminacione analize omogućava indentifikaciju promenljive koja je najviše doprinela razdvajanju grupa kao i predviđanje verovatnoće da će objekat pripasti jednoj od grupa na osnovu vrednosti skupa nezavisnih promenljivih.
4. *Multivarijantna analiza varijanse (MANOVA)*. Multivarijantna analiza varijanse je odgovarajući metod analize kada je cilj ispitivanje uticaja različitih nivoa jedne ili više eksperimentalnih promenljivih na dve ili više zavisnih promenljivih. U tom smislu ona predstavlja uopštenje jednodimenzione analize varijanse (ANOVA). Od posebne je koristi u situaciji kada je moguće sprovesti kontrolisani eksperiment (manipulišući sa nekoliko tretmana). Osnovni cilj je testiranje hipoteze koja se tiče varijanse efekta grupe dve ili više zavisnih promenljivih.
5. *Logit analiza*. Kada je u regresionom modelu zavisna promenljiva dihromatnog tipa, tada se takav model naziva regresioni model sa kvalitativnom zavisnom promenljivom. Kod njih zavisna promenljiva, tzv. logit funkcija logaritam količnika verovatnoće da će dihromatna zavisna promenljiva uzeti jednu ili drugu vrednost. Model ovog tipa se naziva i modeli logističke regresione analize.

Metodi međusobne zavisnosti

1. *Analiza glavnih komponenti*. Analiza glavnih komponenti je metod za redukciju većeg broja promenljivih koje se razmatraju, na manji broj novih promenljivih

(nazivaju se glavne komponente). Najčešće manjim brojem glavnih komponenata se razmatraju pretežno deo varijanse originalnih promenljivih, što omogućava lakše razumevanje informacije sadržane u podacima. Osnovni zadatak jeste konstruisanje linearne kombinacije originalnih promenljivih (glavnih komponenata) uz uslov da obuhvate što je moguće veći iznos varijanse originalnog skupa promenljivih.

Sukcesivne glavne komponente izdvajaju se uz ograničenje da su međusobno nekorelisane i da obuhvataju u maksimalnom iznosu preostali deo ukupne varijanse koji nije obuhvaćen prethodno izdvojenim komponentama.

2. *Faktorska analiza.* Slična je metodu glavnih komponenti po tome što se koristi za opis varijacija između promenljivih na osnovu manjeg broja promenljivih (nazivaju se faktori). Međutim, za razliku od nje, pretpostavlja postojanje odgovarajućeg statističkog modela kojim originalnu promenljivu iskazuje kao linearnu kombinaciju faktora plus greška modela, odnosno veličina koja odražava stepen nezavisnosti posmatrane promenljive od svih ostalih. Na taj način se celokupna kovarijansa ili korelacija objašnjava zajedničkim faktorima, a neobjašnjeni deo se pridružuje grešci (naziva se specifičan faktor). Dakle, kod faktorske analize, za razliku od glavnih komponenata gde je cilj objašnjenje varijanse, cilj je usmeren ka objašnjenju kovarijanse, odnosno onog dela ukupne varijanse koji promenljiva deli sa ostalim promenljivim iz posmatranog skupa promenljivih.
3. *Analiza grupisanja.* Analiza grupisanja je metod za redukciju podataka. Za razliku od prethodna dva metoda koji su orijentisane ka kolonama (promenljivih), on je orijentisan ka redovima (objektima) matrice podataka. Ovom analizom kombinuju se objekti u grupi relativno homogenih objekata. Zadatak u mnogim istraživanjima upravo je identifikovanje manjeg broja grupa, tako da su elementi koji pripadaju nekoj grupi u izvesnom smislu sličniji jedan drugom, nego što su to elementi koji pripadaju drugim grupama.
4. *Višedimenziono proporcionalno prikazivanje.* Pripada klasi metoda koja je orijentisana ka objektima, a koristi meru sličnosti, odnosno razlike između njih u cilju njihovog prostornog prikazivanja. Izvedena prostorna prezentacija sadrži geometrijski raspored tačaka na mapi, gde se svaka tačka odnosi na jedan od

objekata. Ukoliko se za ovo proporcionalno prikazivanje koristi mera bliskosti dobijena na osnovu merljivih (kvantitativnih) promenljivih nazivu metode dodaje se pridev kvantitativno, a ako se za računanje mere sličnosti koriste kvalitativne promenljive, tada se nazivu metode dodaje pridev kvalitativno.

5. *Linearni modeli.* Ovi modeli omogućavaju ispitivanje međusobne zavisnosti kvalitativnih promenljivih koje formiraju višedimenzionu tabelu kontingenacije. Ukoliko se jedna promenljiva u tabeli kontingenacije može smatrati zavisnom, tada se na osnovu ocenjenih loglinearnih modela može izvesti, ranije spomenuti logit modeli. Međutim, kod tabela kontingenacije logit funkcija se izražava preko ćelijskih frekvencija, za razliku od modela logističke regresije gde logit funkciju iskazuje preko skupa nezavisnih promenljivih koje mogu biti kvantitativne ili kvalitativne.

Tabachnick i Fidell (1989) su dali podelu multivarijatnih metoda koja se zasniva na zadanim ciljevima istraživanja (tabela 2.9.1.).

Tabela 2.9.1. Metodi multivarijatne analize (*Tabachnick i Fidell, 1989*) i autori koji su dali najveći doprinos njihovoj razradi i primeni (*Cooley i Lohnes, 1971*)

Cilj	Metodi
Nivo povezanosti	višestruka korelacija i regresija (<i>Pearson, 1901; Fisher, 1928; Cattell, 1949</i>) kanonička korelacija (<i>Hotelling, 1936</i>) višestruka analiza frekvencija (diskretne varijacije)
Značajnost razlika između grupa	faktorska ANOVA (<i>Fisher i Mackenzie, 1923</i>) faktorska ANCOVA (<i>Cochran, 1957</i>) faktorska MANOVA (<i>Wilks, 1932</i>) faktorska MANCOVA jednosmerna MANOVA ili Hotelling's T2 (<i>Hotelling, 1936</i>) profilna analiza - PA (<i>Cronbach, 1953</i>)
Predviđanje pripadnosti grupa	jednosmerna diskriminantna analiza – DA (<i>Fisher, 1936</i>) faktorska diskriminantna funkcijska analiza – DFA

Struktura veze:	analiza glavnih komponentata – PCA (<i>Hotelling, 1933</i>)
- empirijska	faktorska analiza – FA (<i>Harman, 1960; Cattell, 1965</i>)
- teoretska	

2.9.1. Metod glavnih komponenti (*Principal Component Analysis, PCA*)

Analiza glavnih komponentata je prvi i klasični metod kojim se pokušava redukovati dimenzionalnost tako da se stvore latentne promenljive koje su međusobno nezavisne (nisu međusobno u korelaciji) a onda se zadržavaju samo one koje su “dovoljno informativne”. Razvio ju je Hotelling, 1933. godine.

Da bi se redukovao broj promenljivih, odnosno dimenzija prostora, potrebno je pronaći kriterijum za odbacivanje “malo informativnih” novih promenljivih, odnosno pronaći kriterijum za zadržavanje onih promenljivih koje nose najveći deo informacija sadržanih u polaznom sastavu promenljivih. Postoji niz kriterijuma, a neki od njih su:

- Kaiserov kriterijum (*Kaiser, 1960*) prema kojem se uzimaju samo one glavne komponente kojima odgovaraju svojstvene vrednosti veće od 1;
- uzimaju se samo one glavne komponente kojima odgovaraju svojstvene vrednosti veće od proseka svih svojstvenih vrednosti;
- uzimaju se samo one glavne komponente koje nose odnosno zadržavaju svaki posebno, unapred zadani deo informacija;
- uzimaju se samo one glavne komponente koje nose odnosno zadržavaju (ukupno kao sastav) unapred zadani deo informacija;
- broj komponentata se određuje proizvoljno.

Nema pravila koja bi diktirala izbor jednog od navedenih kriterijuma. Jedino čime se treba rukovoditi jeste cilj da broj zadržanih promenljivih ne bude prevelik i da gubitak informacija iz polaznog sastava bude što manji.

U interpretaciji novodobijenih varijabli koristi se matrica strukture čiji su elementi linearne korelacije originalnih promenljivih i novodobijenih promenljivih ili faktora.

2.9.2. Faktorska analiza

Faktorska analiza je metodološki temelj istraživanja u različitim područjima mnogih društvenih nauka, a primjenjuje se i u istraživanjima na području prirodnih nauka.

Faktorska analiza je generičko ime dato klasi multivarijantni statistički metodi - čija je primarna svrha definisanje osnovne strukture u matrici podataka. Uopšteno govoreći, ona se bavi problemom analiziranja strukture međuodnosa (korelacija) među velikim brojem varijabli, putem definisanja seta zajedničkih osnovnih dimenzija, poznatih kao faktori.

Kod faktorske analize, istraživač može prvo da identifikuje odvojene dimenzije strukture, i onda determiniše obim u kom je svaka varijabla objašnjena pomoću svake dimenzije. Kada se determinišu ove dimenzije i objašnjenje svake varijable, mogu se ostvariti dve primarne upotrebe faktorske analize – sumiranje i redukcija podataka. U sumarizaciji podataka, faktorska analiza izvodi osnovne dimenzije, koje kada se interpretiraju i shvate, opisuju podatke u mnogo manjem broju koncepata nego originalne individualne varijable. Redukcija podataka se može ostvariti izračunavanjem skorova za svaku osnovnu dimenziju i njihovom zamenom umesto originalnih varijabli.

Ciljevi faktorske analize

Polazište u faktorskoj analizi, kao i kod drugih statističkih tehnika, je problem istraživanja. Opšta svrha faktorsko analitičkih tehnika je da se pronađe način da se sažmu informacije sadržane u velikom broju originalnih varijabli, u manji set novih, kompozitnih dimenzija ili varijanti (faktora), uz minimalni gubitak informacija tj. da se traže i definišu fundamentalne dimenzije za koje se pretpostavlja da su u osnovi originalnih varijabli. Konkretnije, tehnike faktorske analize mogu ostvariti jedan od dva cilja:

- identifikovanje strukture kroz sumiranje podataka ili
- redukcija podataka.

Selekcija varijabli

Redukcija podataka i sumiranje se mogu izvršiti ili sa prethodno postojećim setovima varijabli, ili sa varijablama koje je stvorilo novo istraživanje. Kada koristi postojeći set varijabli, istraživač treba ipak da razmotri konceptualne varijable i koristi ocenu adekvatnosti varijabli za faktorsku analizu. Upotreba faktorske analize za redukciju podataka, postaje

naročito kritična kada se zahteva uporedivost tokom vremena, ili u višestrukim okruženjima. Kada se koristi novi istraživački pokušaj, faktorska analiza takođe može da determiniše strukturu i/ili stvori nove kompozitne skorove iz originalnih varijabli. Npr. jedan od prvih koraka u konstruisanju sumirane skale je proceniti njenu dimenzionalnost i adekvatnost odabranih varijabli, kroz faktorsku analizu.

Kriterijumi za broj faktora za ekstrakciju

Kako se odlučuje o broju faktora za ekstrakciju? Kada se faktoriše veliki set varijabli, ovaj metod prvo ekstrahuje kombinacije varijabli koje objašnjavaju najveći obim varijanse, i onda produžava na kombinacije koje objašnjavaju sve manje i manje obime varijanse. U odlučivanju kada zaustaviti faktorisanje (tj. koliko faktora ekstrahovati), istraživač generalno počinje sa nekim unapred determinisanim kriterijumom, kao što je procenat varijanse ili kriterijum latentnog korena, da bi se dobio specifičan broj faktora za ekstrakciju. Nakon što je inicijalno rešenje izvedeno, istraživač izračunava nekoliko dodatnih probnih rešenja – obično jedan manje faktor od inicijalnog broja, i dva ili tri faktora više nego što je inicijalno izvedeno. Onda, na bazi informacija dobijenih iz probnih analiza, ispituju se faktorske matrice, a najbolja reprezentacija podataka se koristi kao pomoć u determinisanju broja faktora za ekstrakciju. Po analogiji, odabir broja faktora koje treba interpretirati je nalik fokusiranju mikroskopa. Previsoko ili prenisko podešavanje, će učiniti nejasnom strukturu koja je očigledna kada je podešavanje ispravno. Stoga, putem ispitivanja broja različitih faktorskih struktura izvedenih iz nekoliko probnih rešenja, istraživač može da ih poredi i suprotstavlja, da bi došao do najbolje reprezentacije podataka. Tačna kvantitativna osnova za odlučivanje o broju faktora za ekstrakciju, nije razvijena. Međutim, trenutno se koriste sledeći kriterijumi zaustavljanja, za broj faktora za ekstrakciju.

Kriterijum latentnog korena

Najčešće korišćena tehnika je kriterijum latentnog korena. Ova tehnika je jednostavna za primenu ili u komponentnoj analizi ili faktorskoj analizi u užem smislu. Obrazloženje za kriterijum latentnog korena je da bilo koji individualni faktor treba da objasni varijansu bar jedne varijable, ako ga treba zadržati za interpretaciju. Svaka varijabla doprinosi vrednost 1 ukupnoj karakterističnoj vrednosti. Stoga, samo se faktori koji imaju *latentne korene* ili *karakteristične vrednosti* veće od 1, smatraju značajnim; svi faktori sa latentnim korenima

manjim od 1, se smatraju neznačajnim i oni se izostavljaju. Korišćenje karakteristične vrednosti za utvrđivanje prekida (granične vrednosti), je najpouzdanije kada je broj varijabli između 20 i 50. Ako je broj varijabli manji od 20, postoji tendencija da ovaj metod ekstrahuje konzervativan broj faktora (premalo); dok, ako je uključeno više od 50 varijabli, nije neuobičajeno da se ekstrahuje previše faktora.

A priori kriterijum

A priori kriterijum je jednostavan, a ipak razuman kriterijum pod izvesnim okolnostima. Kada ga primenjuje, istraživač već zna koliko faktora da ekstrahuje, pre upotrebe faktorske analize. Istraživač jednostavno daje instrukcije kompjuteru da zaustavi analizu kada se ekstrahuje željeni broj faktora. Ovaj pristup je koristan kada se testira teorija, ili hipoteza o broju faktora koje treba ekstrahovati. On takođe može biti opravdan u pokušaju repliciranja rada drugog istraživača i ekstrahovanja istog broja faktora koji je prethodno pronađen.

Kriterijum procenta varijanse

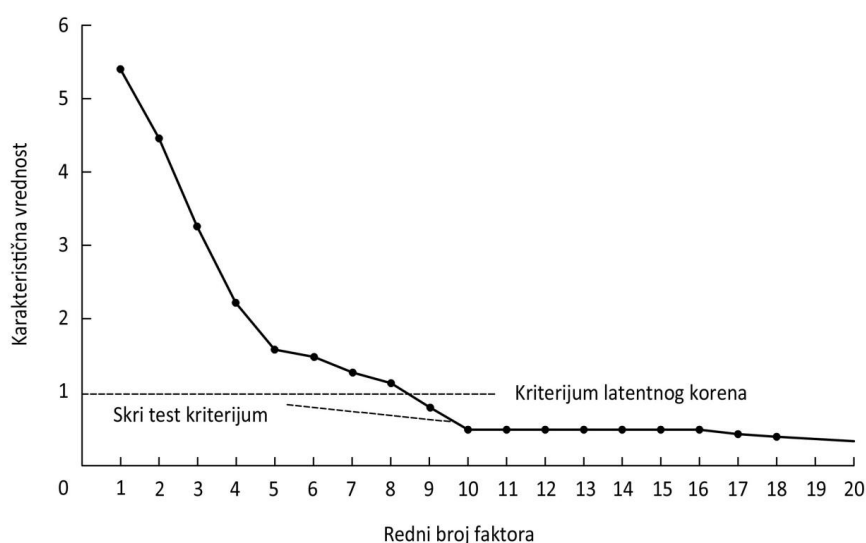
Kriterijum procenta varijanse je pristup baziran na ostvarenju kumulativnog procenta ukupne varijanse, ekstrahovane uzastopnim faktorima. Svrha je osigurati praktičnu značajnost za izvedene faktore, putem obezbeđenja da oni objašnjavaju bar obim varijanse. Nije usvojen apsolutni prag za sve aplikacije. Međutim, u prirodnim naukama, proceduru faktorisanja obično ne treba zaustavljati dok ekstrahovani faktori ne objasne bar 95% varijanse, ili dok poslednji faktor ne objasni samo mali deo (manje od 5%).

Kriterijum skri (scree) testa

Kod faktorskog modela komponentne analize, kasniji ekstrahovani faktori sadrže i zajedničku i jedinstvenu varijansu. Iako svi faktori sadrže bar neku jedinstvenu varijansu, srazmera jedinstvene varijanse je znatno viša u kasnijim nego u ranijim faktorima. Skri test se koristi da identifikuje optimalni broj faktora koji se mogu ekstrahovati pre no što obim jedinstvene varijanse počne da dominira strukturom zajedničke varijanse. Skri test se izvodi ucrtavanjem latentnih korena, u odnosu na broj faktora po njihovom redosledu ekstrakcije, a oblik rezultujuće krive se koristi za evaluaciju tačke prekida (granične vrednosti). Počevši sa prvim faktorom (slika 2.9.2.1.), dijagram u početku ima strmi silazni nagib, a onda polako

postaje približno horizontalna linija. Za tačku u kojoj kriva prvo počinje da se ispravlja, se smatra da indicira maksimalan broj faktora za ekstrakciju. Prvih 10 faktora bi se kvalifikovalo. Preko 10, bila bi uključena prevelika srazmera jedinstvene varijanse pa npr. ovi faktori ne bi bili prihvatljivi.

Opaza se da u upotrebi kriterijuma latentnog korena, samo osam faktora bi bilo razmotreno. Nasuprot tome, upotreba skri testa obezbeđuje još dva faktora. Kao opšte pravilo, skri test rezultira u tome da se za uključenje razmatra bar jedan, a ponekad i dva ili tri više faktora, nego kod kriterijuma latentnog korena.



Slika 2.9.2.1. Dijagram karakteristične vrednosti za kriterijum skri testa (*x*-osa – broj faktora, *y*-osa – latentni koren (karakteristična vrednost))

Heterogenost varijabli

Deljena varijansa među varijablama je osnova i za komponentne faktorske modele i one sa zajedničkim faktorom. Osnovna pretpostavka je da se deljena varijansa proteže preko čitavog uzorka. Ako je uzorak heterogen u pogledu bar jednog podskupa varijabli, onda će prvi faktori predstavljati one varijable koje su homogenije preko čitavog uzorka. Varijable koje su bolji diskriminatori između podgrupa uzorka, će opteretiti kasnije faktore, mnogo puta one koji nisu odabrani pomoću kriterijuma o kojima je gore diskutovano. Kada je cilj identifikovati faktore koji vrše diskriminaciju među podgrupama uzorka, istraživač treba da ekstrahuje dodatne faktore preko onih indiciranih od strane metoda gore navedenih, i da ispita sposobnost tih dodatnih faktora. Ako se oni pokažu kao manje korisni u diskriminaciji, rešenje može ponovo da se pregleda, a ovi kasniji faktori eliminišu.

Rezime kriterijuma za selekciju faktora

U praksi, većina istraživača retko koristi samo jedan kriterijum u determinisanju koliko faktora da ekstrahuje. Umesto toga, oni inicijalno koriste kriterijum kao što je latentni koren, kao smernicu za prvi pokušaj u interpretaciji. Nakon što se faktori interpretiraju, procenjuje se praktičnost faktora.

Jedno upozorenje pri selekciji finalnog seta faktora: postoje negativne posledice, ako se odabere previše ili premalo faktora da predstavljaju podatke. Ako se koristi premalo faktora, onda nije otkrivena ispravna struktura i važne dimenzije mogu biti izostavljene. Ako se zadrži previše faktora, onda interpretacija postaje teža kada se rezultati rotiraju. Iako su faktori nezavisni, može se lako imati previše kao i premalo faktora.

2.9.3. Klaster analiza

Klaster analiza je naziv za grupu multivarijacionih tehnika čija je primarna svrha grupisanje objekata bazirano na karakteristikama koje poseduju. Termin klaster dolazi od engl. reči cluster (skupina "istovrsnih stvari", grozd, skupiti u hrpu). Klaster analiza klasifikuje objekte (ispitanike, proizvode ili druge objekte) tako da je svaki objekat veoma sličan drugima u klasteru uz poštovanje nekog unapred određenog kriterijuma selekcije. Nastale skupine objekata bi trebalo da pokažu visoki interni homogenitet (sličnost), unutar klastera, i visoku eksternu (između klastera) različitost.

Postoji veći broj metoda za kombinovanje objekata u klaster.

U načelu se razlikuju hijerarhijske i nehijerarhijske metode klasterizacije. Hijerarhijske metode se dalje mogu podeliti na tzv. "aglomerativne", "gomilajuće" i "divisive" odnosno deleće. Prve polaze od pojedinih objekata koje povezuju u sve veće klaster, dok druge polaze od svih objekata udruženih u jedan klaster, pa ih zatim dele do pojedinih objekata.

2.9.3.1. Hijerarhijski postupak klasterovanja

Hijerarhijski postupci podrazumevaju izgradnju jedne hijerarhijske strukture nalik drvetu. U osnovi postoje dve vrste hijerarhijskog grupisanja podataka – aglomerativni i podele. U aglomerativnim postupcima, svaki objekat ili jedinica posmatranja počinje kao

sopstveni klaster. U narednim koracima, dva najbliža klastera (ili individue) se kombinuju u novi klaster, smanjujući broj klastera za jedan u svakom narednom koraku. U nekim slučajevima, trećina jedinica posmatranja se priključuje u prva dva klastera. U drugom slučaju, dve grupe individualnih jedinica koje su formirane u nekom ranijem koraku se mogu udružiti u novi klaster. Na kraju, svi pojedinci su grupisani u jedan veliki klaster (grupu); iz tog razloga, aglomerativne procedure se ponekad nazivaju i metodama izgradnje. Važna karakteristika hijerarhijskih procedura je da se raniji rezultati uvek svrstavaju među kasnije rezultate.

Kod "aglomerativnih" metoda svaki objekt tretira se na prvom koraku kao zaseban klaster. Zatim se udružuju dva najbliža objekta u prvi klaster. U trećem koraku ili se tom klasteru dodaje neki pojedini objekt ili se dva pojedina objekta povezuju u drugi klaster. Pri svakom sledećem koraku ili se pojedini objekti kombinuju u nove klasterne ili se već postojeći klasteri međusobno povezuju.

Jednom formirani klaster se, kod hijerarhijskih metoda klasterovanja, više ne može deliti, već se samo može povezivati s drugim klasterima. Mogu se podeliti u 3 grupe: metode povezivanja (*linkage*), metoda greške sume kvadrata ili metoda varijanse, i centroidne metode. Sve metode se zasnivaju na matricama udaljenosti ili sličnosti među objektima ($k \times k$). Metode se razlikuju prema načinu na koji se procenjuje udaljenost između klastera u sukcesivnim koracima.

Na formiranje klastera mogu uticati i postupci određivanja udaljenosti / sličnosti među objektima. Dominantno se u istraživanjima koristi spomenut hijerarhijski "aglomerativni" metod.

Neke karakteristike ovog metoda su:

- polazi se od matrice sličnosti među objektima $k \times k$,
- sukcesivno formiranje klastera može se prikazati grafički dijagramom u obliku stabla, koji se naziva dendrogram (*grč. dendros - stablo*),
- metod zahteva $k-1$ koraka u formiranju klastera, budući da se na prvom koraku svi pojedinačni objekti tretiraju kao zasebni klasteri. Konačno se dobija jedan klaster koji sadrži sve objekte i
- relativno je lako razumljiva širem krugu potencijalnih korisnika.

Prosto povezivanje (Single linkage, "Nearest neighbour")

Postupak prostog povezivanja je zasnovan na minimalnoj udaljenosti. Korišćenjem ovog metoda, pronalaze se dva odvojena objekta putem najkraće udaljenosti i smeštaju se u prvi klaster. Zatim se pronalazi sledeća najkraća udaljenost, pa se trećina objekta pridružuje i sa prva dva formira klaster, ili se formiraju nova dva klastera. Proces se nastavlja sve dok se svi objekti ne nađu u jednom klasteru. Ovaj proces se naziva još i pristup najbližeg suseda. Rastojanje između bilo koja dva klastera je najkraća udaljenost između bilo koje tačke u jednom u odnosu na bilo koju tačku u drugom klasteru. Dva klastera su spojena najkraćom, ili najjačom vezom među njima. Problemi se javljaju, međutim, kada su klasteri loše obeleženi. U takvim slučajevima, prosta povezanost se može formirati u duge, zmijolike lance i na kraju su svi pojedinci smešteni u okviru jednog. Oni koji se nalaze na krajevima tih lanaca, mogu biti veoma različiti između sebe.

Potpuno povezivanje (Complete linkage, "Furthest neighbour")

Postupak potpunog povezivanja je sličan prostom povezivanju, stim što se formiranje klastera zasniva na kriterijumu maksimalne udaljenosti. Zbog toga se ponekad i naziva pristup najudaljenijeg suseda, ili metod prečnika. Maksimalna udaljenost između entiteta (objekta) u svakom klasteru predstavlja najmanju sferu koja može da objedini sve entitete u oba klastera. Ovaj metod je nazvan kompletnim zato što su svi entiteti u okviru klastera povezani ili maksimalnom udaljenošću ili minimalnom sličnošću. Može se reći da sličnost unutar grupe je jednaka prečniku grupe. Ova tehnika eliminiše tzv. zmijoliki problem koji je identifikovan pojedinačnim metodom povezanosti.

Prosečno povezivanje između grupa (Ugma-Unweighted Pair-Group Method using arithmetic Averages)

Definiše udaljenost između dva klastera kao prosek udaljenosti između svih parova koji se mogu definisati između dva objekta. Ovaj metod uzima u obzir informacije o svim parovima objekata između dva klastera, zbog čega se više koristi u odnosu na prethodna dva metoda.

Prosečno povezivanje u okviru grupa (Average linkage within groups)

Ovaj metod kombinuje klastera tako da prosečna udaljenost između članova novog klastera bude što manja. Tako se udaljenost između dva klastera definiše kao prosečna udaljenost između svih objekata koji bi sačinjavali novi klaster, nastao kombinacijom dva postojeća.

Ward-ov (Ward's) metod

Za svaki klaster izračunavaju se aritmetičke sredine za svaku varijablu. Zatim se za svaki objekt računa kvadratna euklidska udaljenost do aritmetičke sredine klastera. Sumiraju se ove udaljenosti za sve članove klastera. Spajaju se oni klasteri za koje je ukupna (zajednička) suma ovih odstupanja najmanja. Korišćenjem ovog metoda razdaljina između dva klastera je ustvari suma kvadrata između svih promenljivih koje su sumirane u dva klastera. U svakoj fazi procesa klasterovanja, unutar grupna suma kvadrata je minimizirana nad svim podelama (potpun set razuđenih ili razdvojenih klastera) koja se izvodi kombinacijom dva klastera iz prethodne faze. Ovaj postupak zahteva kombinaciju klastera sa malim brojem posmatranja. Takođe je bazirana na praćenju razvoja klastera sa skoro istim brojem posmatranja.

Centroidni klaster metod (Centroid clustering method)

Određuje udaljenost između klastera kao udaljenost između aritmetičkih sredina oba klastera (njihovih centroida). Jedan od nedostataka centroidnog metoda jeste u tome što se početna udaljenost dva klastera može smanjiti između dva sukcesivna koraka analize. Klasteri spojeni u kasnijim fazama su više različiti nego oni spojeni u ranijim koracima. U centroidnoj metodi udaljenost između dva klastera je udaljenost (tipično kvadratna Euklidova ili prosta Euklidova metoda) između njihovih centroida. Centroidni klaster znači srednju vrednost posmatranih varijabli u klaster promenljivima. Po ovom metodu, svaki put kada su pojedinci grupisani, centroid je preračunat. Postoji promena u klaster klaster centroidu svaki put kada se jedinka ili grupa jedinki doda postojećem klasteru. Ovaj metod je najpopularniji kod biologa, ali može da napravi nered i da često zbunjujuće rezultate. Konfuzija nastaje zbog inverzije koja se javlja kada izmerena udaljenost između jednog para centroida je manja u odnosu na neko ranije merenje.

2.9.3.2. Nehijerarhijski postupak klasterovanja

Nasuprot hijerarhijskom metodu, nehijerarhijske procedure ne podrazumevaju stablo kao grafički prikaz podataka. Umesto toga, namenjuju entitete jednom broju klastera kako bi se formirala jedna specifična. Dakle, dobijenih šest klastera nije samo prosta kombinacija dva od postojećih sedam solucija, ali je bazirana na pronalaženju najboljih šest rešenja. Najjednostavnije, to funkcioniše na sledeći način: Prvi korak je odabrati seme kao početni

klaster centar, i svi objekti (individue) unutar njega su kao neka norma uključeni u rezultirajućem (konačnom) klasteru. Zatim se bira drugi klaster i grupisanje se nastavlja dok se sve individue ne dodele odgovarajućim. Objekti se tada mogu rasporediti ako su bliži drugom klasteru od onog prvobitnog. Razlikuje se sedam pristupa pri izboru klastera i dodeljivanju objekata njima. Nehijerarhijske procedure klasterovanja se često pominju kao K-grupisanje i oni obično koriste jedan od sledeća tri pristupa dodeljivanje pojedinih zapažanja u jedan od klastera.

Paralelan metod

Nasuprot prethodnom, ovaj metod vrši selekciju nekoliko klaster semena istovremeno i dodeljuje objekte na osnovu praga udaljenosti od najbližeg semena. Kako se proces razvija, prag udaljenosti može biti prilagođen tako da se uključi manje ili više objekata u klaster. Takođe, varijante ovog metoda mogu biti i neklasterovanje objekata ako im je prag udaljenosti izvan bilo kog klaster semena.

Optimizacija

Treći metod, koji je naveden kao proces optimizacije, je poput druga dva nehijerarhijska postupka, osim što dozvoljava ponovno dodeljivanje posmatranja. Ako, u postupku dodele posmatranja, objekat postaje bliži drugom klasteru kome nije prvobitno dodeljen, tada ih optimizirajući postupak prebacuje sličnijem klasteru.

Nehijerarhijske procedure su dostupne velikom broju računarskih programa, uključujući i sve glavne statističke pakete. Metod sekvencijalnog praga je primer nehijerarhijskog grupisanja velikog broja podataka. Nakon što istraživač utvrdi maksimalan broj klastera, proces počinje odabirom praga klastera koji se koristi kao inicijalni prosek u klasterima. Prvi prag je prvo posmatranje podataka bez nedostajućih vrednosti. Drugi prag je sledeći set podataka koji je odvojen od prvog specifičnim minimumom udaljenosti. Podrazumevana opcija je nula kao minimalna udaljenost. Nakon što su svi pragovi selektovani, program dodeljuje svako posmatranje onom klasteru kome je najbliži.

Glavni problem sa kojim su suočeni svi nehijerarhijski postupci klasterovanja je kako odrediti prag klastera. Na primer, sa pragom sekvencijalnih mogućnosti, početni i krajnji rezultati klastera zavise od redosleda zapažanja podataka kao i to da neadekvatan redosled podataka utiče na konačan rezultat. Određivanje početnog klastera može rešiti ovaj problem. Ali čak odabir takvog klastera nasumično može dovesti do različitih rezultata za svaki skup

slučajnih promenljivih. Dakle, istraživač mora biti svestan uticaja odabranog klastera na konačne rezultate.

3. Eksperimentalni deo

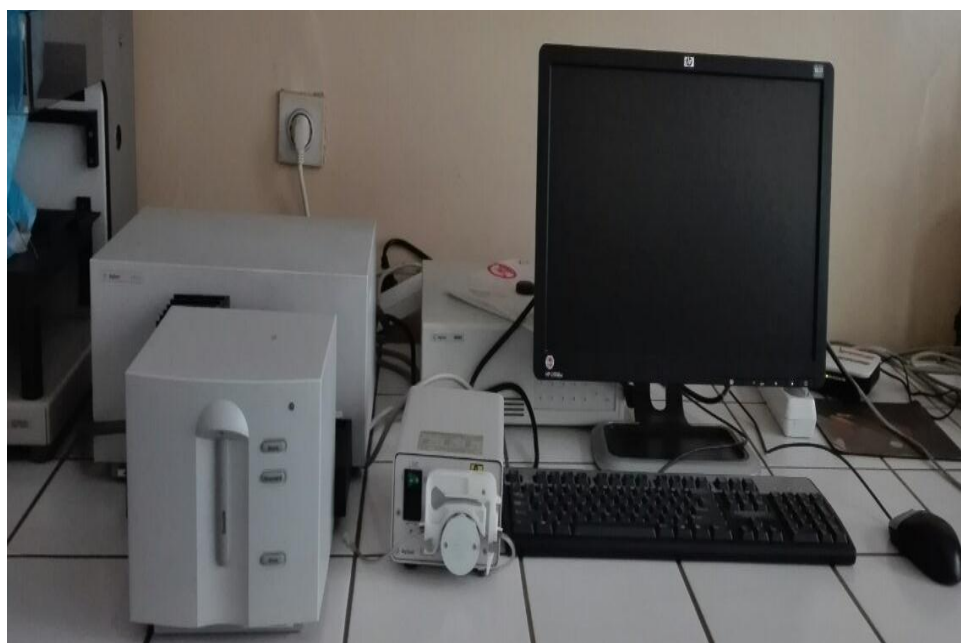
3.1. Aparati

U postupku određivanja sadržaja polifenolnih komponenti, mineralnog sastava i ispitivanja antioksidativne sposobnosti analiziranih uzoraka čajeva korišćena je sledeća oprema:

1. HPLC Agilent Technologies 1200 Series (Agilent Technologies, USA) opremljen pumpom (G1354A), automatskim injektorom (G1329A), termostatiranim kolonskim delom (G1316A), UV/Vis detektorom (G1315D), i fluorescentnim detektorom (G1321A) (slika 3.1.1);
2. UV/Vis spektrofotometar Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA) sa dužinom optičkog puta 1 cm (slika 3.1.2);
3. ICP-OES spektrometar iCAP 6000 (Thermo Scientific, Cambridge, UK) (slika 3.1.3.);
4. Ciklični voltmetar CHI760B (CHI Instruments, USA). Ćelija za snimanje je opremljena elektrodom od staklastog ugljenika (glassy carbon, V-25 SPI), platinskom elektrodom (CHI221) i srebro-srebrohloridnom elektrodom (Ag/AgCl) kao referentnom elektrodom (CHI111);
5. Dejonizator (MicroMed high purity water system) (TKA Wasseraufbereitungssystem GmbH, Thermo Fisher Scientific Inc, Nemačka);
6. Termostat, Julabo MP 5A (JULABO, USA);
7. Analitička vaga AB-204-S (Mettler Toledo, Nemačka);
8. pH metar (Hanna Instruments, USA);
9. Varijabilne automatske pipete (Lab Mate⁺, PZ HTL S.A., Warszawa, Poljska);
10. Električni blender;
11. Električna peć za žarenje (VIMS, Srbija);
12. Ultrazvučno kupatilo, (Bandelin SONOREX®, Sigma, USA).



Slika 3.1.1. *Tečni hromatograf visokih performansi (HPLC)*



Slika 3.1.2. *UV-Vis spektrofotometar*



Slika 3.1.3. Optički emisioni spektrofotometar sa induktivno kuplovanom plazmom



Slika 3.1.4. Ciklični voltametar

3.2. Reagensi

- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);
- 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);

- $K_2S_2O_8$ (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);
- katehin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);
- ferulna kiselina, (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);
- kafena kiselina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka);
- etanol (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- aceton (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- metanol (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- etil acetat (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- mravlja kiselina (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- acetonitril (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- sirćetna kiselina (J. T. Baker, Deventer, Holandija);
- galna kiselina (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- protokatehinska kiselina (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- kafena kiselina (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- procijanidin B₁ (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- (-)-epigalokatehin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- (+)-katehin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- procijanidin B₂ (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- (-)-epikatehin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- (-)-epigalokatehin galat (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- procijanidin B₃ (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- rutin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- morin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- cijanidin-3-*O*-glukozid (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- delfinidin-3-*O*-sambubiozid (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- delfinidin-3-*O*-glukozid (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- cijanidin-3-*O*-glukozid (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka);
- kvercetin (Sigma Aldrih, Steinheim, Nemačka).
- ICP multi standard $20,00 \pm 0,10$ mg /l (koncentracije $20,00 \pm 0,10$ µg/ml za Al, Sb, As, Ba, Cd, Ca, Cr, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Na, Sr, Sn, V, Zn; $100,0 \pm 0,5$ µg/ml za P, K i Si i $5,000 \pm 0,025$ µg/ml za Ag). Sadržaj elemenata je verifikovan u skladu sa ULTRA's ISO 9001 registrovanim sistemom, poređenjem

sa standardima za kalibraciju nezavisno pripremljenim korišćenjem NIST SRM-ova ("Certified Reference Material from the National Institute of Standards and Technology"), a primenom ICP-MS-a. Matriks multistandarda je 2% HNO₃ sa tragovima vinske kiseline u dejonizovanoj vodi ($\mu=0,055 \mu\text{S/cm}$), niske vrednosti TOC-a (ukupni organski ugljenik) <50 ppb (Ultra-scientific, USA).

- Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina) (Acros Organics, Geel, Belgija);
- 2,4,6-tris-2-piridil-1,3,5-triazin (TPTZ) (Acros Organics, Geel, Belgija);
- vitamin E (Acros Organics, Geel, Belgija);
- Folin-Ciocalteu reagens (FC) (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- dimetilsulfoksid (DMSO) (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin) (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- Na₂CO₃ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- NaNO₂ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- NaOH (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- FeSO₄·7H₂O (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- HCl (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- koncentrovana HCl (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- CH₃COONa·3H₂O (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- ledena sirćetna kiselina (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- FeCl₃·6H₂O (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- CCl₄ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- Na₂HPO₄ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- NaH₂PO₄ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- K₂S₂O₈ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- NaCl (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- K₃[Fe(CN)₆] (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- FeCl₃ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- askorbinska kiselina (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- trihlorsirćetna kiselina (TCA) (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- KCl (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- CH₃COONa·H₂O (Merck, Darmstadt, Nemačka);

- HNO₃ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- HClO₄ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- AlCl₃ (Merck, Darmstadt, Nemačka);
- H₂O₂ (30%) (Fluka, Buchs, Switzerland).

Svi rastvori, koji nisu primarni standardni rastvori, standardizovani su poznatim metodama.

Sudovi koji su korišćeni prani su rastvorom HCl (1:1), isprani česmenskom, destilovanom i dejonizovanom vodom. Rastvori su pripremani sa dejonizovanom vodom specifične provodljivosti 0,05 μS/cm¹.

3.3. Uzorci

U tabelama 3.3.1. i 3.3.2. dati su komercijalno dostupni crni, zeleni, biljni i voćni filter čajevi i njihov sastav:

Tabela 3.3.1. Komercijalno dostupni biljni filter čajevi i njihov sastav

Vrsta čaja	Sastav filter čaja
Crni čaj (<i>Camellia sinensis</i>)	List
Zeleni čaj (<i>Camellia sinensis</i>)	List
Čaj od uve (<i>Arctostaphylos</i>)	List
Čaj od kantariona (<i>Hypericum perforatum</i>)	cela biljka
Čaj od hibiskusa (<i>Hibiscus</i>)	cvet
Čaj od majčine dušice (<i>Thymus serpyllum</i>)	cvet i list
Rtanjski čaj (<i>Satureja montana</i>)	list čubrice
Čaj od koprive (<i>Urtica dioica</i>)	List
Čaj od šipaka (<i>Rosa canina</i>)	plod šipka i cvet hibiskusa
Čaj od zova (<i>Sambucus nigra</i>)	cvet
Čaj od lipe (<i>Tilia L.</i>)	cvet
Čaj od žalfije (<i>Salvia officinalis</i>)	Llist

Čaj od mente (<i>Mentha piperita</i>)	list
Čaj od hajdučke trave (<i>Achillea millefolium</i>)	cela biljka
Čaj od kamilice (<i>Matricaria chamomilla</i>)	cvet

Tabela 3.3.2. Komercijalno dostupni voćni filter čajevi i njihov sastav

Vrsta čaja	Sastav filter čaja
Čaj od višnje (<i>Prunus cerasus</i>)	aroma višnje, cvet hibiskusa, plod jabuke, ploda šipka, kora narandže, plod zove
Čaj od jagode (<i>Fragaria</i>)	aroma jagode, cvet hibiskusa, plod šipka, plod divlje jabuke, kora narandže, kora limuna, kora cimeta
Čaj od maline (<i>Rubus idaeus</i>)	aroma maline, crni čaj
Čaj od šumskog voća	cvet hibiskusa, plod divlje jabuke, plod šipka, list kupine, plod zove, plod trnjine
Čaj od kajsije (<i>Prunus armeniaca</i>)	aroma kajsije, cvet hibiskusa, plod divlje jabuke, plod šipka, kora narandže, kora limuna, kora cimeta
Čaj od divlje trešnje (<i>Cerasia</i>)	plod šipka, cvet hibiskusa, plod divlje jabuke
Čaj od borovnice (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	aroma borovnice, cvet hibiskusa, plod divlje jabuke, plod šipka, plod zove, kora cimeta, kora slatkog drveta, limunska kiselina
Čaj od jabuke sa cimetom (<i>Malus</i>)	cvet hibiskusa, plod divlje jabuke, plod šipka, kora narandže, kora cikoriije, kora cimeta
Čaj od nara (<i>Punica granatum</i>)	aroma nara, cvet hibiskusa, plod šipka, kora cimeta, plod divlje jabuke
Čaj od ananasa (<i>Ananas comosus</i>)	aroma ananasa, cvet kamilice, plod šipka, list matičnjaka, list nane, cvet zove, plod komorače, kora slatkog drveta, kora narandže
Čaj od južnog voća	cvet hibiskusa, plod šipka, plod jabuke
Čaj od aronije (<i>Aronia</i>) (A1-A6)	plod aronije, cvet hibiskusa, plod šipka, plod divlje jabuke

3.4. Priprema uzoraka

3.4.1. Opšte karakteristike filter čajeva

Relativna gustina ispitivanih filter čajeva je određena piknometrom po metodu SRPS EN 1131:2005, poređenjem gustine filter čajeva i gustine vode na 20 °C.

pH filter čajeva je meren pH metrom koji je prethodno kalibrisan puferskim rastvorima (pH 4,00 i pH 7,00).

Procenat vlage je određen sušenjem uzoraka u sušnici (135 ± 2) °C pod atmosferskim pritiskom do konstantne mase (AOAC, 1990).

3.4.2. Postupak ekstrakcije uzoraka za HPLC i UV/Vis analizu

Biljna droga je izvađena iz filter kesica i dobro usitnjena trljanjem tučka o avan. Nakon toga je odmereno po 2 g (sa tačnošću na četiri decimale) od svakog uzorka čaja.

Polifenoli i flavonoidi su ekstrahovani iz analiziranih uzoraka filter čajeva dejonizovanom vodom, metanolom, etanolom i acetonom.

Ekstrakcija vodom

Odmereni uzorak čaja je prelišen sa 200 ml ključale vode i rastvor je na magnetnoj mešalici mešan uz zagrevanje na 90 °C 10 minuta. Rastvor je proceden kroz filter papir i ostatak je ispran dejonizovanom vodom (3×10 ml). Nakon hlađenja, rastvor je prenet u normalni sud od 250 ml i dopunjen dejonizovanom vodom do crte. Isti postupak je ponavljen za svaku vrstu čaja. Dobijeni ekstrakti su čuvani na hladnom i tamnom mestu.

Ekstrakcija metanolom

Odmereni uzorak čaja je ekstrahovan sa 20 ml 80% (v/v) metanola kome je dodata koncentrovana HCl. Nakon mešanja na magnetnoj mešalici oko 5 minuta, rastvor je odekantovan, a čvrsti ostatak je još četiri puta ekstrahovan na opisan način. Ekstrakti su profiltrirani i dopunjeni do crte u normalnom sudu od 100 ml 80% (v/v) metanolom. Dobijeni ekstrakti su čuvani na hladnom i tamnom mestu.

Ekstrakcija etanolom

Odmereni uzorak čaja je ekstrahovan sa 20 ml 75% (v/v) etanola. Nakon mešanja na magnetnoj mešalici oko 5 minuta, rastvor je odekantovan, a čvrsti ostatak je još četiri puta ekstrahovan na opisan način. Ekstrakti su profiltrirani, a zatim dopunjeni do crte u normalnom sudu od 100 ml, 75% (v/v) etanolom. Dobijeni ekstrakti su čuvani na hladnom i tamnom mestu.

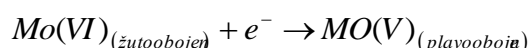
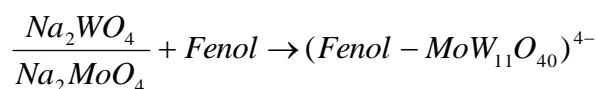
Ekstrakcija acetonom

Odmereni uzorak čaja je ekstrahovan sa 20 ml 70% (v/v) acetona. Nakon mešanja na magnetnoj mešalici oko 5 minuta, rastvor je odekantovan, a čvrsti ostatak je još četiri puta ekstrahovan na opisan način. Ekstrakti su profiltrirani i dopunjeni do crte u normalnom sudu od 100 ml 70% (v/v) acetonom. Dobijeni ekstrakti su čuvani na tamnom i hladnom mestu.

3.5. Spektrofotometrijski metodi

3.5.1. Određivanje sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja (TP)

Za određivanje sadržaja ukupnih polifenola u ispitivanim uzorcima čajeva korišćen je Folin-Ciocalteu metod (*Prior i sar., 2005; Singleton i sar., 1999; Stratil i sar., 2006*). Metod se zasniva na oksidaciji polifenolnih jedinjenja pomoću Folin-Ciocalteu reagensa. Rastvor Folin-Ciocalteu sadrži smešu fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline. Ovaj reagens oksiduje fenolna jedinjenja, a sam se redukuje u smešu volfram-oksida i molibden-oksida. Rastvor postaje izuzetno plave boje čiji je intezitet srazmeran koncentraciji polifenolnih jedinjenja. Intezitet boje meri se spektrofotometrijski, na talasnoj dužini od 760 nm.



Reagensi:

1. 20% Na₂CO₃,

2. Folin-Ciocalteu reagens i
3. standardni rastvor galne kiseline koncentracije 5 mg/ml.

Postupak određivanja:

5 ml uzorka preneto je u normalni sud od 25 ml i dopunjeno dejonizovanom vodom do crte. Zatim je 0,4 ml razblaženog uzorka preneto u normalni sud od 10 ml i dodato je 0,5 ml Folin-Ciocalteu i 2 ml 20% rastvora Na_2CO_3 .

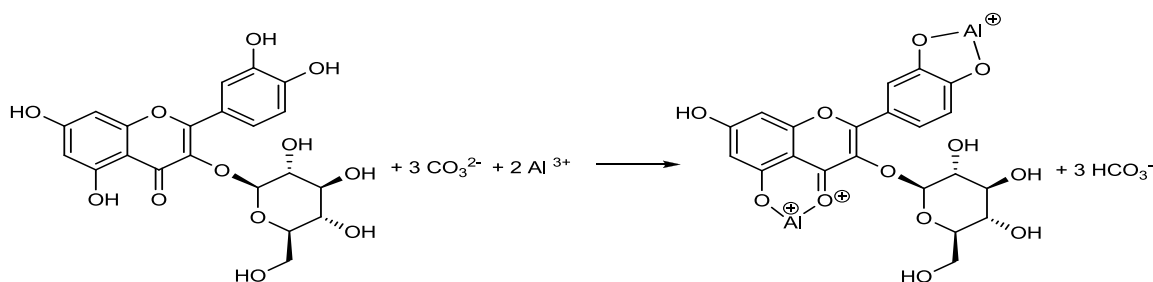
Sud je dopunjen dejonizovanom vodom do crte i nakon dva sata je merena apsorbanacija na 760 nm, u odnosu na vodu kao referentni rastvor. Na osnovu izmerenih apsorbanaci, iz jednačine kalibracione prave određena je koncentracija (mg/ml) ukupnih polifenolnih jedinjenja. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u ekstraktima izražen kao milligram ekvivalent galne kiseline po gramu čaja (mg GAE/g).

Kalibraciona prava:

Standardni rastvor galne kiseline pripremljen je na sledeći način: rastvoreno je 50 mg galne kiseline u 10 ml etanola i dopunjeno dejonizovanom vodom do crte u normalnom sudu od 100 ml. Od ovog rastvora razblaživanjem je dobijen rastvor koncentracije 0,05 mg/ml i od njega je pripremljena serija standardnih rastvora pomoću kojih je konstruisana kalibraciona prava. Dobijena prava je bila linearna u intervalu koncentracija galne kiseline od 1 mg/l do 5 mg/l.

3.5.2. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida (TF)

Koncentracija flavonoida određena je primenom AlCl_3 kao reagensa, spektrofotometrijskim metodom (Yang i sar., 2004; Zhishen i sar., 1999).



Slika 3.5.2.1. Reakcija Al^{3+} sa izokvercetinom (molekuli vode u kompleksu sa Al^{3+} su izostavljeni)

Reagensi:

1. 5% NaNO₂,
2. 1% AlCl₃,
3. 1M NaOH
4. standardni rastvor katehina koncentracije 0,5 mg/ml.

Postupak određivanja:

Reakciona smeša je pripravljena mešanjem 0,25 ml uzorka, 3 ml dejonizovane vode i 0,3 ml 5% NaNO₂. Nakon 5 minuta dodato je 3 ml AlCl₃, nakon 5 minuta još 2 ml NaOH i dejonizovana voda do 10 ml. Apsorbancija je merena na 510 nm. Na osnovu vrednosti apsorbancije, sa kalibracione krive određena je koncentracija (mg/ml) flavonoida u ekstraktima. Sadržaj flavonoida je izražen kao milligram ekvivalent katehina po gramu čaja (mg CE/g).

Kalibraciona prava:

Standardni rastvor katehina pripremljen je na sledeći način: 5 mg katehina rastvoreno je u 5 ml etanola i dopunjeno dejonizovanom vodom do crte u normalnom sudu od 10 ml. Od ovog rastvora je pripravljena serija standardnih rastvora pomoću kojih je konstruisana kalibraciona prava.

3.6. Metodi antioksidativne aktivnosti

3.6.1. TEAC metod (Total Equivalent Capacity Assay)

Antioksidativna/antiradikalska aktivnost ispitivanih uzoraka je određena ABTS metodom (*Re i sar., 1999; Arts i sar., 2004*). U tu svrhu napravljen je osnovni rastvor ABTS-a koncentracije 7×10^{-3} mol/l (0,0360 g je rastvoreno u 10 ml metanola) i rastvor K₂S₂O₈ koncentracije $2,4 \times 10^{-3}$ mol/l (0,0649 g je rastvoreno u 100 ml H₂O). Radni rastvor, koji je pripravljen mešanjem standardnih rastvora u odnosu 1:1 (10+10 ml), ostavljen je da stoji na sobnoj temperaturi i u mraku 12-16 sati. Nakon toga je 14,8 ml radnog rastvora razblaženo sa 240 ml metanola i apsorbancija rastvora je merena na 734 nm ($A_{734 \text{ nm}} = 0,700 \pm 0,020$).

Osnovni rastvor Trolox-a koncentracije 4×10^{-3} mol/l dobijen je rastvaranjem 0,0515 g 97% Trolox-a u 50 ml metanola.

Reagensi:

1. standardni rastvor Trolox-a,
2. rastvor ABTS-a,
3. metanol.

Postupak određivanja:**Slepa proba**

3,9 ml radnog rastvora ABTS-a preneto je u normalni sud od 10 ml i dodato je 0,1 ml metanola. Apsorbanca rastvora je merena nakon 6 minuta na 734 nm.

Uzorak

2 ml uzorka preneto je u normalni sud od 10 ml i dodato je 2 ml radnog rastvora ABTS-a. Apsorbanca rastvora je merena nakon 6 minuta na 734 nm.

Kalibraciona prava:

Kalibraciona prava je dobijena merenjem apsorbanca na 734 nm, serije standardnih rastvora u kojima je varirana zapremina Trolox-a od 0,2 ml do 1 ml (koncentracija $2 \cdot 10 \times 10^{-6}$ mol/l). Odmereno je po 0,1 ml standardnog rastvora Trolox-a (koncentracija $2 \cdot 10 \times 10^{-6}$ mol/l) i dodato je 3,9 ml radnog rastvora ABTS-a. Apsorbanca je merena nakon 6 minuta. Slepa proba, od čije apsorbanca su oduzimate apsorbanca serije standarda, je pripremljena odmeravanjem 3,9 ml radnog rastvora ABTS-a i 0,1 ml metanola. Kalibraciona prava je data kao :

$$\Delta A = f(c_{Trolox}), \Delta A = A_0 - A_{st}$$

ili

$$\%inhibicije = f(c_{Trolox}), \%inhibicije = [(A_0 - A_u) / A_0] \times 100.$$

3.6.2. DPPH metod (Scavenging of 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil Radical Assay)

Antioksidativna/antiradikalska aktivnost ispitivanih uzioraka je određena DPPH metodom (*Brand-Williams i sar., 1995; Karori i sar., 2007*). U tu svrhu napravljen je osnovni rastvor DPPH-a koncentracije 1×10^{-3} mol/l tako što je 0,0197 g DPPH rastvoreno u 50 ml metanola.

Reagensi:

1. standardni rastvor Trolox-a,
2. osnovni rastvor DPPH,
3. metanol.

Postupak određivanja:

Slepa proba

5 ml DPPH rastvora koncentracije 1×10^{-4} mol/l preneto je u normalni sud od 10 ml i dopunjeno metanolom do crte. Apsorbanca rastvora je merena nakon 30 minuta na 520 nm.

Uzorak

0,1 ml uzorka preneto je u normalni sud od 10 ml, dodato je 5 ml rastvora DPPH koncentracije 1×10^{-4} mol/l i dopunjeno metanolom do crte. Apsorbanca rastvora je merena nakon 30 minuta na 520 nm.

Kalibraciona prava

Radni rastvor koncentracije 1×10^{-4} mol/l je dobijen razblaživanjem 10 ml osnovnog rastvora DPPH do 100 ml. Osnovni rastvor Trolox-a koncentracije 4×10^{-3} mol/l dobijen je rastvaranjem 0,0515 g 97% Trolox-a u 50 ml metanola. Radni rastvor koncentracije 1×10^{-4} mol/l je dobijen razblaživanjem 1,25 ml osnovnog rastvora Trolox-a do 50 ml. Kalibraciona prava je dobijena merenjem apsorbance na 515 nm, serije standardnih rastvora u kojima je varirana zapremina Trolox-a od 0,2 ml do 1 ml (koncentracija $2 \cdot 10 \times 10^{-6}$ mol/l). Određenoj zapremini Trolox-a je dodano je 5 ml DPPH i dopunjeno metanolom do 10 ml. Apsorbanca je merena nakon 30 minuta i data je kao srednja vrednost tri merenja. Slepu probu, od čije

apsorbance su oduzimate apsorbance serije standarda, čini 5 ml DPPH dopunjeno metanolom do 10 ml. Kalibraciona prava je data kao:

$$\Delta A = f(c_{Trolox}), \text{ pri čemu je } \Delta A = A_0 - A_{st}$$

ili

$$\%inhibicije = [(A_0 - A_u) / A_0] \times 100$$

3.6.3. FRAP metod (*Ferric Ion Reducing Antioxidant Power Assay*)

Metod se bazira na sposobnosti ekstrakta da redukuje Fe^{3+} jone u Fe^{2+} jone u rastvoru 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) pri nižem pH (Benzie i sar., 1999). Reakcija redukcije je praćena merenjem promene apsorbance na 595 nm. Rezultati su izraženi kao $\mu\text{mol } Fe^{2+}$ ekvivalenta na 1 g uzorka (mmol FE/g).

Reagensi:

1. 40 mmol/l vodeni rastvor HCl-a
Priprema: 330 μl 12 mol/l HCl je razblaženo u normalnom sudu od 100 ml dejonizovanom vodom do crte.
2. 0,3 mol/l acetatni pufer, pH 3,6
Priprema: 1,5500 g natrijum-acetata trihidrata je rastvoreno u 8 ml glacijalne sirćetne kiseline u normalnom sudu od 500 ml i dopunjeno dejonizovanom vodom do crte.
3. 20 mmol/l rastvor $FeCl_3$ -a
Priprema: 0,1352 g $FeCl_3 \times 6 H_2O$ je rastvoreno u 25 ml dejonizovane vode. Rastvor je pripreman svež.
4. 10 mmol/l rastvor 2,4,6-tripiridil-s-triazin-a (TPTZ)
Priprema: 0,0780 g TPTZ-a je rastvoreno u normalnom sudu od 25 ml sa 40 mmol/l HCl i sa istom HCl dopunjeno do crte. Rastvor je pripreman svež.
5. 20 mmol/l rastvor $FeSO_4 \times 7H_2O$.
Priprema: 0,5560 g $FeSO_4 \times 7H_2O$ je rastvoreno u normalnom sudu od 100 ml. Rastvor je pripreman svež. Od ovog rastvora pripremljen je rastvor

koncentracije 1 mmol/l, odmeravanjem 2,5 ml osnovnog rastvora u normalni sud od 50 ml.

Za pripremu FRAP reagensa pomešano je se 200 ml acetatnog pufera, 20 ml TPTZ reagensa i 20 ml FeCl₃ (10:1:1).

Postupak određivanja:

U normalni sud od 10 ml otpipetirano je redom: 0,38 ml dejonizovane vode, 20 µl uzorka i 3 ml FRAP reagensa (ukupna zapremina 3,4 ml). Zatim su rastvori dobro promešani i termostatirani 5 minuta na 37 °C. Slepa proba je sadržala sve osim uzorka.

Nakon termostatiranja 5 minuta na 37 °C, apsorbancija je merena na 595 nm.

Kalibraciona prava:

Za dobijanje kalibracione prave pripremljeni su standardni rastvori FeSO₄×7H₂O, sledećih koncentracija: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 i 100 µmol/l. Postupak određivanja je bio isti kao i za uzorke, s tim što su umesto uzorka dodavane različite koncentracije rastvora FeSO₄×7H₂O.

Kalibraciona prava je data kao $A = f(c_{\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}})$, gde je c koncentracija FeSO₄×7H₂O u mmol/l.

3.6.4. Redukciona sposobnost (Reducing Power, RP)

Redukciona sposobnost ispitivanih uzoraka praćena je merenjem promene apsorbance na 700 nm (Oyaizu, 1986).

Reagensi:

1. 1% rastvor K₃[Fe(CN)₆]

Priprema: 1,0000 g K₃[Fe(CN)₆] je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode.

2. Pufer NaH₂PO₄/Na₂HPO₄ (0,2 mol/l, pH = 6).

Priprema: 2,7598 g NaH₂PO₄ je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode;

3,5598 g Na₂HPO₄ je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode.

3. 10% trihlorsirćetna kiselina

Priprema: 10,0000 g trihlorsirćetna kiselina je rastvoreno u 100 ml destilovane vode.

4. 0,1% FeCl₃

Priprema: 0,1000 g FeCl₃ je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode.

5. 200 µg/ml askorbinske kiseline

Priprema: 0,0200 g je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode.

Postupak određivanja:

U normalni sud od 10 ml je otpipetirano 0,1 ml uzorka, dodato je 1,5 ml fosfatnog pufera (pH=6,6) i 1,5 ml 1% rastvora K₃[Fe(CN)₆]. Rastvor je inkubiran 30 minuta na temperaturi od 50 °C. Nakon toga je dodato 1,5 ml 10% trihlorsirćetne kiseline. 1,5 ml rastvora preneto je u normalni sud od 10 ml, dodato je 1,5 ml dejonizovane vode i 0,3 ml 0,1% FeCl₃ (ukupna zapremina 3,3 ml). Apsorbanca tako dobijenog rastvora merena je na 700 nm.

Kalibraciona prava:

Postupak određivanja je isti kao i za uzorke, s tim što je umesto uzorka odmeravano 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 i 1,0 ml askorbinske kiseline koncentracije 200 µg/ml. Kalibraciona prava je linearna u opsegu koncentracija od 0,0 - 54,5 µg/ml.

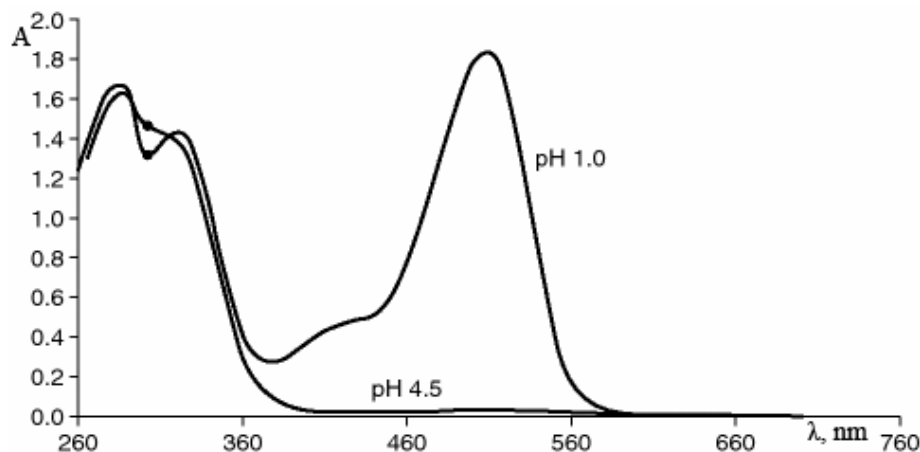
3.6.5. Elektrohemijsko određivanje antioksidativne aktivnosti primenom ciklične voltametrije

Ciklični voltamogrami analiziranih uzoraka su beleženi na cikličnom voltametriju. Sva merenja su vršena na sobnoj temperaturi. Pre svakog merenja, površina elektrode od staklastog ugljenika je brušena aluminijumskim prahom, koji je prethodno odmašćen u etanolu u ultrazvučnom kupatilu i ispran destilovanom vodom. Voltamogrami su snimani u intervalu od 0 mV do 800 mV. Brzina skeniranja je bila 100 mV/s. Ciklični voltamogrami su snimljeni i za Trolox i vitamin E kao standarde, u opsegu koncentracija od 2 µmol/l do 80 µmol/l (*Piljac-Zegarac i sar., 2010*).

Kalibraciona kriva je data kao zavisnost površine ispod anodnog pika (Q_{600}) od koncentracije Trolox-a kao ekvivalenta.

3.6.6. Određivanje sadržaja antocijana (“Singl” pH i pH diferencijalni metod)

Sa vremenom, kao i pod uticajem različitih faktora, dolazi do degradacije monomernih antocijana, ili do njihove međusobne kondenzacije ili sa drugim prisutnim jedinjenjima. Kvantitativno određivanje ukupnih antocijana (nedegradiranih monomera i proizvoda njihove degradacije) zasniva se na osobini antocijana, da pri promeni pH sredine, reverzibilno menjaju svoju strukturu, pri čemu dolazi do promena apsorpcionog spektra. Sadržaj ukupnih antocijana određuje se “singl” metodom, po kome je izmerena apsorbanca rastvora antocijana pri pH 1,0, proporcionalna sadržaju ukupnih antocijana. Određivanje sadržaja monomernih antocijana izvodi se pH diferencijalnim metodom, koji se zasniva na osobini monomernih antocijana da su pri pH 1,0 u obliku oksonijum jona (crveno obojeni), dok su pri pH 4,5 u poluketalmom obliku (bezbojni) (Giusti i Wrolstad., 2001) (slika 3.6.6.1.).



Slika 3.6.6.1. Apsorpcioni spektar antocijana

Reagensi:

1. Rastvor KCl-a (pH=1,0)

Priprema: 1,8600 g KCl je rastvoreno u 980 ml vode. pH je podešen na pH=1 koncentrovanom HCl. Rastvor je prebačen u normalni sud od 1 l i dopunjen dejonizovanom vodom do crte.

2. Rastvor CH₃COONa-a (pH=4,5)

Priprema: 54,4300 g CH₃COONa×H₂O je rastvoreno u 960 ml dejonizovane vode. pH je podešen na pH=4,5 koncentrovanom HCl. Rastvor je prebačen u normalni sud od 1l i dopunjen dejonizovanom vodom do crte.

Postupak određivanja:

Odmereno je po 0,5 ml uzorka u dva normalna suda od 10 ml i dodato je po 5 ml rastvora pH=1,0, odnosno pH=4,5. Nakon 15 minuta stajanja na sobnoj temperaturi, izmerena je apsorbancija oba rastvora na dve talasne dužine: $\lambda=520$ nm i $\lambda=700$ nm (zbog korekcije zamućenja).

Sadržaj ukupnih, nedegradiranih, monomernih antocijana izračunat je kao ekvivalent cijanidin-3-*O*-glukozida (mg(cy-3-gly)/l, mg CGE/l) prema formuli:

$$\frac{\text{mg}(\text{cy} - 3 - \text{gly})}{l} = \frac{A_{\text{mon}} \cdot Mr \cdot Df}{\varepsilon \cdot l} \cdot 10^3$$

gde je:

$$A_{\text{mon}} = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}=1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4,5}$$

$$Mr(\text{cy-3-gly}) = 449,2 \text{ g/mol}$$

$$\varepsilon = 26900 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}, \text{ molarni apsorpcioni koeficijent}$$

$$l = 1 \text{ cm}, \text{ debljina kivete}$$

D_f - faktor razblaženja

Zatim je sadržaj preračunat na 100 g uzorka (mg CGE/100g).

3.7. HPLC analiza

Tečna hromatografija visokih performansi (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*) sa UV/Vis i fluorescentnim detektorom visoke rezolucije primenjena je za razdvajanje, kvali i kvanti određivanje polifenolnih jedinjenja u pripremljenim uzorcima.

Retenciona vremena ispitivanih polifenolnih jedinjenja i talasne dužine na kojima su snimani hromatogrami dati su u tabeli 3.7.1., a uslovi snimanja su prikazani u tabeli 3.7.2. i 3.7.3. Metoda je malo modifikovana (acetonitril-mravlja kiselina gradijent) u odnosu na postupke dostupne u literaturi (*Luximon-Ramma i sar., 2005; naczk i sar., 2004*).

Tabela 3.7.1. Retenciona vremena i talasne dužine komponenata

Komponenta	Retenciono vreme (min)	Talasna dužina (nm)
galna kiselina	2,725	280
protokatehinska kiselina	5,389	280
procijanidin B ₁	5,172	FLD (Ex 275, Em 322)
(-)-epigalokatehin	5,438	FLD (Ex 275, Em 322)
(+)-katehin	7,153	FLD (Ex 275, Em 322)
procijanidin B ₂	8,662	FLD (Ex 275, Em 322)
kafena kiselina	11,192	280 (320)
(-)-epikatehin	13,016	FLD (Ex 275, Em 322)
(-)-epigalokatehin galat	18,021	FLD (Ex 275, Em 322)
procijanidin B ₃	19,340	FLD (Ex 275, Em 322)
Rutin	37,132	360
Morin	47,888	360
kvercetin	48,835	360
delfinidin-3- <i>O</i> -sambubiozid	21,235	520
delfinidin-3- <i>O</i> -glukozid	22,349	520
cijanidin-3- <i>O</i> -sambubiozid	23,879	520
cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	24,569	520

Kalibracione prave za određivanje polifenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima biljnih filter čajeva, dobijene su pomoću dva multi standarda. Kalibracione prave su linearne u intervalu koncentracija od 0 µg/ml do 110 µg/ml.

Tabela 3.7.2. Uslovi snimanja hromatograma za fenolne kiseline, flavone, flavon-3-ole, flavan-3-ole i procijanidine

Mobilna faza	A – acetonitril B – mravlja kiselina, 0,1% rastvor
Gradijent	0 -15 min 0- 90%B 15-35 min 90-70% B 35-50 min 70% B 50-60min ispiranje
Kolona	4,6×150 mm, 5µm ZORBAX Eclipse XDB-C18, Agilent Technologies
Brzina proticanja mobilne faze	0,8 ml/min
Zapremina injektiranja	20 µl
Temperatura kolone	30°C

Tabela 3.7.3. Uslovi snimanja hromatograma za antocijane

Mobilna faza	A – 5% mravlja kiselina i voda B – 80% acetonitrile, 5% mravlja kiselina voda
Gradijent	0 -10 min 0- B 10-28 min 25% B 30-35 min 50%-80% B 35-40 min 80% B
Kolona	4,6×150 mm, 5µm ZORBAX Eclipse XDB-C18, Agilent Technologies
Brzina proticanja mobilne faze	0,8 ml/min
Zapremina injektiranja	20 µl

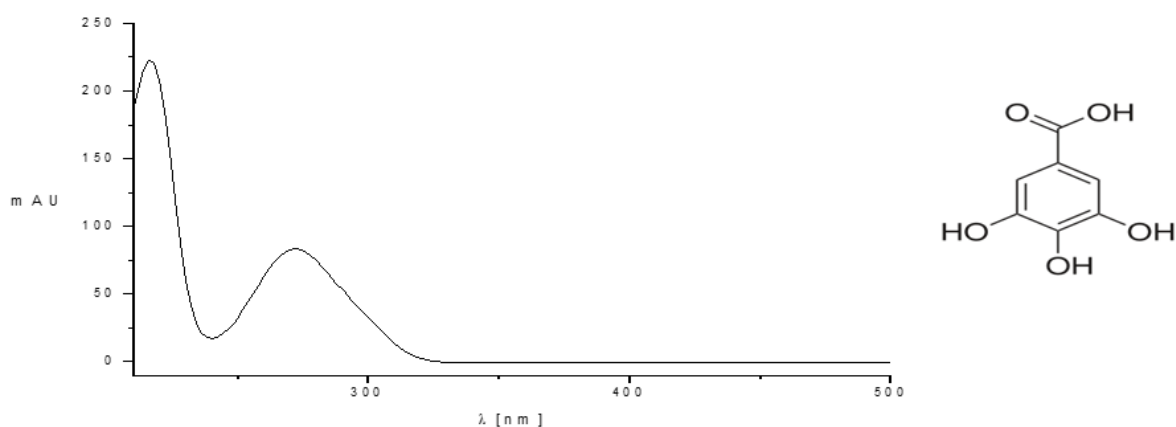
Temperatura kolone

30°C

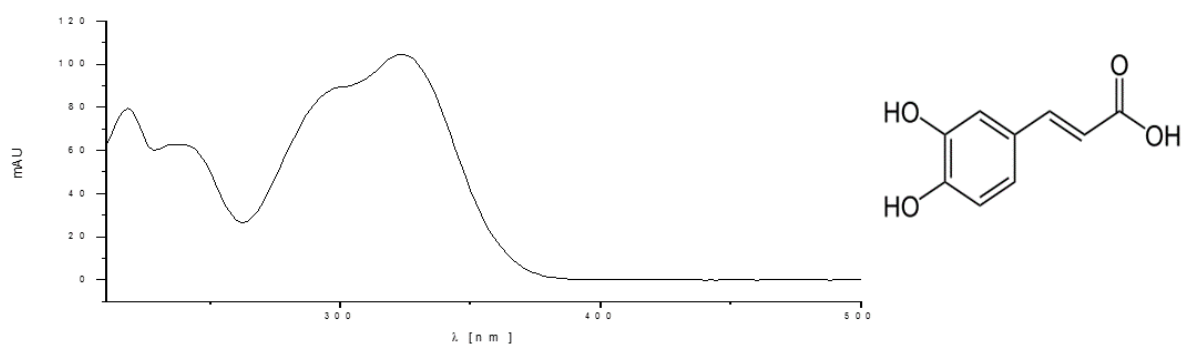
Sva merenja su izvršena u tri ponavljanja, a rezultati predstavljeni kao srednja vrednost tri ponavljanja ($c_{sr} \pm SD$). Interval poverenja bio je 95%.

Na slikama 3.7.1.-3.7.11. dati su UV/Vis spektri i strukture galne kiseline, kafene kiseline, protokatehinske kiseline, katehina, epikatehina, kvercetina, rutina, morina, epigalokatehina galata, epigalokatehina, procijanidina B1.

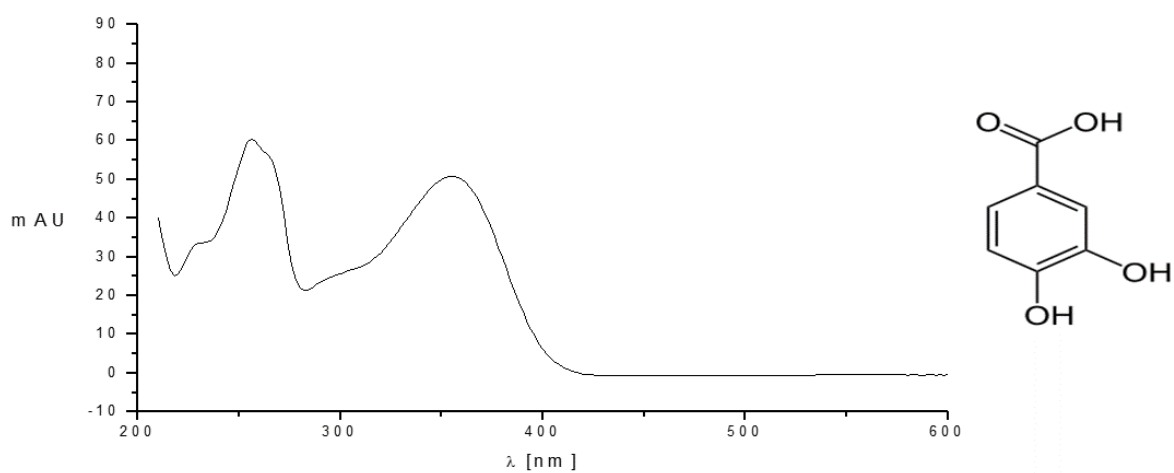
Na slikama 3.7.11., 3.7.12., 3.7.13. i 3.7.14. dati su HPLC spektri standarda snimljenih na 280 nm, 320 nm, 360 nm i na fluorescentnom detektoru.



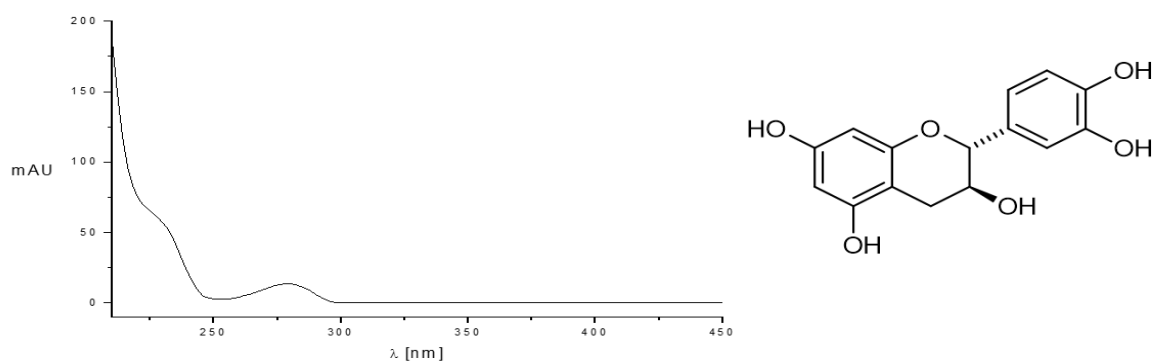
Slika 3.7.1. UV/Vis spektar i struktura galne kiseline



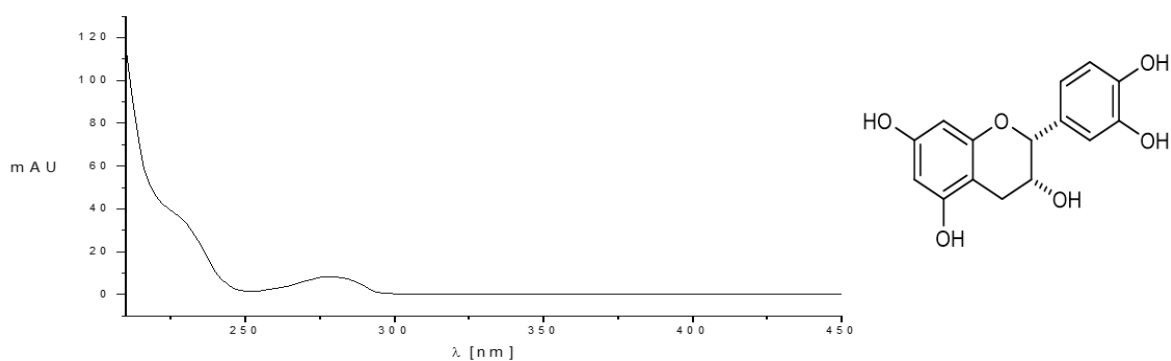
Slika 3.7.2. UV/Vis spektar i struktura kafene kiseline



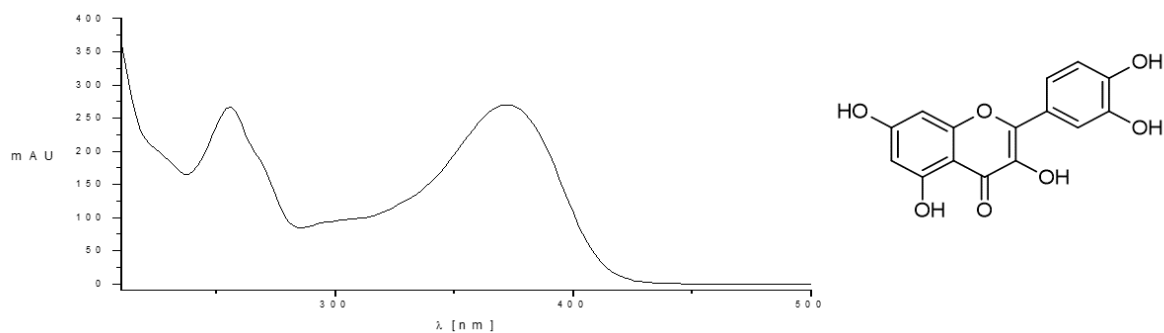
Slika 3.7.3. UV/Vis spektar i struktura protokatehinske kiseline



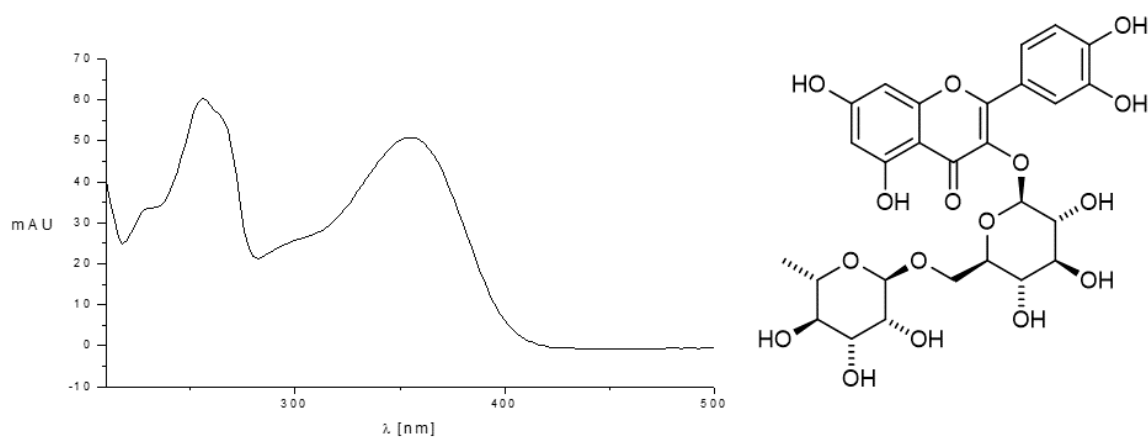
Slika 3.7.4. UV/Vis spektar i struktura (+)-katehina



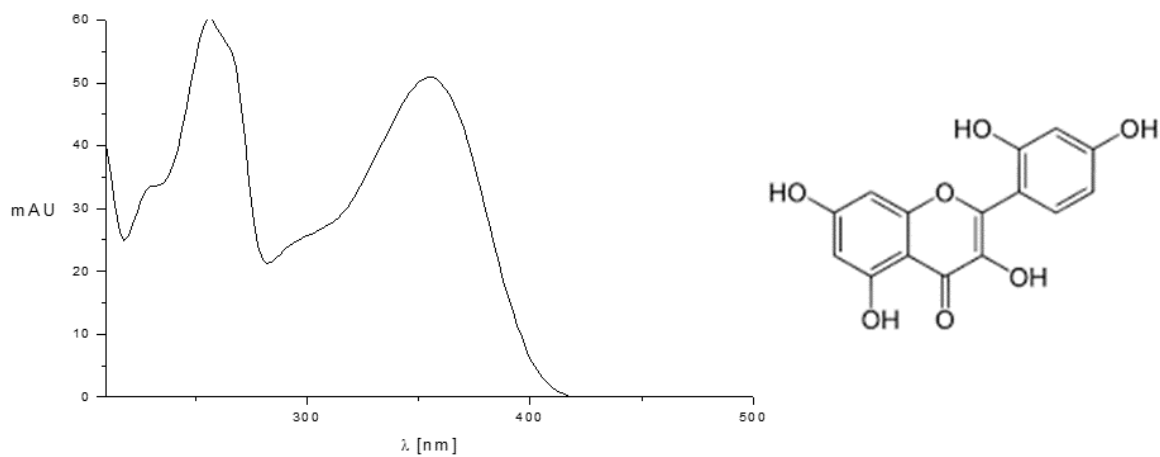
Slika 3.7.5. UV/Vis spektar i struktura (-)-epikatehina



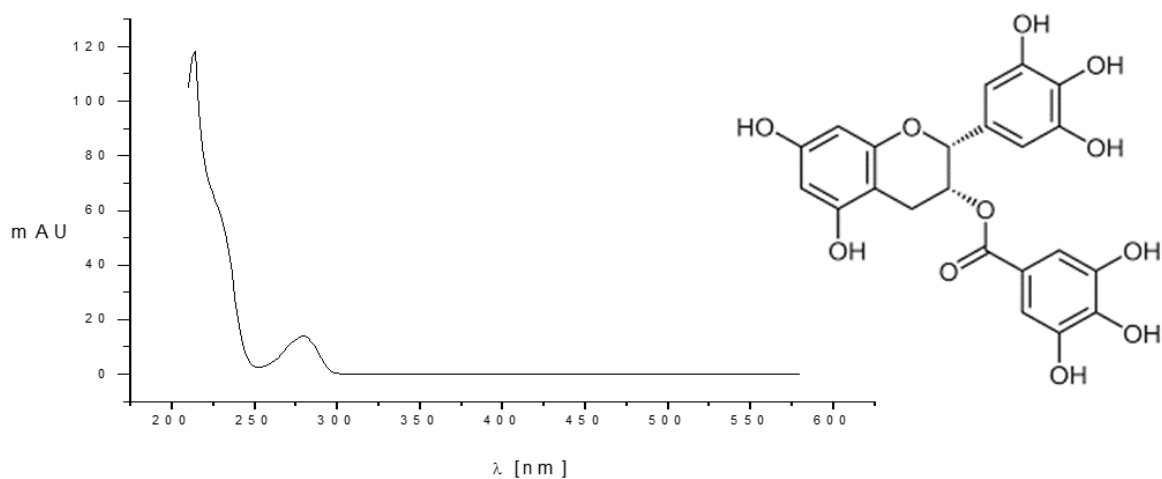
Slika 3.7.6. UV/Vis spektar i struktura kvercetina



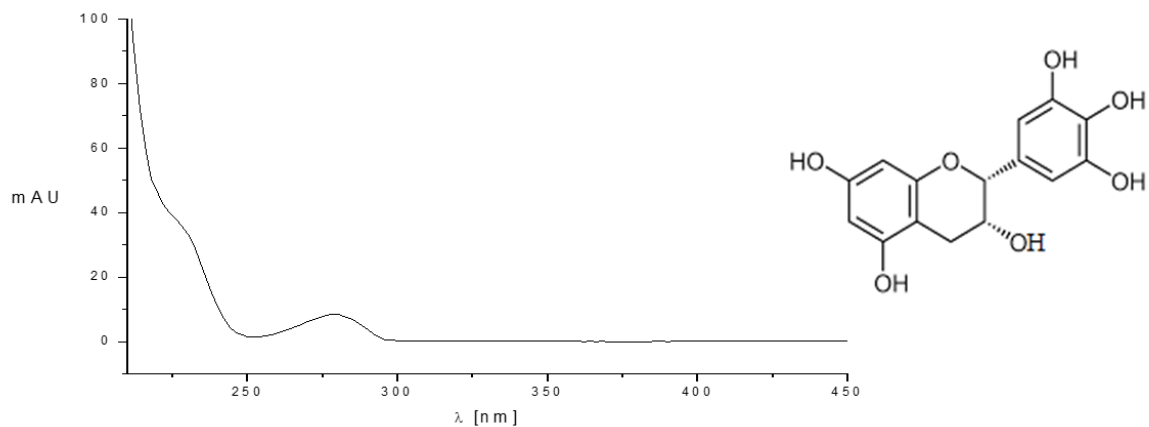
Slika 3.7.7. UV/Vis spektar i struktura rutina



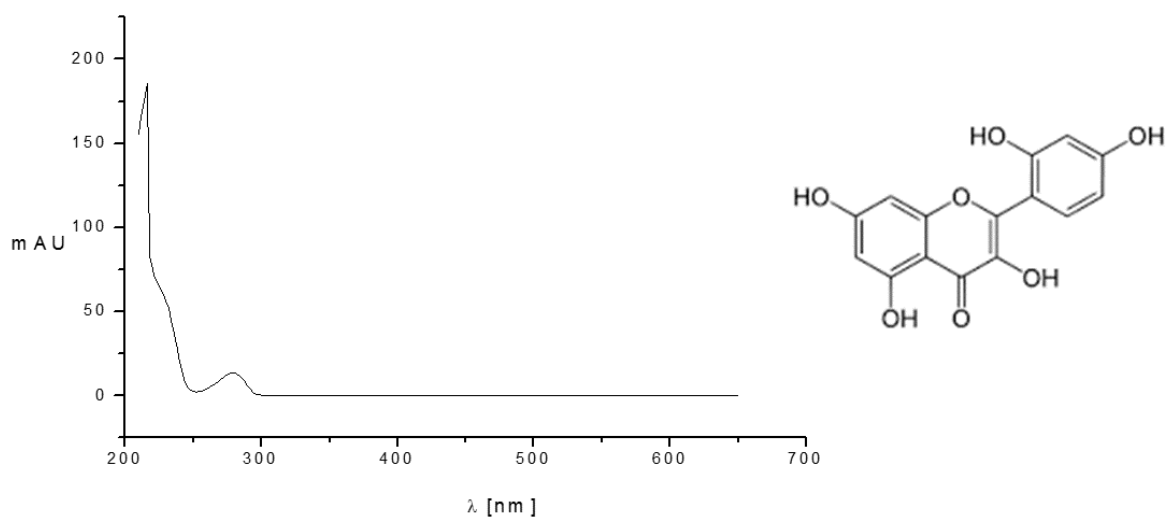
Slika 3.7.8. UV/Vis spektar i struktura morina



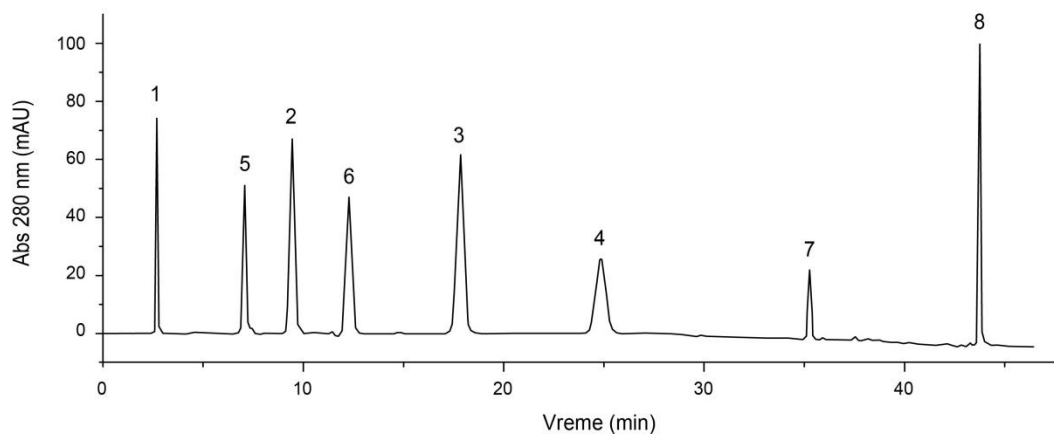
Slika 3.7.9. UV-VIS spektar i struktura (-)-epigalokatechingalata



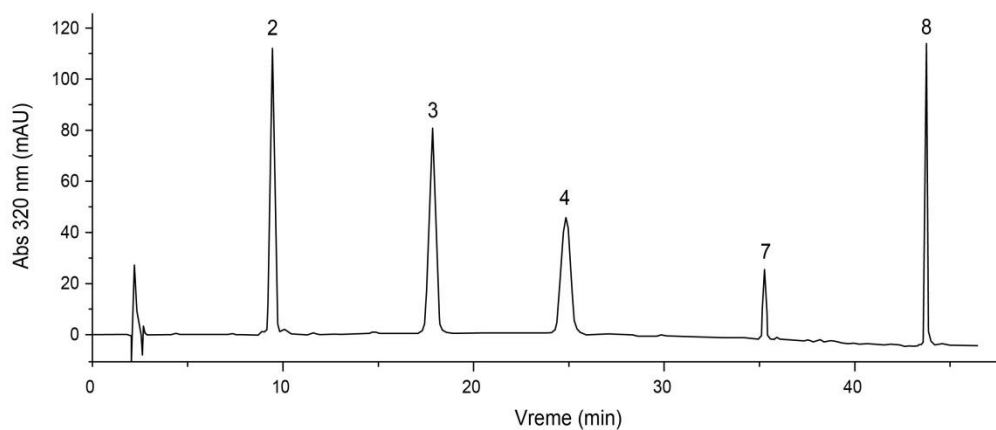
Slika 3.7.10. UV/Vis spektar i struktura (-)-epigalokatehina



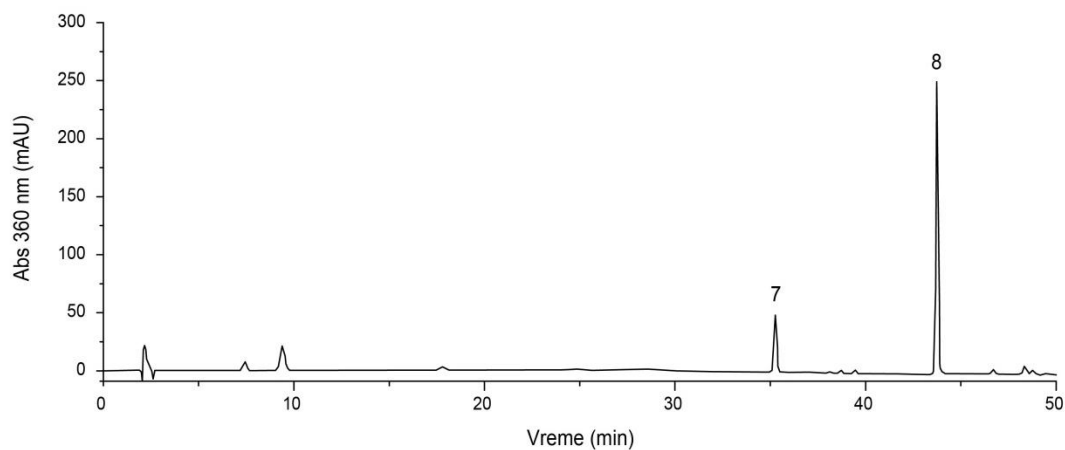
Slika 3.7.11. UV/Vis spektar i struktura procijanidina B1



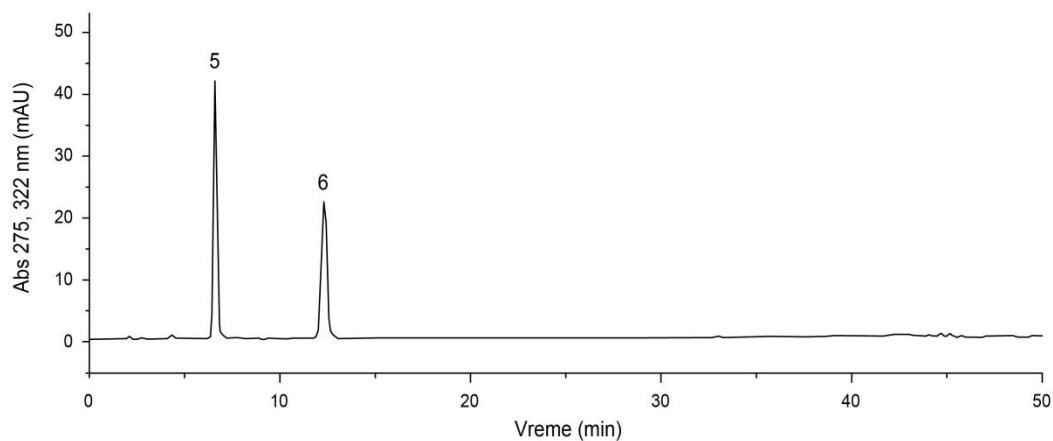
Slika 3.7.11. HPLC spektar standarda snimljen na 280 nm: 1-galna kiselina, 2-kafena kiselina, 3-p-kumarna kiselina, 4-ferulna kiselina, 5-(+)-katehin, 6-(-)-epikatehin, 7-rutin, 8-kvercetin



Slika 3.7.12. HPLC spektar standarda snimljen na 320 nm: 2-kafena kiselina, 3-p-kumarna kiselina, 4-ferulna kiselina, 7-rutin, 8-kvercetin



Slika 3.7.13. HPLC spektar standarda snimljen na 360 nm: 7-rutin, 8-kvercetin



Slika 3.7.14. HPLC spektar standarda snimljen fluorescentnim detektorom sa talasnom dužinom ekscitacije od 275 nm i talasnom dužinom detekcije od 322 nm:

5-(+)-katehin, 6-(-)-epikatehin

3.8. Određivanje mineralnog sastava ICP-OES metodom

3.8.1. Priprema uzorka mokrom digestijom

Sadržaj 10 filter kesica je homogenizovan i 2 g čaja (sa tačnošću na četiri decimale) je preleven sa 40 ml 65% HNO₃. Rastvor je grejan na peščanom kupatilu sat vremena. Nakon toga je dodato 1 ml 70% HClO₄ i rastvor je grejan još sat vremena. Kada se rastvor prohladio, dodato je 40 ml dejonizovane vode i rastvor je proceden kroz kvantitativni filter papir (plava traka) u normalni sud od 100 ml. Rastvor je dopunjen dejonizovanom vodom do crte (*Lamble i Hill, 1995; Fernandez-Caceres i sar., 2001*).

3.8.2. Priprema infuza

Sadržaj 10 filter kesica je homogenizovan i 2 g čaja (sa tačnošću na četiri decimale) je preliveno sa 80 ml ključale vode i ostavljeno da odstoji 10 minuta. Zatim je rastvor proceden kroz kvantitativni filter papir (plava traka) u normalni sud od 100 ml, koji je zatim dopunjen dejonizovanom vodom do crte.

3.8.3. Parametri instrumenta

Za analizu uzoraka čajeva, izabrani su sledeći parametri instrumenta:

- snaga radiofrekventnog (RF) generatora – 1150 W,
- brzina peristaltičke pumpe – 50 rpm,
- protok gasa za hlađenje – 12 l/min,
- protok raspršivačkog gasa – 0,7 l/min,
- pravac posmatranja plazme – aksijalni/radijalni,
- vreme ispiranja – 30 s,
- broj merenja – 3.

3.9. Statistička obrada podataka

Sva merenja su izvršena u tri ponavljanja, a rezultati predstavljeni kao srednja vrednost tri ponavljanja ($c_{sr} \pm SD$). Interval poverenja je bio 95% (*Miller i sar., 2005*).

Za statističku obradu podataka korišćen je kompjuterski statistički paket *Statistica 8.0* (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

4. Rezultati i diskusija

4.1. Opšte karakteristike filter čajeva

Opšte karakteristike ispitivanih filter čajeva date su u tabelama 4.1.1., 4.1.2. i 4.1.3. Svi uzorci filter čajeva imaju gustinu oko 1 g/cm^3 . pH vrednosti su za većinu biljnih filter čajeva u intervalu 5,18-6,44. Uzorci čaja od hibiskusa i čaja od šipka su kiseli sa pH vrednostima 2,76 i 3,32. Voćni čajevi su nešto kiseli sa pH vrednostima 2,95- 4,92. pH vrednosti čajeva od aronije su u intervalu 3,58-4,78. Niže pH vrednosti su posledica prisustva vitamina C u navedenim filter čajevima. Procenat vlage je u intervalu 5,9-11,5% i u skladu je sa *Pravilnikom o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda* (Sl. glasnik RS, br. 4/2012), po kome čaj koji se stavlja u promet mora u pogledu kvaliteta između ostalog da sadrži do 12% m/m vlage. Ukoliko sadržaj vode pređe određenu granicu povećava se aktivnost fermenta koji ubrzavaju razvoj mikroorganizama i plesni i dolazi do kvarenja namirnica.

Tabela 4.1.1. Opšte karakteristike crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	pH	Gustina g/cm^3	Vlaga %
Crni čaj	5,18	1,0007	6,8
Zeleni čaj	5,54	0,9999	5,9
Čaj od uve	5,82	1,0001	6,3
Čaj od kantariona	5,71	0,9998	6,8
Čaj od hibiskusa	2,76	1,0013	9,3
Čaj od majčine dušice	5,74	1,0001	6,8
Rtanjski čaj	5,79	0,9997	10,6
Čaj od koprive	6,34	1,0013	9,3
Čaj od šipka	3,32	0,9999	9,3
Čaj od zove	5,22	1,0013	7,1
Čaj od lipe	6,28	1,0009	11,5
Čaj od žalfije	6,44	1,0005	7,4
Čaj od mente	6,33	1,0022	8,7
Čaj od hajdučke trave	5,53	1,0007	8,2
Čaj od kamilice	5,99	1,0009	7,8

Tabela 4.1.2. Opšte karakteristike voćnih filter čajeva

Uzorak	pH	Gustina g/cm ³	Vlaga %
Čaj od višnje	4,80	0,9998	7,2
Čaj od jagode	2,96	0,9992	9,3
Čaj od maline	5,05	1,0003	6,9
Čaj od šumskog voća	3,03	0,9997	8,4
Čaj od kajsije	3,47	1,0001	7,5
Čaj od divlje trešnje	3,06	1,0004	8,6
Čaj od borovnice	4,92	0,9989	10,1
Čaj od jabuke sa cimetom	4,74	1,0004	6,5
Čaj od nara	2,95	0,9988	9,4
Čaj od ananasa	3,88	0,9986	7,5
Čaj od južnog voća	3,09	1,0006	8,7

Tabela 4.1.3. Opšte karakteristike filter čajeva od aronije

Uzorak	pH	Gustina g/cm ³	Vlaga %
A1	4,48	0,9964	7,3
A2	3,74	0,9981	7,3
A3	3,58	1,0001	7,1
A4	4,68	0,9977	7,4
A5	4,78	0,9990	7,8
A6	4,56	0,9988	8,1

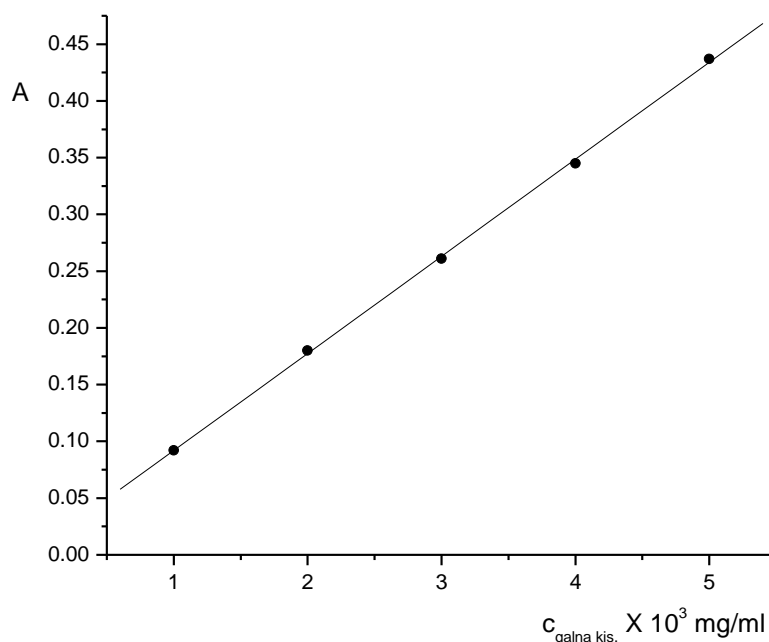
4.2. Ukupni polifenoli i flavonoidi

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida u vodenom, metanolnom, etanolnom i acetonskim ekstraktima filter čajeva, pripremljenim kao što je opisano u eksperimentalnom delu, prikazani su tabelama 4.2.1-4.2.9.

Za određivanje sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida korišćene su odgovarajuće kalibracione prave.

➤ Određivanje ukupnih polifenola

Kalibraciona prava za određivanje sadržaja ukupnih polifenola data je na slici 4.2.1.



Slika 4.2.1. Kalibraciona prava za određivanje sadržaja ukupnih polifenola (galna kiselina, $\lambda = 760 \text{ nm}$)

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$A = 0,0855 \cdot c_x + 0,0065 \quad R = 0,99978$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mg/l, a R koeficijent korelacije.

Sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i sadžaj je izražen kao miligram ekvivalent galne kiseline po gramu uzorka (mg GAE/g).

U tabelama 4.2.1-4.2.9. prikazani su rezultati sadržaja ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) ukupnih polifenola u različitim ekstraktima (voda, metanol, etanol i aceton) crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva.

Tabela 4.2.1. Sadržaj ukupnih polifenola u vodenom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Crni čaj	164,6 ± 0,4	0,24
Zeleni čaj	240 ± 2	0,83
Čaj od uve	160 ± 3	1,87
Čaj od kantariona	85 ± 3	3,53
Čaj od hibiskusa	50 ± 2	4,0
Čaj od majčine dušice	84 ± 4	4,76
Rtanjski čaj	74 ± 7	9,45
Čaj od koprive	26,2 ± 0,5	1,91
Čaj od šipka	74 ± 3	4,05
Čaj od zove	42,7 ± 0,0	0,00
Čaj od lipe	59 ± 3	5,08
Čaj od žalfije	50 ± 5	10,00
Čaj od mente	79 ± 1	1,27
Čaj od hajdučke trave	33,8 ± 0,1	0,29
Čaj od kamilice	36 ± 2	5,55

Sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim filter čajevima kreće se u granicama od 26,2 mg GAE/g u čaju od koprive do 240 mg GAE/g u zelenom čaju.

Tabela 4.2.2. Sadržaj ukupnih polifenola u vodenom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Čaj od višnje	148 ± 1	0,67
Čaj od jagode	61 ± 2	3,28
Čaj od maline	224 ± 1	0,45
Čaj od šumskog voća	51 ± 2	3,92
Čaj od kajsije	55 ± 2	3,64

Čaj od divlje trešnje	60 ± 2	3,33
Čaj od borovnice	54 ± 1	1,85
Čaj od jabuke sa cimetom	62 ± 1	1,61
Čaj od nara	82 ± 2	2,44
Čaj od ananasa	46 ± 4	8,70
Čaj od južnog voća	58 ± 2	3,45

Sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim filter čajevima kreće se u granicama od 46 mg GAE/g u čaju od ananasa do 224 mg GAE/g u čaju od maline.

Tabela 4.2.3. Sadržaj ukupnih polifenola u metanolnom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Crni čaj	55 ± 3	5,45
Zeleni čaj	48 ± 1	2,08
Čaj od uve	179 ± 9	5,03
Čaj od kantariona	40 ± 1	2,50
Čaj od hibiskusa	22 ± 1	4,56
Čaj od majčine dušice	86 ± 4	4,65
Rtanjski čaj	78 ± 4	5,13
Čaj od koprive	13 ± 1	7,69
Čaj od šipka	34 ± 1	2,94
Čaj od zove	26 ± 1	3,84
Čaj od lipe	31 ± 1	3,22
Čaj od žalfije	67 ± 1	1,49
Čaj od mente	44 ± 1	2,27
Čaj od hajdučke trave	19,7 ± 1,3	6,59
Čaj od kamilice	19,4 ± 1,5	7,73

Sadržaj ukupnih polifenola u ispitivanim filter čajevima kreće se u granicama od 13 mg GAE/g u čaju od koprive do 179 mg GAE/g u čaju od uve.

Tabela 4.2.4. Sadržaj ukupnih polifenola u metanolnom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Čaj od višnje	175 ± 4	2,28
Čaj od jagode	27,7 ± 0,6	2,17
Čaj od maline	92 ± 3	3,26
Čaj od šumskog voća	11,8 ± 0,6	5,08
Čaj od kajsije	20,7 ± 0,7	3,38
Čaj od divlje trešnje	14 ± 1	7,14
Čaj od borovnice	32 ± 1	3,12
Čaj od jabuke sa cimetom	29 ± 1	3,45
Čaj od nara	28,4 ± 0,7	2,46
Čaj od ananasa	41 ± 1	2,43
Čaj od južnog voća	13,6 ± 0,9	6,62

Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima kreće se u granicama od 11,8 mg GAE/g u čaju od šumskog voća do 175 mg GAE/g u čaju od višnje.

Tabela 4.2.5. Sadržaj ukupnih polifenola u etanolnom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Crni čaj	35 ± 2	5,71
Zeleni čaj	56 ± 4	7,14
Čaj od uve	168 ± 4	2,38
Čaj od kantariona	33 ± 2	6,06
Čaj od hibiskusa	19 ± 1	5,26
Čaj od majčine dušice	140 ± 3	2,14

Rtanjski čaj	85 ± 6	7,05
Čaj od koprive	13,9 ± 0,4	2,87
Čaj od šipka	21,2 ± 0,2	0,94
Čaj od zove	30 ± 1	3,33
Čaj od lipe	24,1 ± 0,1	0,41
Čaj od žalfije	92 ± 1	1,09
Čaj od mente	24 ± 2	8,33
Čaj od hajdučke trave	14 ± 1	7,14
Čaj od kamilice	10,1 ± 0,6	5,94

Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima kreće se u granicama od 10,1 mg GAE/g u čaju od kamilice do 168 mg GAE/g u čaju od uve.

Tabela 4.2.6. Sadržaj ukupnih polifenola u etanolnom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Čaj od višnje	48,6 ± 0,8	1,65
Čaj od jagode	23,4 ± 0,5	2,14
Čaj od maline	68 ± 2	2,94
Čaj od šumskog voća	7,6 ± 0,5	6,58
Čaj od kajsije	19,3 ± 0,1	0,52
Čaj od divlje trešnje	29,4 ± 0,3	1,02
Čaj od borovnice	25,1 ± 0,2	0,80
Čaj od jabuke sa cimetom	16,4 ± 0,6	3,66
Čaj od nara	32,5 ± 0,2	0,61
Čaj od ananasa	33,7 ± 0,7	2,08
Čaj od južnog voća	10,4 ± 0,6	5,77

Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima kreće se u granicama od 7,6 mg GAE/g u čaju od šumskog voća do 68 mg GAE/g u čaju od maline.

Tabela 4.2.7. Sadržaj ukupnih polifenola u acetonskom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Crni čaj	122 ± 5	4,09
Zeleni čaj	124 ± 3	2,42
Čaj od uve	263 ± 10	3,80
Čaj od kantariona	47 ± 1	2,13
Čaj od hibiskusa	29 ± 1	3,45
Čaj od majčine dušice	95 ± 4	4,21
Rtanjski čaj	85 ± 4	4,71
Čaj od koprive	14,4 ± 0,0	0,0
Čaj od šipka	31 ± 2	6,45
Čaj od zove	32 ± 1	3,12
Čaj od lipe	29,1 ± 0,6	2,06
Čaj od žalfije	58 ± 0	0,00
Čaj od mente	46 ± 1	2,17
Čaj od hajdučke trave	19,1 ± 0,5	2,62
Čaj od kamilice	12,2 ± 0,3	2,50

Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima kreće se u granicama od 12,2 mg GAE/g u čaju od kamilice do 263 mg GAE/g čaju od uve.

Tabela 4.2.8. Sadržaj ukupnih polifenola u acetonskom ekstraktu voćnih filter čajeva

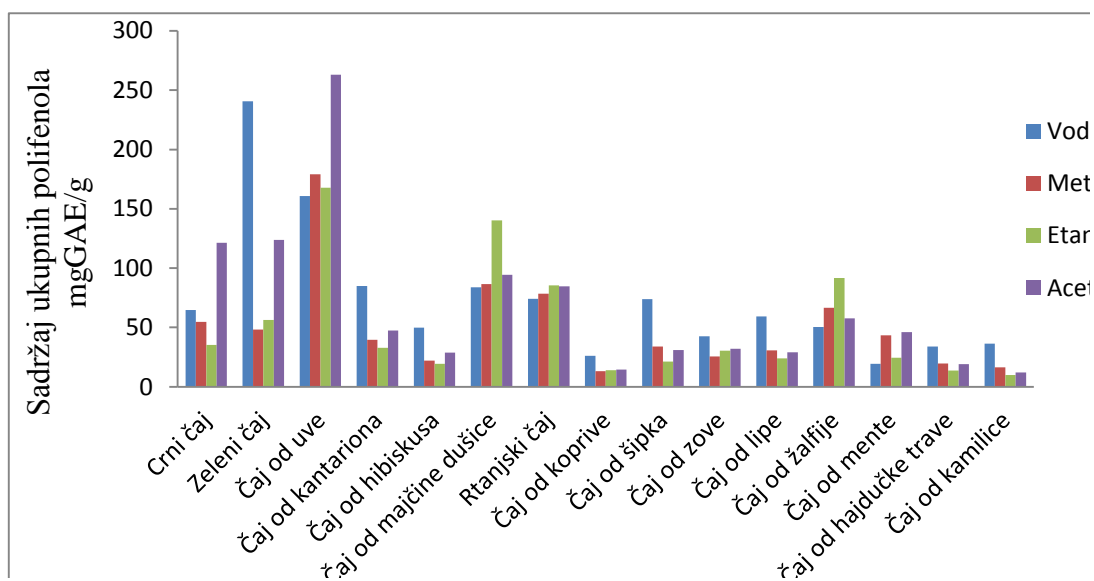
Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg GAE/g	RSD %
Čaj od višnje	124 ± 1	0,81
Čaj od jagode	23,9 ± 0,2	0,84
Čaj od maline	129 ± 4	3,10
Čaj od šumskog voća	22 ± 1	4,55
Čaj od kajsije	25 ± 1	4,00

Čaj od divlje trešnje	21 ± 0	0,00
Čaj od borovnice	42 ± 1	2,38
Čaj od jabuke sa cimetom	31 ± 1	3,22
Čaj od nara	27 ± 1	3,70
Čaj od ananasa	22,7 ± 0,3	1,32
Čaj od južnog voća	25,3 ± 0,4	1,58

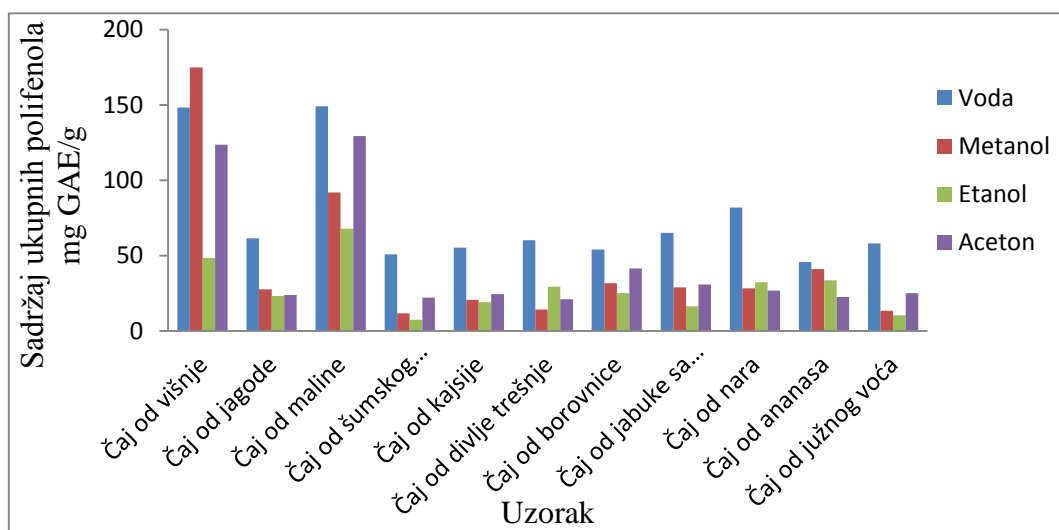
Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima kreće se u granicama od 21 mg GAE/g u čaju od divlje trešnje do 129 mg GAE/g u čaju od maline.

Grafički prikazi sadržaja ukupnih polifenola u različitim ekstraktima crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajevima dati su na slikama 4.2.2 i 4.2.3.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je najveći sadržaj polifenola u vodenim i acetonskim ekstraktima.



Slika 4.2.2. Sadržaj ukupnih polifenola u različitim ekstraktima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva



Slika 4.2.3. Sadržaj ukupnih polifenola u različitim ekstraktima voćnih filter čajeva

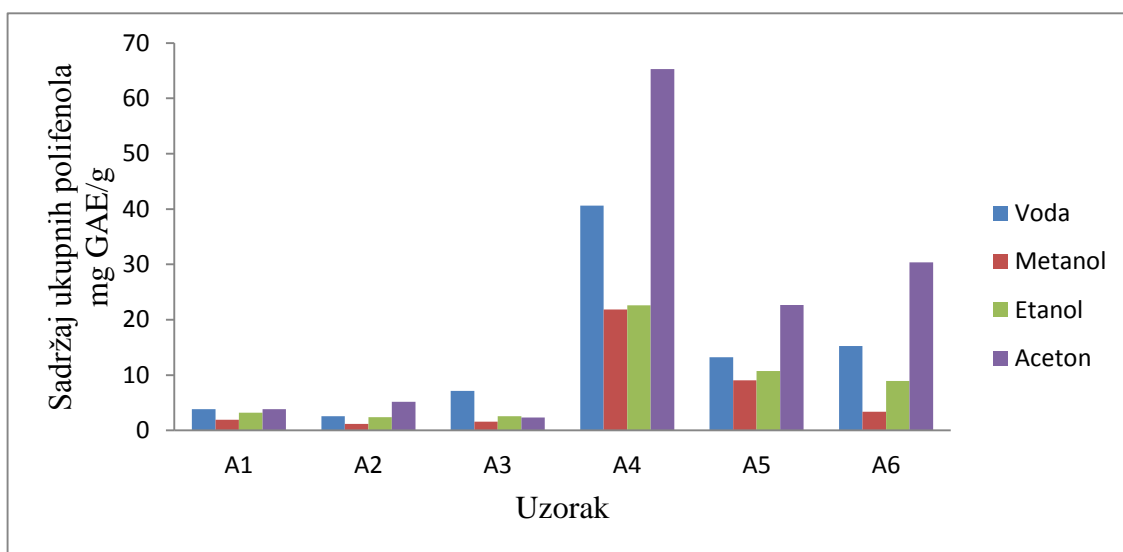
Sadržaj ukupnih polifenola u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije dat je u tabeli 4.2.9.

Tabela 4.2.9. Sadržaj ukupnih polifenola u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije

Uzorak	Voda	RSD %	Metanol	RSD %	Etanol	RSD %	Aceton	RSD %
A1	3,83 ± 0,02	0,52	1,92 ± 0,04	2,08	3,17 ± 0,02	0,63	3,83 ± 0,03	0,78
A2	2,6 ± 0,1	3,85	1,17 ± 0,02	1,71	2,4 ± 0,1	4,17	5,17 ± 0,04	0,77
A3	7,2 ± 0,2	2,77	1,56 ± 0,04	2,56	2,6 ± 0,1	3,85	2,32 ± 0,02	0,86
A4	40,6 ± 0,1	0,23	21,9 ± 0,3	1,37	22,6 ± 0,4	1,77	65 ± 2	3,07
A5	13,21 ± 0,03	0,23	9,0 ± 0,3	3,33	10,8 ± 0,4	3,70	22,7 ± 0,4	1,76
A6	15,2 ± 0,2	1,31	3,38 ± 0,07	2,07	8,9 ± 0,1	1,12	30,4 ± 0,1	0,33

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 4.2.9. može se zaključiti da je sadržaj ukupnih polifenola najveći u vodenim i acetonskim ekstraktima ispitivanih filter čajeva od aronije.

Grafički prikaz sadržaja ukupnih polifenola u različitim ekstraktima filter čajevima od aronije dat je na slici 4.2.4.



Slika 4.2.4. Sadržaj ukupnih polifenola u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije

Na osnovu dobijenih rezultata za sadržaj polifenola u ispitivanim uzorcima filter čajeva, najveći sadržaj polifenola je u većini vodenih ekstrakata, a zatim u acetonskim, metanolnim i etanolnim ekstraktima. Crni čaj, zeleni čaj i čajevi od uve, majčine dušice, višnje i maline su sa najvećim sadržajem polifenola.

S obzirom na to da mnogi faktori (svetlost, temperature, metalni joni,...) mogu da utiču na smanjenje aktivnosti Folin-Ciocalteu reagensa, dobijeni rezultati za sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima izražavaju samo relativni nivo polifenolnih jedinjenja, kao i sadržaj proizvoda Maillard-ove reakcije (Davalos i sar., 2003). Zbog toga je indentifikacija i kvantifikacija pojedinačnih polifenolnih jedinjenja od značaja kako bi se dobila prava slika sadržaja polifenola u uzorcima ispitivanih filter čajeva.

Kada se uporede koncentracije ukupnih polifenola u analiziranim uzorcima filter čajeva sa literaturnim podacima (tabela 4.2.10., 4.2.11. i 4.2.13.), može se zaključiti da su čajevi dostupni na tržištu Srbije podjednako bogati ukupnim polifenolima kao i čajevi iz drugih zemalja (Khokhar i Magnusdottir, 2002; Atoui i sar., 2005; Buřičová i sar., 2011). Niže vrednosti su dobijene za ispitivane čajeve od kamilice, lipe i žalfije.

Tabela 4.2.10. Poređenje sadržaja ukupnih polifenola u analiziranim uzorcima crnog i zelenog filter čaja sa sadržajem polifenola u uzorcima čajeva proizvedenim u drugim zemljama*

Uzorak	c_{sr} mg GAE/g
Crni čaj - PG-Tips	80,5
Crni čaj - Yorkshire Golg	97,4
Crni čaj - Ceylon	134,9
Crni čaj - Darjeeling	98,8
Crni čaj - Srbija	164,6
Zeleni čaj - Indija	106,2
Zeleni čaj - Chun mee, Kina	87,0
Zeleni čaj - Bandia, Japan	65,8
Zeleni čaj – Srbija	240

**Khokhar i Magnusdottir, 2002*

Tabela 4.2.11. Poređenje sadržaja ukupnih polifenola u analiziranim uzorcima biljnih filter čaja sa literaturnim podacima*

Uzorak	c_{sr} mg GAE/g
Čaj od nane	106 (79)**
Čaj od kamilice	106 (36)
Čaj od lipe	184 (59)
Čaj od žalfije	124 (50)

**Atoui i sar., 2005*

**U zagradama su podaci za čajeve iz Srbije

U tabeli 4.2.13. dati su literaturni podaci za sadržaj ukupnih polifenola u čajevima od jagode, maline i borovnice. Sadržaj je izražen kao milligram ekvivalent galne kiseline na 240 ml čaja (mg GAE/240 ml). Kako uzorci filter čajeva dostupni na tržištu Srbije imaju gustinu oko 1 g/cm^3 , moguće je porediti dobijene rezultate za literaturnim.

Dobro slaganje sa literaturnm podacima je za čajeve od jagode i borovnice, dok čaj od maline ima znatno veći sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na literaturni podatak.

Tabela 4.2.13. Poređenje sadržaja ukupnih polifenola u analiziranim uzorcima voćnih filter čajeva sa literaturnim podacima*

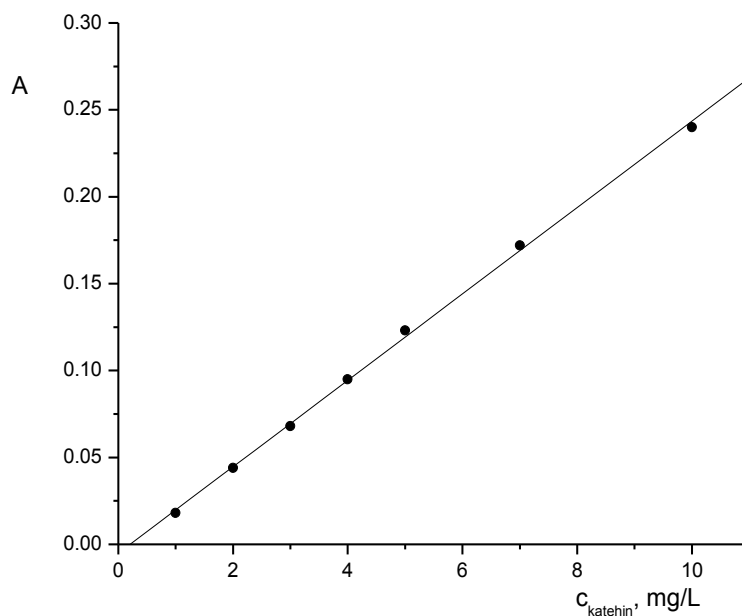
Uzorak	c_{sr} mg GAE/240 ml
Čaj od jagode	62,4 (61)**
Čaj od maline	68,9 (224)
Čaj od borovnice	75,4 (54)

**Buřičová i sar., 2011*

**U zagradama su podaci za čajeve iz Srbije

➤ Određivanje ukupnih flavonoida

Kalibraciona prava za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida data je na slici 4.1.5.



Slika 4.2.5. Kalibraciona prava za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida (katehin, $\lambda = 510$ nm)

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$A = 0,02486 \cdot c_x - 0,00507 \quad R = 0,99941$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mg/l, a R koeficijent korelacije.

Sadržaj ukupnih flavonoida u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i izražen je kao miligram ekvivalent katehina po gramu uzorka (mg CE/g).

U tabelama 4.2.14.-4.2.22. prikazani su rezultati sadržaja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima (voda, metanol, etanol i aceton) crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva.

Tabela 4.2.14. Sadržaj ukupnih flavonoida u vodenom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Crni čaj	63 ± 0	0,00
Zeleni čaj	85 ± 1	1,18
Čaj od uve	75 ± 1	1,33
Čaj od kantariona	42 ± 1	2,38
Čaj od hibiskusa	16,1 ± 0,6	3,72
Čaj od majčine dušice	39 ± 1	2,56
Rtanjski čaj	33 ± 0	0,00
Čaj od koprive	12,5 ± 0,3	2,40
Čaj od šipka	45 ± 1	2,22
Čaj od zove	29 ± 1	3,45
Čaj od lipe	21,2 ± 0,3	1,41
Čaj od žalfije	24,7 ± 2	8,10
Čaj od mente	33 ± 2	6,06
Čaj od hajdučke trave	15 ± 1	6,67
Čaj od kamilice	11,8 ± 0,1	0,85

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 11,8 mg CE/g u čaju od kamilice do 85 mg CE/g u zelenom čaju.

Tabela 4.2.15. Sadržaj ukupnih flavonoida u vodenom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Čaj od višnje	30 ± 1	3,33
Čaj od jagode	$20,2 \pm 0,7$	3,47
Čaj od maline	32 ± 1	3,12
Čaj od šumskog voća	$16,5 \pm 0,2$	1,21
Čaj od kajsije	$20,9 \pm 0,3$	1,43
Čaj od divlje trešnje	20 ± 0	0,00
Čaj od borovnice	$21,3 \pm 0,7$	3,29
Čaj od jabuke sa cimetom	$20,8 \pm 0,6$	2,88
Čaj od nara	$25,0 \pm 0,6$	2,4
Čaj od ananasa	$25,4 \pm 0,6$	2,36
Čaj od južnog voća	$17,7 \pm 0,0$	0,00

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 16,5 mg CE/g u čaju od šumskog voća do 32 mg CE/g u čaju od maline.

Tabela 4.2.16. Sadržaj ukupnih flavonoida u metanolnom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Crni čaj	$19,1 \pm 1,0$	5,23
Zeleni čaj	$28,7 \pm 0,3$	1,04
Čaj od uve	$36,0 \pm 1$	2,78
Čaj od kantariona	$21,6 \pm 0,9$	4,17
Čaj od hibiskusa	$13,3 \pm 0,1$	0,75
Čaj od majčine dušice	86 ± 4	4,65
Rtanjski čaj	46 ± 1	2,17
Čaj od koprive	$8,5 \pm 0,1$	1,18
Čaj od šipka	$17,4 \pm 0,2$	1,15
Čaj od zove	$18,9 \pm 0,4$	2,11

Čaj od lipe	19 ± 2	10,52
Čaj od žalfije	10,2 ± 0,7	6,86
Čaj od mente	39,9 ± 0,9	2,25
Čaj od hajdučke trave	25 ± 1	4,00
Čaj od kamilice	7,7 ± 0,1	1,30

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 7,7 mg CE/g u čaju od kamilice do 86 mg CE/g u čaju od majčine dušice.

Tabela 4.2.17. Sadržaj ukupnih flavonoida u metanolnom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Čaj od višnje	62 ± 2	3,23
Čaj od jagode	36 ± 1	2,78
Čaj od maline	65 ± 2	3,08
Čaj od šumskog voća	26 ± 1	3,85
Čaj od kajsije	49 ± 2	4,08
Čaj od divlje trešnje	19,6 ± 0,4	2,04
Čaj od borovnice	30,8 ± 0,7	2,27
Čaj od jabuke sa cimetom	35,6 ± 0,3	0,84
Čaj od nara	45,2 ± 0,3	0,66
Čaj od ananasa	22,7 ± 0,3	1,32
Čaj od južnog voća	30,5 ± 0,6	1,97

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 19,6 mg CE/g u čaju od divlje trešnje do 65 mg CE/g u čaju od maline.

Tabela 4.2.18. Sadržaj ukupnih flavonoida u etanolnom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Crni čaj	15 ± 1	6,67
Zeleni čaj	21,5 ± 0,9	4,19
Čaj od uve	27,4 ± 0,6	2,19
Čaj od kantariona	25,4 ± 0,2	0,79
Čaj od hibiskusa	9,5 ± 0,1	1,05
Čaj od majčine dušice	78 ± 0	0,00
Rtanjski čaj	70 ± 4	5,71
Čaj od koprive	4,9 ± 0,1	2,04
Čaj od šipka	11,6 ± 0,3	2,59
Čaj od zove	20,2 ± 0,7	3,47
Čaj od lipe	12,5 ± 0,3	2,40
Čaj od žalfije	9,2 ± 0,4	4,35
Čaj od mente	34 ± 1	2,94
Čaj od hajdučke trave	16,4 ± 0,3	1,83
Čaj od kamilice	3,4 ± 0,0	0,00

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 3,4 mg CE/g u čaju od kamilice do 78 mg CE/g u čaju od majčine dušice.

Tabela 4.2.19. Sadržaj ukupnih flavonoida u etanolnom ekstraktu voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CE/g	RSD %
Čaj od višnje	38,7 ± 0,0	0,00
Čaj od jagode	18,8 ± 0,0	0,00
Čaj od maline	39 ± 1	2,56
Čaj od šumskog voća	13,7 ± 0,7	5,11
Čaj od kajsije	21,7 ± 0,9	4,15

Čaj od divlje trešnje	13,7 ± 0,0	0,00
Čaj od borovnice	25,1 ± 0,1	0,40
Čaj od jabuke sa cimetom	21,8 ± 0,8	3,67
Čaj od nara	19,9 ± 0,3	1,51
Čaj od ananasa	21,4 ± 0,1	0,47
Čaj od južnog voća	20,9 ± 0,1	0,48

Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 13,7 mg CE/g u čaju od divlje trešnje do 39 mg CE/g u čaju od maline.

Tabela 4.2.20. Sadržaj ukupnih flavonoida u acetonskom ekstraktu crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	csr ± SD mg CE/g	RSD %
Crni čaj	37 ± 1	2,70
Zeleni čaj	31 ± 1	3,22
Čaj od uve	37 ± 2	5,41
Čaj od kantariona	25 ± 1	4,00
Čaj od hibiskusa	9,5 ± 0,2	2,11
Čaj od majčine dušice	72 ± 6	8,33
Rtanjski čaj	60 ± 3	5,00
Čaj od koprive	5,2 ± 0,2	3,85
Čaj od šipka	14,1 ± 0,6	4,25
Čaj od zove	21,2 ± 0,4	1,87
Čaj od lipe	19,6 ± 0,5	2,56
Čaj od žalfije	11,9 ± 0,4	3,36
Čaj od mente	48 ± 2	4,17
Čaj od hajdučke trave	14,9 ± 0,1	0,67
Čaj od kamilice	5,6 ± 0,2	3,57

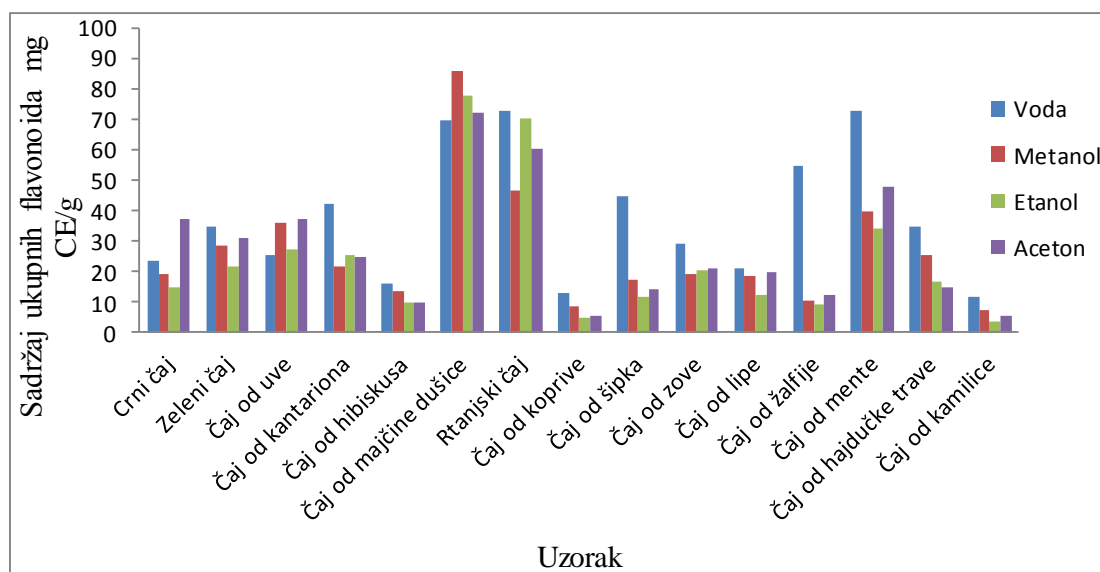
Koncentracija ukupnih flavonoida filter čajevima kreće se u granicama od 5,2 mg CE/g u čaju od koprivi do 72 mg CE/g u čaju od majčine dušice.

Tabela 4.2.21. Sadržaj ukupnih flavonoida u acetonskom ekstraktu voćnih filter čajeva

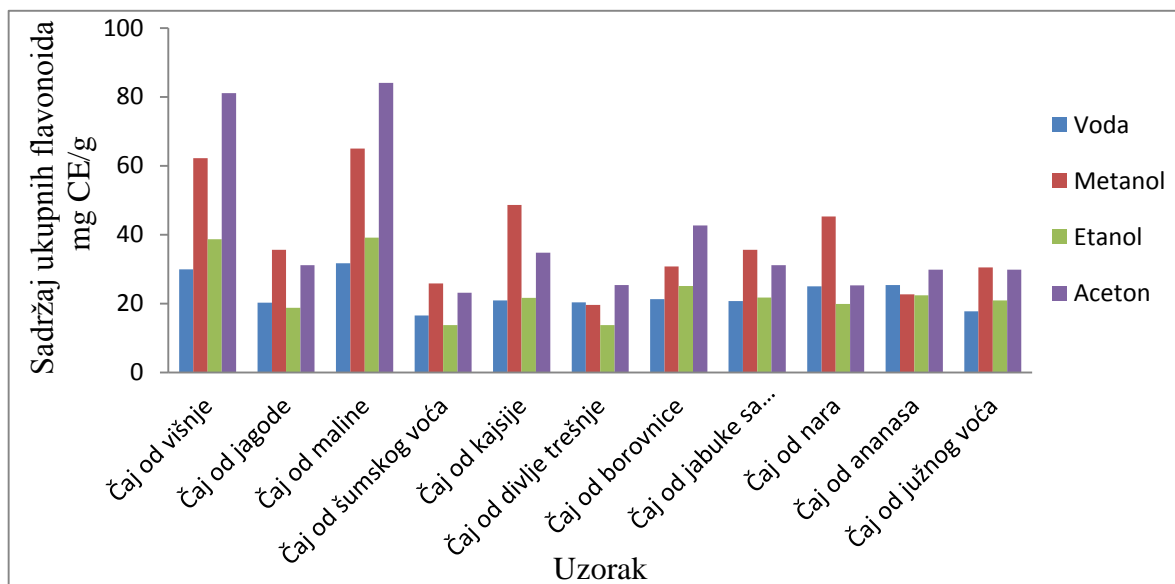
Uzorak	csr ± SD mg CE/g	RSD %
Čaj od višnje	81 ± 3	3,70
Čaj od jagode	31 ± 1	3,22
Čaj od maline	84 ± 1	1,19
Čaj od šumskog voća	23,2 ± 0,9	3,88
Čaj od kajsije	35 ± 1	2,86
Čaj od divlje trešnje	25,4 ± 0,1	0,39
Čaj od borovnice	43 ± 1	2,32
Čaj od jabuke sa cimetom	31 ± 1	3,22
Čaj od nara	25,3 ± 0,1	0,39
Čaj od ananasa	24,4 ± 0,1	0,41
Čaj od južnog voća	29,9 ± 0,6	2,01

Koncentracija ukupnih flavonoida u filter čajevima kreće se u granicama od 23,2 mg CE/g u čaju od šumskog voća do 84 mg CE/g u čaju od maline.

Grafički prikazi sadržaja ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva dati su na slikama 4.2.6 i 4.2.7.



Slika 4.2.6. Sadržaj ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva



Slika 4.2.7. Sadržaj ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima voćnih filter čajeva

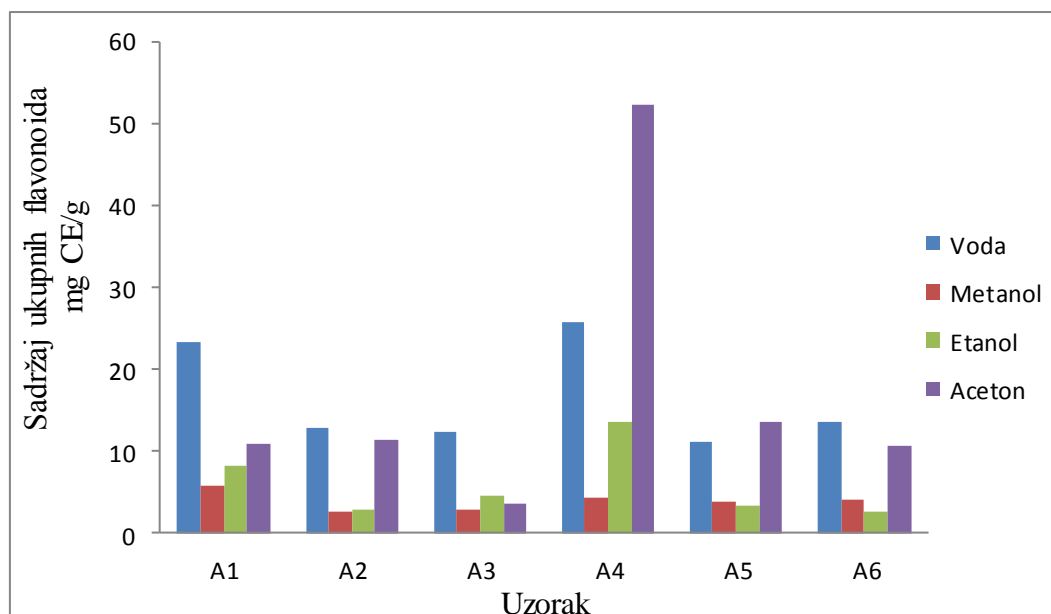
Sadržaj ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije dat je u tabeli 4.2.22.

Tabela 4.2.22. Sadržaj ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije

Uzorak	Voda	RSD	Metanol	RSD	Etanol	RSD	Aceton	RSD
		%		%		%		%
A1	23,3 ± 0,7	3,00	5,7 ± 0,5	8,77	8,3 ± 0,4	4,82	10,8 ± 0,1	0,92
A2	12,8 ± 0,5	3,91	2,6 ± 0,1	3,85	2,9 ± 0,2	6,90	11,4 ± 0,4	3,51
A3	12,4 ± 0,5	4,03	2,8 ± 0,2	7,14	4,5 ± 0,1	2,22	3,5 ± 0,2	5,71
A4	25,7 ± 0,7	2,72	4,2 ± 0,0	0,00	13,6 ± 0,1	0,74	52 ± 1	1,92
A5	11,1 ± 0,0	0,00	3,8 ± 0,3	7,90	3,4 ± 0,3	8,82	13,6 ± 0,0	0,00
A6	13,5 ± 0,1	0,74	4,1 ± 0,1	2,44	2,61 ± 0,03	1,15	10,5 ± 0,1	0,95

Na osnovu prikazanih rezultata u tabeli 4.2.22. može se uočiti da je koncentracija ukupnih flavonoida u pojedinim uzorcima filter čajeva od aronije najveća u vodi kao rastvaraču i da se kreće od 11,1 mg CE/g (A5) do 25,7 mg CE/g (A4).

Grafički prikaz sadržaja ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije dat je na slici 4.2.8.



Slika 4.2.8. Sadržaj ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima filter čajeva od aronije

Na osnovu dobijenih rezultata za sadržaj ukupnih flavonoida u ispitivanim uzorcima filter čajeva, najveći sadržaj flavonoida je u većini vodenih ekstrakata, a zatim u acetonskim, metanolnim i etanolnim ekstraktima. Crni čaj, zeleni čaj i čajevi od uve, majčine dušice, višnje i maline su sa najvećim sadržajem ukupnih flavonoida.

4.2.1. Ukupni monomerni antocijani

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) ukupnih monomernih antocijana u vodenom ekstraktu filter čajeva dati su u tabeli 4.2.1.1. Sadržaj je izražen kao milligram cijanidin-3-*O*-glukozid ekvivalenta u sto grama uzorka (mg CGE/100g).

Tabela 4.2.1.1. Sadržaj ukupnih antocijana u vodenom ekstraktu biljnih i voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CGE/100g	RSD %
Čaj od hibiskusa	453 ± 3	0,66
Čaj od šipka	101 ± 3	3,00
Čaj od višnje	5,84 ± 0,03	0,51
Čaj od jagode	177 ± 4	2,26
Čaj od kajsije	40 ± 3	7,50
Čaj od divlje trešnje	191 ± 6	3,14
Čaj od borovnice	402 ± 4	1,00
Čaj od jabuke sa cimetom	306 ± 3	1,00
Čaj od nara	376 ± 3	0,80
Čaj od južnog voća	137 ± 4	2,92

Sadržaj ukupnih antocijana u pojedinim uzorcima filter čajeva kreće od 5,84 mg CGE/100g u čaju od višnje do 453 mg CGE/100g u čaju od hibiskusa.

U tabeli 4.2.1.2. dat je sadržaj ukupnih antocijana u filter čajevima od aronije.

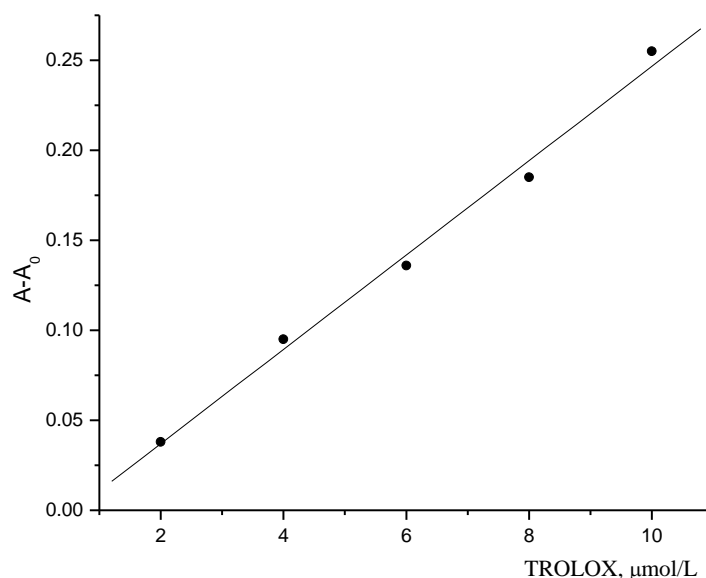
Tabela 4.2.1.2. Sadržaj ukupnih monomernih antocijana u čajevima od aronije

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mg CGE/100g	RSD %
A1	8,29 ± 0,01	0,12
A2	5,42 ± 0,03	0,55
A3	5,61 ± 0,01	0,18
A4	9,94 ± 0,01	0,10
A5	10,56 ± 0,04	0,37
A6	7,35 ± 0,01	0,14

Koncentracija ukupnih monomernih antocijana u uzorcima čajeva od aronije kreće od 5,42 mg CGE/100g (A2) do 10,56 mg CGE/100g (A5).

4.3. Antioksidativna (antiradikalska) aktivnost - ABTS metod

Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (ABTS) aktivnosti data je na slici 4.3.1.



Slika 4.3.1. Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (ABTS) aktivnosti (Trolox, $\lambda = 734 \text{ nm}$):

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$A = 0,0262 \cdot c_x - 0,0154 \quad R = 0,99601$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mmol/l , a R koeficijent korelacije.

Nivo antioksidativne aktivnosti u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i sadržaj je izražen kao milimolovi Trolox ekvivalenta po gramu uzorka (mmol TE/g).

Antioksidativna (ABTS) aktivnost ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) crnog, zelenog i biljnih filter čajeva ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) data je u tabeli 4.3.1, voćnih filter čajeva u tabeli 4.3.2, a filter čajeva od aronije u tabeli 4.3.3.

Tabela 4.3.1. Antioksidativna (ABTS) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol TE/g	RSD %
Crni čaj	3,21 ± 0,00	0,00
Zeleni čaj	3,09 ± 0,00	0,00
Čaj od uve	3,19 ± 0,01	0,31
Čaj od kantariona	3,17 ± 0,00	0,00
Čaj od hibiskusa	3,20 ± 0,01	0,31
Čaj od majčine dušice	3,22 ± 0,02	0,62
Rtanjski čaj	3,24 ± 0,02	0,62
Čaj od koprive	2,98 ± 0,04	1,34
Čaj od šipka	3,21 ± 0,00	0,00
Čaj od zove	3,03 ± 0,04	1,32
Čaj od lipe	3,27 ± 0,01	0,30
Čaj od žalfije	3,18 ± 0,00	0,00
Čaj od mente	3,18 ± 0,01	0,31
Čaj od hajdučke trave	3,24 ± 0,00	0,00
Čaj od kamilice	3,19 ± 0,03	0,94

Antioksidativna (ABTS) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva ima približne vrednosti i menja se u granicama od 2,98 mmol TE/g za čaj od koprive do 3,27 mmol TE/g za čaj od lipe.

Tabela 4.3.2. Antioksidativna (ABTS) aktivnost voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol TE/g	RSD %
Čaj od višnje	3,18 ± 0,01	0,31
Čaj od jagode	3,2 ± 0,0	0,0
Čaj od maline	3,17 ± 0,01	0,32
Čaj od šumskog voća	2,72 ± 0,01	0,37
Čaj od kajsije	3,23 ± 0,00	0,0

Čaj od divlje trešnje	$3,0 \pm 0,0$	0,0
Čaj od borovnice	$3,05 \pm 0,0$	0,0
Čaj od jabuke sa cimetom	$3,12 \pm 0,01$	0,32
Čaj od nara	$3,04 \pm 0,01$	0,33
Čaj od ananasa	$3,18 \pm 0,01$	0,31
Čaj od južnog voća	$2,6 \pm 0,1$	3,85

Antioksidativna (ABTS) aktivnost voćnih filter čajeva takođe ima približne vrednosti i menja se u granicama od 2,6 mmol TE/g za čaj od južnog voća do 3,23 mmol TE/g za čaj od kajsije.

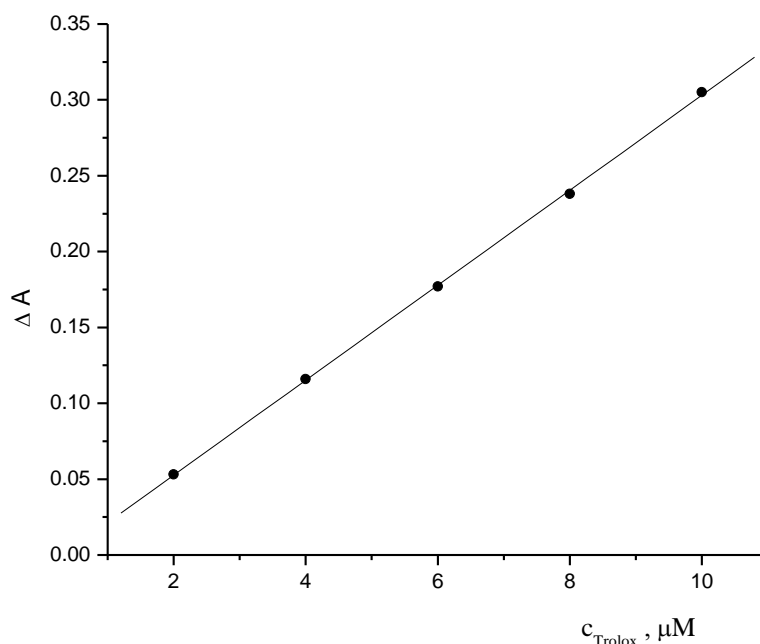
Tabela 4.3.3. Antioksidativna (ABTS) aktivnost filter čajeva od aronije

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol TE/g	RSD %
A1	$2,715 \pm 0,007$	0,26
A2	$2,744 \pm 0,006$	0,22
A3	$2,731 \pm 0,006$	0,22
A4	$0,076 \pm 0,001$	1,32
A5	$0,09 \pm 0,00$	0,00
A6	$0,051 \pm 0,001$	1,96

Antioksidativna (ABTS) aktivnost filter čajeva od aronije menja se u granicama od 0,051 mmol TE/g za uzorak A6 do 2,744 mmol TE/g za uzorak A2.

4.4. Antioksidativna (radikalska) aktivnost - DPPH metod

Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne, radikalske (DPPH), aktivnosti data je na slici 4.4.1.



Slika 4.4.1. Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (DPPH) aktivnosti (Trolox, 515 nm)

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$\Delta A = 0,0313 \cdot c_x - 0,01 \quad R = 0,99986$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mmol/l, a R koeficijent korelacije.

Nivo antioksidativne aktivnosti u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i sadržaj je izražen kao milimolovi Trolox ekvivalenta po gramu uzorka (mmol TE/g).

Antioksidativna (DPPH) aktivnost ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) crnog, zelenog i biljnih filter čajeva ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) data je u tabeli 4.4.1, voćnih filter čajeva u tabeli 4.4.2, a filter čajeva od aronije u tabeli 4.4.3.

Tabela 4.4.1. Antioksidativna (DPPH) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol TE/g	RSD %
Crni čaj	0,181 ± 0,001	0,55
Zeleni čaj	0,180 ± 0,004	2,22
Čaj od uve	0,177 ± 0,001	0,56
Čaj od kantariona	0,173 ± 0,003	1,73
Čaj od hibiskusa	0,124 ± 0,000	0,00
Čaj od majčine dušice	0,173 ± 0,002	1,16
Rtanjski čaj	0,175 ± 0,001	0,57
Čaj od koprive	0,084 ± 0,005	5,95
Čaj od šipka	0,163 ± 0,003	1,84
Čaj od zova	0,118 ± 0,000	0,00
Čaj od lipe	0,173 ± 0,002	1,16
Čaj od žalfije	0,180 ± 0,001	0,56
Čaj od mente	0,172 ± 0,001	0,58
Čaj od hajdučke trave	0,148 ± 0,002	1,35
Čaj od kamilice	0,062 ± 0,003	4,84

Antioksidativna (DPPH) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva se kreće u granicama od 0,062 mmol TE/g za čaj od kamilice do 0,181 mmol TE/g za crni čaj.

Tabela 4.4.2. Antioksidativna (DPPH) aktivnost voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol TE/g	RSD %
Čaj od višnje	0,181 ± 0,017	9,39
Čaj od jagode	0,142 ± 0,003	2,11
Čaj od maline	0,180 ± 0,001	0,56
Čaj od šumskog voća	0,126 ± 0,005	3,97
Čaj od kajsije	0,114 ± 0,005	4,39
Čaj od divlje trešnje	0,126 ± 0,002	1,59

Čaj od borovnice	0,140 ± 0,002	1,43
Čaj od jabuke sa cimetom	0,122 ± 0,001	0,82
Čaj od nara	0,138 ± 0,002	1,45
Čaj od ananasa	0,107 ± 0,001	0,93
Čaj od južnog voća	0,034 ± 0,000	0,00

Antioksidativna (DPPH) aktivnost za voćne filter čajeve se kreće u granicama od 0,034 mmol TE/g za čaj od južnog voća do 0,181 mmol TE/g za čaj od višnje.

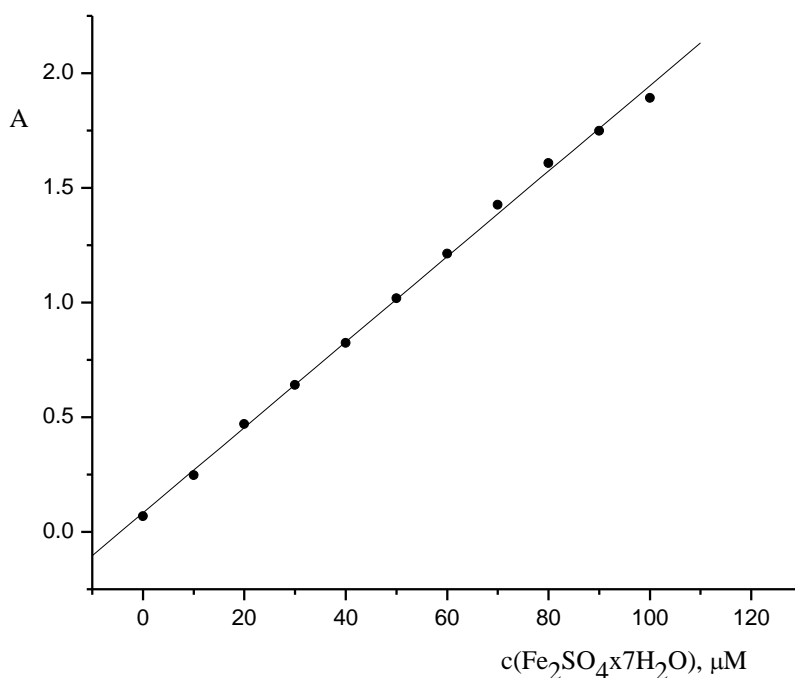
Tabela 4.4.3. Antioksidativna (DPPH) aktivnost filter čajeve od aronije

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$	RSD
	mmol TE/g	%
A1	0,067 ± 0,001	1,49
A2	0,074 ± 0,002	2,70
A3	0,068 ± 0,001	1,47
A4	0,055 ± 0,001	1,82
A5	0,058 ± 0,001	1,72
A6	0,051 ± 0,001	1,96

Antioksidativna (DPPH) aktivnost filter čajeve od aronije se kreće u granicama od 0,051 mmol TE/g za uzorak A6 do 0,074 mmol TE/g za uzorak A2.

4.5. Antioksidativna aktivnost - FRAP metod

Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (FRAP) aktivnosti data je na slici 4.5.1.



Slika 4.5.1. Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (FRAP) aktivnosti (Fe^{2+} , 595 nm)

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$A = 0,01863 \cdot c_x + 0,08277 \quad R = 0,99909$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mmol/l, a R koeficijent korelacije.

Nivo antioksidativne aktivnosti u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i sadržaj je izražen kao milimolovi Fe^{2+} ekvivalenta po gramu uzorka (mmol FE/g).

Antioksidativna (FRAP) aktivnost ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) crnog, zelenog i biljnih filter čajeva ($c_{\text{sr}} \pm \text{SD}$, $n = 2$) data je u tabeli 4.5.1, voćnih filter čajeva u tabeli 4.5.2, a filter čajeva od aronije u tabeli 4.5.3.

Tabela 4.5.1. Antioksidativna (FRAP) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol FE/g	RSD %
Crni čaj	0,788 ± 0,001	0,13
Zeleni čaj	1,83 ± 0,03	1,64
Čaj od uve	1,725 ± 0,009	0,52
Čaj od kantariona	0,44 ± 0,02	4,55
Čaj od hibiskusa	0,45 ± 0,03	6,67
Čaj od majčine dušice	0,48 ± 0,03	6,25
Rtanjski čaj	0,70 ± 0,01	1,43
Čaj od koprive	0,127 ± 0,005	3,94
Čaj od šipka	1,15 ± 0,04	3,48
Čaj od zove	0,40 ± 0,01	2,5
Čaj od lipe	0,42 ± 0,02	4,76
Čaj od žalfije	0,76 ± 0,04	5,26
Čaj od mente	0,92 ± 0,07	7,61
Čaj od hajdučke trave	0,49 ± 0,03	6,12
Čaj od kamilice	0,194 ± 0,005	2,58

Antioksidativna (FRAP) aktivnost za crni, zeleni i biljne filter čajeve se kreće u granicama od 0,127 mmol FE/g za čaj od koprive do 1,83 mmol FE/g za zeleni čaj.

Tabela 4.5.2 Antioksidativna (FRAP) aktivnost voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol FE/g	RSD %
Čaj od višnje	0,92 ± 0,06	6,52
Čaj od jagode	0,417 ± 0,008	1,92
Čaj od maline	1,121 ± 0,002	0,18
Čaj od šumskog voća	0,37 ± 0,02	5,41
Čaj od kajsije	0,34 ± 0,01	2,94
Čaj od divlje trešnje	0,49 ± 0,02	4,08

Čaj od borovnice	$0,64 \pm 0,02$	3,13
Čaj od jabuke sa cimetom	$0,349 \pm 0,006$	1,72
Čaj od nara	$0,54 \pm 0,02$	3,70
Čaj od ananasa	$0,477 \pm 0,007$	1,47
Čaj od južnog voća	$0,30 \pm 0,02$	6,67

Antioksidativna (FRAP) aktivnost za voćne filter čajeve se kreće u granicama od 0,30 mmol FE/g za čaj od južnog voća do 1,121 mmol FE/g za čaj od maline.

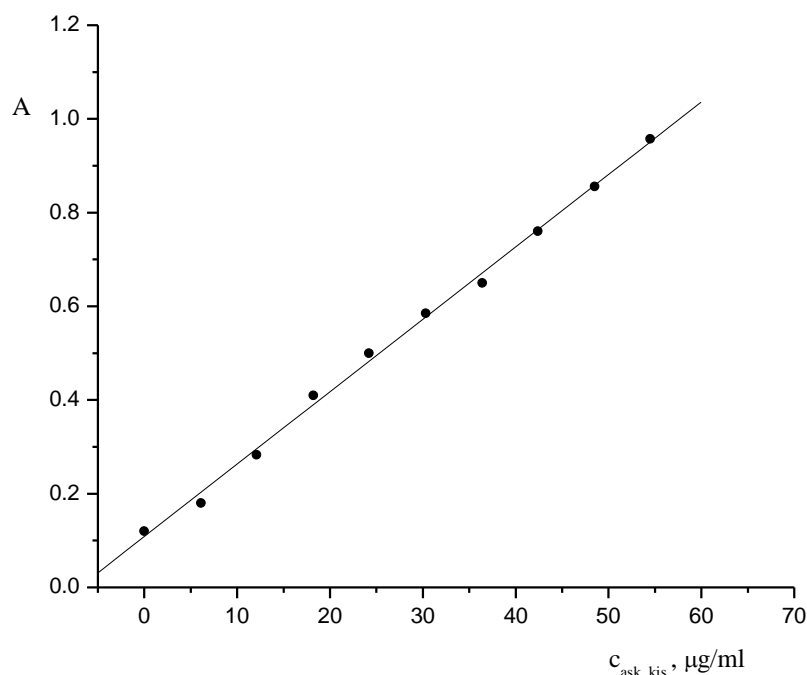
Tabela 4.5.3. Antioksidativna (FRAP) aktivnost filter čajeva od aronije

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol FE/g	RSD %
A1	$0,147 \pm 0,002$	1,36
A2	$0,136 \pm 0,001$	0,73
A3	$0,147 \pm 0,002$	1,36
A4	$0,153 \pm 0,003$	1,96
A5	$0,144 \pm 0,002$	1,39
A6	$0,151 \pm 0,003$	1,99

Antioksidativna (FRAP) aktivnost za filter čajeve od aronije se kreće u granicama od 0,136 mmol FE/g za uzorak A2 do 0,153 mmol FE/g za uzorak A4.

4.6. Antioksidativna aktivnost - Fe(III)/Fe(II) metod

Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne Fe(III)/Fe(II) aktivnosti data je na slici 4.6.1.



Slika 4.6.1. Kalibraciona prava za određivanje antioksidativne (Fe(III)/Fe(II)) (askorbinska kiselina, 700 nm)

Primenom kompjuterskog programa ORIGIN 7,0 dobijena je jednačina prave:

$$A = 0,01546 \cdot c_x + 0,10845 \quad R = 0,99856$$

gde je c_x nepoznata koncentracija u mmol/l, a R koeficijent korelacije.

Nivo antioksidativne aktivnosti u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačine prave i sadržaj je izražen kao milimolovi askorbinske kiseline ekvivalenta po gramu uzorka (mmol AAE/g).

Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) crnog, zelenog i biljnih filter čajeva ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) data je u tabeli 4.6.1, voćnih filter čajeva u tabeli 4.6.2, a filter čajeva od aronije u tabeli 4.6.3.

Tabela 4.6.1. Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost crnog, zelenog i biljnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol AAE/g	RSD %
Crni čaj	$2,57 \pm 0,04$	1,56
Zeleni čaj	$7,5 \pm 0,1$	1,33
Čaj od uve	$7,3 \pm 0,1$	1,37
Čaj od kantariona	$1,57 \pm 0,08$	5,10
Čaj od hibiskusa	$1,34 \pm 0,03$	2,24
Čaj od majčine dušice	$2,06 \pm 0,05$	2,43
Rtanjski čaj	$2,20 \pm 0,08$	3,64
Čaj od koprive	$2,40 \pm 0,09$	3,75
Čaj od šipka	$3,52 \pm 0,03$	0,85
Čaj od zove	$1,30 \pm 0,02$	1,54
Čaj od lipe	$1,94 \pm 0,01$	0,52
Čaj od žalfije	$2,65 \pm 0,05$	1,89
Čaj od mente	$3,76 \pm 0,02$	0,53
Čaj od hajdučke trave	$2,35 \pm 0,09$	3,83
Čaj od kamilice	$1,38 \pm 0,01$	0,72

Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost za crni, zeleni i biljne filter čajeve se kreće u granicama od 0,30 mmol AAE/g za čaj od zove do 7,5 mmol AAE/g za zeleni čaj.

Tabela 4.6.2. Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost voćnih filter čajeva

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol AAE/g	RSD %
Čaj od višnje	$3,77 \pm 0,01$	0,27
Čaj od jagode	$2,01 \pm 0,05$	2,49
Čaj od maline	$3,93 \pm 0,04$	1,02
Čaj od šumskog voća	$1,85 \pm 0,02$	1,08
Čaj od kajsije	$1,7 \pm 0,1$	5,89
Čaj od divlje trešnje	$2,12 \pm 0,04$	1,89

Čaj od borovnice	2,68 ± 0,06	2,24
Čaj od jabuke sa cimetom	2,37 ± 0,08	3,38
Čaj od nara	2,95 ± 0,13	4,41
Čaj od ananasa	2,02 ± 0,07	3,47
Čaj od južnog voća	0,42 ± 0,02	4,76

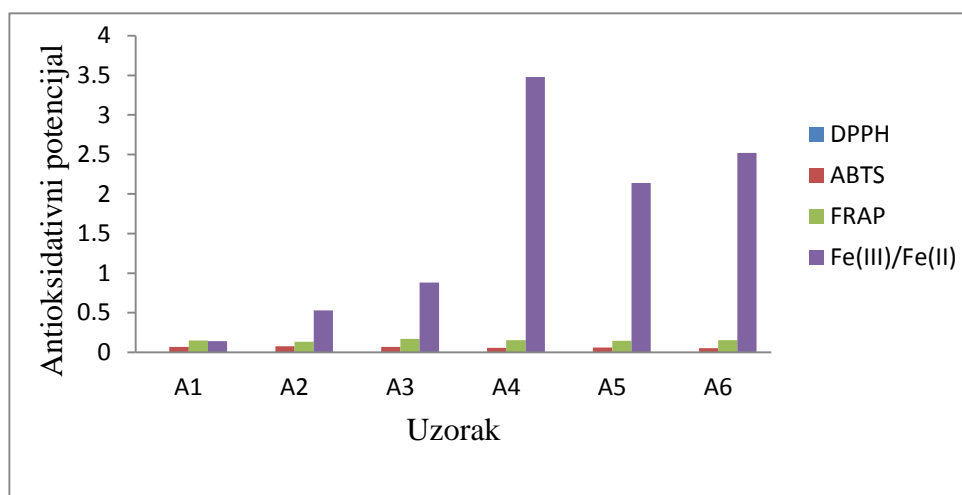
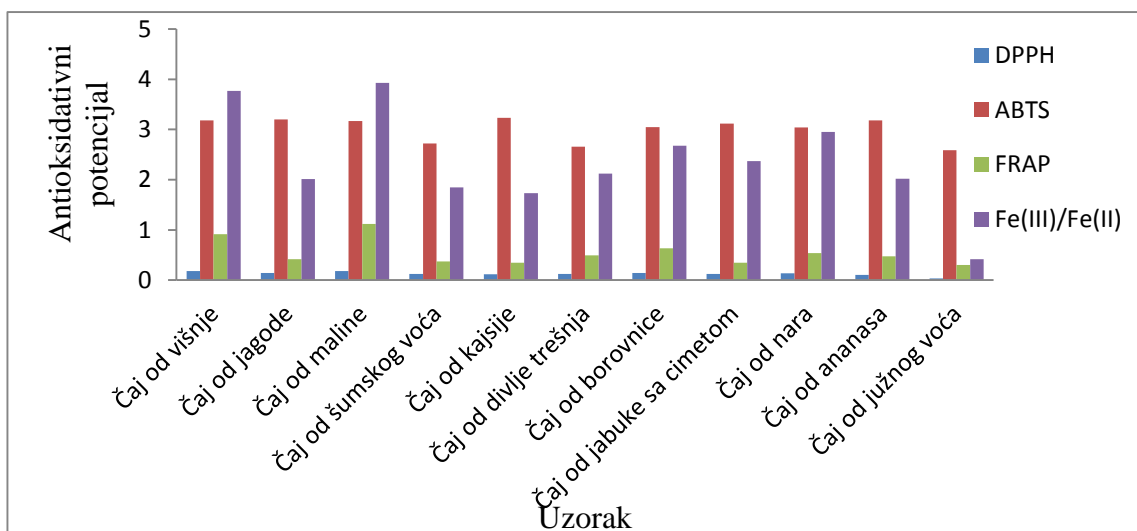
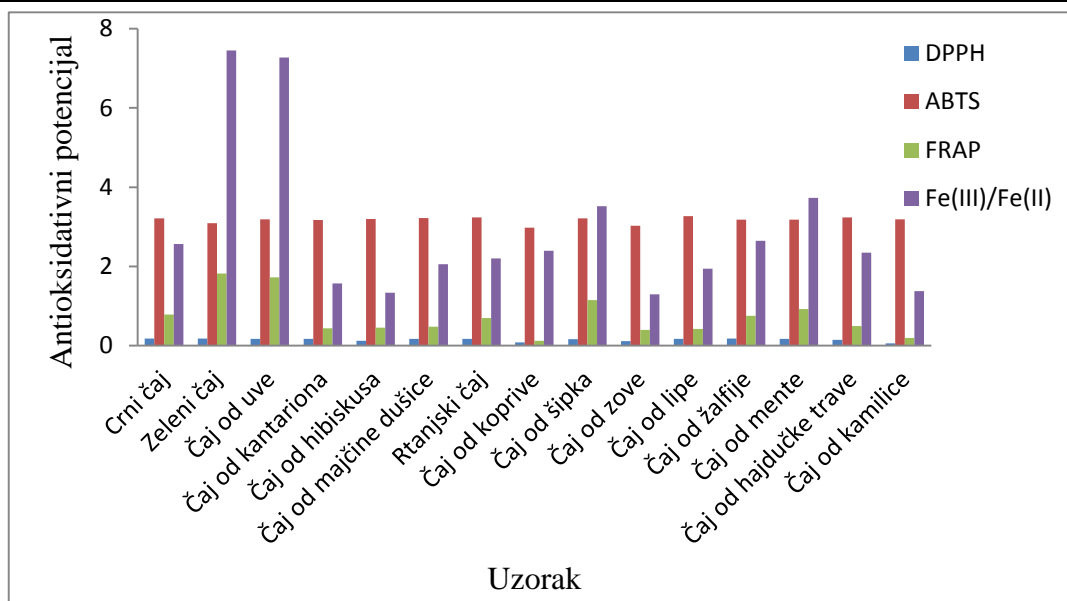
Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost za voćne filter čajeve se kreće u granicama od 0,42 mmol AAE/g za čaj južnog voća do 3,93 mmol AAE/g za čaj od maline.

Tabela 4.6.3. Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost filter čajeve od aronije

Uzorak	$c_{sr} \pm SD$ mmol AAE/g	RSD %
A1	0,14 ± 0,01	7,14
A2	0,53 ± 0,02	3,77
A3	0,88 ± 0,02	2,27
A4	3,48 ± 0,04	1,15
A5	2,14 ± 0,03	1,40
A6	2,52 ± 0,03	1,19

Antioksidativna (Fe(III)/Fe(II)) aktivnost za filter čajeve od aronije se kreće u granicama od 0,14 mmol AAE/g za uzorak A1 do 3,48 mmol AAE/g za uzorak A4.

Grafički prikaz antioksidativnog potencijala analiziranih filter čajeve primenom različitih testova dat je na slici 4.6.2.

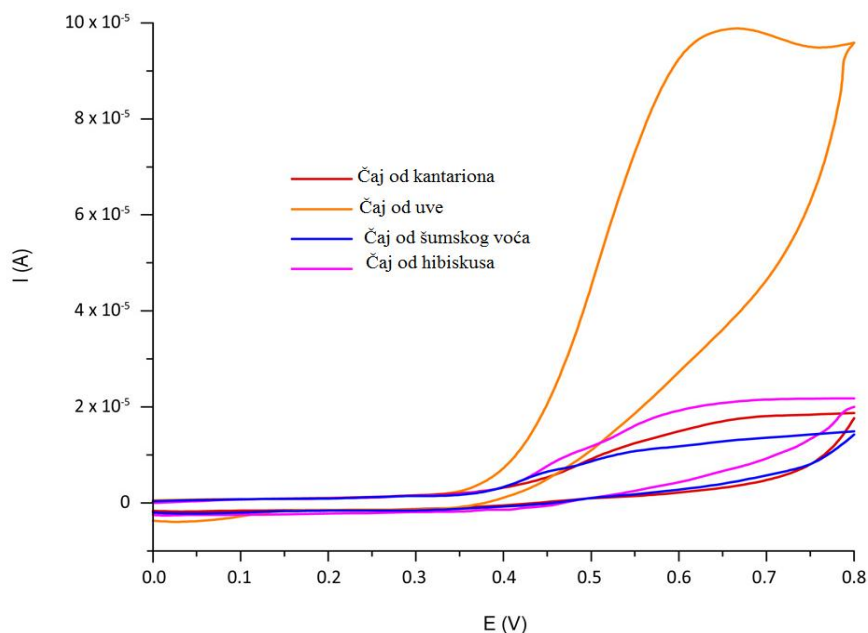


Slika 4.6.2. Antioksidativni potencijal analiziranih filter čajeva primenom različitih testova

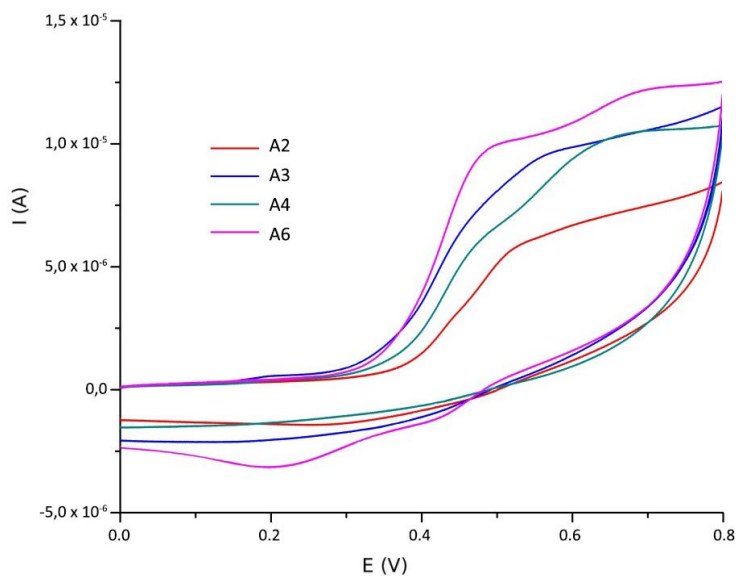
4.7. Antioksidativna aktivnost - ciklična voltametrija

Ciklični voltamogrami ispitivanih filter čajeva snimani su u opsegu potencijala od 0 mV do 800 mV kako bi se obuhvatile sve grupe antioksidanasa (slike 4.7.1. i 4.7.2.). Površina ispod najvećeg anodnog pika koji se javio na potencijalu od 600 mV predstavlja meru sadržaja prisutnih antioksidanata i obeležava se sa Q_{600} . Antioksidativni kompozitni indeks (ACI) izračunat je za svaki uzorak kao: $(Q_{600}/Q_{600\max}) \times 100$ (Piljac-Zegarac i sar., 2010). Svi anodni pikovi (E_{pa}), vrednosti anodne struje (I_{pa}) i Q_{600} vrednosti analiziranih filter čajeva dati su u tabelama 4.7.1., 4.7.2. i 4.7.3.

Iz tabela 4.7.1. i 4.7.2. i 4.7.3. se vidi da od biljnih filter čajeva zeleni čaj ima najveći ACI indeks, a zatim slede čaj od uve, crni čaj i čaj od hibiskusa. To je i u skladu sa ukupnim sadržajem flavonoida. Kod voćnih filter čajeva najveće vrednosti ACI imaju čaj od maline, čaj od višnje i čaj od borovnice. Kod filter čajeva od aronije najveći ACI indeks ima uzorak A4, a zatim slede uzorci A5 i A3.



Slika 4.7.1. Ciklični voltamogram biljnih i voćnih filter čajeva



Slika 4.7.2. Ciklični voltogram filter čajeva od aronije

Tabela 4.7.1. E_{pa} i I_{pa} , Q_{600} i ACI vrednosti za crni, zeleni i biljne filter čajevе

Uzorak	E_{pa} (V)			I_{pa} (μ A)			Q_{600} (μ C)	ACI
	1	2	3	1	2	3		
Crni čaj	0,5	0,6	0,7	8,7	16,5	21,2	33,6	72,0
Zeleni čaj	0,4	0,5	0,7	3,7	10,8	17,8	46,8	100,0
Čaj od uve	-*	-	0,7	-	-	51,1	45,7	98,0
Čaj od kantariona	-	0,5	0,7	-	9,9	13,5	21,4	46,0
Čaj od hibiskusa	-	0,6	-	-	6,9	-	0,4	0,8
Čaj od majčine dušice	-	-	0,7	-	-	24,3	10,8	23,0
Rtanjski čaj	-	0,5	0,7	-	8,7	14,5	6,9	15,0
Čaj od koprive	-	-	-	-	-	-	0,0	0,0
Čaj od šipka	-	-	0,7	-	-	98,2	32,7	70,0
Čaj od zove	-	0,6	0,7	-	11,1	18,4	1,1	2,0
Čaj od lipe	0,4	0,6	0,7	5,2	10,8	15,0	5,9	13,0
Čaj od žalfije	-	0,5	0,7	-	6,9	11,8	0,5	1,0
Čaj od mente	-	0,5	0,7	-	8,1	11,6	1,2	3,0
Čaj od hajdučke trave	-	-	0,7	-	-	21,1	5,1	11,0
Čaj od kamilice	-	0,5	0,7	-	6,7	8,9	1,0	2,0

* pikovi nisu detektovani

Tabela 4.7.2. E_{pa} i I_{pa} , Q_{600} i ACI vrednosti za voćne filter čajeve

Uzorak	E_{pa} (V)			I_{pa} (μ A)			Q_{600} (μ C)	ACI
	1	2	3	1	2	3		
Čaj od višnje	-*	-	0,7	-	-	20,7	3,7	84,0
Čaj od jagode	0,4	0,6	-	5,7	11,9	-	2,8	63,0
Čaj od maline	0,5	0,6	0,7	7,9	13,1	16,9	4,4	100,0
Čaj od šumskog voća	0,4	0,5	0,7	5,7	10,0	12,7	2,9	67,0
Čaj od kajsije	0,4	0,5	0,7	6,5	10,1	12,5	2,1	49,0
Čaj od divlje trešnje	0,4	0,5	0,7	5,7	9,9	13,2	2,6	60,0
Čaj od borovnice	0,5	0,6	0,7	7,5	13,1	16,1	3,6	81,0
Čaj od jabuke sa cimetom	0,5	0,6	0,7	6,0	10,2	13,2	2,4	54,0
Čaj od nara	0,4	-	0,7	5,3	-	17,8	2,9	67,0
Čaj od ananasa	0,4	0,5	0,7	4,9	-	14,7	2,9	61,0
Čaj od južnog voća	-	0,5	0,7	-	9,6	14,2	2,1	49,0

* pikovi nisu detektovani

Tabela 4.7.3. E_{pa} i I_{pa} , Q_{600} i ACI vrednosti za filter čajeve od aronije

Uzorak	E_{pa} (V)			I_{pa} (μ A)			Q_{600} (μ C)	ACI
	1	2	3	1	2	3		
A1	-*	0,5	-	-	4,5	-	-	-
A2	-	0,5	-	-	5,9	-	1,4	24,7
A3	-	0,6	-	-	9,5	-	3,4	59,2
A4	0,5	-	0,7	7,8	-	9,8	4,3	75,0
A5	0,5	-	0,7	8,1	-	10,4	3,7	64,4
A6	0,5	-	0,7	9,6	-	12,2	3,0	52,5

* pikovi nisu detektovani

Antioksidativna aktivnost ispitivanih filter čajeva se ne može opisati samo jednim testom. Zbog toga je za određivanje antioksidativne aktivnosti filter čajeva korišćeno četiri spektrofotometrijska metoda (DPPH, ABTS, FRAP i RP) i elektrohemijski metod (ciklična voltametrija).

Kod ABTS i DPPH metoda prati se smanjenje apsorbance na određenoj talasnoj dužini koje je u funkciji koncentracije antioksidanasa, a kod FRAP i RP metoda se prati povećanje apsorbance koje je posledica reakcije nastajanja obojenog produkta.

Kao i kod sadržaja polifenola i flavonoida, antioksidativna aktivnost pokazuje značajne razlike u zavisnosti od vrste čaja. Antioksidativna aktivnost, određena DPPH testom, ispitivanih uzoraka filter čajeva kreće se od 0,034 mmol TE/g za voćne filter čajeve do 0,181 mmol TE/g za biljne filter čajeve. Čaj od južnog voća je pokazao najmanju DPPH aktivnost, a crni čaj najveću aktivnost. Kod biljnih filter čajeva najveću DPPH aktivnosti su pokazali crni čaj (0,181 mmol TE/g), zatim zeleni čaj (0,180 mmol TE/g) i čaj od uve (0,177 mmol TE/g). Najnižu DPPH aktivnost su pokazali čajevi od kamilice (0,062 mmol TE/g) i koprive (0,084 mmol TE/g). Kod voćnih filter čajeva najveću DPPH aktivnost su pokazali čaj od višnje (0,181 mmol TE/g) i čaj od maline (0,180 mmol TE/g), dok je čaj od južnog voća pokazao najnižu vrednost (0,034 mmol TE/g). Kod filter čajeva od aronije najveću DPPH aktivnost je pokazao uzorak A2 (0,074 mmol TE/g), a najmanju uzorak A6 (0,051 mmol TE/g).

Antioksidativna aktivnost, određivana ABTS testom, ispitivanih uzoraka filter čajeva kreće se od 0,051 mmol TE/g za voćne filter čajeve do 3,27 mmol TE/g za biljne filter čajeve. Uzorak čaja od aronije A6 je pokazao najmanju ABTS aktivnost, a čaj od lipe najveću aktivnost. Kod biljnih filter čajeva najveću ABTS aktivnost je pokazali čaj od lipe (3,27 mmol TE/g), čaj od majčine dušice (3,22 mmol TE/g) i crni čaj (3,21 mmol TE/g). Najnižu ABTS aktivnost su pokazali čajevi od koprive (2,98 mmol TE/g) i zove (3,03 mmol TE/g). Kod voćnih filter čajeva najveću ABTS aktivnost su pokazali čajevi od kajsije (3,23 mmol TE/g) i jagode (3,20 mmol TE/g), dok je čaj od južnog voća pokazao najmanju aktivnost (2,59 mmol TE/g). Kod filter čajeva od aronije najveću ABTS aktivnost je pokazao uzorak A2 (2,744 mmol TE/g), a najmanju aktivnost uzorak A6 (0,051 mmol TE/g).

Vrednosti dobijene ABTS testom su veće od vrednosti dobijenih DPPH testom.

Isti odnos antioksidativne aktivnosti primenom ABTS i DPPH testova je dobijeni i u istraživanjima za guava voće, kao i u istraživanjima za pivo i ječam (*Zhao i sar., 2008; Zhao i sar., 2010*). ABTS radikal jon ("skevindžer") reaguje kao donor elektrona u reakciji redukcije polifenolnih jedinjenja i uopšte kiseoničnih jedinjenja, kao što su molekulski kiseonik i vodonik peroksid. DPPH radikal reaguje sa antioksidansima koji su donori vodonika (AH), kao i slobodnih radikala (R[•]).

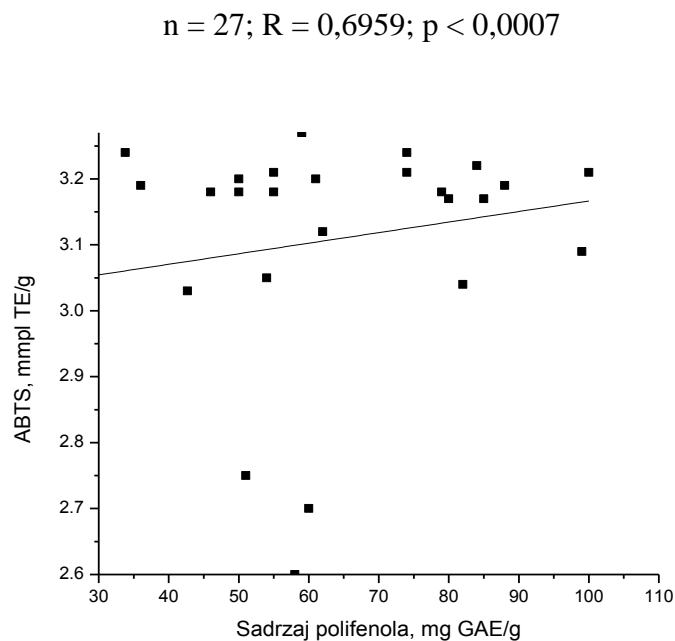
Različiti mehanizmi kinetičkih reakcija između polifenola i ABTS katjon radikala i DPPH radikala dovode to različitim rezultatima za dve metode.

Antioksidativna aktivnost, određena FRAP testom, ispitivanih uzoraka filter čajeva kreće se od 0,14 mmol TE/g za voćne filter čajevе do 1,83 mmol TE/g za biljne filter čajevе. Uzorak čaja od aronije A2 je pokazao najmanju FRAP aktivnost, a zeleni čaj najveću aktivnost. Kod biljnih filter čajeva najveću FRAP aktivnost su pokazali zeleni čaj (1,83 mmol TE/g), čaj od uve (1,73 mmol TE/g) i crni čaj (3,21 mmol TE/g). Najnižu FRAP aktivnosti su pokazali čajevi od koprive (2,98 mmol TE/g) i šipka (1,148 mmol TE/g). Kod voćnih filter čajeva najveću FRAP aktivnost su pokazali čajevi od maline (1,121 mmol TE/g) i višnje (0,915 mmol TE/g), dok je čaj od južnog voća pokazao najmanju aktivnost (0,3 mmol TE/g). Kod filter čajeva od aronije najveću FRAP aktivnost je pokazao uzorak A4 (0,153 mmol TE/g), a najmanju uzorak A2 (0,14 mmol TE/g).

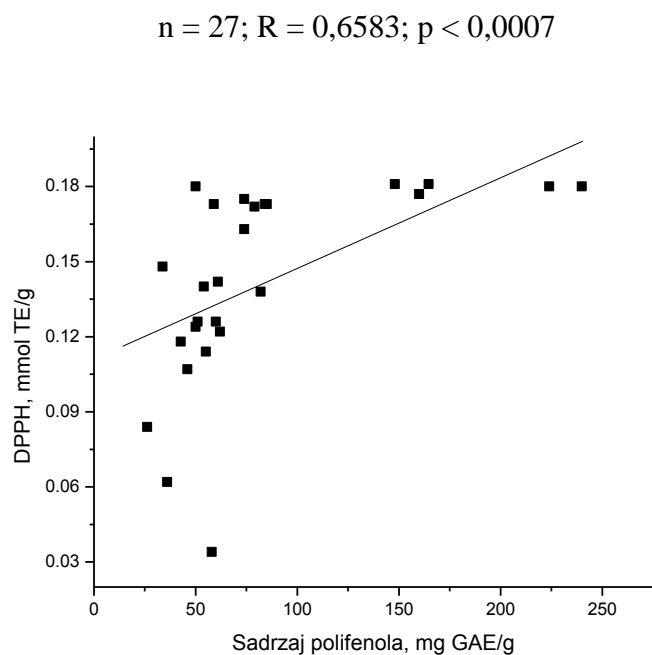
Antioksidativna aktivnost, određena RP testom, ispitivanih uzoraka filter čajeva kreće se od 0,14 mmol AAE/g za voćne filter čajevе do 7,45 mmol AAE/g za biljne filter čajevе. Uzorak čaja od aronije A1 je pokazao najmanju RP aktivnost, a zeleni čaj najveću aktivnost. Kod biljnih filter čajeva najveću RP aktivnosti su pokazali zeleni čaj (7,45 mmol AAE/g) i čaj od uve (7,27 mmol TE/g). Najmanju RP aktivnosti su pokazali čajevi od zove (1,30 mmol TE/g) i hibiskusa (1,34 mmol TE/g). Kod voćnih filter čajeva najveću RP aktivnost su pokazali čajevi od maline (3,93 mmol AAE/g) i višnje (3,77 mmol AAE/g), dok je čaj od južnog voća pokazao najmanju aktivnost (0,42 mmol AAE/g). Kod filter čajeva od aronije najveću RP aktivnosti je pokazao uzorak A4 (3,48 mmol AAE/g), a najmanju uzorak A1 (0,14 mmol AAE/g).

Takođe, dobijeni rezultati su pokazali da je antioksidativna moć zelenog čaja i čaja od uve znatno veća od crnog čaja. Od voćnih čajeva, čajevi od maline i trešnje su pokazali najveći antioksidativni potencijal.

Korelacija između antioksidativne aktivnosti i sadržaja ukupnih polifenola (slike 4.7.3., 4.7.4., 4.7.5. i 4.7.6.) je pozitivna i linerana (Fe(III)/Fe(II): $R = 0,8106$, $p < 0,0001$; FRAP: $R = 0,7403$, $p < 0,0003$; ABTS: $R = 0,6959$, $p < 0,0007$; DPPH: $R = 0,6583$, $p < 0,0007$), što ukazuje da su polifenolna jedinjenja jedna od glavnih komponenti odgovornih za antioksidativnu aktivnost ispitivanih uzoraka filter čajeva.

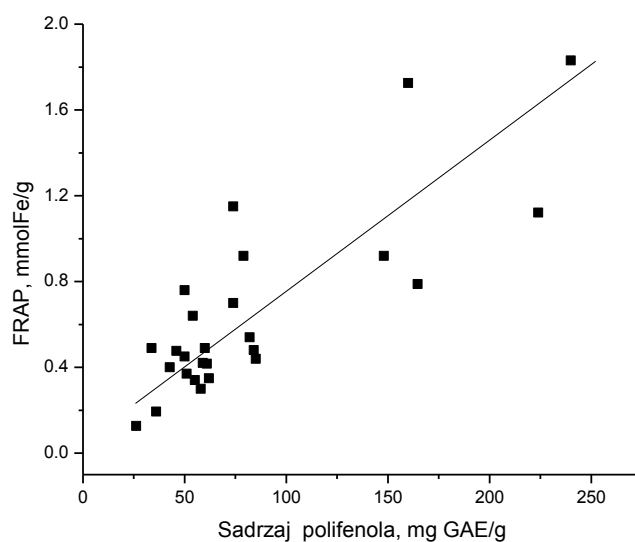


Slika 4.7.3. Korelacija između ABTS antioksidativne aktivnosti i sadržaja polifenola



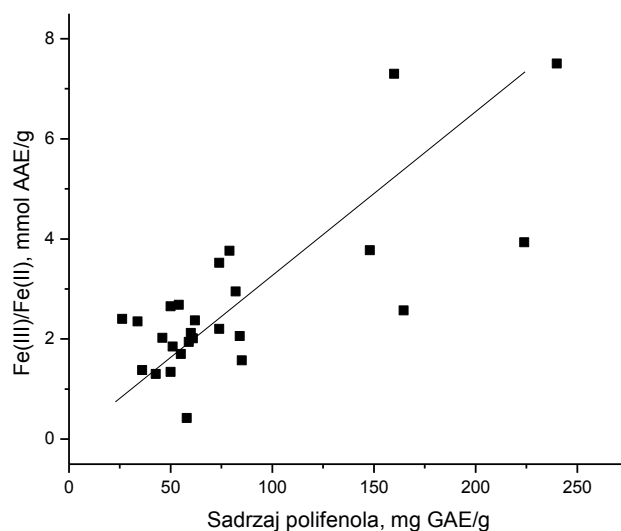
Slika 4.7.4. Korelacija između DPPH antioksidativne aktivnosti i sadržaja polifenola

n = 27; R = 0,7403; p < 0,0003



Slika 4.7.5. Korelacija između FRAP antioksidativne aktivnosti i sadržaja polifenola

n = 27; R = 0,8106; p < 0,0001



Slika 4.7.6. Korelacija između Fe(III)/Fe(II) antioksidativne aktivnosti i sadržaja polifenola

Antioksidativni kompozitni indeksi (ACI) ispitivanih filter čajeva, nakon primene različitih testova, dati su u tabeli 4.7.4. Najveći ACI ineks pokazuje zeleni čaj i čaj od uve,

što je u skladu sa visokim sadržajem polifenola i rezultatima antioksidativne aktivnosti dobijene primenom različitih testova (DPPH, ABTS, FRAP i Fe(III)/Fe(II)). Od voćnih filter čajeva, čajevi od maline i višnje imaju najveće ACI indekse, što je takođe u skladu sa visokim sadržajem polifenola i rezultatima antioksidativne aktivnosti.

Tabela 4.7.4. Antioksidativni kompozitni indeksi crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva

Uzorak	DPPH indeks	ABTS indeks	FRAP indeks	RP indeks	Q ₆₀₀ indeks	ACI
Crni čaj	15,3	98,0	43,2	34,5	71,8	52,6
Zeleni čaj	15,3	98,2	100	100	100	82,7
Čaj od uve	15,0	97,6	94,5	97,6	97,6	80,4
Čaj od kantariona	14,7	96,9	24,0	21,1	45,7	40,5
Čaj od hibiskusa	10,5	97,8	24,9	18	0,8	30,4
Čaj od majčine dušice	14,7	98,5	26,4	27,7	23,1	38,1
Rtanjski čaj	14,8	99,1	38,1	29,5	14,7	39,2
Čaj od koprive	7,1	91,1	6,9	32,2	0,0	27,5
Čaj od šipka	13,8	98,1	62,9	47,2	69,9	58,4
Čaj od zove	10,0	92,7	22,1	17,4	2,3	28,9
Čaj od lipe	14,7	97,2	23,0	26	12,6	34,7
Čaj od žalfije	100	100	41,4	35,6	1,1	55,6
Čaj od mente	14,6	97,2	50,6	50,5	2,6	43,1
Čaj od hajdučke trave	12,5	99,1	27,0	31,5	11,0	36,2
Čaj od kamilice	5,2	97,6	10,6	18,5	2,1	26,8
Čaj od višnje	100	98,5	81,6	95,9	84,0	92,0
Čaj od jagode	78,4	99,1	37,2	51,1	63,7	65,9
Čaj od maline	99,4	98,1	100	100	100	99,5
Čaj od šumskog voća	69,7	84,2	33,2	47,1	67,1	60,3
Čaj od kajsije	63	100	30,7	44	48,6	57,3
Čaj od divlje trešnje	69,6	82,4	43,8	53,9	60,0	61,9
Čaj od borovnice	77,3	94,4	56,7	68,2	81,1	75,5
Čaj od jabuke sa cimetom	67,4	96,6	31,1	60,3	53,9	61,9
Čaj od nara	76,2	94,1	47,9	75,1	67,1	72,1

Čaj od ananasa	59,1	98,5	42,6	51,4	66,0	63,5
Čaj od južnog voća	18,8	80,2	26,9	10,7	48,6	37,0

Kada se uporedi antioksidativni kompozitni indeks analiziranih uzoraka filter čajeva sa rezultatima dobijenim za čajeve iz Hrvatske (tabela 4.7.5.), može se zaključiti da čajevi dostupni na tržištu Srbije podjednako pokazuju visoke vrednosti ACI indeksa, kao i čajevi komercijalno dostupni u Hrvatskoj.

Tabela 4.7.5. Poređenje antioksidativnog kompozitnog indeksa analiziranih uzoraka biljnih i voćnih filter čajeva sa rezultatima za čajeve iz Hrvatske*

Uzorak	DPPH indeks	ABTS indeks	FRAP indeks	Q ₆₀₀ Indeks	ACI
Čaj od jabuke	51,6 (67,4) **	50,6 (96,6)	27,0 (31,1)	50,3 (53,9)	44,9 (61,9)
Čaj od hibiskusa	62,3 (10,5)	45,6 (97,8)	48,5 (24,9)	78,4 (0,8)	58,7 (30,4)
Čaj od šumskog voća	58,4 (69,7)	38,0 (84,2)	36,9 (33,2)	71,1 (67,1)	51,1 (60,3)
Čaj od kajsije	71,5 (63)	57,4 (100)	61,3 (30,7)	76,2 (48,6)	66,6 (60,3)
Čaj od višnje	64,5 (100)	46,2 (98,5)	42,8 (81,6)	79,1 (84)	58,2 (92)
Čaj od jagode	74,0 (78,4)	64,5 (99,1)	61,6 (37,2)	80,2 (63,7)	69,3 (65,9)

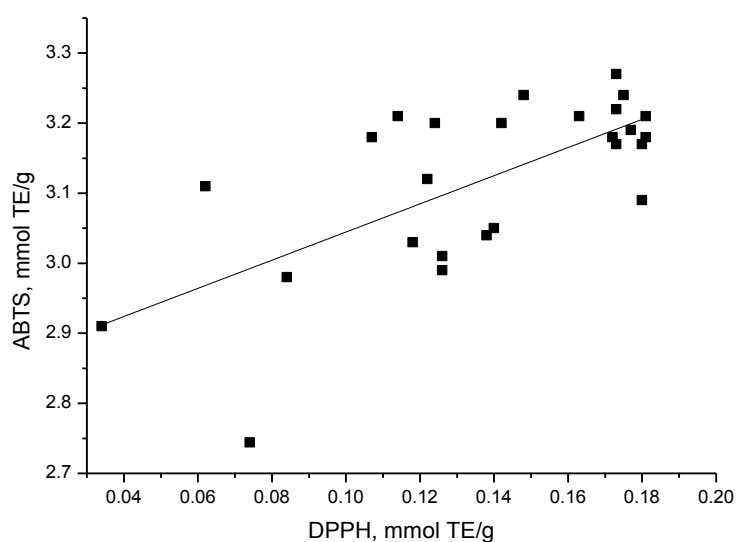
*Piljac-Žegarac i sar., 2010; **U zagradama su podaci za čajeve iz Srbije

Poređenjem primenjenih testova: ABTS, DPPH, FRAP i Fe(III)/Fe(II) (slike 4.7.7., 4.7.8., 4.7.9., 4.7.10., 4.7.11. i 4.7.12.), može se videti da postoji dobra korelacija između FRAP i Fe(III)/Fe(II) testa ($R = 0,8121$; $p < 0,0001$), DPPH i ABTS ($R = 0,6739$; $p < 0,0003$) i DPPH i Fe(III)/Fe(II) ($R = 0,7402$; $p < 0,0001$). Dobra korelacija je posledica sličnog mehanizma koji se zasniva na prenosu elektrona u slabo kiseloj i neutralnoj sredini. FRAP test pokazuje najmanji stepen korelacije u poređenju sa DPPH testom ($R = 0,6474$; $p < 0,0007$) i ABTS testom ($R = 0,3294$; $p < 0,2324$). Razlog tome leži u činjenici da se reakcija redukcije kompleksa $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ do kompleksa $[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ odvija u kiseloj sredini, pri $\text{pH} = 3,6$ kako bi se smanjio jonizacioni potencijal koji bi omogućio prenos elektrona, i povećao redoks potencijal, koji bi dodatno omogućio pomeranje reakcije u smeru transfera elektrona (Hagerman i sar., 1998) Sa povećanjem pH vrednosti sredine smanjuje se

stepen redukcije kompleksa. Kod svih ostalih testova reakcija prenosa elektrona se odvija u slabo kiseloj i neutralnoj sredini.

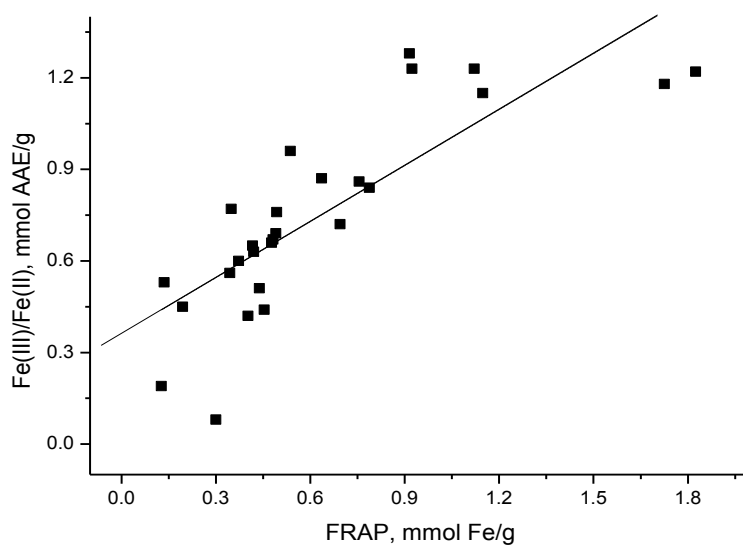
Daljim poređenjem ovih metoda u smislu oksidansa, oni se mogu klasifikovati u dve grupe. Prvu grupu čine metodi koji koriste radikale u procesu oksidacije (ABTS i DPPH), a u drugu grupu su metodi koji koriste metalne jone u procesu oksidacije (FRAP i Fe(III)/Fe(II)).

$n = 27$; $R = 0,6739$ $p < 0,0003$



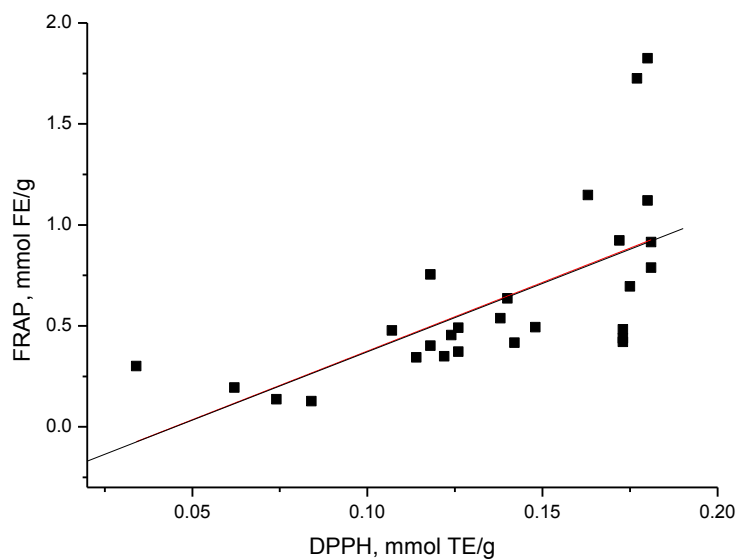
Slika 4.7.7. Korelacija između vrednosti za ABTS i DPPH antioksidativnu aktivnost

$n = 27$; $R = 0,8121$; $p < 0,0001$



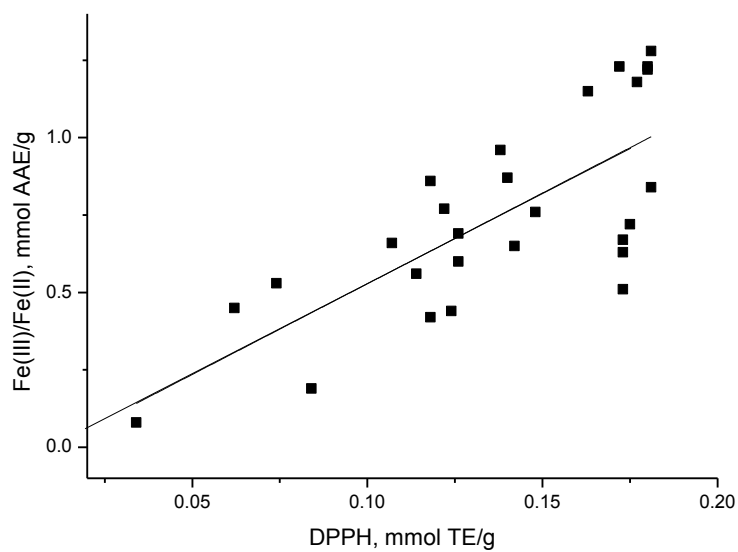
Slika 4.7.8. Korelacija između vrednosti za FRAP i Fe(III)/Fe(II) antioksidativnu aktivnost

$n = 27$; $R = 0,6474$; $p < 0,0007$



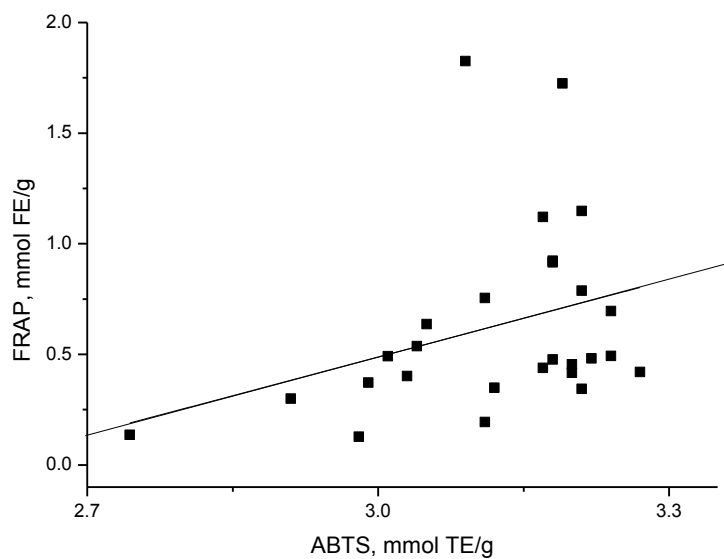
Slika 4.7.9. Korelacija između vrednosti za DPPH i FRAP antioksidativnu aktivnost

$n = 27$; $R = 0,7402$; $p < 0,0001$



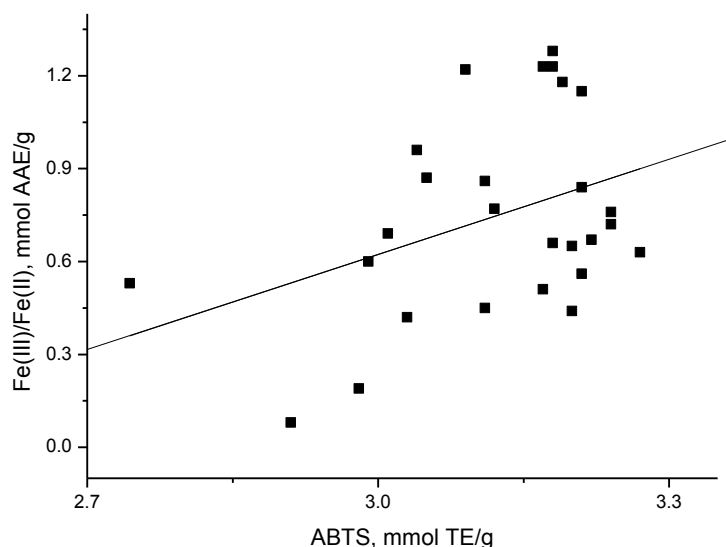
Slika 4.7.10. Korelacija između vrednosti za DPPH i Fe(III)/Fe(II) antioksidativnu aktivnost

$n = 27$; $R = 0,3294$ $p < 0,2324$



Slika 4.7.11. Korelacija između vrednosti za ABTS i FRAP antioksidativnu aktivnost

$n = 27$; $R = 0,3851$; $p < 0,0494$



Slika 4.7.12. Korelacija između vrednosti za ABTS i Fe(III)/Fe(II) antioksidativnu aktivnost

4.8. Pojedinačna polifenolna jedinjenja u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima

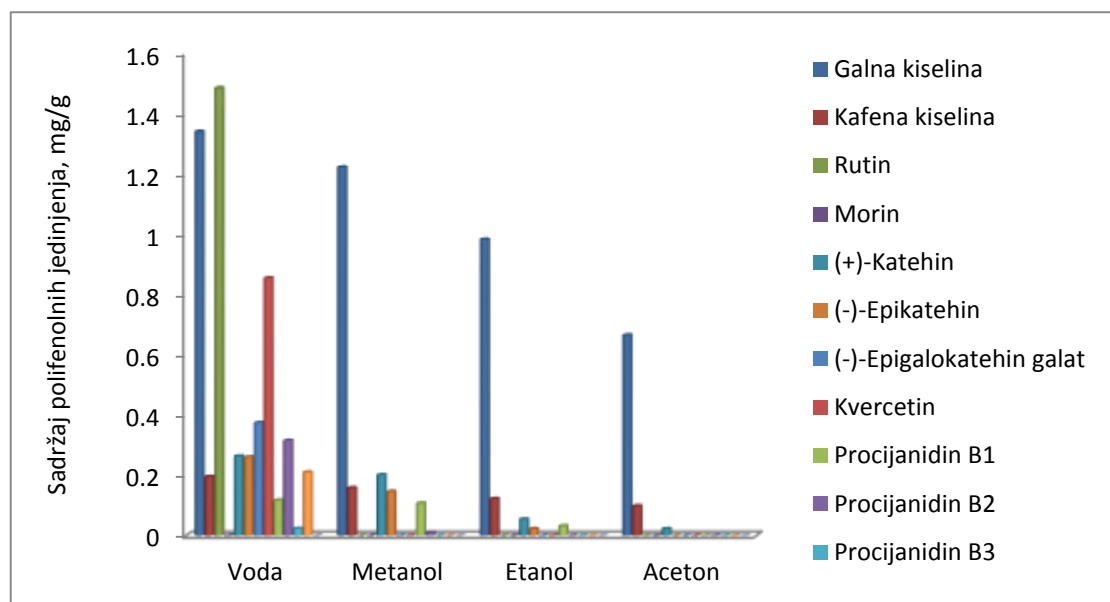
U cilju izbora najpodesnijeg rastvarača za ekstrakciju polifenolnih jedinjenja iz uzoraka crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva, pripremljeni su različiti ekstrakti navedenih uzoraka i snimljeni odgovarajući hromatogrami. Za određivanje sadržaja pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u različitim ekstraktima ispitivanih filter čajeva korišćene su odgovarajuće kalibracione prave. Postupak dobijanja kalibracione prave korišćenjem odgovarajućih standarda, dat je u Eksperimentalnom delu.

Sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima izračunat je na osnovu jednačina pravih i sadržaj je izražen u miligramima po gramu uzorka (mg/g).

Grafički prikaz sadržaja pojedinačnih polifenola u različitim ekstraktima crnog čaja dat je na slici 4.8.1. Sa histograma se jasno vidi da sadržaj pojedinačnih polifenola primenom različitih rastvarača opada u nizu: voda > metanol > etanol > aceton.

Na osnovu dobijenih rezultata i za ostale filter čajeve, došlo se do zaključka da se najveći stepen ekstrakcije postiže korišćenjem vode kao rastvarača. U tom smislu, dalja

istraživanja u cilju određivanja sadržaja pojedinačnih polifenola, sprovedena su korišćenjem vodenih ekstrakata filter čajeva.



Slika 4.8.1. Sadržaj pojedinačnih polifenola u različitim ekstraktima crnog čaja

Rezultati hromatografskog određivanja sadržaja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) pojedinačnih polifenola u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima prikazani su u tabelama 4.8.1. - 4.8.4. Dobijeni rezultati su izraženi u miligramima po gramu uzorka filter čaja (mg/g).

Tabela 4.8.1. Sadržaj fenolnih kiselina u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima

Uzorak	Galna kiselina	RSD %	Kafena kiselina	RSD %	Protokatehinska kiselina	RSD %
Crni čaj	$1,34 \pm 0,06$	4,48	$0,195 \pm 0,003$	1,54	n.d.*	-
Zeleni čaj	$1,98 \pm 0,08$	4,04	$0,261 \pm 0,005$	1,92	$0,223 \pm 0,006$	2,69
Čaj od uve	$1,1 \pm 0,1$	9,09	$0,238 \pm 0,005$	2,10	n.d.	-
Čaj od kantariona	$0,122 \pm 0,005$	4,10	$0,115 \pm 0,002$	1,74	n.d.	-
Čaj od hibiskusa	$0,051 \pm 0,003$	5,88	$0,087 \pm 0,003$	3,45	n.d.	-
Čaj od majčine dušice	$0,182 \pm 0,008$	4,40	$0,128 \pm 0,003$	2,34	n.d.	-
Rtanjski čaj	$0,161 \pm 0,008$	4,97	$0,054 \pm 0,001$	1,85	n.d.	-
Čaj od koprive	$0,161 \pm 0,008$	4,97	$0,113 \pm 0,002$	1,77	n.d.	-

Čaj od šipka	1,01 ± 0,05	4,95	0,183 ± 0,004	2,19	n.d.	-
Čaj od zove	0,26 ± 0,01	3,85	0,132 ± 0,003	2,27	n.d.	-
Čaj od lipa	0,191 ± 0,008	4,19	0,074 ± 0,002	2,70	0,219 ± 0,008	3,65
Čaj od žalfije	0,081 ± 0,003	3,70	0,49 ± 0,01	2,04	n.d.	-
Čaj od mente	0,122 ± 0,005	4,10	0,049 ± 0,001	2,04	n.d.	-
Čaj od hajdučke trave	0,122 ± 0,005	4,10	1,13 ± 0,03	2,65	n.d.	-
Čaj od kamilice	0,112 ± 0,005	4,64	0,205 ± 0,001	0,49	n.d.	-

*nije detektovan

Tabela 4.8.2. Sadržaj flavona (rutin i morin) i flavon-3-ola (kvercetin) u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima

Uzorak	Rutin	RSD %	Morin	RSD %	Kvercetin	RSD %
Crni čaj	1,485 ± 0,007	0,47	n.d.*	-	0,854 ± 0,003	0,35
Zeleni čaj	1,091 ± 0,007	0,65	0,38 ± 0,01	2,63	0,015 ± 0,001	6,67
Čaj od uve	1,99 ± 0,01	0,50	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od kantariona	1,09 ± 0,13	11,92	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od hibiskusa	0,846 ± 0,006	0,71	0,136 ± 0,006	4,41	0,078 ± 0,001	1,28
Čaj od majčine dušice	4,93 ± 0,03	0,61	n.d.	-	n.d.	-
Rtanjski čaj	0,509 ± 0,003	0,59	1,007 ± 0,004	0,40	1,061 ± 0,004	0,38
Čaj od koprive	0,218 ± 0,002	0,92	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od šipka	0,137 ± 0,004	2,92	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od zove	1,68 ± 0,01	0,60	0,152 ± 0,003	1,97	0,254 ± 0,001	0,39
Čaj od lipa	0,428 ± 0,002	0,47	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od žalfije	n.d.	-	1,23 ± 0,01	0,81	1,726 ± 0,003	0,17
Čaj od mente	4,08 ± 0,03	0,74	0,113 ± 0,003	2,65	0,199 ± 0,001	0,50
Čaj od hajdučke trave	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od kamilice	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-

*nije detektovan

Tabela 4.8.3. Sadržaj flavan-3-ola u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima

Uzorak	(+)-Katehin	RSD %	(-)-Epikatehin	RSD %
Crni čaj	0,263 ± 0,008	3,22	0,26 ± 0,01	4,70
Zeleni čaj	0,40 ± 0,01	2,96	2,64 ± 0,12	4,89
Čaj od uve	0,73 ± 0,02	2,99	0,97 ± 0,03	2,92
Čaj od kantariona	0,132 ± 0,004	3,21	0,26 ± 0,01	3,79
Čaj od hibiskusa	0,213 ± 0,006	2,97	0,047 ± 0,002	4,44
Čaj od majčine dušice	0,041 ± 0,001	3,14	0,026 ± 0,001	4,94
Rtanjski čaj	0,112 ± 0,003	2,50	0,048 ± 0,003	5,61
Čaj od koprive	0,38 ± 0,01	2,75	0,24 ± 0,01	4,03
Čaj od šipaka	0,072 ± 0,002	3,01	0,19 ± 0,01	5,51
Čaj od zove	0,103 ± 0,002	2,74	0,053 ± 0,003	4,811
Čaj od lipe	0,041 ± 0,002	4,61	0,23 ± 0,01	4,77
Čaj od žalfije	0,057 ± 0,002	4,96	0,23 ± 0,01	4,87
Čaj od mente	0,086 ± 0,002	2,65	0,034 ± 0,001	4,16
Čaj od hajdučke trave	0,048 ± 0,001	2,95	0,015 ± 0,001	4,08
Čaj od kamilice	0,173 ± 0,005	3,06	0,038 ± 0,002	4,84

Uzorak	(-)-Epigalo katehin galat	RSD %	(-)-Epigalokatehin	RSD %
Crni čaj	0,374 ± 0,008	3,78	0,854 ± 0,003	1,50
Zeleni čaj	1,73 ± 0,08	3,33	0,015 ± 0,004	1,29
Čaj od uve	1,29 ± 0,11	3,32	n.d.*	-
Čaj od kantariona	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od hibiskusa	n.d.	-	0,078 ± 0,001	1,49
Čaj od majčine dušice	n.d.	-	n.d.	-
Rtanjski čaj	0,155 ± 0,004	2,73	1,061 ± 0,004	1,33
Čaj od koprive	0,178 ± 0,009	2,99	n.d.	-
Čaj od šipka	0,54 ± 0,03	3,04	n.d.	-
Čaj od zove	0,087 ± 0,004	3,02	0,254 ± 0,001	1,44

Čaj od lipe	0,29 ± 0,01	2,92	n.d.	-
Čaj od žalfije	n.d.	-	1,726 ± 0,003	1,54
Čaj od mente	0,059 ± 0,002	3,19	0,199 ± 0,001	1,32
Čaj od hajdučke trave	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od kamilice	n.d.	-	n.d.	-

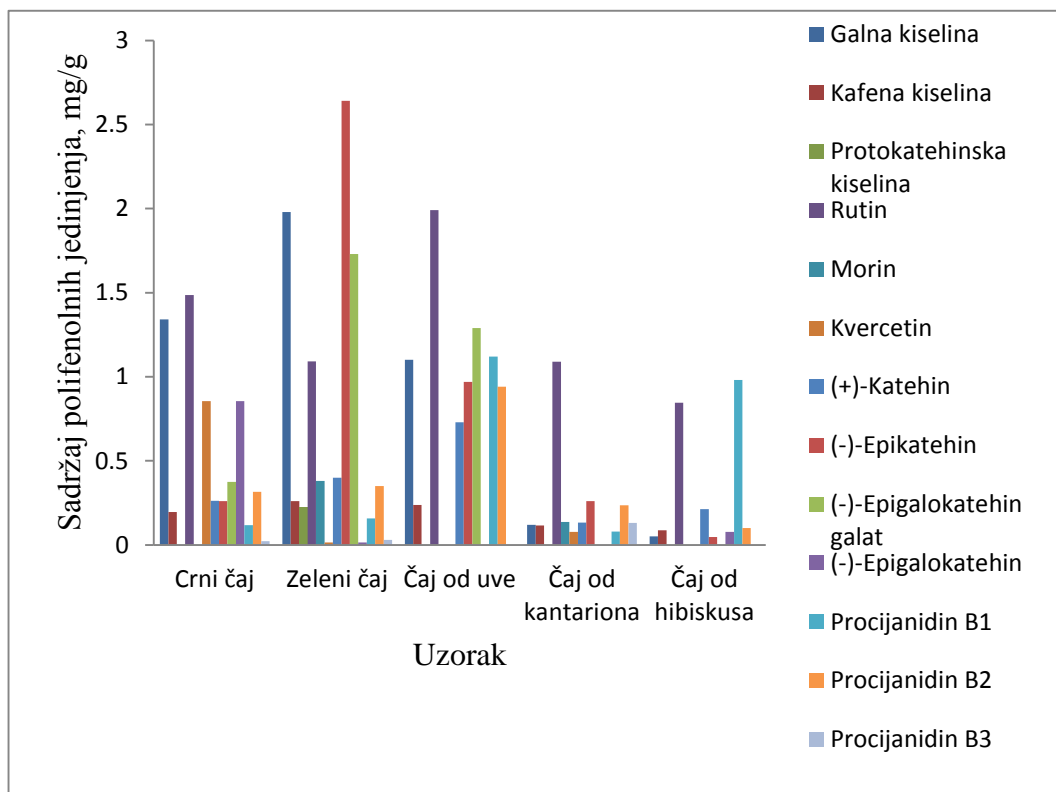
* nije detektovan

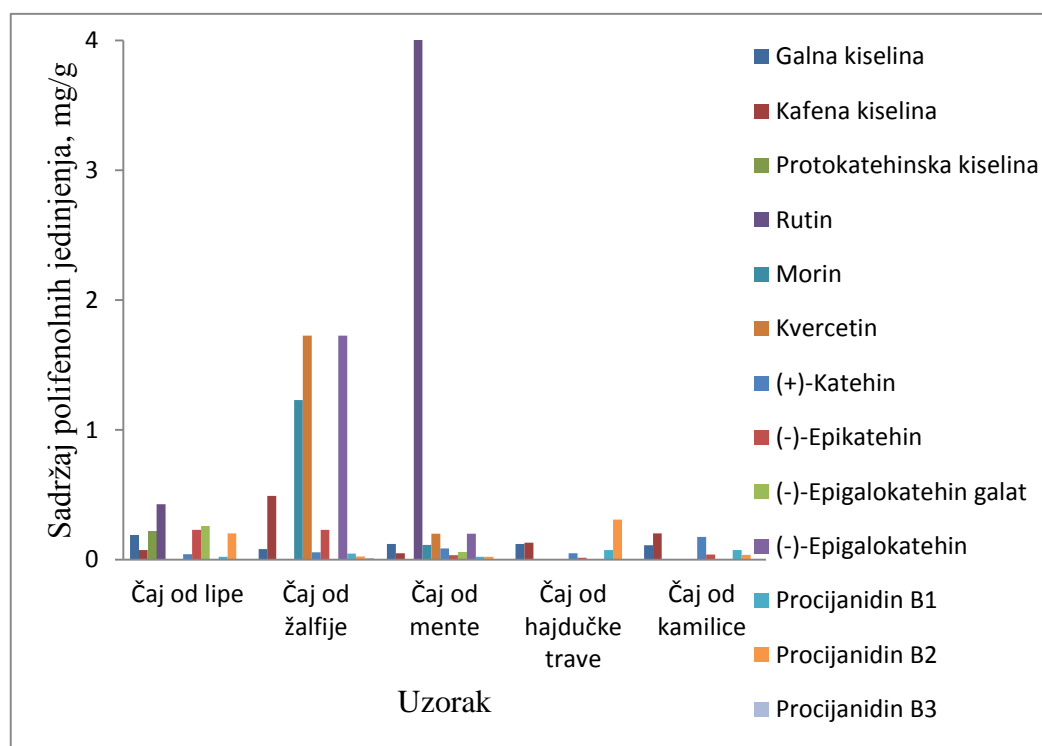
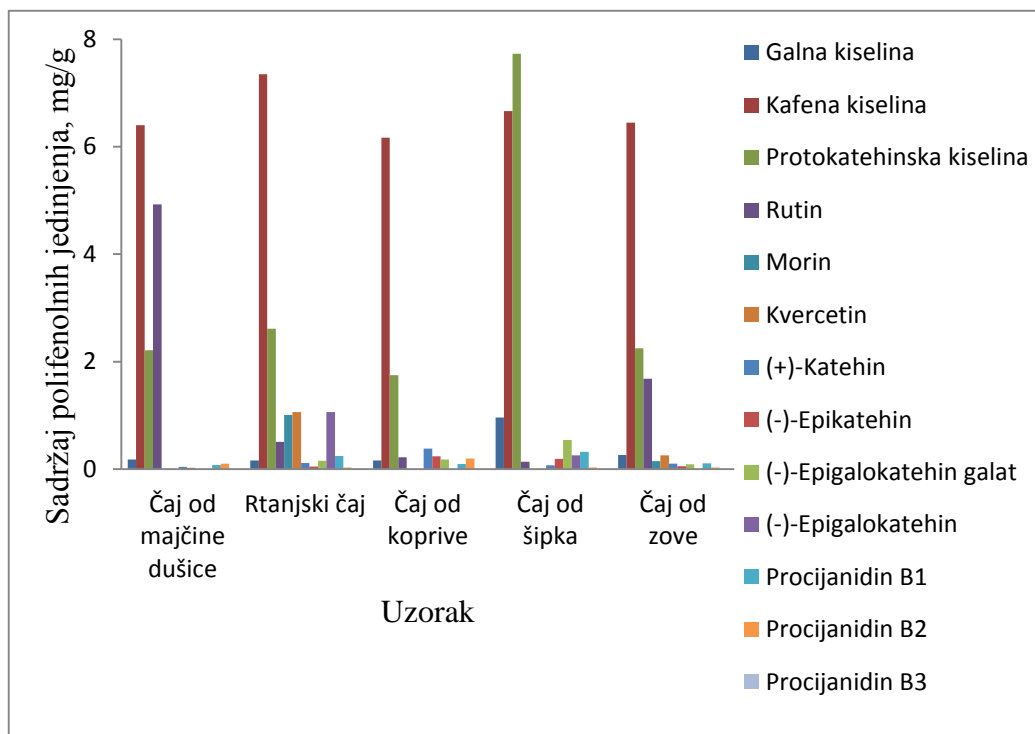
Tabela 4.8.4 Sadržaj procijanidina u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima

Uzorak	Procijanidin		Procijanidin		Procijanidin	
	B1	RSD %	B2	RSD %	B3	RSD %
Crni čaj	0,117 ± 0,004	3,42	0,315 ± 0,001	0,32	0,023 ± 0,001	4,35
Zeleni čaj	0,158 ± 0,004	2,53	0,35 ± 0,01	2,86	0,030 ± 0,001	3,33
Čaj od uve	1,12 ± 0,03	2,68	0,94 ± 0,03	3,19	n.d.*	-
Čaj od kantariona	0,080 ± 0,002	2,50	0,236 ± 0,007	2,97	0,130 ± 0,003	2,31
Čaj od hibiskusa	0,98 ± 0,03	3,06	0,100 ± 0,003	3,00	n.d.	-
Čaj od majčine dušice	0,080 ± 0,002	2,5	0,027 ± 0,001	3,70	n.d.	-
Rtanjski čaj	0,243 ± 0,008	3,30	0,194 ± 0,003	1,55	n.d.	-
Čaj od koprive	0,095 ± 0,002	2,10	0,031 ± 0,001	3,23	n.d.	-
Čaj od šipka	0,32 ± 0,01	3,12	0,027 ± 0,001	3,70	n.d.	-
Čaj od zove	0,106 ± 0,003	2,83	0,019 ± 0,001	5,26	n.d.	-
Čaj od lipe	0,021 ± 0,001	4,76	0,201 ± 0,006	2,98	n.d.	-
Čaj od žalfije	0,047 ± 0,001	2,12	0,025 ± 0,001	4,00	0,014 ± 0,00	7,14
Čaj od mente	0,022 ± 0,001	4,55	0,023 ± 0,001	4,35	n.d.	-
Čaj od hajdučke trave	0,073 ± 0,002	2,74	0,309 ± 0,009	2,91	n.d.	-
Čaj od kamilice	0,074 ± 0,002	2,70	0,037 ± 0,001	2,70	n.d.	-

* nije detektovan

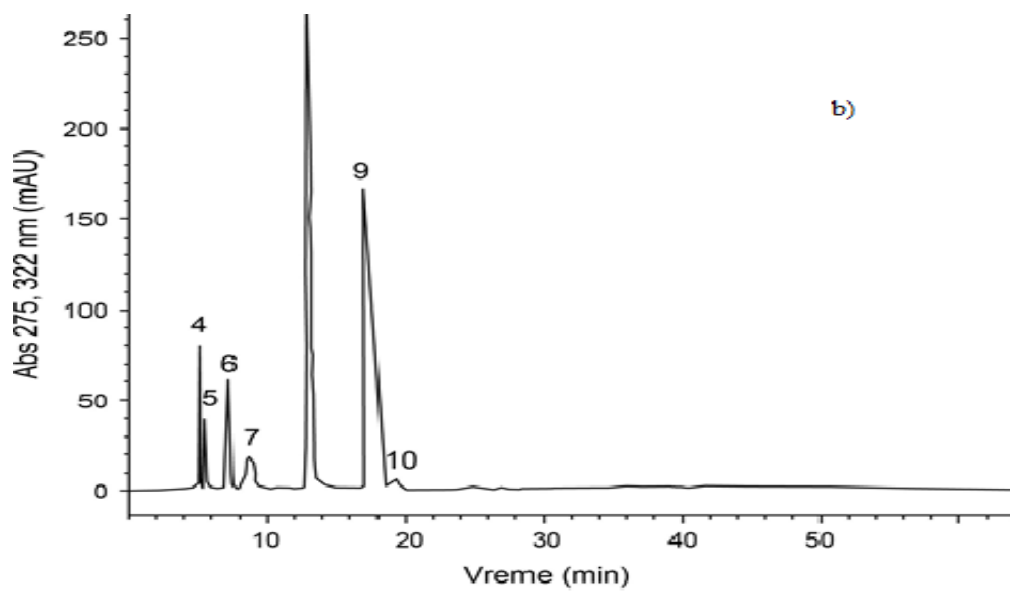
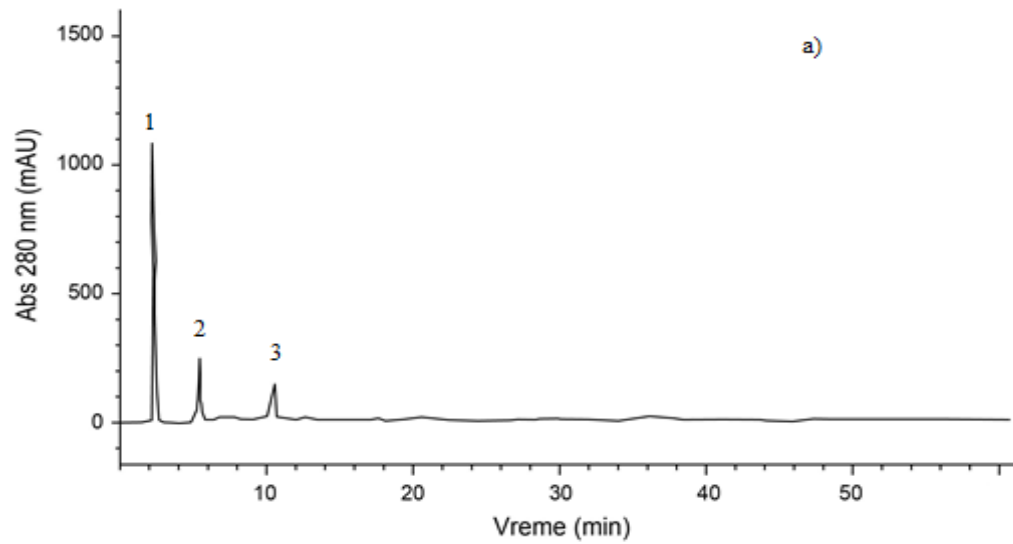
Grafički prikaz sadržaja polifenolnih jedinjenja u ispitivanim filter čajevima dat je na slici 4.8.2.

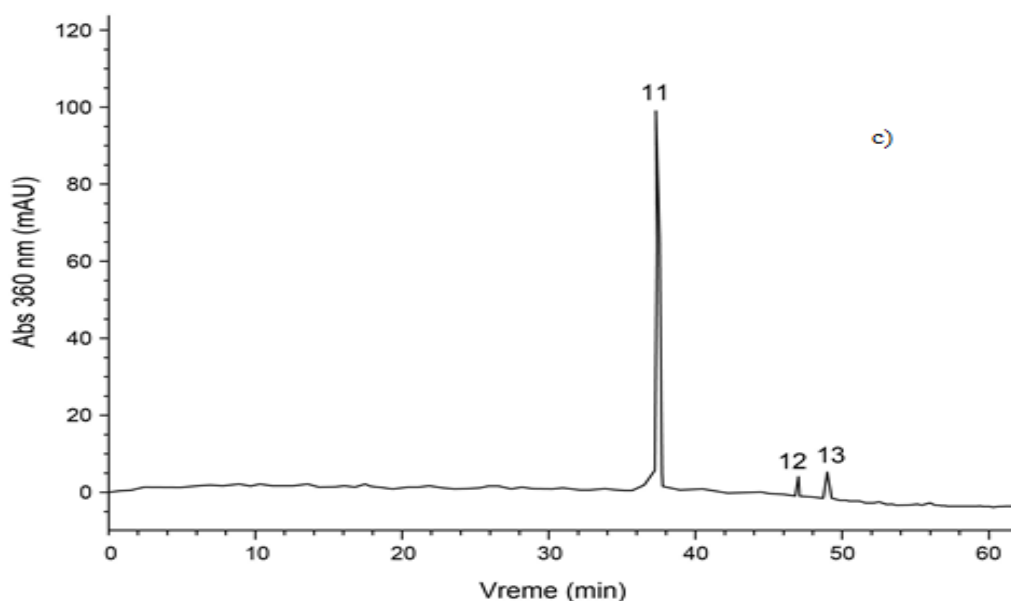




Slika 4.8.2. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima

Hromatogram uzorka zelenog filter čaja prikazan je na slici 4.8.3.





Slika 4.8.3. Hromatogram zelenog čaja snimljen na: a) 280 nm: 1 - galna kiselina, 2 - protokatehinska kiselina, 3 - kafena kiselina, b) FLD: 4 - procijanidin B1, 5 - (-)-epigalokatehin, 6 - (+)-katehin, 7 - procijanidin B2, 8 - (-)-epikatehin, 9 - (-)-epigalokatehin galat, 10 - procijanidin B3, c) 360 nm: 11 - rutin, 12 - morin, 13 - kvercetin

Dobijeni rezultati pokazuju da ispitivani filter čajevi sadrže fenolne kiseline (galnu, protokatehinsku i kafenu kiselinu), flavone (rutin i morin), flavon-3-ol (kvercetin), flavan-3-ole ((+)-katehin, (-)-epikatehin, (-)-epigalokatehin galat, (-)-epigalokatehin) i procijanidine (B1, B2 i B3).

U svim ispitivanim uzorcima sadržaj galne kiseline, kafene kiseline, protokatehinske kiseline, rutina, morina, kvercetina, (+)-katehina, (-)-epikatehina, (-)-epigalokatehin galata, (-)-epigalokatehina, procijanidina B1, B2 i B3 varira u intervalu koncentracija 0,051-1,98 mg/g, 0,049-1,13 mg/g, n.d.-0,223 mg/g, n.d.-4,93 mg/g, n.d.-1,23 mg/g, n.d.-1,726 mg/g, 0,041-0,73 mg/g, 0,026-2,64 mg/g, n.d.-1,73 mg/g, n.d.-1,07 mg/g, 0,021-1,12 mg/g, 0,023-0,94 mg/g i n.d.-0,130 mg/g, redom.

Generalno, najveći sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja je u zelenom čaju, a zatim slede po sadržaju čaj od uve, crni čaj, čaj od hibiskusa i čaj od kantariona.

Sadržaj flavan-3-ola: (+)-katehina, (-)-epikatehina, (-)-epigalokatehin galata, (-)-epigalokatehina i od kiselina najviše zastupljene galne kiseline, kreće se od 7,11 mg/g u

zelenom čaju, 5,16 mg/g u čaju od uve, 2,447 mg/g u crnom čaju, 1,957 mg/g u čaju od šipka, 0,617 mg/g u čaju od kantariona i 0,282 mg/g u čaju od majčine dušice.

Poznato je da katehin-tip flavonoidi podležu procesu polimerizacije u toku industrijskog procesa (*Manach i sar., 2005*). Među polimerima katehin-tipa, procijanidin B1 i B2 detektovani su u svim uzorcima bijelih filter čajeva, dok je procijanidin B3 pronađen u čaju od kantariona (0,130 mg/g), zelenom čaju (0,030 mg/g), crnom čaju (0,023 mg/g) i čaju od žalfije (0,014 mg/g). Sadržaj procijanidina B1 i B2 u biljnim filter čajevima se kreće u intervalu koncentracija od 0,021 do 1,12 mg/g i od 0,019 do 0,94 mg/g redom. Najveći sadržaj procijanidina B1 i B2 ima čaj od uve (2,06 mg/g), čaj od hibiskusa (1,08 mg/g), zeleni čaj (0,508 mg/g) i crni čaj (0,432 mg/g).

Rezultati analize sadržaja pojedinačnih polifenola pokazuju da su zeleni čaj, crni čaj, čaj od uve, čaj od žalfije i čaj od kantariona sa najvećim sadržajem polifenola i flavonoida, što ove čajeve opravdano svrstava u grupu lekovitih čajeva. Poznato je da polifenolna jedinjenja prisutna u čajevima poseduju brojna lekovita i delotvorna dejstva. Fenolne kiseline, kao antioksidansi, sprečavaju oštećenje ćelija u organizmu. Istraživanja *Katsube i sar. (2006)* navode između ostalih flavonoida i kvercetin, rutin, morin kao važne antioksidanse.

Katehin-tip flavonoidi su se pokazali kao moćni antioksidansi u mnogobrojnim studijama (*Wang i sar., 2009*). Utiču na usporavanje starenja, snižavaju nivo holesterola u organizmu i uopšteno poboljšavaju zdravstveno stanje organizma. Takođe katehin-tip flavonoidi pokazuju i izrazitu antivirusnu aktivnost (*Onisi, 1993; Suzuki, 1983; Ui i sar., 1991*). Usled proizvodnog procesa, katehin u čajevima podleže polimerizaciji (*Wang i sar., 2009*).

Rezultati hromatografskog određivanja sadržaja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$) pojedinačnih polifenola u voćnim filter čajevima prikazani su u tabelama 4.8.5. - 4.8.8. Dobijeni rezultati su izraženi u miligramima po gramu uzorka voćnog čaja (mg/g).

Tabela 4.8.5. Sadržaj fenolnih kiselina u voćnim filter čajevima

Uzorak	Galna kiselina	RSD %	Kafena kiselina	RSD %	Protokatehinska kiselina	RSD %
Čaj od višnje	1,34 ± 0,06	4,48	n.d.*	-	n.d.	-
Čaj od jagode	0,21 ± 0,01	4,76	0,53 ± 0,01	1,89	n.d.	-

Čaj od maline	1,68 ± 0,07	4,17	n.d.	-	0,051 ± 0,002	3,92
Čaj od šumskog voća		4,94		1,98		5,56
	0,162 ± 0,008		0,202 ± 0,004		0,036 ± 0,002	
Čaj od kajsije	0,111 ± 0,005	4,50	0,131 ± 0,003	2,29	n.d.	-
Čaj od divlje trešnje	0,17 ± 0,01	5,88	0,177 ± 0,004	2,26	n.d.	-
Čaj od borovnice	0,47 ± 0,02	4,26	0,258 ± 0,005	1,94	0,017 ± 0,001	5,88
Čaj od jabuke sa cimetom	0,37 ± 0,02	5,41	0,53 ± 0,01	1,89	n.d.	-
Čaj od nara	0,22 ± 0,01	4,56	0,259 ± 0,003	1,16	n.d.	-
Čaj od ananasa	0,73 ± 0,01	1,79	0,26 ± 0,01	3,85	0,028 ± 0,001	3,57
Čaj od južnog voća	0,11 ± 0,01	9,09	0,166 ± 0,003	1,81	n.d.	-

*nije detektovan

Tabela 4.8.6. Sadržaj flavona (rutin i morin) i flavon-3-ola (kvercetin) u voćnim filter čajevima

Uzorak	Rutin	RSD %	Morin	RSD %	Kvercetin	RSD %
Čaj od višnje	0,809 ± 0,005	0,62	n.d.*	-	n.d.	-
Čaj od jagode	0,605 ± 0,004	0,66	n.d.	-	0,413 ± 0,008	1,94
Čaj od maline	1,277 ± 0,008	0,63	n.d.	-	0,368 ± 0,007	1,90
Čaj od šumskog voća	0,076 ± 0,001	1,32	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od kajsije	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od divlje trešnje	0,080 ± 0,001	1,25	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od borovnice	0,293 ± 0,002	0,68	n.d.	-	0,152 ± 0,003	1,97
Čaj od jabuke sa cimetom	0,228 ± 0,001	0,44	0,076 ± 0,001	1,32	0,026 ± 0,001	3,85
Čaj od nara	0,098 ± 0,001	1,02	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od ananasa	n.d.	-	n.d.	-	0,018 ± 0,001	5,56
Čaj od južnog voća	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-

*nije detektovan

Tabela. 4.8.7. Sadržaj flavan-3-ola u voćnim filter čajevima

Uzorak	(+)-Katehin	RSD %	(-)-Epikatehin	RSD %
Čaj od višnje	1,47 ± 0,04	2,72	0,23 ± 0,01	4,35
Čaj od jagode		3,15		3,77
	0,127 ± 0,004		0,053 ± 0,002	
Čaj od maline	0,162 ± 0,005	3,09	0,186 ± 0,009	4,84
Čaj od šumskog voća	0,056 ± 0,002	3,57	0,022 ± 0,001	4,54
Čaj od kajsije	0,039 ± 0,001	2,56	0,019 ± 0,001	5,26
Čaj od divlje trešnje	0,066 ± 0,002	3,03	0,028 ± 0,001	3,57
Čaj od borovnice	0,089 ± 0,003	3,37	0,036 ± 0,002	5,56
Čaj od jabuke sa cimetom	0,101 ± 0,003	2,97	0,040 ± 0,002	5,00
Čaj od nara	0,049 ± 0,001	2,04	0,016 ± 0,001	6,25
Čaj od ananasa	0,028 ± 0,001	3,57	0,039 ± 0,002	5,13
Čaj od južnog voća	0,062 ± 0,002	3,23	0,025 ± 0,001	4,00

Uzorak	(-)-Epigalo katehin galat	RSD %	(-)-Epigalokatehin	RSD %
Čaj od višnje	0,105 ± 0,003	2,86	0,105 ± 0,003	2,86
Čaj od jagode	1,96 ± 0,07	3,57	1,96 ± 0,07	3,57
Čaj od maline	0,076 ± 0,003	3,95	0,076 ± 0,003	3,95
Čaj od šumskog voća	n.d.*	-	n.d.	-
Čaj od kajsije	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od divlje trešnje	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od borovnice	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od jabuke sa cimetom	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od nara	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od ananasa	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od južnog voća	n.d.	-	n.d.	-

* nije detektovan

Tabela 4.8.8. Sadržaj procijanidina u voćnim filter čajevima

Uzorak	Procijanidin	RSD	Procijanidin	RSD	Procijanidin	RSD
	B1	%	B2	%	B3	%
Čaj od višnje	0,103 ± 0,003	2,91	n.d.*	-	n.d.	-
Čaj od jagode		3,57		4,55		-
	0,084 ± 0,003		0,022 ± 0,001		n.d.	
Čaj od maline	0,133 ± 0,004	3,01	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od šumskog voća	0,081 ± 0,003	3,70	0,072 ± 0,002	2,78	n.d.	-
Čaj od kajsije	0,068 ± 0,001	1,47	0,056 ± 0,002	3,57	n.d.	-
Čaj od divlje trešnje	0,115 ± 0,003	2,61	0,085 ± 0,003	3,53	n.d.	-
Čaj od borovnice	0,095 ± 0,003	3,16	0,028 ± 0,001	3,57	n.d.	-
Čaj od jabuke sa cimetom	0,180 ± 0,005	2,78	0,023 ± 0,001	4,35	n.d.	-
Čaj od nara	0,091 ± 0,003	3,30	0,065 ± 0,002	3,08	n.d.	-
Čaj od ananasa	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Čaj od južnog voća	0,054 ± 0,001	1,85	n.d.	-	n.d.	-

* nije detektovan

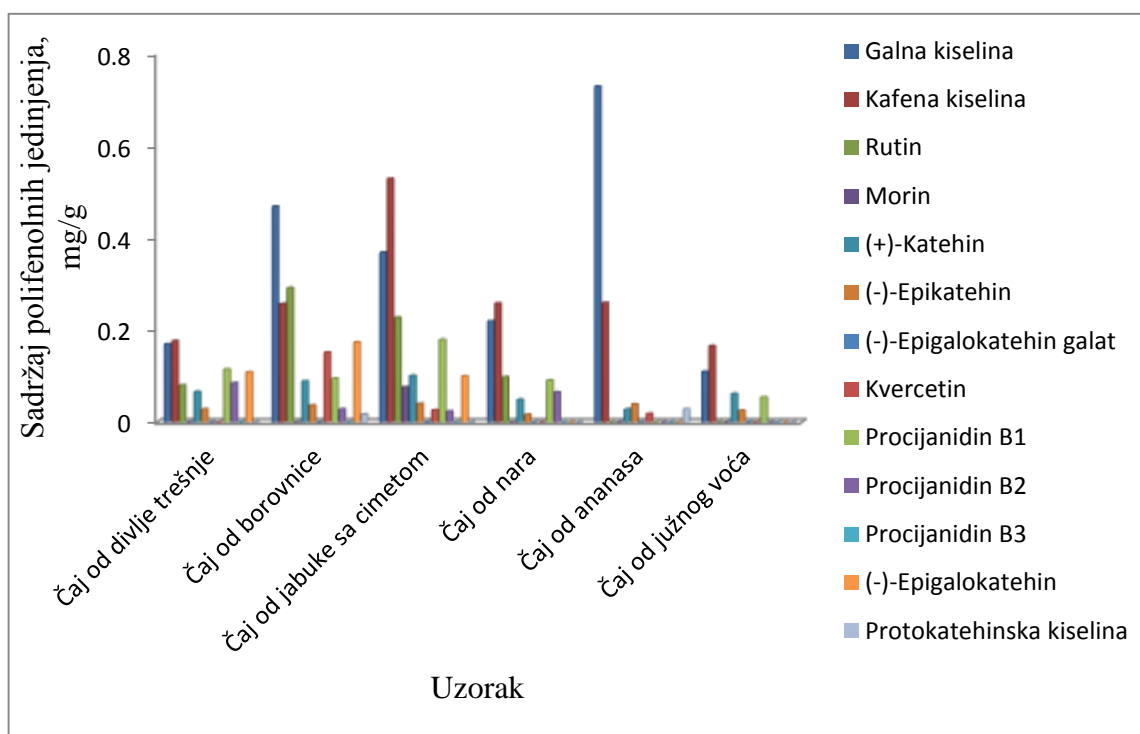
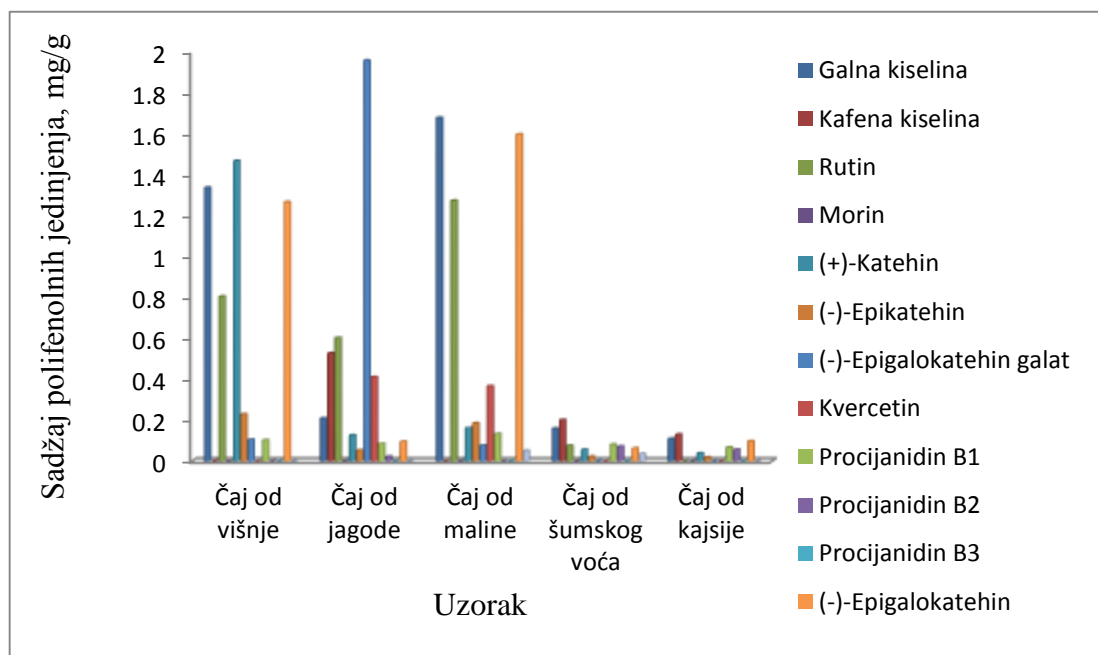
Rezultati sadržaja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$, mg/g) četiri antocijana, derivata cijanidina, u ispitivanim uzorcima dati su u tabeli 4.8.9. (samo za uzorke kod kojih su određeni ukupni antocijani). Kao što se može videti iz tabele 4.8.9., od četiri derivata cijanidina, najzastupljeniji je delfinidin-3-*O*-sambubiozid, a najmanje zastupljen je cijanidin-3-*O*-glukozid.

Tabela 4.8.9. Sadržaj antocijana u filter čajevima

Uzorak	Delfinidin-3-	RSD	Delfinidin-3-	RSD	Cijanidin-3-	RSD	Cijanidin-3-	RSD
	<i>O</i> -sambubiozid	%	<i>O</i> -glukozid	%	<i>O</i> -sambubiozid	%	<i>O</i> -glukozid	%
Čaj od hibiskusa	10,85 ± 0,01	0,09	0,72 ± 0,01	1,39	3,37 ± 0,03	0,89	0,39 ± 0,03	7,69
Čaj od šipka	1,05 ± 0,03	2,86	n.d.*	-	0,36 ± 0,02	5,56	n.d.	-
Čaj od višnje	8,99 ± 0,03	0,33	0,56 ± 0,03	5,36	2,46 ± 0,02	0,81	2,22 ± 0,02	0,90
Čaj od jagode	3,82 ± 0,03	0,78	0,17 ± 0,01	5,88	1,21 ± 0,02	1,65	0,11 ± 0,01	9,09
Čaj od maline	1,86 ± 0,03	1,61	0,66 ± 0,01	1,52	1,53 ± 0,03	1,96	0,44 ± 0,01	2,27
Čaj od kajsije	1,10 ± 0,03	2,73	0,46 ± 0,01	2,17	0,34 ± 0,01	2,94	n.d.	-
Čaj od divlje trešnje	5,89 ± 0,01	0,17	0,44 ± 0,01	2,27	1,73 ± 0,03	1,73	1,21 ± 0,01	0,83
Čaj od borovnice	2,89 ± 0,02	0,69	0,18 ± 0,01	5,56	1,22 ± 0,02	1,64	0,56 ± 0,03	5,36
Čaj od jabuke sa cimetom	2,67 ± 0,01	0,37	0,11 ± 0,01	9,09	0,81 ± 0,03	3,70	0,12 ± 0,01	8,33
Čaj od nara	2,99 ± 0,03	1,00	0,16 ± 0,01	6,25	0,95 ± 0,04	4,21	0,11 ± 0,01	9,09

* nije detektovan

Grafički prikaz sadržaja polifenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima voćnih filter čajeva dat je na slici 4.8.5.



Slika 4.8.5. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u voćnim filter čajevima

Dobijeni rezultati pokazuju da ispitivani voćni filter čajevi sadrže fenolne kiseline (galnu, protokatehinsku i kafenu kiselinu), flavone (rutin i morin), flavon-3-ol (kvercetin), flavan-3-ole ((+)-katehin, (-)-epikatehin, (-)-epigalokatehin galat, (-)-epigalokatehin) i procijanidine (B1 i B2).

U svim ispitivanim uzorcima sadržaj galne kiseline, kafene kiseline, protokatehinske kiseline, rutina, morina, kvercetina, (+)-katehina, (-)-epikatehina, (-)-epigalokatehin galata, (-)-epigalokatehina, procijanidina B1 i B2 varira u intervalu koncentracija 0,11-1,68 mg/g, n.d.-0,53 mg/g, n.d.-0,051 mg/g, n.d.-1,277 mg/g, n.d.-0,076 mg/g, n.d.-0,413 mg/g, 0,028-1,47 mg/g, 0,016-0,23 mg/g, n.d.-1,96 mg/g, n.d.-1,60 mg/g, n.d.-0,180 mg/g i n.d.-0,85 mg/g, redom.

Generalno, najveći sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja je u čajevima od višnje i maline, a zatim slede po sadržaju čajevi od jagode, borovnice i jabuke.

Sadržaj flavan-3-ola: (+)-katehina, (-)-epikatehina, (-)-epigalokatehin galata, (-)-epigalokatehina i od kiselina najviše zastupljene galne kiseline, kreće se od 4,41 mg/g u čaju od višnje, 3,704 mg/g u čaju od maline, 2,445 mg/g u čaju od jagode, 0,769 mg/g u čaju od borovnice, 0,611 mg/g u čaju od jabuke sa cimetom, 0,373 mg/g u čaju od divlje trešnje i 0,301 mg/g u čaju od šumskog voća.

Među polimerima katehin tipa, procijanidini B1 i B2 detektovani u uzorcima voćnih filter čajeva, dok procijanidin B3 nije pronađen ni u jednom uzorku. Sadržaj procijanidina B1 i B2 u voćnim filter čajevima se kreće u intervalu koncentracija od 0,021 mg/g do 1,12 mg/g i od 0,019 mg/g do 0,94 mg/g, redom. Najveći ukupni sadržaj procijanidina B1 i B2 sadrži čaj od maline (0,231 mg/g), čaj od jabuke (0,203 mg/g) i čaj od višnje (0,185 mg/g).

Literaturni pregled sadržaja pojedinačnih polifenola u komercijalno dostupnim filter čajevima iz drugih zemalja dat je u tabeli 4.8.10.

Sadržaj ukupnih katehin tip flavonoida u crnom čaju je najveći u Ceylon-skome čaju, a zatim u Darjeeling-u i Twinings-u. Crni čaj navedenih brendova prožet je kvalitetom koji dobija zahvaljujući jedinstvenim klimatskim uslovima koji vladaju u regijama gde se i proizvodi (Šri Lanka i visoravni Indije nadomak Himalaja). Sadržaj pojedinačnih katehin tip flavonoida opada u sledećem nizu: (-)-epigalo katehin galat > (-)-epigalo katehin > (-)-epikatehin > (+)-katehin (*Khokhar i Magnusdottir, 2002; Fernandez i sar., 2001*). U crnom čaju prisutnom na tržištu Srbije, najzastupljeniji je (-)-epigalokatehin, a zatim slede po zastupljenosti (-)-epigalokatehin galat, (-)-epikatehin i (+)-katehin. Najniži sadržaj katehina u

komercijalnim uzorcima može da bude povezan sa polifenolnim sastavom biljnog materijala kao polazne sirovine, starošću ubranih listova, procesom sušenja i proizvodnjom. Naime, proces prerade biljnog materijala u fabrici čaja uglavnom podrazumeva: primarno čišćenje, sečenje, usitnjavanje, fracionisanje i pakovanje u gotov proizvod. Tokom procesa prerade može doći do hemijskih i mikrobioloških promena u biljnom materijalu.

Sadržaj ukupnih katehin tip flavonoida u zelenom čaju je najveći u Kineskom i Indijskom zelenom čaju. Sadržaj pojedinačnih katehin tip flavonoida opada u sledećem nizu: (-)-epigalo katehin galat > (-)-epigalo katehin > (-)-epikatehin > (+)-katehin. Sa druge strane, u Japanskom zelenom čaju najzastupljeniji su (-)-epigalokatehin, a zatim slede po zastupljenosti (-)-epigalokatehin galat, (-)-epikatehin i (+)-katehin (*Khokhara, 2002; Fernandez i sar., 2000; Stodt i sar., 2013*). U zelenom čaju prisutnom na tržištu Srbije, takođe je najzastupljeniji (-)-epigalokatehin.

U biljnim filter čajevima (čaj od kamilice, čaj od lipe, čaj od žalfije i čaj od nane) na osnovu literaturnih podataka (*Atoui i sar., 2005*) od kiselnosti su prisutne kafena, galna, kumarna i ferulna kiselina i njihovi estri, od katehin tip flavonoida samo (+)-katehin, od flavon-3-ola kvercetin i njegovi glikozidi i procijanidini. Razlike u identifikovanim polifenolnim jedinjenjima mogu da potiču od uslova gajenja biljaka i proizvodnje u fabrici čaja. Proizvodnja čajeva sastoji se od niza operacija. Nakon branja, biljni materijal se suši, a zatim usitnjava sečenjem, gnječenjem, trljanjem i mlevenjem. Prilikom skladištenja i stajanja u magacinu, biljni material mora biti zaštićen od vlage, kiseonika, svetlosti i živih organizama. Svi ovi faktori mogu da izazovu promene u hemijskom sastavu i kvalitetu biljnog materijala. Literaturni podaci (*Vidović i sar., 2013*) pokazuju da kod obrađenog (usitnjenog) materijala dolazi do smanjenja ukupnih polifenola i do 50% u odnosu na neobrađeni materijal.

U voćnim čajevima, prema literaturnim podacima (*Khokhar i Magnusdottir, 2002*), najzastupljeniji je (-)-epigalo katehin galat, a zatim slede po zastupljenosti (-)-epigalo katehin i (-)-epikatehin. (+)-Katehin u ispitivanim filter čajevima nije detektovan. U voćnim čajevima prisutnim na tržištu Srbije, najzastupljeniji su (+)-katehin i (-)-epikatehin. (-)-Epigalokatehin galat i (-)-epigalokatehin nisu detektovani. Katehin tip flavonoidi koji su detektovani i kvantifikovani u voćnim filter čajevima mogu da ukazu na delove drugih biljaka koji se dodaju voćnom čaju radi dobijanja specifične arome (cvet hibiskusa, plod jabuke, plod šipka, kora narandže, kora cimeta, kora limuna), a koji su zajednički svim voćnim filter čajevima.

Takođe, hemijski sastav ekstrakata čajeva zavisi i od primenjenog rastvarača, metode ekstrakcije, vremena ekstrakcije i temperature. Metanol, etanol, voda, aceton, etil acetat, propanol, hloroform i dimetilformamid, kao i njihove kombinacije su najčešće korišćeni rastvarači za ekstrakciju polifenola (*Naczka i sar., 2004*). Rastvarač koji se koristi za ekstrakciju bira se prema polarnosti polifenola koji se žele identifikovati i kvantifikovati. Predmet ove disertacije je ispitivanje vodenih ekstrakata čajeva, dok se literaturno dostupni podaci odnose na vodeno-metanolne ili kiselo-metanolne ekstrakte.

Tabela 4.8.10. Poređenje sadržaja pojedinačnih polifenola (mg/g) u analiziranim uzorcima crnog, zelenog i voćnih filter čajeva sa literturnim podacima (Khokhar i *Magnusdottir, 2002*)

Brendovi crnog čaja	(+)-Katehin	(-)-Epikatehin	(-)-Epigalo katehin	(-)-Epigalo katehin galat	Kafena kiselina
PG Tips	0,5	1,4	0,2	3,9	27,3
Yorkshire	0,8	2,1	1,0	2,7	25,7
Yorkshire Gold	1,0	2,5	0,5	6,8	26,0
Ceylon	1,7	5,6	6,3	25,2	26,4
Darjeeling	0,7	2,3	3,0	24,9	22,1
Nilgiri	n.d.*	3,9	1,6	6,2	24,8
Tetley	n.d.	2,1	0,6	3,2	2,7
Twinings	n.d.	3,1	0,7	4,4	24,4
Twinings-Lapsang	n.d.	1,1	0,4	3,2	25,1
Kenya	n.d.	2,1	0,8	4,4	28,0
Pickwick	n.d.	2,5	0,7	4,5	25,4
Earl Gray	n.d.	1,9	0,4	3,4	25,2
Crni čaj (Srbija)	0,263	0,26	0,854	0,374	0,195

* nije detektovan

Brendovi zelenog čaja	(+)-Katehin	(-)-Epikatehin	(-)-Epigalo katehin	(-)-Epigalo katehin galat	Kafena kiselina
Indijski zeleni čaj	1,3	4,4	19,0	23,4	19,5
Chun mee (Kina)	1,0	5,7	21,7	35,1	18,4
Bandia (Japan)	0,7	6,0	34,6	20,3	12,8

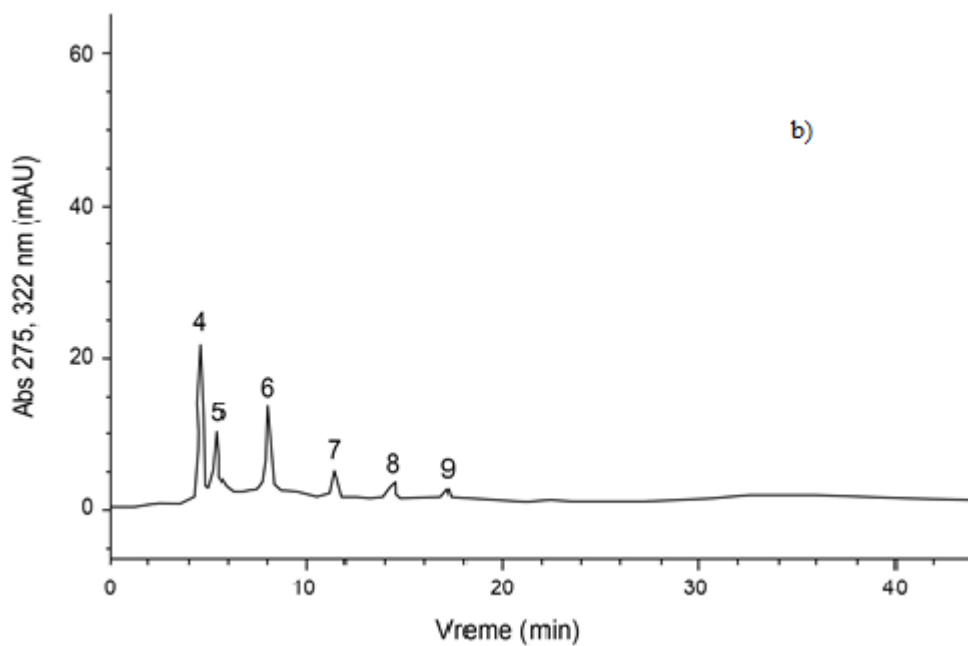
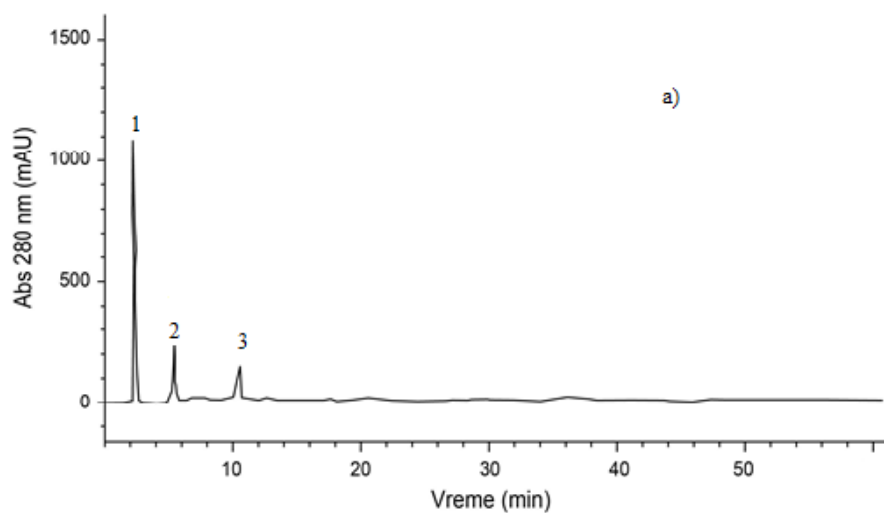
Kineski zeleni čaj	n.d.*	4,7	16,2	26,2	18,1
Japanski zeleni čaj	n.d.	8,1	31,4	26,6	14,7
Japanski zeleni čaj	n.d.	8,2	32	42,6	12,1
Zeleni čaj (Srbija)	0,40	2,64	0,02	1,73	0,26

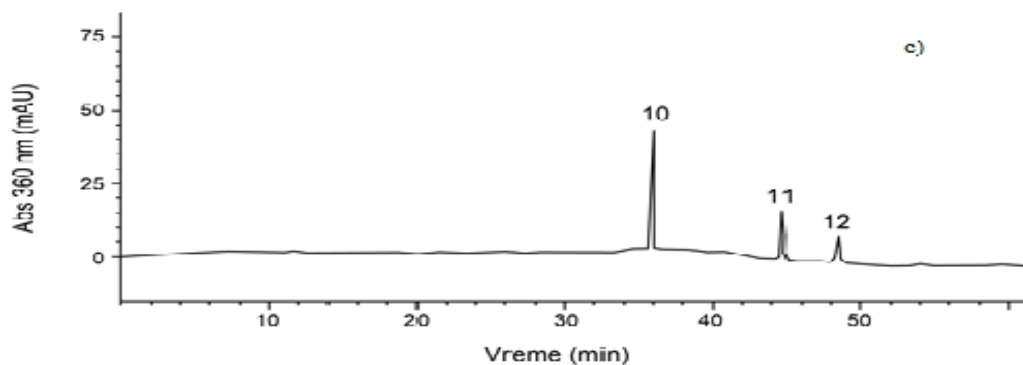
* nije detektovan

Voćni čajevi	(+)- Katehin	(-)- Epikatehin	(-)-Epigalo Katehin	(-)-Epigalo katehin galat	Kafena kiselina
Čaj od jagode	n.d.*	2,0	1,0	3,9	23,8
Čaj od jagode (Srbija)	0,127	0,053	1,96	1,96	0,53
Čaj od višnje	n.d.	2,3	1,1	4,0	25,0
Čaj od višnje (Srbija)	1,47	0,23	0,105	0,105	n.d.
Čaj od šumskog voća	n.d.	2,0	0,9	3,3	23,6
Čaj od šumskog voća (Srbija)	0,056	0,022	n.d.	n.d.	0,20

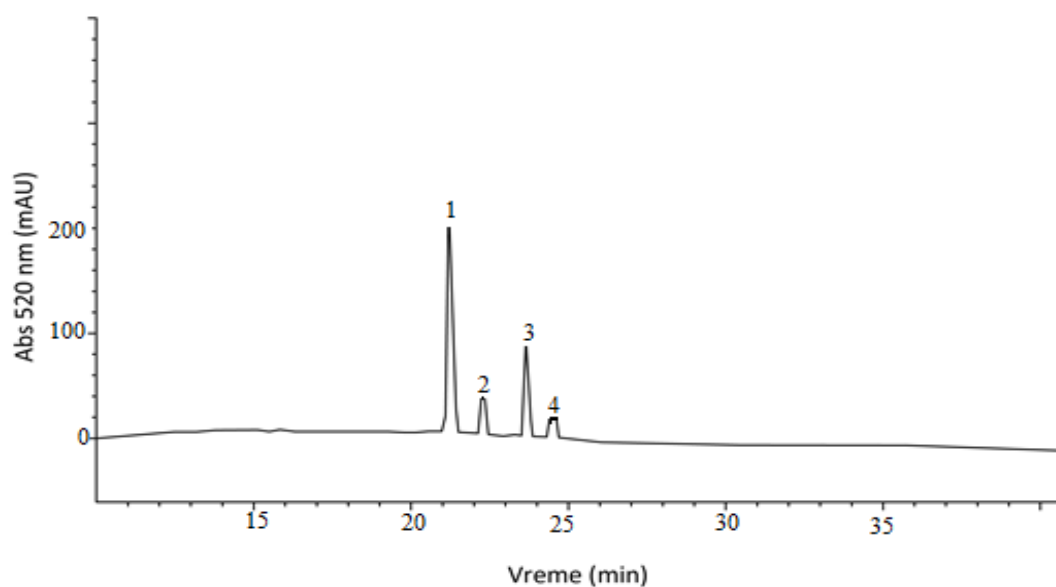
* nije detektovan

Hromatogram uzorka filter čaja od maline prikazan je na slici 4.8.5., a hromatogram čaja od hibiskusa na slici 4.8.6.





Slika 4.8.5. Hromatogram filter čaja od maline snimljen na: a) 280 nm: 1 - galna kiselina, 2 - protokatehinska kiselina, 3 - kafena kiselina, b) FLD: 4 - procijanidin B1, 5 - (-)-epigalokatehin, 6 - (+)-katehin, 7 - procijanidin B2, 8 - (-)-epikatehin, 9 - (-)-epigalokatehin galat, c) 360 nm: 10 - rutin, 11 - morin, 12 - kvercetin



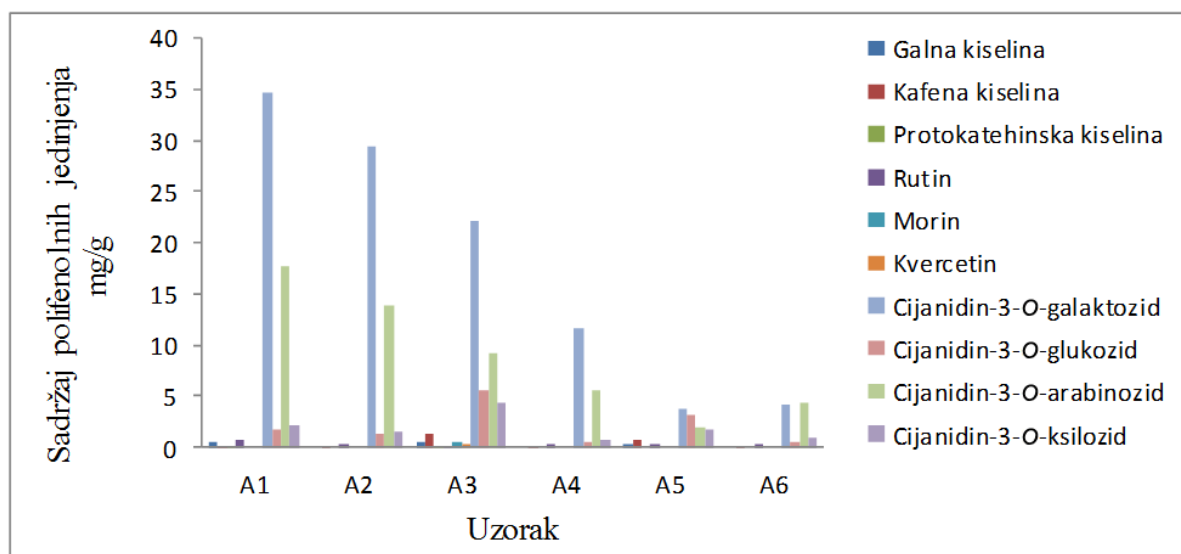
Slika 4.8.6. Hromatogram filter čaja od hibiskusa snimljen na 520 nm: 1- delfinidin-3-O-sambubiozid, 2 - delfinidin-3-O-glukozid, 3 - cijanidin-3-O-sambubiozid i 4 - cijanidin-3-O-glukozid

U tabeli 4.8.11. i na slici 4.8.7. dat je sadržaj ($c_{sr} \pm SD$, $n = 2$, mg/g) polifenolnih jedinjenja u filter čajevima od aronije.

Tabela 4.8.11. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u filter čajevima od aronije

	A1	RSD	A2	RSD	A3	RSD
		%		%		%
Galna kiselina	0,476±0,001	0,21	n.d.*	-	0,596±0,003	0,50
Kafena kiselina	0,095±0,002	2,11	0,067±0,001	1,49	1,26±0,03	2,38
Protokatehinska kiselina	0,176±0,004	2,27	n.d.	-	0,023±0,001	4,35
Rutin	0,738±0,006	0,81	0,329±0,006	1,82	0,032±0,001	3,13
Morin	n.d.	-	n.d.	-	0,501±0,003	0,60
Kvercetin	n.d.	-	n.d.	-	0,243±0,002	0,82
Cijanidin-3- <i>O</i> -galaktozid	34,6±0,4	1,16	29,5±0,3	1,02	22,2±0,2	0,90
Cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	1,69±0,07	4,14	1,38±0,07	5,07	5,6±0,2	3,57
Cijanidin-3- <i>O</i> -arabinozid	17,7±0,3	1,69	13,9±0,3	2,16	9,3±0,2	2,15
Cijanidin-3- <i>O</i> -ksilozid	2,1±0,1	4,76	1,62±0,03	1,85	4,4±0,1	2,27
	A4	RSD	A5	RSD	A6	RSD
		%		%		%
Galna kiselina	n.d.	-	0,372±0,001	0,27	n.d.	-
Kafena kiselina	0,072±0,002	2,78	0,727±0,002	0,28	0,061±0,00	1,64
					1	
Protokatehinska kiselina	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Rutin	0,279±0,007	2,51	0,252±0,002	0,79	0,261±0,01	3,83
Morin	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Kvercetin	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Cijanidin-3- <i>O</i> - galaktozid	11,6±0,1	0,86	3,8±0,1	2,63	4,1±0,1	2,44
Cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	0,52±0,01	1,92	3,1±0,1	3,23	0,44±0,01	2,27
Cijanidin-3- <i>O</i> -arabinozid	5,5±0,1	1,82	1,9±0,1	5,26	4,40±0,1	2,27
Cijanidin-3- <i>O</i> -ksilozid	0,77±0,03	3,90	1,71±0,04	2,34	0,99±0,04	4,04

* n.d.-nije detektovan

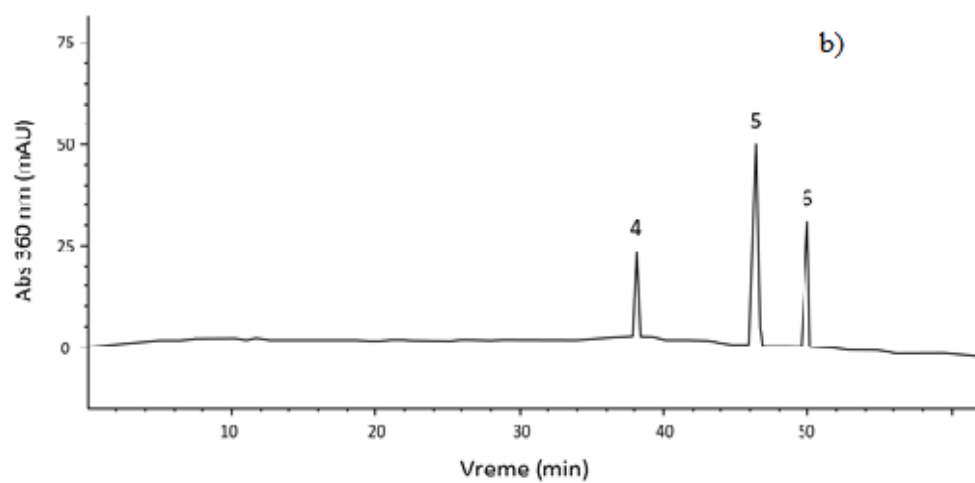
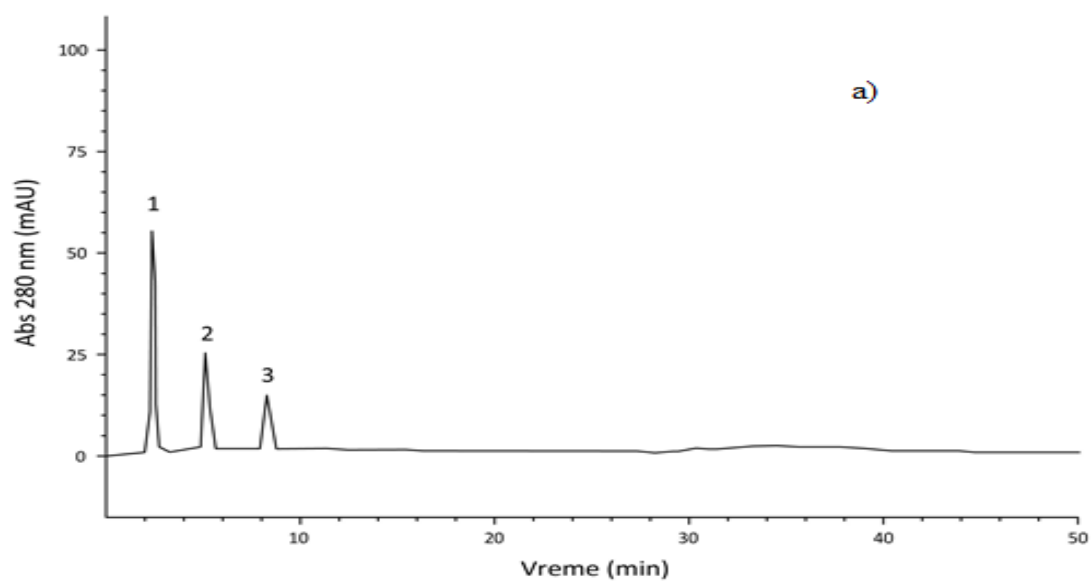


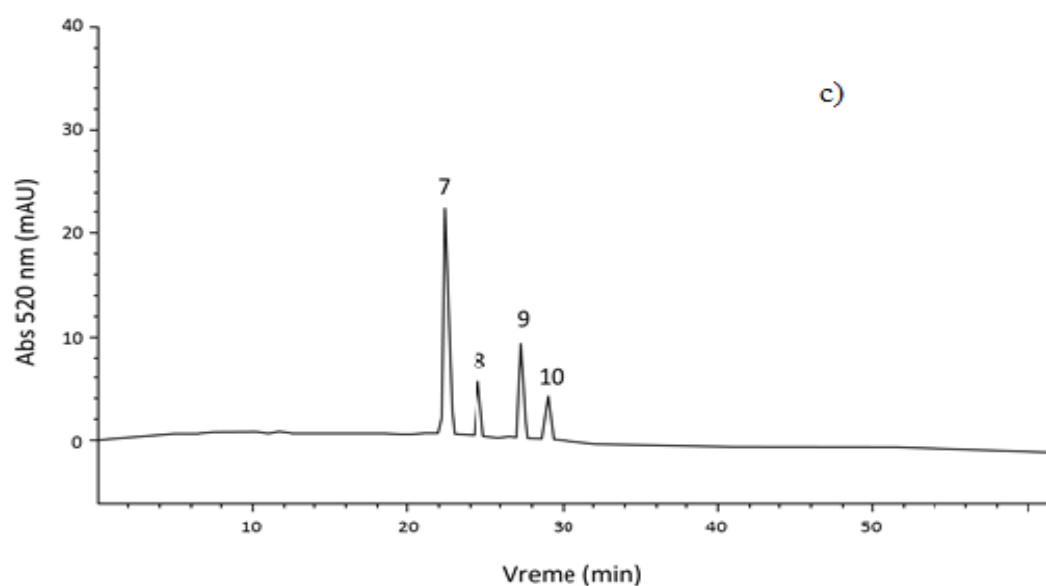
Slika 4.8.7. Sadržaj polifenolnih jedinjenja u filter čajevima od aronije

Identifikacija individualnih polifenolnih jedinjenja daje više informacija o filter čajevima i njihovoj antioksidativnoj aktivnosti. Dobijeni rezultati pokazuju da filter čajevi od aronije sadrže od fenolnih kiselina galnu kiselinu i protokatehinsku kiselinu, kao i kafenu kiselinu koja spada u grupu hlorogenih kiselina. Od flavona sadrže rutin i morin, a od antocijana cijanidin-3-*O*-galaktozid, cijanidin-3-*O*-glukozid, cijanidin-3-*O*-arabinozid i cijanidin-3-*O*-ksilozid. Antocijanini u filter čajevima od aronije su mešavina četiri različita cijanidna glikozida, od kojih je najdominantniji cijanidin-3-*O*-galaktozid. Dobijeni rezultati pokazuju da su filter čajevi od aronije bogati *orto*-difenolnim jedinjenja, kao što su derivati cijanidina i kafene kiseline.

Prema *Rice-Evans i sar.* (1995), jedinjenja koja imaju 3',4'-dihidroksi supstituente u B prstenu i konjugaciju između A i B prstena (npr. kvercetin i cijanidini) pokazuju četiri puta veći antioksidativni potencijal od Trolox-a i vitamina E. Uklanjanjem *orto*-dihidroksi supstutuenta ili redukcijom kada nastaju dvostruke ili trostruke veze u C prstenu, kao što je kod katehina i epikatehina, smanjuje se antioksidativni potencijal za više od 50%, ali ove strukture imaju i dalje veću antioksidativnu aktivnost od α -tokoferola i askorbinske kiseline. Zbog toga su ova jedinjenja najaktivnija kao antioksidansi. Prema literaturnim podacima sadržaj antocijana u aroniji se kreće od 3166 mg/kg do 14800 mg/kg. (*Zheng i sar.*, 2003; *Määttä-Riihinen i sar.*, 2004; *Wu i sar.*, 2004; *Slimestad i sar.*, 2005; *Kulling i sar.*, 2008; *Jakobek i sar.*, 2011).

Hromatogram uzorka filter čaja od aronije prikazan je na slici 4.8.7.





Slika 4.8.7. Hromatogram filter čaja od aronije A4 snimljen na: a) 280 nm: 1 - galna kiselina, 2 - protokatehinska kiselina, 3 – kafena kiselina, b) 360 nm: 4 - rutin, 5 – morin, 6 - kvercetin, B2, 8 - (-)-epikatehin, c) 520 nm: 7 - cijanidin-3-*O*-galaktozid, 8 - cijanidin-3-*O*-glukozid, 8 - cijanidin-3-*O*-arabinozid i 9 - cijanidin -3-*O*-ksilozid

Da bi se odredio doprinos pojedinačnih polifenolnih jedinjenja ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti ispitivanih uzoraka filter čajeva korišćena je postepena linearna regresija (sekvencijalno ispitivanje). Korišćeno je trinaest nezavisnih promenljivih (pojedinačna polifenolna jedinjenja identifikovana u ispitivanim uzorcima filter čajeva) kako bi se objasnila varijabilnost zavisne promenljive (antioksidativna aktivnost primenom različitih testova). Protokatehinska kiselina, rutin, morin, kvercetin, (-)-epigalokatehin galat i procijanidin B3 ne doprinose značajno antioksidativnoj aktivnosti ispitivanih uzoraka filter čajeva. Galna kiselina, kafena kiselina, (+)-katehin, (-)-epikatehin, (-)-epigalokatehin, procijanidin B1 i procijanidin B3 značajno doprinose antioksidativnoj aktivnosti ($p < 0,05$) ispitivanih uzoraka filter čajeva. Postepena linearna regresija (delimična R^2 i kumulativna R^2) je pokazala da procijanidin B2 najviše (52,9%) doprinosi DPPH radikal "skevindžer" aktivnosti. Procijanidina B1 i (+)-katehin sekvencijalno (78,3% i 86,9%) dalje doprinose DPPH aktivnosti. ABTS aktivnosti najviše doprinosi kafena kiselina (43,6%). (+)-Katehin najviše doprinosi (53,8%) FRAP i Fe(III)/Fe(II) aktivnosti dok dalje sekvencijalno doprinose (-)-epikatehin (83,6%) i (+)-katehin (88,3%).

Antioksidativnoj aktivnosti, dobijenoj cikličnom voltametrijom, (-)-epikatehin najviše doprinosi (66,8%). Dalje, sekvencijalno doprinose (+)-katehin, (-)-epigalokatehin, procijanidin B2, galna kiselina i procijanidin B1 84,5%, 96,8%, 98,7%, 99,7% i 99,9%, redom.

4.9. Makro i mikroelemenati u uzorcima crnog, zelenog, biljnih i voćnih filter čajeva

Za određivanje sadržaja metala u ispitivanim uzorcima filter čajeva kreirane su analitičke metode za svaki element. Za svaki ispitivani element su izabrane po četiri talasne dužine sa najvećim relativnim intezitetom emisije. Najpre su konstruisane kalibracione prave korišćenjem tri standarda, od kojih su dva pripremljena razblaživanjem referentnog multi standarda, koncentracija 2 ppm i 5 ppm, a treći je bila dejonizovana voda. Radna talasna dužina je izabrana na osnovu relativnog inteziteta emisije, standardne devijacije nagiba, standardne devijacije odsečka, korelacionog koeficijenta, interferencije na talasnim dužinama levo i desno od odabrane. U tabeli 4.9.1. prikazane su odabrane talasne dužine za svaki element, koeficijent determinacije (R^2), limit detekcije (LD) i limit kvantifikacije (LQ).

Tabela 4.9.1. Parametri kalibracione prave za određivane elemente

Metal	λ , nm	R^2	LD mg/kg	LQ mg/kg
Al	396,152	0,9998	0,11	0,35
Ba	455,403	1	0,01	0,02
Ca	422,673	1	0,03	0,11
Cd	228,802	1	0,01	0,03
Cr	283,563	1	0,03	0,11
Cu	324,754	1	0,03	0,11
Fe	259,94	1	0,03	0,11
K	769,896	0,9959	0,22	0,73
Mg	279,553	0,9996	0,01	0,03

Mn	259,373	1	0,01	0,02
Mo	202,03	1	0,04	0,12
Na	589,592	0,9955	0,05	0,15
Ni	231,604	0,999	0,03	0,09
P	177,495	0,9999	0,17	0,54
Pb	220,353	1	0,11	0,32
Sb	252,852	0,9999	0,04	0,13
Se	196,09	1	0,12	0,39
Sn	283,999	1	0,14	0,47
Sr	407,771	0,9998	0,05	0,04
V	309,311	0,9985	0,03	0,10
Zn	213,856	0,9992	0,01	0,02

Uzorci filter čajeva su snimani na odabranoj talasnoj dužini, pri čemu je svako merenje tri puta ponovljeno. Rađena je manuelna korekcija u cilju dobijanja što većeg odnosa signal/ pozadina. Dobijeni rezultati su dati kao srednja vrednost tri ponavljanja ($c_{sr} \pm SD$, $n = 3$, mg/kg).

Od makro elemenata (tabele 4.9.2.-4.9.7.; slike 4.9.1.-4.9.6.) u filter čajevima su najzastupljeniji K i Ca, a zatim slede po zastupljenosti Mg, Na i P.

Sadržaj K se u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 3894-39404 mg/kg i 3454-34270 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 10316-21184 mg/kg, odnosno 5798-13332 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 5794-13332 mg/kg, odnosno 358-1438 mg/kg. Kalijum je važan sastojak ćelija i telesnih tečnosti koje pomažu kontrolu rada srca i krvnog pritiska. Preporučeni dnevni unos K se kreće od 0,4 g za odojčad, 3,8 g za decu od 4-8 godina, do 4,7 g za adolescente, žene i muškarce (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2004*). Visok sadržaj K u skoro svim analiziranim uzorcima čajeva ukazuje na moguću primenu veštačkih đubriva. Biljka usvaja kalijum za vreme rasta, nešto intenzivnije u početku, a sporije pri završetku vegetacije. Sadržaj K u zemljištima na teritoriji Srbije varira od 0,5–3% (*Ubavić i sar., 2011*).

Sadržaj Ca u uzorcima zelenog, crnog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 3114-12498 mg/kg i 231-7538 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 2750-5863 mg/kg, odnosno 240-3057 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 469-1395 mg/kg, odnosno 208-977 mg/kg. Kalcijum je najzastupljeniji mineral u ljudskom organizmu. Njegove soli direktno utiču na čvrstinu kostiju i zuba. U organizmu se nalazi oko jedan kilograma kalcijuma, od čega je najveći deo u kostima. Pored delovanja na kosti, kalcijum učestvuje u prenošenju nervnih impulsa obezbeđujući srčani ritam, neophodan je za koagulaciju krvi, te reguliše odnos baza i kiselina u krvotoku. Preporučeni dnevni unos za Ca za odojčad je 210 mg, za decu od 4-8 godina 800 mg, za adolescente 1300 mg i za muškarce i žene u zavisnosti od doba starosti od 1000 mg do 1200 mg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 1997*).

Sadržaj P u uzorcima zelenog, crnog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 1510-5239 mg/kg i 778-4004 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 1893-4110 mg/kg, odnosno 893-2226 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 317-526 mg/kg, odnosno 232-420 mg/kg. Preporučeni dnevni unos P (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 1997*) za odojčad je 100 mg, za decu od 4-8 godina 500 mg, za adolescente 1 250 mg i za muškarce i žene 700 mg. Fosfor čini 0,8-1,1% telesne mase. Fiziološke uloge fosfora su da učestvuje u formiranju kostiju i zuba, u resorpciji glukoze i glicerola iz masti, transportu masnih kiselina. Fosfor ulazi i u sastav masti, fosfoproteina i nukleinskih kiselina. Takođe, učestvuje u energetskom metabolizmu.

Sadržaj Mg je u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u u granicama od 1050-3713 mg/kg i 431-3613 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 912-2411 mg/kg, odnosno 553-1966 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 99-338 mg/kg, odnosno 51-146 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Mg za odojčad je 30 mg, za decu od 4-8 godina 130 mg i za adolescente, muškarce i žene oko 400 mg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 1997*). Magnezijum ima veoma važnu ulogu u vezivanju kalcijuma za kosti i u opuštanju mišića. Takođe, on učestvuje u regulisanju srčanog ritma i snižavanju nivoa holesterola. Ovaj oligoelement reguliše rad creva, naročito kod onih koje muči opstipacija. Kod trudnica, on smanjuje opasnost od spontanog pobačaja i prevremenog porođaja.

Sadržaj Na u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza je u granicama od 47-2444 mg/kg i 18,3-1010 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 59-547 mg/kg odnosno 35,1-221 mg/kg i u filter čajevima od aronije sadržaj je u granicama od 9,6-40,8 mg/kg, odnosno 4,45-8,35 mg/kg. Velika pokretljivost Na u zemljištu i činjenica da se ovaj element lako ispira iz tla može da utiče na velike varijacije u sadržaju Na u biljkama. Takođe, zemljište ima slabu adsorptivnu moć prema natrijumu (*Ubavić i sar., 2011*). Preporučeni dnevni unos Na za odojčad je 0,12 g, za decu od 4-8 godina 1,2 mg i za adolescente, muškarce i žene oko 1,5 g (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2004*). Natrijum je element koji se nalazi kako u najvećem broju namirnica, tako i vodi. Organizmu je potrebna mala količina natrijuma iz hrane za kontrolu krvnog pritiska i volumena krvi. Međutim, veliki broj ljudi koristi veću količinu natrijuma nego što je potrebno. Ishrana sa malo natrijuma sadrži manje od 2 grama natrijuma dnevno. Najveći broj lekara se slaže da osobe sa povišenim krvnim pritiskom treba da unose manje od 2 grama natrijuma dnevno. Osobama sa drugim poremećajima se savetuje konzumiranje čak i manje količine soli (1,5 g do 1,8 g dnevno).

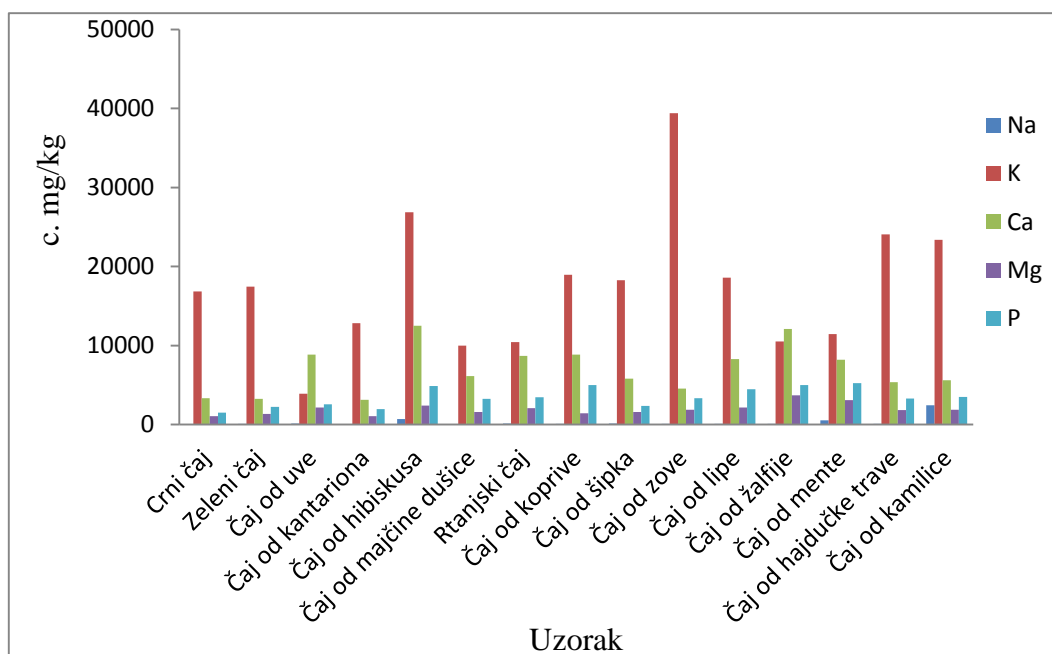
Visoki sadržaj makroelemenata u čajevima, ukazuje na veliku mobilnost makroelemenata, njihovu bioraspoloživost u zemljištu i dobru apsorpciju preko korenovog sistema. Iz zemljišta se apsorbuju u jonskoj formi: Ca^{2+} , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , Mg^{2+} , K^+ i Na^+ , pri čemu dolaze do izražaja mehanizmi kompeticije i antagonizma među različitim jonima. Korišćenjem veštačkih đubriva, značajno se utiče na sadržaj makroelemenata u zemljištu (*Ubavić i sar., 2011; Bogdanović i sar., 1993*).

Tabela 4.9.2. Sadržaj (mg/kg) makroelemenata u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)

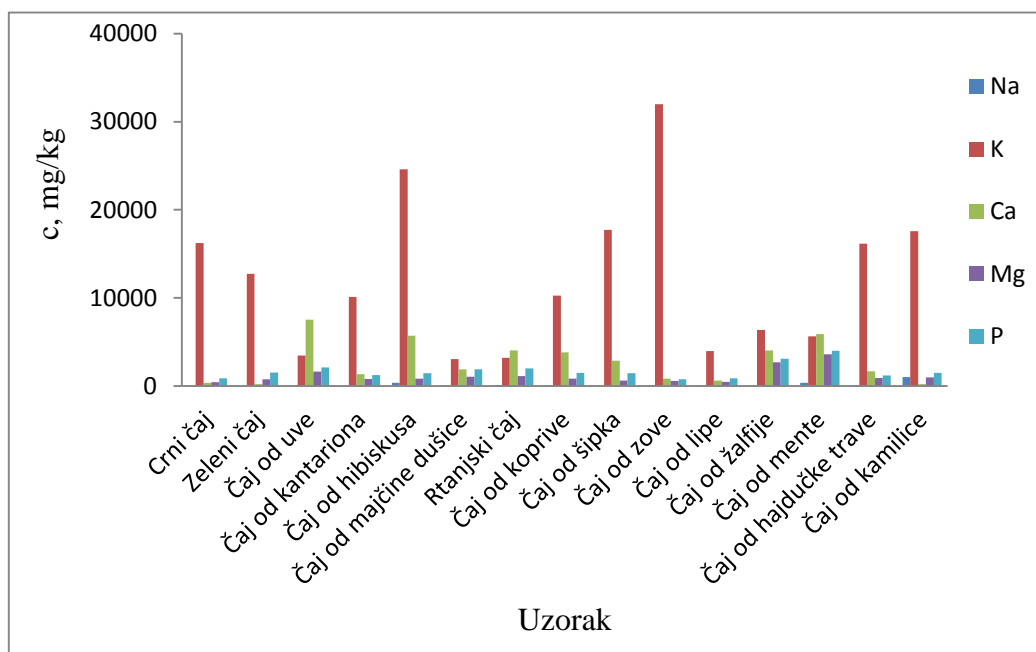
Uzorak	Na	RSD	K	RSD	Ca	RSD	Mg	RSD	P	RSD
		%		%		%		%		%
Crni čaj	50 ± 1	2,00	16842 ± 200	1,19	3350 ± 24	0,72	1050 ± 4	0,38	1510 ± 14	0,93
Zeleni čaj	93 ± 2	2,15	17437 ± 180	1,03	3242 ± 48	1,48	1359 ± 6	0,44	2229 ± 10	0,45
Čaj od uve	118 ± 2	1,69	3894 ± 25	0,64	8865 ± 40	0,45	2141 ± 9	0,42	2572 ± 8	0,31
Čaj od kantariona	47 ± 1	2,13	12809 ± 90	0,70	3114 ± 27	0,87	1055 ± 8	0,76	2943 ± 79	2,68
Čaj od hibiskusa	677 ± 9	1,33	26883 ± 324	1,21	12498 ± 199	1,59	2393 ± 27	1,13	4872 ± 23	0,47
Čaj od majčine dušice	63 ± 1	1,59	9992 ± 50	0,50	6124 ± 10	0,16	1599 ± 20	1,25	3257 ± 13	0,40
Rtanjski čaj	114 ± 5	4,39	10441 ± 105	1,01	8676 ± 100	1,15	2055 ± 36	1,75	3448 ± 9	0,26
Čaj od koprive	78 ± 1	1,28	18973 ± 75	0,40	8854 ± 120	1,36	2436 ± 15	0,62	5011 ± 17	0,34
Čaj od šipka	112 ± 1	0,89	18269 ± 25	0,14	5807 ± 45	0,77	1582 ± 11	0,70	2361 ± 40	1,69
Čaj od zove	89 ± 1	1,12	39404 ± 420	1,07	4564 ± 31	0,68	1870 ± 17	0,91	3344 ± 16	0,48
Čaj od lipe	96 ± 2	2,08	18577 ± 55	0,30	8296 ± 80	0,96	2156 ± 32	1,48	4471 ± 39	0,87
Čaj od žalfije	88 ± 1	1,14	10526 ± 195	1,85	12096 ± 170	1,41	3713 ± 25	0,67	4993 ± 8	0,16
Čaj od mente	538 ± 3	0,56	11456 ± 65	0,57	8205 ± 85	1,04	3104 ± 28	0,90	5239 ± 24	0,46
Čaj od hajdučke trave	82 ± 2	2,44	24065 ± 575	2,39	5370 ± 90	1,68	1821 ± 37	2,03	3278 ± 16	0,49
Čaj od kamilice	2444 ± 37	1,51	23369 ± 299	1,28	5615 ± 70	1,25	1882 ± 34	1,81	3511 ± 16	0,46

Tabela 4.9.3. Sadržaj (mg/kg) makroelemenata u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Uzorak	Na	RSD %	K	RSD %	Ca	RSD %	Mg	RSD %	P	RSD %
Crni čaj	43 ± 2	4,65	16229 ± 2	0,01	364 ± 3	0,82	431 ± 6	1,9	892 ± 5	0,56
Zeleni čaj	53 ± 1	1,89	12728 ± 9	0,07	231 ± 1	0,43	755 ± 3	0,40	1549 ± 9	0,58
Čaj od uve	20,4 ± 0,3	1,47	3454 ± 1	0,03	7538 ± 2	0,03	1628 ± 5	0,31	2125 ± 6	0,28
Čaj od kantariona	57,1 ± 1,2	2,10	10111 ± 3	0,03	1361 ± 1	0,07	804 ± 4	0,50	1244 ± 16	1,29
Čaj od hibiskusa	381 ± 1	0,26	24613 ± 4	0,02	5718 ± 8	0,13	862 ± 2	0,23	1449 ± 8	0,55
Čaj od majčine dušice	73 ± 1	1,37	3052 ± 1	0,03	1918 ± 1	0,05	1064 ± 2	0,19	1890 ± 3	0,16
Rtanjski čaj	109 ± 2	1,83	3197 ± 1	0,03	4039 ± 2	0,05	1153 ± 3	0,26	2004 ± 8	0,39
Čaj od koprive	74 ± 2	2,70	10281 ± 1	0,01	3829 ± 2	0,05	849 ± 5	0,59	1511 ± 16	1,06
Čaj od šipka	56,1 ± 0,3	0,53	17739 ± 1	0,01	2873 ± 6	0,2	619 ± 1	0,16	1450 ± 8	0,55
Čaj od zove	80,71 ± 0,09	0,11	31999 ± 4	0,01	833 ± 1	0,12	576,1 ± 0,3	0,05	778 ± 2	0,26
Čaj od lipa	18,3 ± 0,2	1,09	3974 ± 4	0,1	627 ± 4	0,63	474 ± 2	0,42	893 ± 8	0,89
Čaj od žalfije	37,5 ± 0,3	0,8	6375 ± 2	0,03	4039 ± 4	0,09	2713 ± 3	0,11	3111 ± 16	0,51
Čaj od mente	355 ± 2	0,56	5649 ± 1	0,02	5914 ± 2	0,03	3616 ± 2	0,05	4004 ± 8	0,19
Čaj od hajdučke trave	66 ± 1	1,52	16153 ± 8	0,05	1698 ± 2	0,12	914 ± 2	0,22	1211 ± 16	1,32
Čaj od kamilice	1010 ± 1	0,09	17566 ± 2	0,01	2444 ± 1	0,04	982 ± 5	0,51	1511 ± 16	1,06



Slika 4.9.1. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



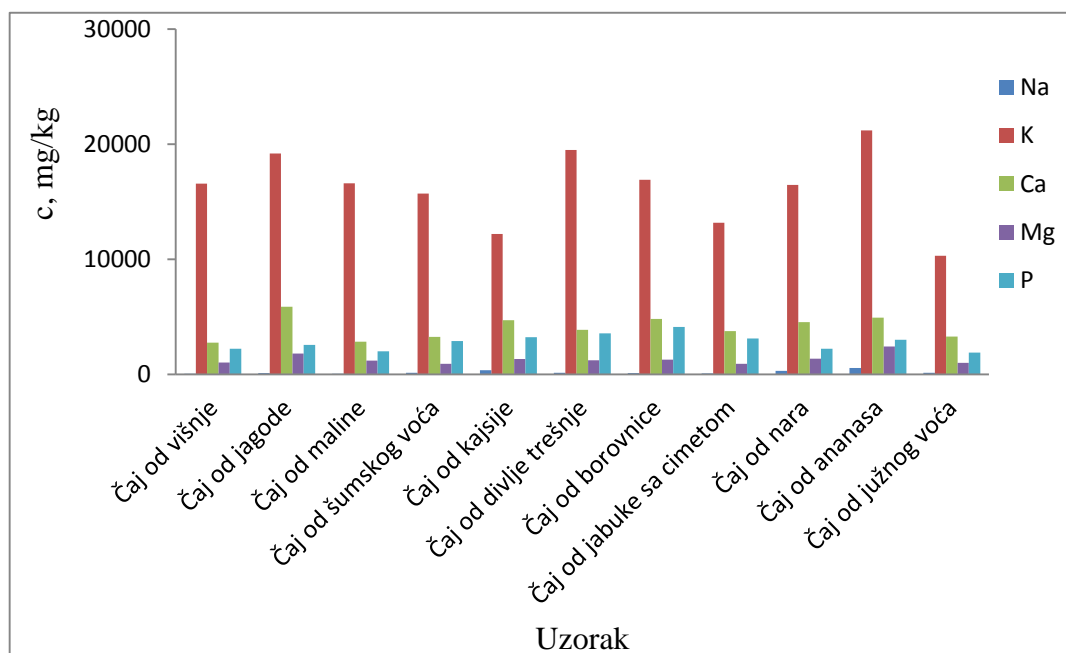
Slika 4.9.2. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Tabela 4.9.4. Sadržaj (mg/kg) makroelemenata u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)

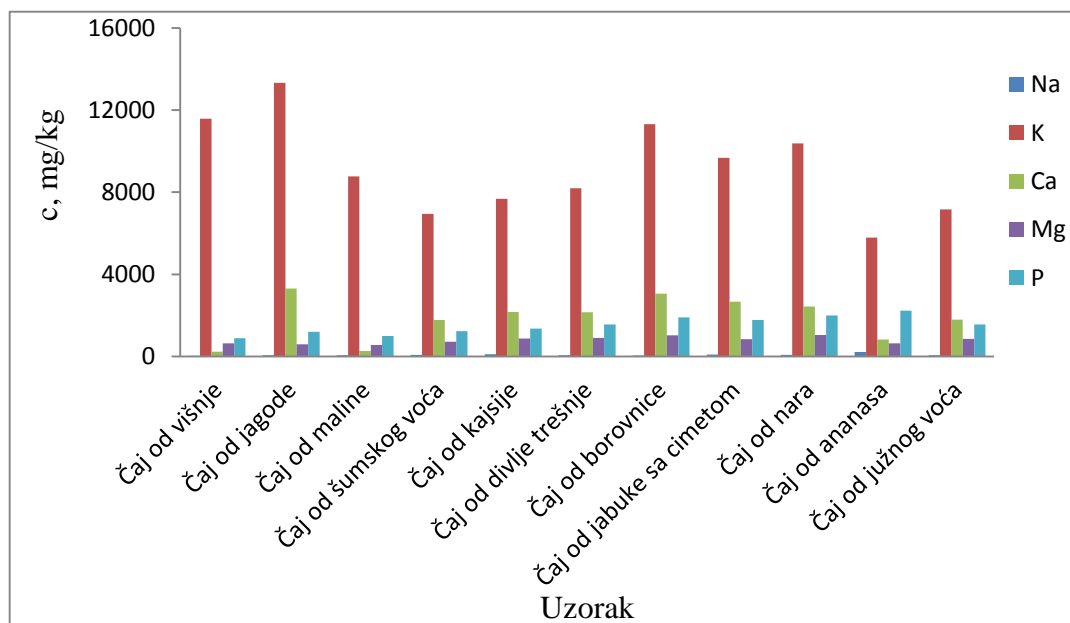
Uzorak	Na	RSD %	K	RSD %	Ca	RSD %	Mg	RSD %	P	RSD %
Čaj od višnje	62 ± 1	1,61	16571 ± 230	1,39	2750 ± 21	0,76	1024 ± 16	1,56	2228 ± 8	0,36
Čaj od jagode	106 ± 2	1,89	19184 ± 244	1,27	5863 ± 50	0,85	1824 ± 22	1,21	2561 ± 8	0,31
Čaj od maline	59 ± 1	1,69	16587 ± 250	1,51	2841 ± 18	0,63	1209 ± 7	0,58	2011 ± 16	0,79
Čaj od šumskog voća	149 ± 1	0,67	15722 ± 145	0,92	3252 ± 27	0,83	916 ± 8	0,87	2893 ± 6	0,21
Čaj od kajsije	350 ± 4	1,14	12187 ± 135	1,11	4707 ± 73	1,55	1331 ± 11	0,83	3239 ± 9	0,28
Čaj od divlje trešnje	152 ± 2	1,32	19500 ± 410	2,10	3875 ± 47	1,22	1226 ± 9	0,73	3561 ± 8	0,22
Čaj od borovnice	100 ± 2	2,00	16893 ± 140	0,83	4829 ± 30	0,62	1269 ± 19	1,50	4110 ± 14	0,34
Čaj od jabuke sa cimetom	78 ± 2	2,56	13173 ± 65	0,49	3765 ± 10	0,26	912 ± 19	2,08	3111 ± 15	0,48
Čaj od nara	299 ± 4	1,34	16405 ± 185	1,13	4529 ± 40	0,88	1366 ± 1	0,07	2227 ± 6	0,27
Čaj od ananasa	547 ± 5	0,91	21184 ± 280	1,32	4924 ± 50	1,01	2411 ± 24	0,99	3005 ± 7	0,23
Čaj od južnog voća	141 ± 4	2,84	10316 ± 244	2,36	3289 ± 21	0,64	1000 ± 15	1,50	1893 ± 7	0,37

Tabela 4.9.5. Sadržaj (mg/kg) makroelemenata u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Uzorak	Na	RSD	K	RSD	Ca	RSD	Mg	RSD	P	RSD
		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	35,1 ± 0,1	0,28	11582 ± 4	0,03	240 ± 4	1,67	635 ± 4	0,63	893 ± 7	0,78
Čaj od jagode	55,8 ± 0,1	0,18	13332 ± 9	0,07	3312 ± 2	0,06	590 ± 1	0,17	1205 ± 7	0,58
Čaj od maline	63,3 ± 0,1	0,16	8777 ± 4	0,04	258 ± 3	1,16	553 ± 5	0,90	1005 ± 7	0,69
Čaj od šumskog voća	75 ± 1	1,33	6943 ± 9	0,13	1784 ± 4	0,22	719 ± 1	0,14	1225 ± 4	0,32
Čaj od kajsije	112 ± 1	0,89	7685 ± 4	0,05	2162 ± 2	0,09	879 ± 8	0,91	1363 ± 9	0,66
Čaj od divlje trešnje	59,1 ± 0,3	0,51	8197 ± 6	0,07	2155 ± 2	0,09	900 ± 3	0,33	1561 ± 8	0,51
Čaj od borovnice	44,7 ± 0,1	0,22	11319 ± 2	0,02	3057 ± 7	0,23	1033 ± 4	0,39	1902 ± 5	0,26
Čaj od jabuke sa cimetom	85 ± 1	1,18	9669 ± 2	0,02	2665 ± 3	0,11	846 ± 4	0,47	1783 ± 8	0,45
Čaj od nara	82 ± 1	1,22	10376 ± 7	0,07	2429 ± 3	0,11	1042 ± 4	0,38	2003 ± 4	0,20
Čaj od ananasa	221 ± 2	0,90	5794 ± 4	0,07	829 ± 5	0,60	634 ± 8	1,26	2226 ± 5	0,22
Čaj od južnog voća	66,3 ± 0,1	0,15	7168 ± 2	0,03	1787 ± 1	0,06	858 ± 9	1,05	1552 ± 4	0,26



Slika 4.9.3. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima voćnih filter čajeva
(postupak mokre digestije)



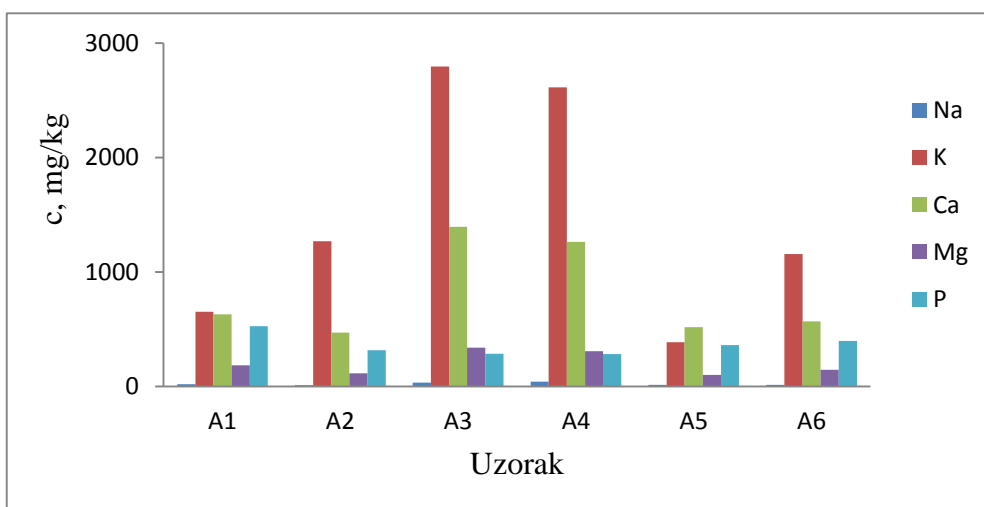
Slika 4.9.4. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima voćnih filter čajeva
(postupak pripreme infuza)

Tabela 4.9.6. Sadržaj (mg/kg) makroelemenata u uzorcima čajeva od aronije (postupak mokre digestije)

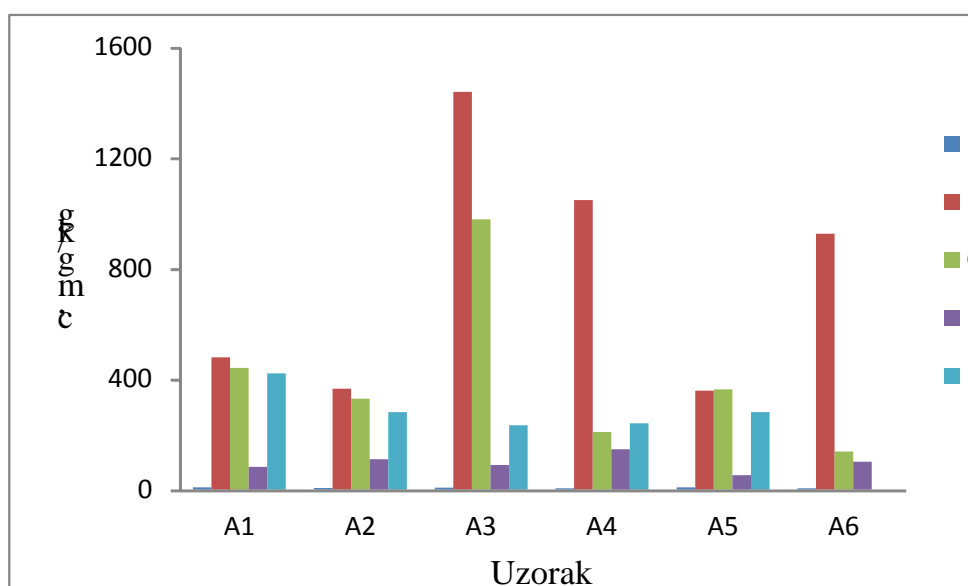
Uzorak	Na	RSD %	K	RSD %	Ca	RSD %	Mg	RSD %	P	RSD %
A1	18,6 ± 0,1	0,54	652 ± 3	0,46	628 ± 2	0,32	183 ± 1	0,54	526 ± 1	0,19
A2	9,6 ± 0,1	1,04	1267 ± 8	0,63	469 ± 4	0,85	114 ± 1	0,88	317 ± 3	0,95
A3	33,0 ± 0,7	2,12	2792 ± 106	3,80	1395 ± 23	1,65	338 ± 1	0,30	285 ± 1	0,35
A4	40,8 ± 0,1	0,24	2612 ± 24	0,92	1263 ± 17	1,31	306 ± 3	0,98	282 ± 2	0,71
A5	12,5 ± 0,2	1,60	385 ± 4	1,04	517 ± 9	1,74	99 ± 1	1,01	361 ± 3	0,83
A6	12,6 ± 0,1	0,79	1157 ± 13	1,12	568 ± 1	0,18	144 ± 1	0,69	397 ± 3	0,76

Tabela 4.9.7. Sadržaj makroelemenata (mg/kg) u uzorcima čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)

Uzorak	Na	RSD (%)	K	RSD (%)	Ca	RSD (%)	Mg	RSD (%)	P	RSD (%)
A1	8,35 ± 0,08	0,95	478 ± 32	6,69	440 ± 1	0,23	82 ± 1	1,21	420 ± 8	1,90
A2	6,05 ± 0,08	1,32	364 ± 36	9,89	328 ± 3	0,91	110 ± 3	2,72	280 ± 2	0,71
A3	6,96 ± 0,09	1,29	1438 ± 144	10,01	977 ± 16	1,64	90 ± 1	1,11	232 ± 8	3,44
A4	4,60 ± 0,06	1,30	1046 ± 80	7,65	208 ± 3	1,44	146 ± 1	0,68	240 ± 2	0,833
A5	8,03 ± 0,12	1,49	358 ± 8	2,23	362 ± 6	1,66	51 ± 1	1,96	280 ± 2	0,71
A6	4,45 ± 0,09	2,02	925 ± 62	6,70	138 ± 10	7,25	100 ± 4	4,00	304 ± 2	0,66



Slika 4.9.5. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.6. Sadržaj Na, K, Ca, Mg i P u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)

Natrijum i kalijum su dva elementa koja su odgovorna za elektrolitičku ravnotežu u organizmu i za kontrolu krvnog pritiska i rada srca. Zbog toga je neophodan i važan balans između kalijuma i natrijuma (takozvana kalijum-natrijumova pumpa). Uz sve savete o smanjivanju unosa natrijuma, mnogi su smetnuli s uma činjenicu da natrijum i kalijum deluju zajedno i da je ustvari balans ova dva minerala u ishrani vrlo važan. Ne predstavlja problem

samo prevelik unos natrijuma, već i premali unos kalijuma. Idealno bi bilo da se putem ishrane unosi više kalijuma nego natrijuma. Koeficijent odnosa Na i K (Na/K), izračunat na osnovu preporučenih dnevnih unosa je 0,3 (600 mg za Na i 2000 mg za K dnevno) (*Reports of the Scientific Committee for Food, 1993*). Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 4.9.8. može se videti da su vrednosti za Na/K koeficijente značajno male za sve uzorke zbog velike koncentracije K u svim uzorcima.

Tabela 4.9.8. Odnos Na/K za crni, zeleni, biljne i voćne filter čajeve

Uzorak	Na/K	Uzorak	Na/K	Uzorak	Na/K
Crni čaj	0,003	Čaj od višnje	0,003	A1	0,028
Zeleni čaj	0,005	Čaj od jagode	0,005	A2	0,008
Čaj od uve	0,030	Čaj od maline	0,003	A3	0,012
Čaj od kantariona	0,004	Čaj od šumskog voća	0,009	A4	0,015
Čaj od hibiskusa	0,025	Čaj od kajsije	0,029	A5	0,032
Čaj od majčine dušice	0,006	Čaj od divlje trešnje	0,007	A6	0,011
Rtanjski čaj	0,011	Čaj od borovnice	0,005		
Čaj od koprive	0,004	Čaj od jabuke sa cimetom	0,006		
Čaj od šipka	0,006	Čaj od nara	0,018		
Čaj od zove	0,002	Čaj od ananasa	0,023		
Čaj od lipa	0,005	Čaj od južnog voća	0,013		
Čaj od žalfije	0,008				
Čaj od mente	0,047				
Čaj od hajdučke trave	0,003				
Čaj od kamilice	0,105				

Važnost mikroelemenata u organizmu čoveka se ogleda u pravilnom funkcionisanju enzima. Enzimi su izgrađeni tako da sadrže organske i neorganske komponente. Mikroelementi u filter čajevima potiču od same biljke koja se koristi za pripremu istih. Akumulacija metala u različitim delovima biljaka zavisi od njihove biodostupnosti,

rastvorljivosti, potencijala za translokaciju i vrste biljke. Biodostupnost metala je uglavnom uslovljena njihovim ukupnim sadržajem u zemljištu, sastavom zemljišta, njegovim fizičkim karakteristikama i biljnom vrstom. Od karakteristika zemljišta najveći značaj imaju pH vrednost, redoks potencijal, kapacitet izmene katjona i količina organske materije. Povećanje sadržaja organske materije i pH vezuju pojedine metal za zemljište. Smanjenjem redoks potencija, metali prelaze iz nerastvorne u rastvornu formu, tako da se povećava njihova biodostupnost (*Kabata-Pendias i Pendias, 1992*).

Sadržaj ($c_{sr} \pm SD$, $n = 3$, mg/kg) ispitivanih mikroelemenata u uzorcima čajeva dat je u tabelama 4.9.9. - 4.9.14. i na slikama 4.9.7. - 4.9.36.

Sadržaj Fe u uzorcima zelenog, crnog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 14,9-2574 mg/kg i 0,93-118,8 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 4,7-172 mg/kg, odnosno 1,31-23,1 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 22,8-58,1 mg/kg, odnosno 2,11-16,08 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Fe se kreće od 0,27 mg za odojčad, 10 mg za decu od 4-8 godina, 11 mg za adolescente do 8 mg za muškarce i 18 mg za žene (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). U trudnoći, preporučeni dnevni unos gvožđa iznosi 27 mg. Mnogi proizvodi koji se koriste u ishrani ljudi sadrže količine gvožđa koje prevazilaze dnevnu potrebu organizma (*Jaređić i Vučetić, 1997*). Biljke su posebno bogate gvoždem, jer polifenolna jedinjenja, posebno flavonoidi pristuni u biljkama vezuju metala kao što su Al, Fe i Zn (*Erdemoğlu i sar., 2000*).

Sadržaj Zn u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 3,2-44 mg/kg i 1,83-21,2 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 1,8-25,3 mg/kg, odnosno 1,41-19,3 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 2,41-8,27 mg/kg, odnosno 1,55-3,35 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Zn se kreće od 2 mg za odojčad, 5 mg za decu od 4-8 godina, 11 mg za adolescente, 11 mg za muškarce i 8 mg za žene. U trudnoći, preporučeni dnevni unos Zn iznosi 11 mg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). Cink je esencijalni element u tragovima. Cink se javlja u hrani i piću. Visok sadržaj cinka najčešće se javlja kod onih biljaka koje rastu na kiselim tresetnim zemljištima, na zemljištima koja su nastala iz matičnog supstrata bogatog cinkom, kao i u okolini rudnika i topionica cinka. Sadržaj cinka u zemljištu nije veliki, odnosno njegova koncentracija je u granicama koje su najčešće dovoljne za ishranu većine biljaka. Problemi u snabdevanju biljaka cinkom se mogu javiti ako je

sadržaj fosfora veliki, a to se može desiti ukoliko se unose velike količine fosfornih đubriva. U tom slučaju se količina pristupačnog cinka smanjuje pa biljke ne uspevaju da podmire svoje potrebe za ovim elementom. Zbog toga postoje i velike varijacije u sadržaju cinka u ispitivanim uzorcima filter čajeva (*Peralta-Videa i sar., 2007*)

Sadržaj Al u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza je se kreće u granicama od 34-1538 mg/kg i 2,1-555 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 24,7-753 mg/kg, odnosno 2,5-267 mg/kg i u filter čajevima od aronije je se kreće u granicama od 3,60-25,48 mg/kg, odnosno 1,7-14,58 mg/kg. *Wang i saradnici (2001)* su primetili da se u biljakama koje rastu na kiselom zemljištu aluminijum akumulira u lišću, pogotovo u starijim listovima (prosečno 5600 mg/kg), dok je akumulacija u mladim listovima (prosečno 997 mg/kg) nešto manja. Biljke mogu da sadrže aluminijum, ali takođe, koncentracija aluminijuma u šolji čaja zavisi od same pripreme biljke za čaj, kao i vode koja se koristi za pripremu čaja (*Aurélié i sar., 2008*).

Sadržaj Mn u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 26-6517 mg/kg i 11-176 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 51-611 mg/kg, odnosno 6,1-199 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama od 2,63-52,2 mg/kg, odnosno 1,03-7,34 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Mn se kreće od 0,003 mg za odojčad, 1,5 mg za decu od 4-8 godina, 2,2 mg za adolescente do 2,3 mg za muškarce i 1,8 mg za žene. U trudnoći, preporučeni dnevni unos Mn iznosi 2,0 mg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). Mangan je neophodan element vrlo rasprostranjen u okolini. Nalazi se u većini prehrambenih proizvoda. U nekim zemljama mangan se koristi kao zamena za organsko olovo, kao aditiv u gorivu, što može dovesti do povećane koncentracije mangana u okolini i u hrani. Mangan se u zemljištu nalazi kao mineral u obliku oksida, silikata i karbonata. Prema literaturnim podacima Mn se uglavnom nalazi u listovima, manje u korenu biljaka, a njegov sadržaj može biti jako visok u zemljištu (*Ražić i sar., 2003*).

Sadržaj Cu u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 5,51-19,01 mg/kg i 1,12-5,72; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 2,92-9,44 mg/kg, odnosno 0,81-3,22 i u filter čajevima od aronije je u granicama od 1,76-4,00 mg/kg, odnosno 0,14-2,14 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Cu se kreće od 0,2 mg za odojčad, 0,44 mg za decu od 4-8 godina, 0,89 mg za

adolescente do 0,90 mg za muškarce i žene. U trudnoći, preporučeni dnevni unos Cu iznosi 1,0 mg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). Bakar je neophodan element u ljudskom organizmu. Ima sposobnost usporavanja rasta bakterija, npr. *Legionelle*, u cevima za vodu za piće. Bakar je prirodno prisutan u većini prehrambenih proizvoda, u obliku jona bakra ili soli. Koncentracija bakra u hrani iznosi oko 2 mg/kg ili manje. Bakar se nalazi u zemljištu u koncentracijama koje su dovoljne za ishranu biljaka, a znatan deo dospeva u zemljište prilikom upotrebe sredstava za zaštitu bilja koja sadrže bakar (*Lepp i sar., 1985*). Koncentracija Cu u čajevima zavisi i od posuda koje je korišćeno za preradu čajeva (*Szymczycha-Madeja i sar., 2012*).

Sadržaj Se u ispitivanim uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama od 0,13-17,3 mg/kg i n.d.-9,3 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama od 1,57-20,1 mg/kg, odnosno n.d.-1,83 mg/kg i u filter čajevima od aronije je u granicama od 0,26-0,56 mg/kg, odnosno n.d.-0,31 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Se se kreće od 15 µg za odojčad; 30 µg za decu od 4-8 godina; 55 µg za adolescente, muškarce i žene. U trudnoći, preporučeni dnevni unos Se iznosi 60 µg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2000*). Specifične namirnice biljnog porekla (tzv. selenoakumulatorne biljke, poput brazilskog oraha) mogu da sadrže visoke koncentracije Se u svom tkivu, naročito ako je reč o zemljištu koje ima visoki sadržaj Se. Zbog antioksidativnog delovanja i dokazane veze višeg unosa sa manjim rizikom raka, raširena je i upotreba prehrambenih dodataka, najčešće na bazi tzv. selenovog kvasca bogatog selenometioninom ili suplemenata sa natrijum-selenitom. Reaktivnost i biopristupačnost Se biljkama ne zavisi samo od njegovog ukupnog sadržaja, već i od hemijskih formi Se u zemljištu. Na distribuciju pojedinih oblika Se utiču osobine zemljišta kao što su: tip zemljišta, aeracija, sadržaj gline i organske materije i mikrobiološka aktivnost. Selenat, selenit i organskih jedinjenja relativno male molekulske mase su najbolji izvor Se za biljke (*Mihailović, 1996*).

Sadržaj Mo u ispitivanim uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,11-4,65 mg/kg i n.d.-1,52 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 0,079-0,35 mg/kg, odnosno n.d.-0,24 mg/kg; u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,050-0,290 mg/kg, odnosno 0,021-0,212 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Mo se kreće od 2 µg za odojčad; 22 µg za decu od 4-8 godina; 43 µg za adolescente i 45 µg za muškarce i žene (*Institute of Medicine, National*

Academy of Science, 2001). U trudnoći, preporučeni dnevni unos Mo iznosi 50 µg. Molibden se zbog svoje male koncentracije u biljkama ubraja u ultramikroelemente. Strukturna je komponenta nitrogenaze, koja je uključena u fiksaciju N₂ u formu amonijaka kod leguminoza (*Nardi i sar., 2009*).

Sadržaj V u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 1,75-7,9 mg/kg i n.d.-3,6 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 1,65-7,5 mg/kg, odnosno 1,254-3,84 mg/kg; u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,31-0,96 mg/kg, odnosno 0,11-0,67 mg/kg. Preporučena dnevna doza za V nije određena (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). Pretpostavlja se da utiče na stvaranje insulina. Zajedno sa kalajem učestvuje u metabolizmu masti. Utiče na pravilno funkcionisanje reproduktivnog sistema i proizvodnju testosterona. Sprečava stvaranje holesterola. Vanadijum u zemljištu potiče iz fertilizacije organskim i mineralnim fosforim đubrivima, iz industrijskih postrojenja, rudnika, termoelektrana, komunalnih otpadnih voda i iz izduvnih gasova automobila (*Nardi i sar., 2009*).

Sadržaj Ni u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,70-5,95 mg/kg i 0,33-2,73 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 0,74-3,95 mg/kg, odnosno 0,52-2,63 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreću u granicama 0,204-0,568 mg/kg, odnosno 0,105-0,191 mg/kg. Smatra se da je i Ni esencijalni element za organizam, iako kod ljudi nije uočen nedostatak nikla. Nikl se u hrani nalazi u malim koncentracijama (0,001-0,01 mg/kg). Ni se nalazi u gotovo svim zemljištima. U maloj koncentraciji je veoma značajan za rast biljke, dok je u visokim koncentracijama toksičan za biljku (*Brady i Weil., 1999; Peralta-Videa i sar., 2002*).

Sadržaj Cr u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,11-2,76 mg/kg i 0,062-0,321 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 0,24-2,34 mg/kg odnosno 0,0336-0,688 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,46-0,85 mg/kg, odnosno 0,41-0,62 mg/kg. Preporučeni dnevni unos Cr se kreće od 0,2 µg za odojčad, 15 µg za decu od 4-8 godina, 35 µg za adolescente i 25 µg za žene i 35 µg za muškarce. U trudnoći, preporučeni dnevni unos Cr iznosi oko 30 µg (*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2001*). Hrom zovu još i faktorom tolerancije glukoze - GTF (Glukose Tolerance Faktor), jer sa vitaminom B3 i pojedinim amino kiselinama gradi organske komplekse što pomaže i povećava ulazak šećera

u ćelije. Dokazano je, eksperimentalno, da se kod životinja koje se hrane samo šećerom posle izvesnog vremena javljaju znaci dijabetesa, a da nivo hroma opada. Unosom hrane koja sadrži trovalentni hrom simptomi dijabetesa isčezavaju. Poreklo hroma u zemljištu može da potiče iz matičnog supstrat na kome je zemljište formirano kao geohemijski izvor, iz antropogenih izvora kao što su proizvodi industrije, energetike, sagorevanja topionica i rudnika, saobraćaja, mineralnih i organskih đubriva, pesticida i otpadnih muljeva, krečni materijali i dr (*Kabata-Pendias i Pendias., 1992*). Sadržaj hroma u analiziranim uzorcima filter čajeva nije regulisan kako nacionalnim standardom, tako ni evropskim, ni svetskim regulativama.

Sadržaj Sn u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,69-1,29 mg/kg i n.d.-1,2 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 0,18-1,22 mg/kg, odnosno 0,123-0,82 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,58-0,89 mg/kg, odnosno 0,43-0,76 mg/kg. Kalaj je u ishrani prisutan u vrlo malim koncentracijama. Nalazi se gotovo u svakoj hrani. Kod neprerađene hrane nalazi se u koncentracijama manjim od 1 mg/kg. Veće koncentracije kalaja nađene su u hrani pakovanoj u folijama, gde dolazi do otapanja kalaja iz belog lima i stvaranja neorganskih jedinjenja, ili kompleksa sa kalajom. Prema WHO (1993), za neorganski kalaj, zbog niske toksičnosti, može se navesti koncentracija kalaja tri puta veća od one u vodi za piće. U kontekstu gore navedenog, nije potrebno donositi određene smernice za sadržaj kalaja u hrani. Kod normalne ishrane (bez konzumiranja hrane ili pića iz limenke) unosi se približno 0,2 mg kalaja na dan. Ukupni prosečni unos Sn iznosi 4 mg/dan (*Šarkanj, 2010*).

Sadržaj Sr u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 9,1-69 mg/kg i 2,11-17,4 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 51-580 mg/kg, odnosno 1,68-25,4 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 1,01-9,10 mg/kg, odnosno 0,58-6,1 mg/kg. Stroncijum i njegova jedinjenja (nitrat, peroksid) se ubrajaju u umereno toksična jedinjenja koja mogu izazvati reverzibilne i ireverzibilne promene na pojedinim organima (*Arsenijević, 1986*). Sr se nalazi u zemljinoj kori oko 0,02% i može da se okarakteriše kao simulator rasta nekih biljaka (*Filipović, 1988*).

Sadržaj Ba u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 4,04-60 mg/kg i 1,11-30,02 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 11,2-69 mg/kg, odnosno 1,32-38,4 mg/kg i u

filter čajevima od aronije se kreće u granicama 1,48-9,62 mg/kg, odnosno 0,92-6,64 mg/kg. Barijum je otrovan ukoliko se nalazi u vodorastvornim solima. Akutna izloženost barijumu dovodi do gastrointestinalnih, neuromišičnih i kardioloških efekata kod životinja i ljudi. Visoka izloženost životinja barijumu je povezana sa hipertenzijom i kardiotoksičnošću.

Sadržaj Sb u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,53-1,65 mg/kg i 0,271-1,53 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 11,28-1,88 mg/kg, odnosno 0,48-1,23 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama n.d.-0,66 mg/kg, odnosno n.d.-0,121 mg/kg. Antimon je veoma malo zastupljen u zemljinoj kori. Gradi mineral stibnit (Sb_2S_3) i druge sulfide. Smatra se da je toksičan element, ali pošto su njegova jedinjenja uglavnom nerastvorna, obično ne predstavlja ozbiljniji problem za životnu sredinu (Kolomejceva-Jovanović, 2010). Izvor zagađenja životne sredine antimonom su otpadne vode pri postupcima dobijanja stakla i metala (WHO, 2003). Zemljišta u industrijskim područjima mogu biti veoma zagađena antimonom (Kolomejceva-Jovanović, 2010).

Sadržaj Cd u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,051-0,749 mg/kg i n.d.-0,311 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama 0,055-0,165 mg/kg, odnosno 0,0012-0,0341 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,035-0,059 mg/kg, odnosno 0,015-0,039 mg/kg. Kadmijum iz zemljišta uglavnom se zadržava u korenu biljke. Joni Ca^{2+} i Zn^{2+} inhibiraju kadmijum (Kabata-Pendias i Pendias., 2001). Osnovni izvori zagađivanja zemljišta kadmijumom su: atmosferska depozicija, industrijski i komunalni otpad, fosfatna đubriva, kanalizacijski mulj, rude i topionice cinka (Lončarić i sar., 2012). Maksimalno dozvoljena koncentracija kadmijuma u hrani je 0,3 mg/kg (WHO, 1998), a u crnom čaju 0,2 ppm (Ashraf i Mian, 2008; Commission Regulation, 2006). Kadmijum u hranu dolazi iz prirodnih izvora. Pirinač i pšenica mogu da akumuliraju kadmijum iz zemlje. U organizmu, on može da zameni cink, kalijum i kalcijum, pa ga je teško ukloniti. Prema Američkoj administraciji za hranu i lekove (US FDA, 2001), maksimalno dozvoljena koncentracija kadmijuma u biljnom materijalu je 0,3 mg/kg. Koncentracije Cd u svim ispitivanim uzorcima filter čajeva su ispod MDK vrednosti propisane od strane Američke administracije za hranu i lekove.

Sadržaj Pb u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva dobijen mokrom digestijom i pripremom infuza se kreće u granicama 0,47-1,64 mg/kg i n.d.-1,12 mg/kg; u voćnim filter čajevima se kreće u granicama n.d.-1,06 mg/kg, odnosno n.d.-0,361 mg/kg i u filter čajevima od aronije se kreće u granicama 0,53-2,04 mg/kg, odnosno 0,15-0,98 mg/kg. Izvori olova u zemljištu, pa prema tome i u biljkama mogu biti atmosferski depozit, izduvni gasovi vozila, otpadni muljevi, rudnici i topionice. Biljke usvajaju Pb iz zemljišta, vode i atmosferskih taloga, i to u vidu Pb^{2+} ili organskih jedinjenja (npr. tetraetil olovo). Mehanizam usvajanja ovog elementa nije još uvek dovoljno poznat. U većim koncentracijama inhibira izduživanje korena, rast lisne površine i intenzitet fotosinteze (*Kastori i Petrović, 1993*). Takođe, Pb se taloži u kostima, a manjim delom u jetri, bubrezima i mekim tkivima. Prama *Pravilniku o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstanci, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama* (Službeni glasnik Republike Srbije br. 25/2010 i 28/2011), maksimalno dozvoljena koncentracija (MDK) olova u čajevima je 2 mg/kg. Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (*WHO, 1998*) i Američkoj administraciji za hranu i lekove (US FDA, 2001), maksimalno dozvoljena koncentracija olova u biljnom materijalu je 10 mg/kg. Koncentracije Pb u svim ispitivanim uzorcima filter čajeva su ispod MDK vrednosti, propisanih nacionalnim i svetskim regulativama.

Tabela 4.9.9. Sadržaj (mg/kg) mikroelemenata u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)

Uzorak	Zn	RSD	Fe	RSD	Se	RSD	Cu	RSD	Mo	RSD	Cr	RSD
		%		%		%		%		%		%
Crni čaj	17,5 ± 0,1	0,57	96,5 ± 0,1	0,10	17,3 ± 0,1	0,58	19,01 ± 0,06	0,32	0,15 ± 0,01	6,67	0,78 ± 0,01	1,28
Zeleni čaj	3,2 ± 0,2	6,25	135 ± 1	0,74	1,5 ± 0,1	6,67	16,9 ± 0,1	0,59	0,13 ± 0,01	7,69	0,66 ± 0,01	1,52
Čaj od uve	31,1 ± 0,2	0,64	2574 ± 17	0,66	1,8 ± 0,1	5,56	6,33 ± 0,05	0,79	2,04 ± 0,03	1,47	2,76 ± 0,05	1,81
Čaj od kantariona	27,1 ± 0,1	0,37	14,9 ± 0,1	0,67	1,66 ± 0,08	4,82	8,99 ± 0,06	0,67	0,32 ± 0,01	3,13	0,93 ± 0,02	2,15
Čaj od hibiskusa	79 ± 1	1,27	431 ± 1	0,23	2,1 ± 0,1	4,76	6,15 ± 0,07	1,14	1,06 ± 0,02	1,89	1,36 ± 0,03	2,21
Čaj od majčine dušice	35,4 ± 0,1	0,28	822 ± 2	0,24	1,37 ± 0,04	2,92	6,26 ± 0,03	0,48	0,23 ± 0,01	4,35	2,07 ± 0,04	1,93
Rtanjski čaj	44 ± 2	4,55	466 ± 4	0,86	1,32 ± 0,08	6,06	5,51 ± 0,02	0,36	0,51 ± 0,02	3,92	1,88 ± 0,04	2,13
Čaj od koprive	38,3 ± 0,3	0,78	105 ± 1	0,95	1,17 ± 0,01	0,85	6,97 ± 0,03	0,43	0,67 ± 0,02	2,99	1,28 ± 0,03	2,34
Čaj od šipka	13,9 ± 0,1	0,72	89 ± 1	1,12	18,2 ± 1,1	6,04	5,62 ± 0,02	0,36	0,11 ± 0,01	9,09	0,56 ± 0,02	3,57
Čaj od zove	12,9 ± 0,1	0,78	79 ± 3	3,80	2,39 ± 0,08	3,35	8,08 ± 0,05	0,62	0,16 ± 0,01	6,25	0,36 ± 0,01	2,78
Čaj od lipe	26,7 ± 0,1	0,37	58 ± 1	1,72	0,13 ± 0,01	7,69	9,1 ± 0,1	1,10	0,70 ± 0,02	2,86	0,60 ± 0,02	3,33
Čaj od žalfije	39,1 ± 0,1	0,26	922 ± 4	0,43	17,0 ± 0,1	0,59	6,3 ± 0,3	4,76	4,65 ± 0,02	0,43	1,88 ± 0,04	2,13
Čaj od mente	29 ± 3	10,34	532 ± 4	0,75	1,89 ± 0,07	3,70	6,7 ± 0,1	1,49	0,66 ± 0,02	3,03	0,11 ± 0,01	9,09
Čaj od hajdučke trave	17,8 ± 0,1	0,56	181 ± 2	1,10	1,7 ± 0,1	5,88	5,77 ± 0,08	1,39	0,33 ± 0,01	3,03	0,54 ± 0,01	1,85
Čaj od kamilice	14,3 ± 0,1	0,70	153 ± 1	0,65	1,75 ± 0,05	2,86	10,63 ± 0,01	0,09	0,25 ± 0,01	4,00	0,77 ± 0,02	2,60

Tabela 4.9.9. Nastavak

Uzorak	Mn	RSD	Ni	RSD	V	RSD	Sn	RSD	Sr	RSD
		%		%		%		%		%
Crni čaj	6435 ± 5	0,08	1,03 ± 0,01	0,97	2,20 ± 0,02	0,91	0,76 ± 0,03	3,95	69 ± 1	1,45
Zeleni čaj	6517 ± 7	0,11	5,95 ± 0,03	0,50	n.d.*	-	0,71 ± 0,04	5,63	19 ± 2	10,53
Čaj od uve	86 ± 1	1,16	1,92 ± 0,1	5,21	n.d.	-	8,8 ± 0,3	3,41	59 ± 1	1,69
Čaj od kantariona	57 ± 1	1,75	1,99 ± 0,01	0,50	3,31 ± 0,06	1,81	1,02 ± 0,01	0,98	12,5 ± 0,1	0,80
Čaj od hibiskusa	493 ± 3	0,61	3,95 ± 0,02	0,51	4,4 ± 0,4	9,09	1,29 ± 0,02	1,55	67 ± 1	1,49
Čaj od majčine dušice	87 ± 1	1,15	2,16 ± 0,02	0,93	2,98 ± 0,03	1,01	0,81 ± 0,09	11,11	16 ± 0,1	0,63
Rtanjski čaj	41 ± 2	4,88	2,79 ± 0,04	1,43	1,75 ± 0,02	1,14	0,80 ± 0,01	1,25	16,8 ± 0,2	1,19
Čaj od koprive	26 ± 1	3,85	1,03 ± 0,03	2,91	3,7 ± 0,1	2,70	1,15 ± 0,01	0,87	46 ± 1	2,17
Čaj od šipka	126 ± 1	0,79	1,64 ± 0,01	0,61	3,9 ± 0,4	10,26	0,091 ± 0,004	4,40	43,5 ± 0,3	0,69
Čaj od zove	28 ± 1	3,57	0,70 ± 0,02	2,86	7,9 ± 0,2	2,53	0,88 ± 0,03	3,41	9,1 ± 0,1	1,10
Čaj od lipa	104 ± 1	0,96	1,11 ± 0,02	1,80	6,5 ± 0,2	3,08	0,69 ± 0,01	1,45	27,5 ± 0,3	1,09
Čaj od žalfije	65 ± 3	4,62	1,70 ± 0,01	0,59	n.d.	-	0,95 ± 0,05	5,26	25,3 ± 0,5	1,98
Čaj od mente	73 ± 1	1,37	1,53 ± 0,03	1,96	4,0 ± 0,1	2,50	0,84 ± 0,04	4,76	23,5 ± 0,2	0,85
Čaj od hajdučke trave	45 ± 1	2,22	1,26 ± 0,01	0,79	4,9 ± 0,3	6,12	0,81 ± 0,06	7,41	16,6 ± 0,2	1,20
Čaj od kamilice	48 ± 1	2,08	1,38 ± 0,02	1,45	6,41 ± 0,01	0,16	0,85 ± 0,06	7,06	11,1 ± 0,3	2,70

* nije detektovan

Tabela 4.9.9. Nastavak

Uzorak	Al	RSD	Cd	RSD	Ba	RSD	Pb	RSD	Sb	RSD
		%		%		%		%		%
Crni čaj	1358 ± 9	0,66	0,099 ± 0,005	5,05	59 ± 2	3,39	1,34 ± 0,03	2,24	1,21 ± 0,02	1,65
Zeleni čaj	1538 ± 7	0,46	0,115 ± 0,005	4,35	36 ± 1	2,78	1,14 ± 0,1	8,77	1,54 ± 0,01	0,65
Čaj od uve	784 ± 10	1,28	0,092 ± 0,006	6,52	40 ± 1	2,50	0,96 ± 0,02	2,08	1,61 ± 0,01	0,62
Čaj od kantariona	34 ± 1	2,94	0,53 ± 0,01	1,89	16,7 ± 0,2	1,20	0,47 ± 0,03	6,38	1,01 ± 0,02	1,98
Čaj od hibiskusa	247 ± 2	0,81	0,245 ± 0,005	2,04	52 ± 2	3,85	1,15 ± 0,05	4,35	1,09 ± 0,02	1,83
Čaj od majčine dušice	976 ± 3	0,31	0,205 ± 0,006	2,93	21 ± 1	4,76	1,64 ± 0,03	1,83	0,95 ± 0,01	1,05
Rtanjski čaj	457 ± 1	0,22	0,220 ± 0,005	2,27	37 ± 1	2,70	1,54 ± 0,09	5,84	1,13 ± 0,02	1,77
Čaj od koprive	114 ± 1	0,88	0,749 ± 0,008	1,07	47 ± 2	4,26	1,62 ± 0,01	0,62	0,53 ± 0,01	1,89
Čaj od šipka	70 ± 1	1,43	0,749 ± 0,004	0,53	60 ± 2	3,33	1,07 ± 0,06	5,61	1,17 ± 0,02	1,71
Čaj od zove	48 ± 3	6,25	0,080 ± 0,005	6,25	21 ± 1	4,76	0,78 ± 0,04	5,13	1,56 ± 0,03	1,92
Čaj od lipe	53 ± 1	1,89	0,109 ± 0,005	4,59	39 ± 1	2,56	1,09 ± 0,01	0,92	1,41 ± 0,03	2,13
Čaj od žalfije	754 ± 6	0,80	0,249 ± 0,007	2,81	25 ± 2	8,00	1,61 ± 0,03	1,86	1,04 ± 0,02	1,92
Čaj od mente	408 ± 14	3,43	0,051 ± 0,005	9,80	12,2 ± 0,1	0,82	1,39 ± 0,02	1,44	1,46 ± 0,03	2,05
Čaj od hajdučke trave	142 ± 2	1,41	0,098 ± 0,004	4,08	13,1 ± 0,1	0,76	1,36 ± 0,08	5,88	1,65 ± 0,03	1,81
Čaj od kamilice	191 ± 1	0,52	0,170 ± 0,004	2,35	4,04 ± 0,03	0,74	0,59 ± 0,07	11,86	1,58 ± 0,03	1,90

Tabela 4.9.10. Sadržaj (mg/kg) mikroelemenata u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Uzorak	Zn	RSD (%)	Fe	RSD (%)	Se	RSD (%)	Cu	RSD (%)	Mo	RSD (%)	Cr	RSD (%)
Crni čaj	12,4 ± 0,1	0,80	3,01 ± 0,04	1,33	9,3 ± 0,1	1,08	5,72 ± 0,03	0,52	n.d.*	-	0,21 ± 0,01	4,76
Zeleni čaj	2,2 ± 0,1	4,55	118,8 ± 0,1	0,08	1,21 ± 0,02	1,65	5,3 ± 0,1	1,89	1,52 ± 0,01	0,66	0,202 ± 0,004	1,98
Čaj od uve	21,2 ± 0,2	0,94	2,21 ± 0,02	0,90	1,5 ± 0,1	6,67	2,61 ± 0,03	1,15	n.d.	-	0,15 ± 0,01	6,67
Čaj od kantariona	8,8 ± 0,1	1,14	10,2 ± 0,3	2,94	0,91 ± 0,02	2,20	3,24 ± 0,03	0,93	n.d.	-	0,26 ± 0,01	3,84
Čaj od hibiskusa	8,3 ± 0,1	1,20	2,62 ± 0,04	1,53	0,72 ± 0,01	1,39	1,72 ± 0,05	2,91	0,031 ± 0,001	3,22	0,16 ± 0,01	6,25
Čaj od majčine dušice	11,4 ± 0,1	0,88	2,73 ± 0,02	0,73	0,84 ± 0,02	2,38	2,31 ± 0,03	1,30	n.d.	-	0,21 ± 0,01	4,76
Rtanjski čaj	16,2 ± 0,1	0,62	2,61 ± 0,04	1,53	0,92 ± 0,02	2,17	3,02 ± 0,03	0,99	0,186 ± 0,003	1,61	0,15 ± 0,01	6,67
Čaj od koprive	17,3 ± 0,1	0,58	13,9 ± 0,1	0,71	0,63 ± 0,03	4,46	3,11 ± 0,02	0,64	n.d.	-	0,21 ± 0,02	9,52
Čaj od šipka	7,1 ± 0,1	1,41	2,72 ± 0,02	0,73	2,01 ± 0,1	4,97	1,87 ± 0,01	0,53	n.d.	-	0,22 ± 0,01	4,54
Čaj od zove	5,7 ± 0,1	1,75	4,61 ± 0,02	0,43	1,1 ± 0,1	9,09	2,406 ± 0,003	0,12	0,066 ± 0,003	4,54	0,15 ± 0,01	6,67
Čaj od lipe	1,83 ± 0,01	0,55	0,93 ± 0,05	5,38	n.d.	-	1,12 ± 0,03	2,68	n.d.	-	0,321 ± 0,01	3,11
Čaj od žalfije	5,22 ± 0,03	0,57	2,81 ± 0,02	0,71	1,1 ± 0,1	9,09	1,93 ± 0,03	1,55	n.d.	-	0,17 ± 0,01	5,88
Čaj od mente	7,53 ± 0,02	0,27	45 ± 1	2,22	1,4 ± 0,1	7,14	2,31 ± 0,03	1,30	n.d.	-	0,063 ± 0,003	4,76
Čaj od hajdučke trave	6,03 ± 0,01	0,17	21,7 ± 0,1	0,46	1,52 ± 0,02	1,32	3,972 ± 0,002	0,05	n.d.	-	0,13 ± 0,01	7,69
Čaj od kamilice	5,62 ± 0,03	0,53	5,1 ± 0,1	1,96	1,1 ± 0,1	9,09	3,21 ± 0,02	0,62	0,12 ± 0,01	8,33	0,18 ± 0,01	5,56

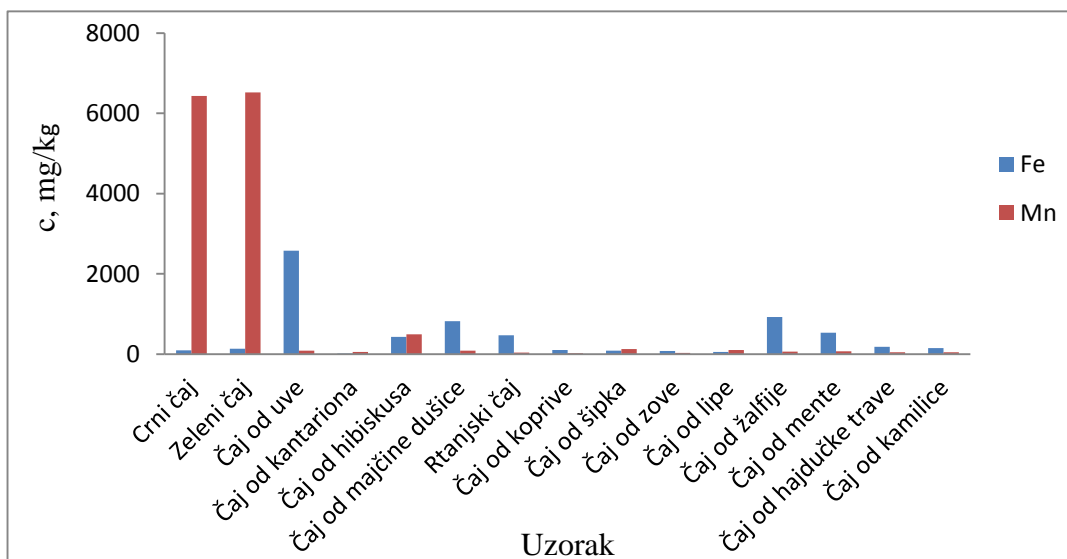
Tabela 4.9.10. Nastavak

Uzorak	Mn	RSD	Ni	RSD	V	RSD	Sn	RSD	Sr	RSD
		%		%		%		%		%
Crni čaj	176 ± 2	1,13	0,61 ± 0,02	3,28	1,251 ± 0,004	0,32	0,18 ± 0,01	5,56	4,11 ± 0,02	0,49
Zeleni čaj	36,1 ± 0,1	0,27	2,73 ± 0,03	1,10	n.d.	-	0,511 ± 0,002	0,39	9,802 ± 0,004	0,04
Čaj od uve	25 ± 1	4,00	0,66 ± 0,01	1,51	n.d.	-	1,11 ± 0,1	0,90	4,6 ± 0,1	2,17
Čaj od kantariona	45,3 ± 0,7	1,54	1,086 ± 0,003	0,28	1,6 ± 0,2	12,5	0,513 ± 0,01	1,94	9,54 ± 0,08	0,84
Čaj od hibiskusa	44 ± 1	2,27	2,21 ± 0,01	0,45	2,1 ± 0,1	4,76	0,52 ± 0,03	5,77	5,82 ± 0,05	0,86
Čaj od majčine dušice	17,1 ± 0,2	1,17	1,21 ± 0,02	1,65	2,2 ± 0,1	4,54	0,252 ± 0,005	1,98	7,4 ± 0,1	1,35
Rtanjski čaj	6,1 ± 0,1	1,64	0,33 ± 0,03	9,09	1,61 ± 0,01	0,62	n.d.	-	8,11 ± 0,05	0,61
Čaj od koprive	25,8 ± 0,2	0,77	0,40 ± 0,01	2,5	3,6 ± 0,1	2,78	1,2 ± 0,1	8,33	17,4 ± 0,2	1,15
Čaj od šipka	40,4 ± 0,2	0,50	0,986 ± 0,004	0,41	1,63 ± 0,02	1,23	0,056 ± 0,002	3,57	2,11 ± 0,01	0,47
Čaj od zove	11,01 ± 0,04	0,36	0,62 ± 0,01	1,61	3,13 ± 0,03	0,96	0,51 ± 0,03	5,88	2,12 ± 0,02	0,94
Čaj od lipe	11,02 ± 0,03	0,27	0,43 ± 0,01	2,32	2,1 ± 0,1	4,76	0,41 ± 0,02	4,87	2,31 ± 0,01	0,43
Čaj od žalfije	23,1 ± 0,1	0,43	0,41 ± 0,02	4,88	n.d.	-	0,62 ± 0,01	1,92	8,6 ± 0,1	1,16
Čaj od mente	29,3 ± 0,2	0,68	1,11 ± 0,01	0,90	2,58 ± 0,03	1,16	0,73 ± 0,01	1,37	13,5 ± 0,1	0,74
Čaj od hajdučke trave	11 ± 1	9,09	0,74 ± 0,01	1,35	1,3 ± 0,1	7,69	0,81 ± 0,01	1,23	4,32 ± 0,01	0,23
Čaj od kamilice	15,1 ± 0,4	2,65	1,22 ± 0,01	0,82	1,61 ± 0,01	0,62	0,72 ± 0,02	2,78	4,13 ± 0,02	0,48

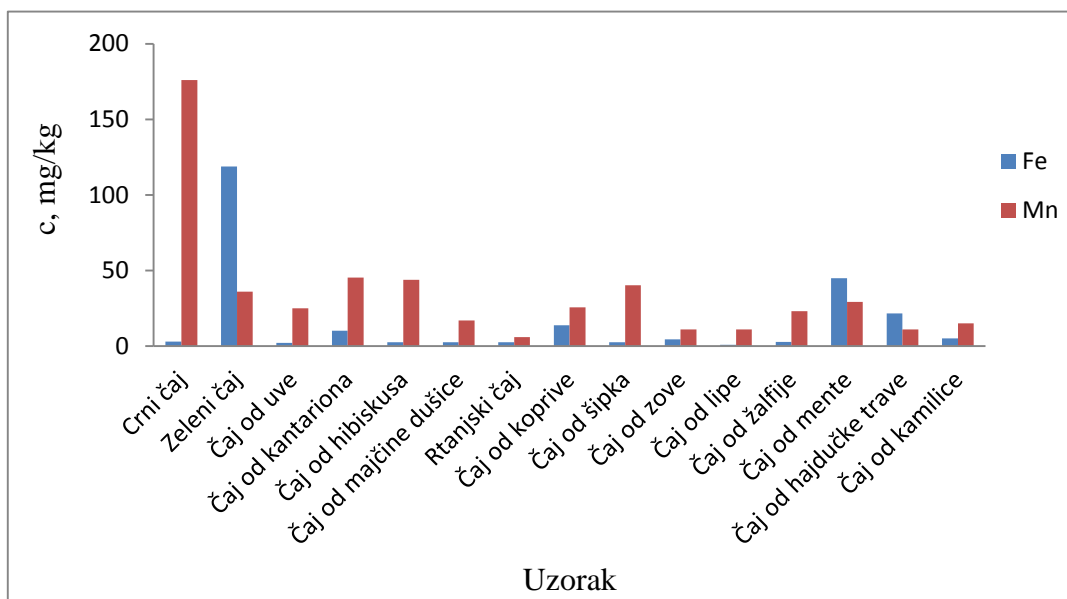
Tabela 4.9.10. Nastavak

Uzorak	Al	RSD %	Cd	RSD %	Ba	RSD %	Pb	RSD %	Sb	RSD %
Crni čaj	555 ± 6	1,18	0,08 ± 0,01	12,50	3,21 ± 0,01	0,31	0,51 ± 0,01	1,96	0,551 ± 0,002	0,36
Zeleni čaj	2,1 ± 0,1	4,76	0,082 ± 0,002	2,44	30,02 ± 0,05	0,17	0,483 ± 0,003	0,62	0,271 ± 0,006	2,21
Čaj od uve	2,4 ± 0,1	4,17	0,12 ± 0,01	8,33	2,63 ± 0,05	1,90	0,66 ± 0,01	1,52	0,54 ± 0,01	1,85
Čaj od kantariona	14,8 ± 0,2	1,35	0,11 ± 0,01	9,09	11,4 ± 0,2	1,75	0,246 ± 0,003	1,22	0,72 ± 0,05	6,94
Čaj od hibiskusa	4,61 ± 0,03	0,65	0,11 ± 0,01	9,09	23,21 ± 0,05	0,21	0,31 ± 0,01	3,22	1,31 ± 0,02	1,52
Čaj od majčine dušice	6,32 ± 0,01	0,16	0,12 ± 0,01	8,33	9,1 ± 0,1	1,10	1,12 ± 0,03	2,68	0,72 ± 0,001	0,14
Rtanjski čaj	2,5 ± 0,1	4,00	0,13 ± 0,01	7,69	2,13 ± 0,02	0,94	0,51 ± 0,04	7,84	1,53 ± 0,05	3,27
Čaj od koprive	13,3 ± 0,2	1,50	0,311 ± 0,001	0,32	15,2 ± 0,2	1,32	0,611 ± 0,006	0,98	1,11 ± 0,02	1,80
Čaj od šipka	53,4 ± 0,2	0,37	0,012 ± 0,001	8,33	2,14 ± 0,02	0,93	0,64 ± 0,01	1,56	1,02 ± 0,01	0,98
Čaj od zove	2,3 ± 0,1	4,35	0,021 ± 0,001	4,76	1,82 ± 0,01	0,55	0,83 ± 0,01	1,20	0,45 ± 0,01	2,22
Čaj od lipe	1,42 ± 0,03	2,11	n.d.	-	1,71 ± 0,01	0,59	n.d.	-	0,55 ± 0,01	1,82
Čaj od žalfije	7,1 ± 0,1	1,41	0,013 ± 0,001	7,69	5,21 ± 0,02	0,38	n.d.	-	0,84 ± 0,01	1,19
Čaj od mente	5,51 ± 0,02	0,36	0,013 ± 0,001	7,69	4,13 ± 0,04	0,97	0,21 ± 0,01	4,76	1,21 ± 0,01	0,83
Čaj od hajdučke trave	3,1 ± 0,1	3,22	0,026 ± 0,002	7,69	2,14 ± 0,01	0,47	0,22 ± 0,02	9,09	1,5 ± 0,1	6,67
Čaj od kamilice	7,4 ± 0,1	1,35	0,014 ± 0,001	7,14	1,11 ± 0,01	0,90	0,43 ± 0,03	6,99	1,23 ± 0,01	0,81

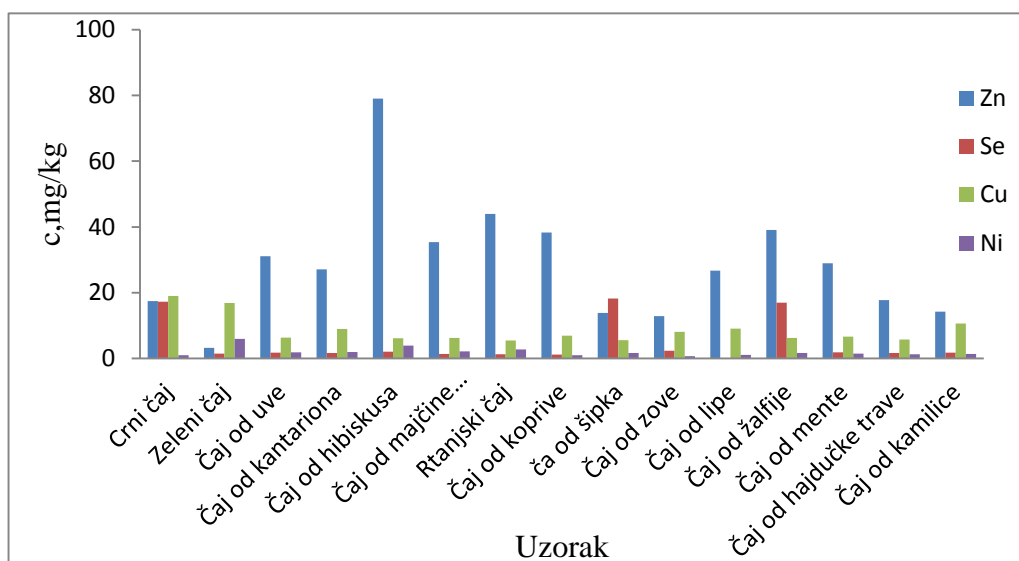
* nije detektovan



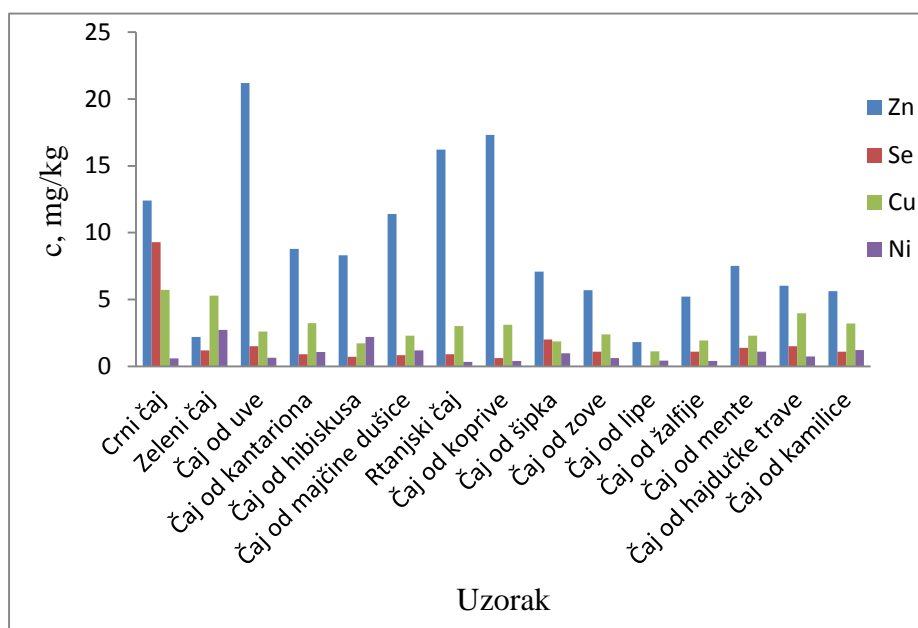
Slika 4.9.7. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



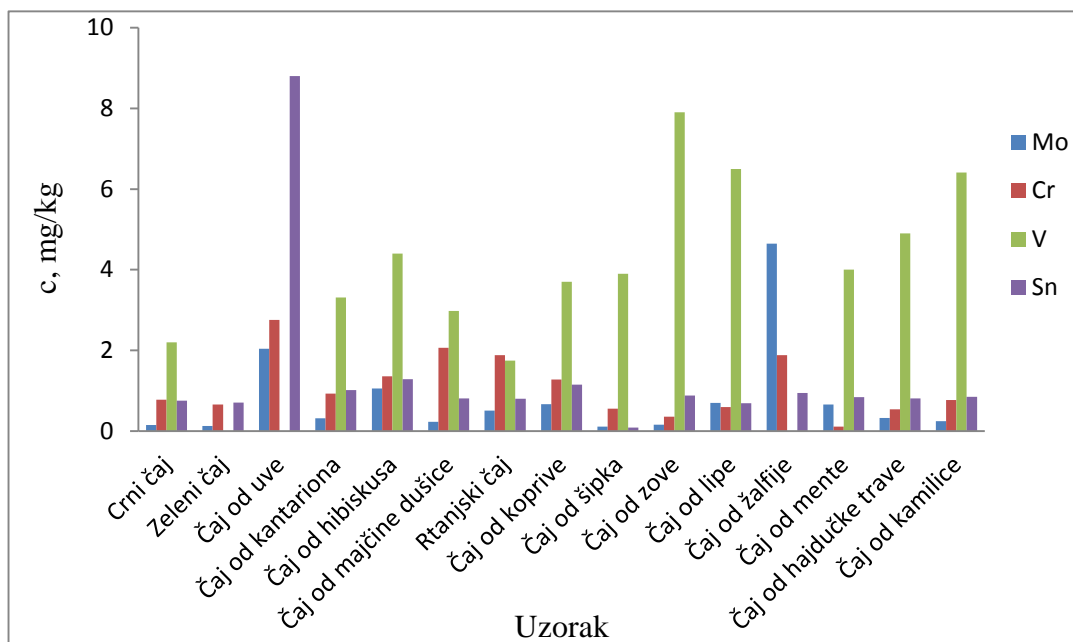
Slika 4.9.8. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



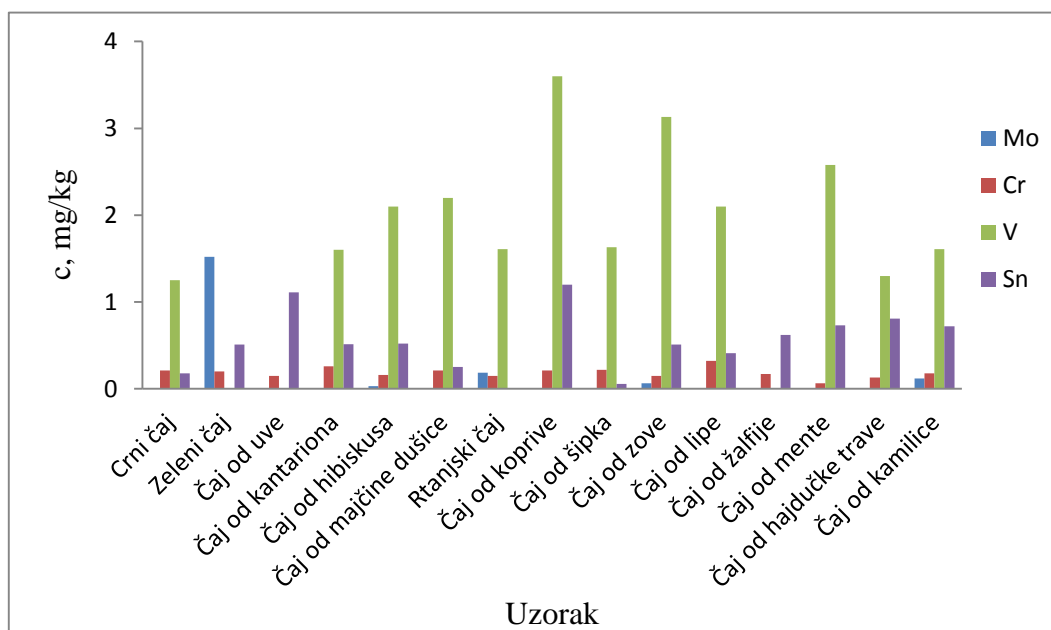
Slika 4.9.9. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



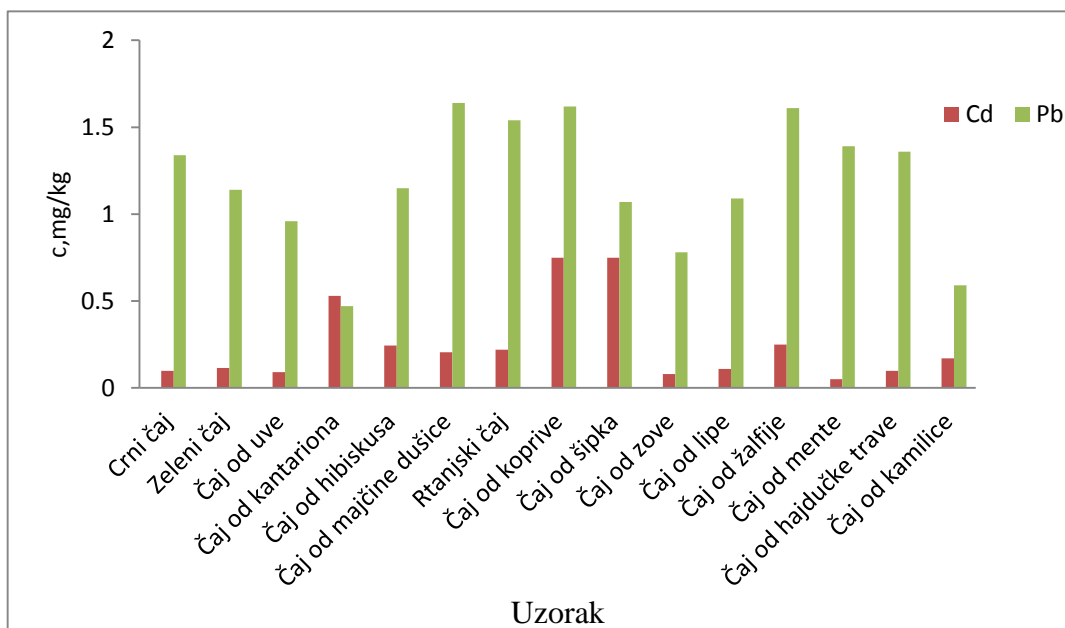
Slika 4.9.10. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



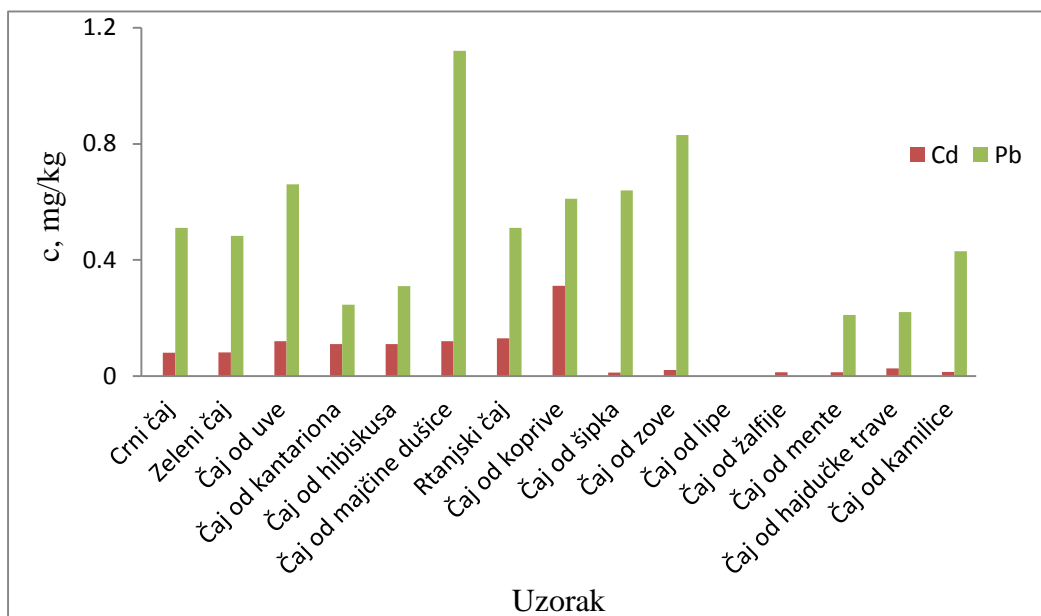
Slika 4.9.11. Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



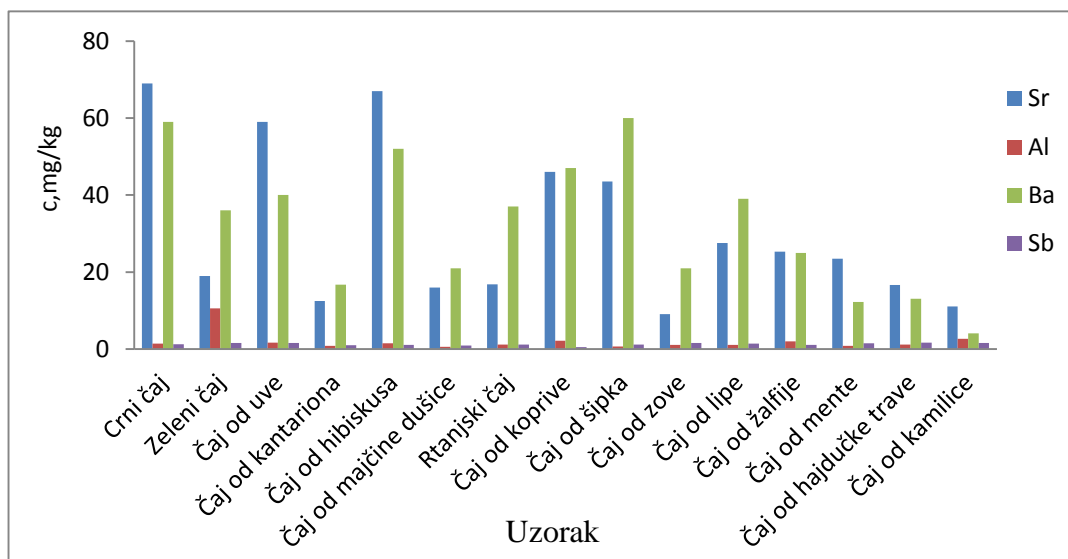
Slika 4.9.12. Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



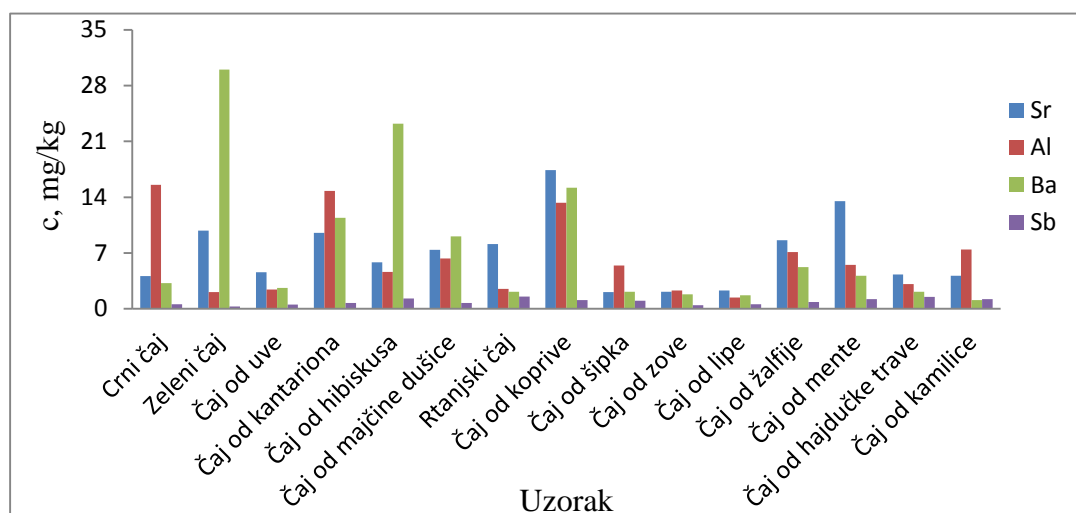
Slika 4.9.13. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.14. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima crnog zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



Slika 4.9.15. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.16. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Tabela 4.9.11. Sadržaj mikroelemenata (mg/kg) u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)

Uzorak	Zn	RSD	Fe	RSD	Se	RSD	Cu	RSD	Mo	RSD	Cr	RSD
		%		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	15,7 ± 0,1	0,64	162±1	0,62	1,75±0,04	2,28	9,4±0,1	1,06	0,081±0,002	2,50	1,83±0,04	2,18
Čaj od jagode	1,8 ± 0,2	11,11	151±2	1,32	1,77±0,06	3,39	3,8±0,1	2,63	0,31±0,02	6,45	2,34±0,05	2,14
Čaj od maline	17,4 ± 0,1	0,57	172±1	0,58	2,11±0,01	0,47	9,4±0,1	1,06	0,12±0,01	8,33	1,83±0,04	2,18
Čaj od šumskog voća	13,9 ± 0,1	0,72	63±1	1,59	1,68±0,07	4,17	3,11±0,02	0,64	0,12±0,02	16,67	0,57±0,02	3,51
Čaj od kajsije	12,6 ± 0,2	1,59	4,7±0,4	8,51	2,36±0,07	2,96	3,30±0,01	0,30	0,28±0,02	7,14	0,24±0,01	4,17
Čaj od divlje trešnje	11,5 ± 0,1	0,88	53±1	1,88	20,1±0,5	2,49	2,91±0,01	0,34	0,11±0,02	18,18	0,24±0,01	4,17
Čaj od borovnice	20,4 ± 0,2	0,98	51±1	1,96	2,25±0,05	2,22	3,01±0,1	3,32	0,16±0,01	6,25	0,28±0,01	3,57
Čaj od jabuke sa cimetom	25,3 ± 0,2	0,79	90±1	1,11	2,01±0,05	2,49	3,1±0,1	3,23	0,12±0,02	16,67	0,38±0,02	5,26
Čaj od nara	26,6 ± 0,2	0,75	103±1	0,97	2,06±0,05	2,42	3,2±0,1	3,13	0,17±0,01	5,88	0,43±0,02	4,65
Čaj od ananasa	17,1 ± 0,1	0,58	62,2±0,1	0,16	1,57±0,09	5,73	6,2±0,1	1,61	0,12±0,01	8,33	0,33±0,01	3,03
Čaj od južnog voća	13,9 ± 0,1	0,72	63±1	1,58	1,86±0,05	2,69	3,4±0,1	2,94	0,35±0,02	5,71	0,33±0,01	3,03

Tabela 4.9.11. Nastavak

Uzorak	Mn	RSD	Ni	RSD	V	RSD	Sn	RSD	Sr	RSD
		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	580 ± 16	2,76	2,36 ± 0,04	1,69	1,65 ± 0,02	1,21	0,76 ± 0,03	3,94	580 ± 16	2,76
Čaj od jagode	121 ± 2	1,65	2,10 ± 0,02	0,95	3,8 ± 0,02	0,53	0,89 ± 0,03	3,37	121 ± 2	1,65
Čaj od maline	611 ± 6	0,98	3,72 ± 0,02	0,53	1,86 ± 0,04	2,15	0,18 ± 0,01	5,55	611 ± 6	0,98
Čaj od šumskog voća	74 ± 1	1,35	1,01 ± 0,02	1,98	4,0 ± 0,1	2,50	1,05 ± 0,03	2,86	74 ± 1	1,35
Čaj od kajsije	75 ± 1	1,33	0,74 ± 0,02	2,70	5,3 ± 0,1	1,89	1,22 ± 0,04	3,28	75 ± 1	1,33
Čaj od divlje trešnje	86 ± 1	1,16	1,08 ± 0,02	1,85	5,1 ± 0,1	1,96	1,08 ± 0,02	1,85	86 ± 1	1,16
Čaj od borovnice	143 ± 2	1,39	1,35 ± 0,01	0,74	5,0 ± 0,1	2,00	1,13 ± 0,05	4,42	143 ± 2	1,40
Čaj od jabuke sa cimetom	98 ± 2	2,04	3,95 ± 0,02	0,50	3,9 ± 0,1	2,56	1,08 ± 0,02	1,85	98 ± 2	2,04
Čaj od nara	115 ± 1	0,87	1,16 ± 0,01	0,86	5,15 ± 0,01	0,19	0,99 ± 0,01	1,01	115 ± 1	0,87
Čaj od ananasa	78 ± 2	2,56	1,02 ± 0,02	1,96	4,5 ± 0,1	2,22	1,01 ± 0,03	2,97	78 ± 2	2,56
Čaj od južnog voća	51 ± 2	3,92	1,43 ± 0,01	0,70	7,5 ± 0,1	1,33	0,88 ± 0,05	5,68	51 ± 2	3,92

Tabela 4.9.11. Nastavak

Uzorak	Al	RSD	Cd	RSD	Ba	RSD	Pb	RSD	Sb	RSD
		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	753 ± 3	0,39	0,055 ± 0,003	5,45	19,2 ± 0,1	0,52	1,03 ± 0,03	2,91	1,88 ± 0,05	2,66
Čaj od jagode	39 ± 1	2,56	0,099 ± 0,005	5,05	69 ± 2	2,89	0,71 ± 0,06	8,45	1,28 ± 0,02	1,56
Čaj od maline	712 ± 3	0,42	0,065 ± 0,005	7,69	20 ± 1	5,00	1,06 ± 0,01	0,94	1,74 ± 0,04	2,30
Čaj od šumskog voća	40 ± 1	2,50	0,079 ± 0,004	5,06	34 ± 1	2,94	0,45 ± 0,09	20,00	1,69 ± 0,04	2,37
Čaj od kajsije	25,1 ± 0,2	0,79	0,105 ± 0,004	3,81	19 ± 1	5,26	0,44 ± 0,08	18,18	1,58 ± 0,04	2,53
Čaj od divlje trešnje	24,7 ± 0,3	1,21	0,080 ± 0,004	5,00	30 ± 1	3,33	n.d.*	-	1,32 ± 0,02	1,51
Čaj od borovnice	29,2 ± 0,2	0,68	0,089 ± 0,005	5,62	59 ± 2	3,40	0,46 ± 0,04	8,69	1,71 ± 0,05	2,92
Čaj od jabuke sa cimetom	41,1 ± 0,4	0,97	0,085 ± 0,005	5,88	42 ± 1	2,38	0,64 ± 0,04	6,25	1,57 ± 0,04	2,55
Čaj od nara	41,3 ± 0,2	0,48	0,075 ± 0,004	5,33	49 ± 2	4,08	0,78 ± 0,05	6,41	1,47 ± 0,03	2,04
Čaj od ananasa	28,1 ± 0,3	1,07	0,070 ± 0,006	8,57	29 ± 1	3,45	0,30 ± 0,02	6,67	1,52 ± 0,04	2,63
Čaj od južnog voća	75,2 ± 0,3	0,40	0,165 ± 0,005	3,03	11,2 ± 0,1	0,89	0,53 ± 0,06	11,32	1,29 ± 0,02	1,55

* nije detektovan

Tabela 4.9.12. Sadržaj mikroelemenata (mg/kg) u voćnim filter čajevima (postupak pripreme infuza)

Uzorak	Zn	RSD (%)	Fe	RSD (%)	Se	RSD (%)	Cu	RSD (%)	Mo	RSD (%)	Cr	RSD (%)
Čaj od višnje	12,1 ± 0,1	0,83	1,51 ± 0,01	0,66	1,3 ± 0,1	7,69	1,37 ± 0,02	1,46	n.d.*	-	0,0336 ± 0,0004	1,19
Čaj od jagode	1,41 ± 0,01	0,71	10,16 ± 0,03	0,30	1,1 ± 0,1	9,09	3,22 ± 0,02	0,62	0,17 ± 0,01	5,88	0,46 ± 0,01	2,17
Čaj od maline	5,2 ± 0,1	1,90	2,42 ± 0,02	0,82	n.d.	-	1,07 ± 0,01	0,93	0,10 ± 0,01	10,00	0,040 ± 0,001	2,50
Čaj od šumskog voća	9,4 ± 0,1	1,06	8,7 ± 0,1	1,15	1,1 ± 0,1	9,09	2,12 ± 0,01	0,47	n.d.	-	0,242 ± 0,002	0,83
Čaj od kajsije	7,6 ± 0,1	1,31	1,51 ± 0,01	0,66	1,46 ± 0,03	2,05	2,12 ± 0,02	0,94	0,24 ± 0,01	4,17	0,256 ± 0,002	0,78
Čaj od divlje trešnje	3,39 ± 0,03	0,88	9,1 ± 0,1	1,10	n.d.	-	1,23 ± 0,02	1,63	n.d.	-	0,346 ± 0,002	0,58
Čaj od borovnice	13,8 ± 0,1	0,72	23,1 ± 0,2	0,87	1,61 ± 0,03	1,86	1,06 ± 0,01	0,94	n.d.	-	0,518 ± 0,002	0,39
Čaj od jabuke sa cimetom	16,5 ± 0,3	1,81	19,2 ± 0,1	0,52	1,01 ± 0,01	0,99	3,01 ± 0,02	0,66	n.d.	-	0,338 ± 0,002	0,59
Čaj od nara	19,3 ± 0,1	0,51	20,2 ± 0,1	0,50	1,83 ± 0,02	1,09	2,8 ± 0,1	3,57	n.d.	-	0,444 ± 0,004	0,90
Čaj od ananasa	8,6 ± 0,1	1,16	1,31 ± 0,01	0,76	0,72 ± 0,04	5,56	0,81 ± 0,01	1,23	0,051 ± 0,004	7,84	0,688 ± 0,002	0,29
Čaj od južnog voća	10,6 ± 0,1	0,94	11,21 ± 0,01	0,09	1,7 ± 0,1	5,88	2,9 ± 0,1	3,45	n.d.	-	0,278 ± 0,001	0,36

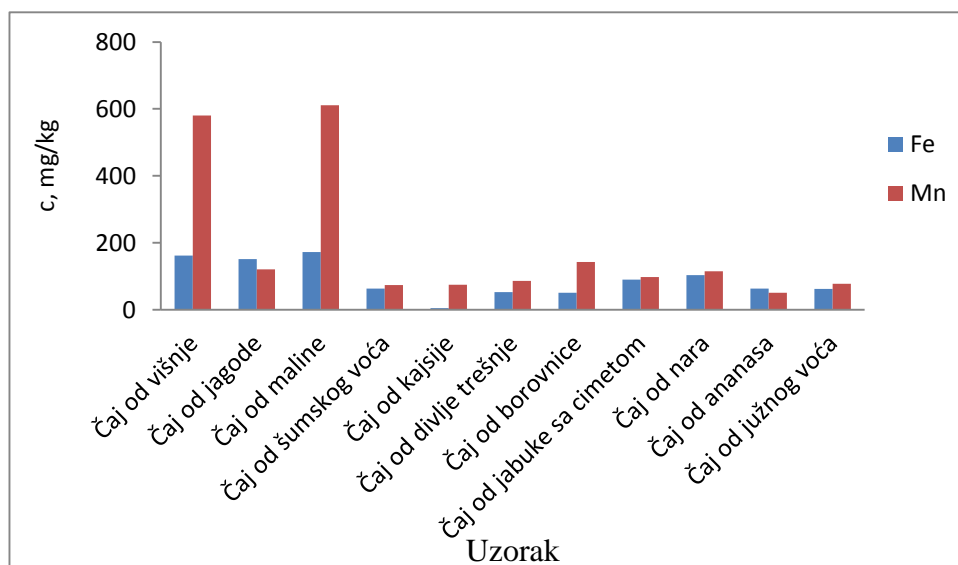
Tabela 4.9.12. Nastavak

Uzorak	Mn	RSD	Ni	RSD	V	RSD	Sn	RSD	Sr	RSD
		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	199 ± 3	1,51	2,63 ± 0,01	0,38	1,28 ± 0,01	0,78	0,66 ± 0,02	3,03	1,68 ± 0,02	1,19
Čaj od jagode	86 ± 1	1,16	0,91 ± 0,01	1,10	1,64 ± 0,01	0,61	0,63 ± 0,02	3,17	23,2 ± 0,3	1,29
Čaj od maline	151 ± 1	0,66	2,42 ± 0,02	8,26	1,254 ± 0,003	0,24	0,123 ± 0,001	0,81	2,12 ± 0,03	1,41
Čaj od šumskog voća	54,2 ± 0,4	0,74	0,83 ± 0,03	3,61	1,363 ± 0,003	0,22	0,64 ± 0,03	4,69	12,2 ± 0,1	0,81
Čaj od kajsije	42,1 ± 0,4	0,95	0,52 ± 0,01	1,92	1,441 ± 0,002	0,14	0,82 ± 0,03	3,66	12,8 ± 0,1	0,78
Čaj od divlje trešnje	104 ± 1	0,96	0,89 ± 0,02	2,25	3,6 ± 0,1	2,78	0,71 ± 0,01	1,41	17,3 ± 0,11	0,58
Čaj od borovnice	53,4 ± 0,3	0,56	1,12 ± 0,04	3,57	3,84 ± 0,04	1,04	0,92 ± 0,06	6,52	25,4 ± 0,1	0,39
Čaj od jabuke sa cimetom	35,2 ± 0,1	0,28	0,87 ± 0,02	2,30	2,92 ± 0,02	0,68	0,8 ± 0,1	12,50	19,4 ± 0,1	0,52
Čaj od nara	41,4 ± 0,3	0,72	0,95 ± 0,02	2,11	3,73 ± 0,02	0,54	0,339 ± 0,001	0,29	22,2 ± 0,2	0,90
Čaj od ananasa	14,1 ± 0,1	0,71	0,57 ± 0,02	3,51	2,21 ± 0,01	0,45	0,48 ± 0,03	6,25	3,43 ± 0,01	0,29
Čaj od južnog voća	6,1 ± 0,2	3,28	0,74 ± 0,02	2,70	3,11 ± 0,03	0,96	0,306 ± 0,021	6,86	13,84 ± 0,03	0,22

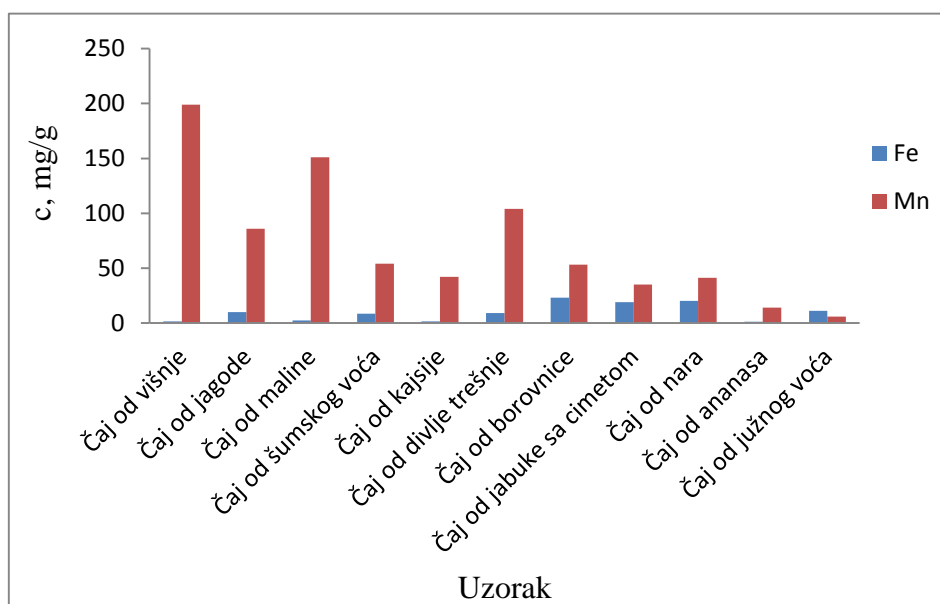
Tabela 4.9.12. Nastavak

Uzorak	Al	RSD	Cd	RSD	Ba	RSD	Pb	RSD	Sb	RSD
		%		%		%		%		%
Čaj od višnje	267 ± 5	1,87	0,0014 ± 0,0001	7,14	1,32 ± 0,01	0,76	0,18 ± 0,01	5,56	0,573 ± 0,003	0,52
Čaj od jagode	8,1 ± 0,1	1,23	0,0341 ± 0,0001	0,29	34 ± 1	2,94	0,361 ± 0,002	0,55	0,71 ± 0,01	1,41
Čaj od maline	212 ± 3	1,42	0,0012 ± 0,0001	8,33	1,36 ± 0,02	1,47	0,15 ± 0,01	6,67	0,48 ± 0,01	2,08
Čaj od šumskog voća	5,8 ± 0,1	1,72	0,0015 ± 0,0001	6,67	19,72 ± 0,04	0,20	0,24 ± 0,01	4,17	0,79 ± 0,01	1,27
Čaj od kajsije	4,33 ± 0,02	0,46	0,0016 ± 0,0001	6,25	17,3 ± 0,1	0,58	0,16 ± 0,01	6,25	0,671 ± 0,002	0,30
Čaj od divlje trešnje	8,3 ± 0,1	1,20	0,0211 ± 0,0002	0,95	20,1 ± 0,1	0,50	n.d.	-	0,71 ± 0,002	0,28
Čaj od borovnice	13,3 ± 0,1	0,75	0,0216 ± 0,0001	0,46	38,4 ± 0,1	0,26	0,0615 ± 0,002	3,25	1,23 ± 0,01	0,81
Čaj od jabuke sa cimetom	15,4 ± 0,1	0,65	0,0208 ± 0,0001	0,48	28,1 ± 0,1	0,36	0,43 ± 0,02	4,65	0,97 ± 0,01	1,03
Čaj od nara	16,3 ± 0,3	1,84	0,0219 ± 0,0001	0,46	29,6 ± 0,1	0,34	0,057 ± 0,003	5,26	1,07 ± 0,01	0,93
Čaj od ananasa	2,5 ± 0,1	4,00	0,0212 ± 0,0001	0,47	1,34 ± 0,01	0,74	n.d.	-	0,163 ± 0,001	0,61
Čaj od južnog voća	8,3 ± 0,1	1,20	0,0279 ± 0,0001	0,36	5,01 ± 0,03	0,60	0,162 ± 0,001	0,6	0,59 ± 0,01	1,59

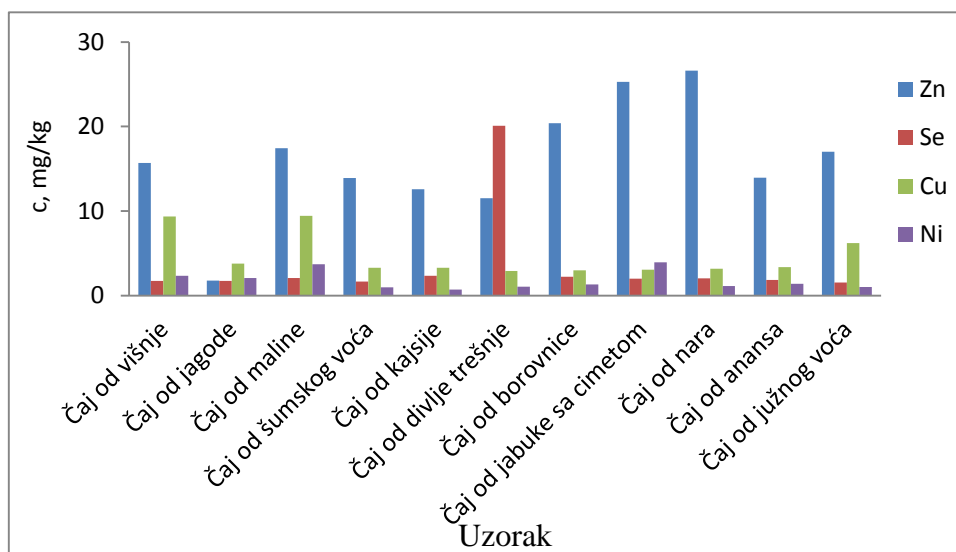
* nije detektovan



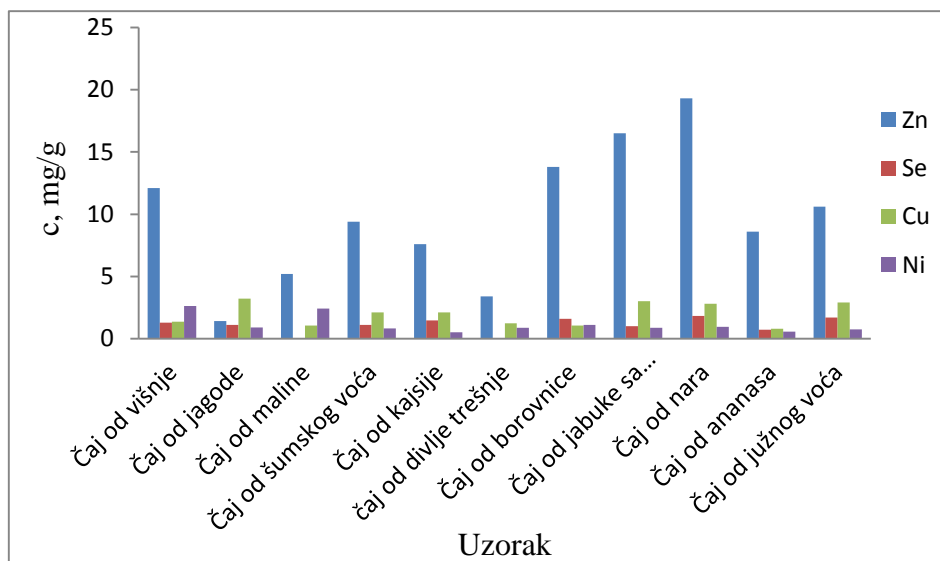
Slika 4.9.17. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



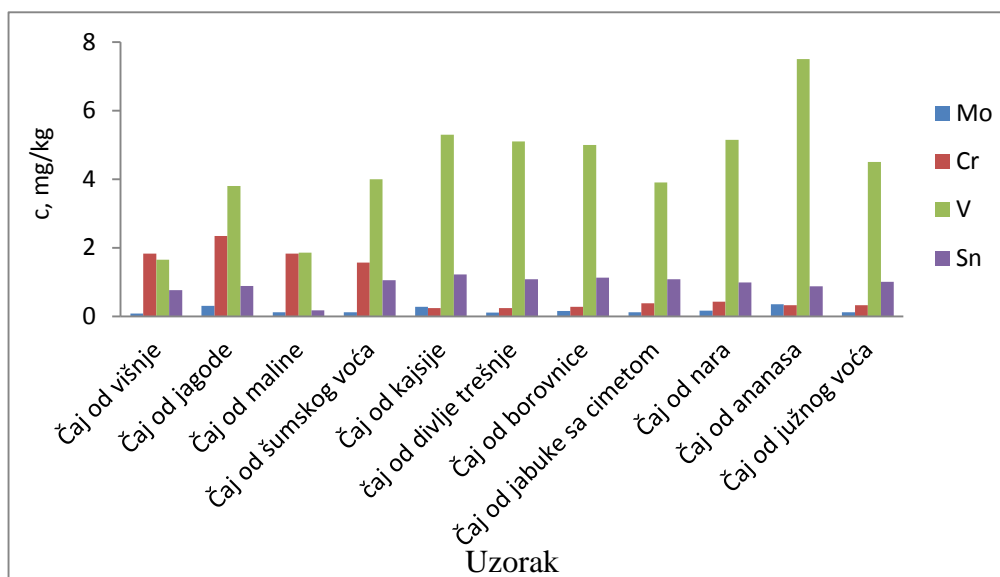
Slika 4.9.18. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



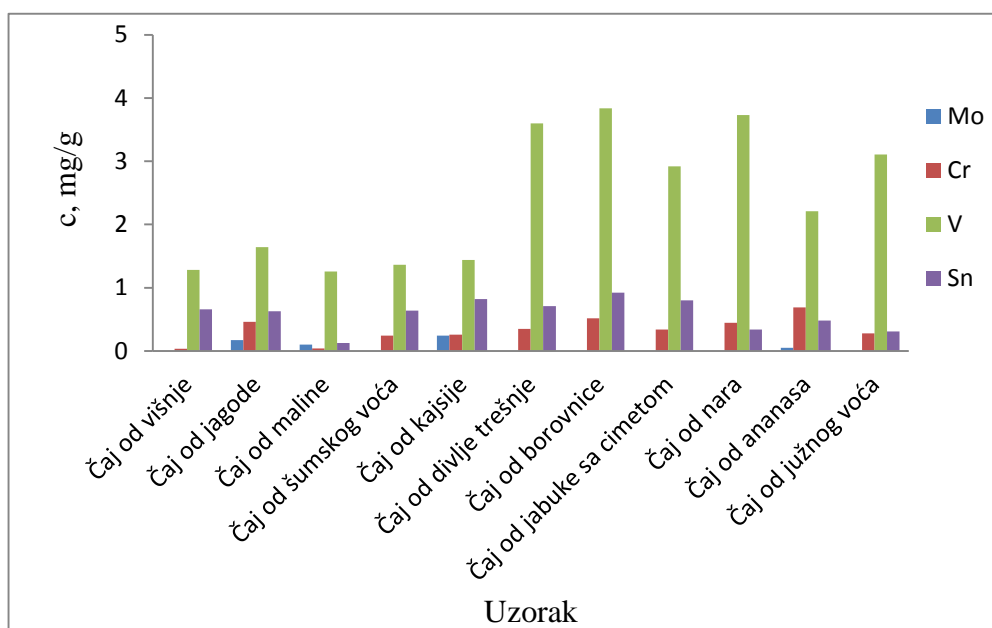
Slika 4.9.19. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



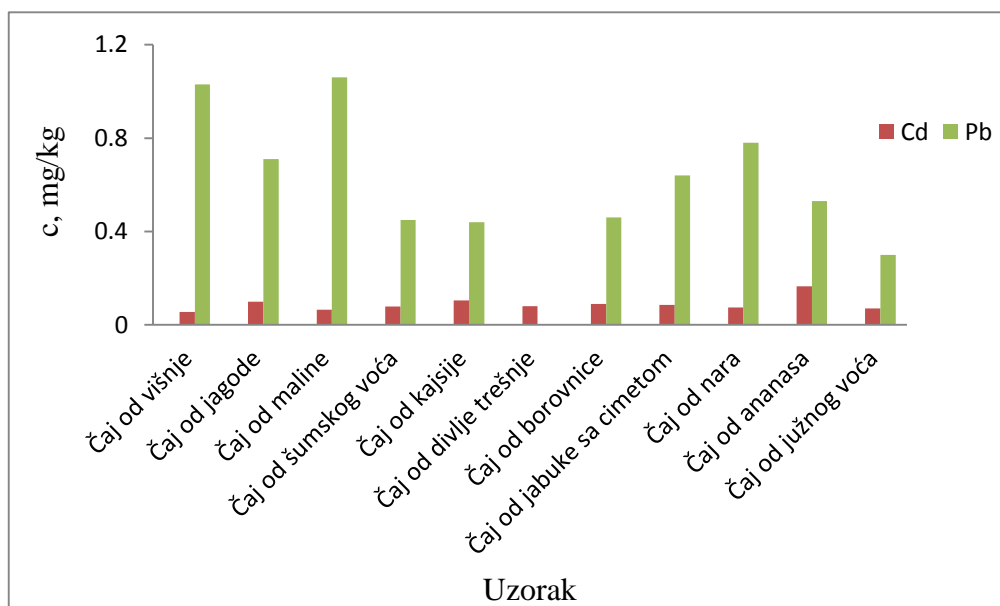
Slika 4.9.20. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



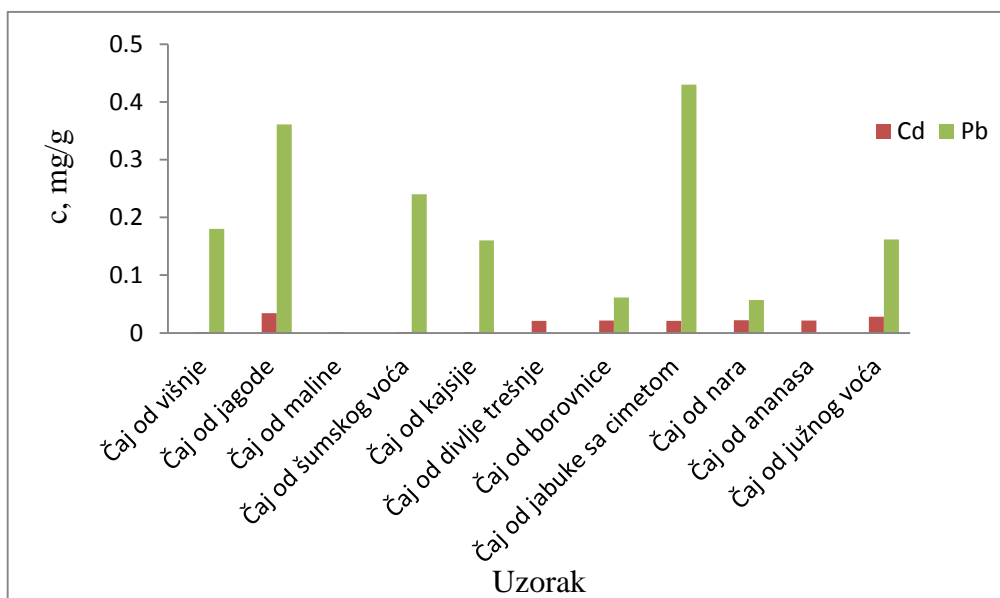
Slika 4.9.21 Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



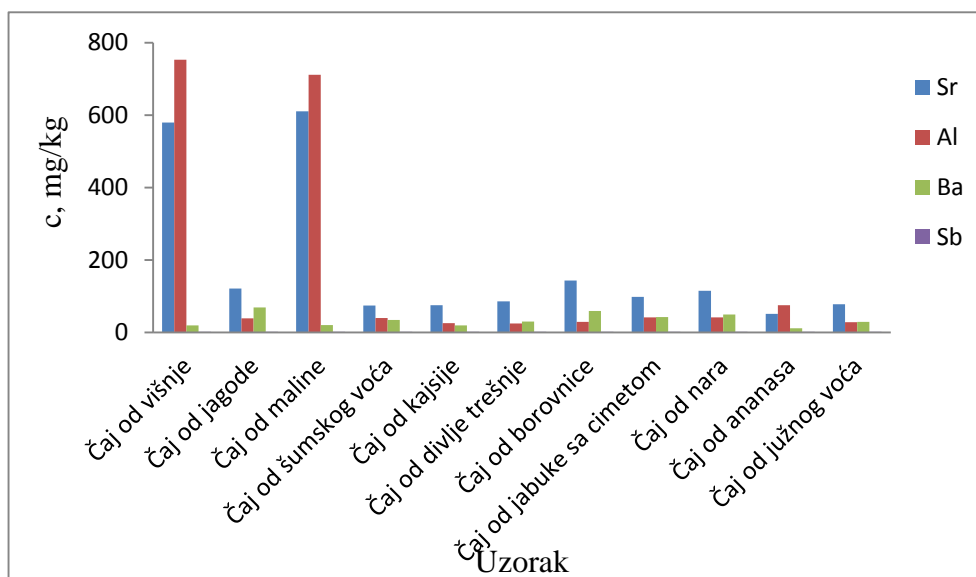
Slika 4.9.22. Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



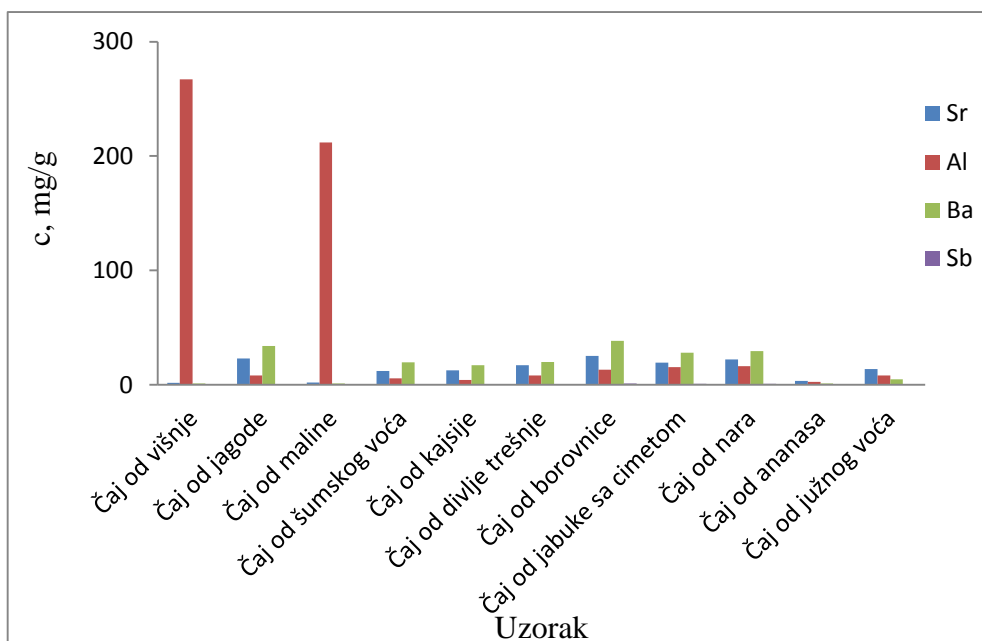
Slika 4.9.23. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.24. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)



Slika 4.9.25. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.26. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima voćnih filter čajeva (postupak pripreme infuza)

Tabela 4.9.13. Sadržaj mikroelemenata (mg/kg) u filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)

Uzorak	Zn	RSD %	Fe	RSD %	Se	RSD %	Cu	RSD %	Mo	RSD %	Cr	RSD %
A1	5,18 ± 0,01	0,19	38,1 ± 0,1	0,26	0,45 ± 0,02	4,44	2,09 ± 0,02	0,96	0,082 ± 0,008	9,76	0,74 ± 0,01	1,35
A2	8,27 ± 0,05	0,60	58,1 ± 0,3	0,52	0,26 ± 0,01	3,85	4,00 ± 0,05	1,25	0,099 ± 0,002	2,02	0,50 ± 0,04	8,00
A3	4,00 ± 0,04	1,00	30,0 ± 0,4	1,33	0,56 ± 0,04	7,14	1,76 ± 0,02	1,14	0,050 ± 0,003	6,00	0,56 ± 0,02	3,57
A4	5,11 ± 0,03	0,59	37,6 ± 0,2	0,53	0,45 ± 0,03	6,67	2,26 ± 0,01	0,44	0,290 ± 0,001	0,34	0,85 ± 0,02	2,35
A5	2,41 ± 0,02	0,83	28,0 ± 0,1	0,36	0,47 ± 0,04	8,51	1,99 ± 0,02	1,01	0,129 ± 0,007	5,43	0,48 ± 0,01	2,08
A6	3,11 ± 0,02	0,64	22,8 ± 0,1	0,44	0,45 ± 0,04	8,89	2,40 ± 0,01	0,42	0,130 ± 0,001	0,77	0,46 ± 0,01	2,17

Uzorak	Mn	RSD %	Ni	RSD %	V	RSD %	Sn	RSD %	Sr	RSD %
A1	9,15 ± 0,05	0,55	0,256 ± 0,007	2,73	0,57 ± 0,01	1,75	0,58 ± 0,01	1,72	3,93 ± 0,01	0,25
A2	2,63 ± 0,02	0,76	0,296 ± 0,004	1,35	0,31 ± 0,01	3,23	0,87 ± 0,01	1,15	1,01 ± 0,01	0,99
A3	52,2 ± 0,8	1,53	0,426 ± 0,003	0,70	0,96 ± 0,02	2,08	0,86 ± 0,04	4,65	8,4 ± 0,1	1,19
A4	29,7 ± 0,1	0,34	0,568 ± 0,002	0,35	0,91 ± 0,02	2,20	0,89 ± 0,02	2,25	9,10 ± 0,01	0,11
A5	5,38 ± 0,05	0,93	0,204 ± 0,002	0,98	0,36 ± 0,01	2,78	0,70 ± 0,01	1,43	3,68 ± 0,02	0,54
A6	5,6 ± 0,03	0,54	0,40 ± 0,01	2,50	0,42 ± 0,02	4,76	0,87 ± 0,02	2,30	2,33 ± 0,01	0,43

Tabela 4.9.13. Nastavak

Uzorak	Al	RSD	Cd	RSD	Ba	RSD	Pb	RSD	Sb	RSD
		%		%		%		%		%
A1	16,2 ± 0,1	0,62	0,047 ± 0,002	4,25	3,20 ± 0,02	0,62	0,77 ± 0,03	3,90	0,31 ± 0,01	3,23
A2	3,60 ± 0,03	0,83	0,035 ± 0,002	5,71	1,48 ± 0,01	0,68	0,83 ± 0,03	3,61	0,66 ± 0,02	3,03
A3	17,9 ± 0,3	1,68	0,036 ± 0,003	8,33	9,5 ± 0,1	1,05	2,04 ± 0,06	2,94	n.d.*	-
A4	25,5 ± 0,2	0,78	0,037 ± 0,003	8,11	9,62 ± 0,04	0,42	0,72 ± 0,01	1,39	0,37 ± 0,02	5,40
A5	16,4 ± 0,1	0,61	0,044 ± 0,002	4,54	2,65 ± 0,01	0,38	0,84 ± 0,03	3,57	n.d.	-
A6	7,11 ± 0,04	0,56	0,059 ± 0,001	1,69	2,98 ± 0,01	0,33	0,53 ± 0,02	3,77	n.d.	-

* nije detektovan

Tabela 4.9.14. Sadržaj mikroelemenata (mg/kg) u filter čajevima od aronije (postupak pripreme infuza)

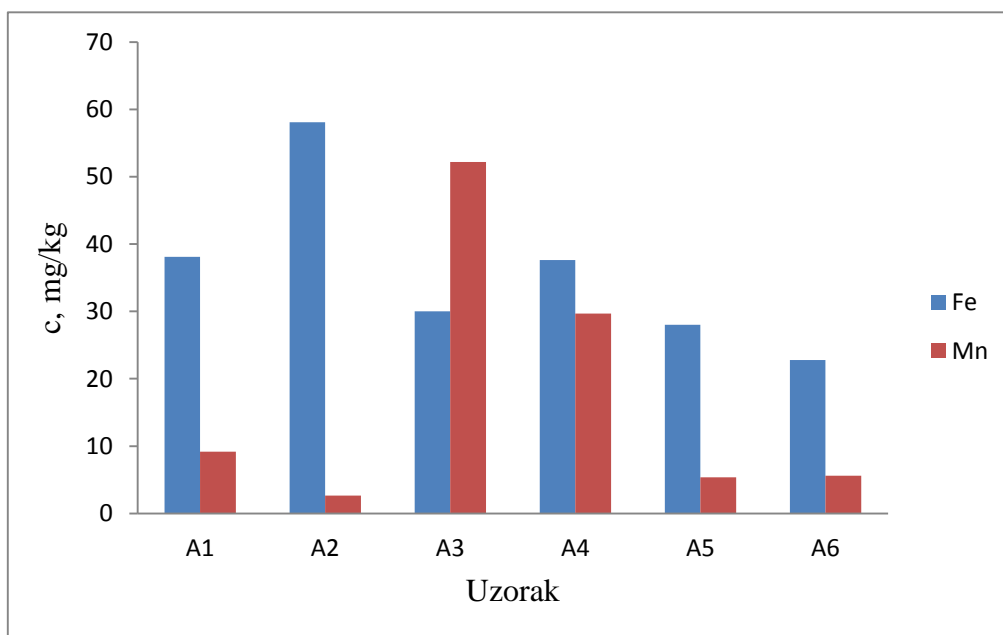
Uzorak	Zn	RSD	Fe	RSD	Se	RSD	Cu	RSD	Mo	RSD	Cr	RSD
		%		%		%		%		%		%
A1	2,51 ± 0,04	1,59	6,07 ± 0,11	1,81	0,23 ± 0,01	4,35	2,14 ± 0,02	0,93	0,045 ± 0,001	2,22	0,62 ± 0,01	1,61
A2	3,35 ± 0,06	1,79	14,91 ± 0,06	0,40	n.d.*	-	1,40 ± 0,01	0,71	0,034 ± 0,001	2,94	0,46 ± 0,01	2,17
A3	1,74 ± 0,03	1,72	17,27 ± 0,30	1,74	0,31 ± 0,01	3,22	1,29 ± 0,02	1,55	0,021 ± 0,001	4,76	0,51 ± 0,03	5,88
A4	1,58 ± 0,01	0,63	2,11 ± 0,05	2,37	n.d.	-	0,35 ± 0,02	5,71	0,212 ± 0,004	1,89	0,56 ± 0,02	3,57
A5	1,55 ± 0,11	7,10	16,08 ± 0,42	2,61	0,22 ± 0,01	4,55	1,57 ± 0,07	4,46	0,14 ± 0,01	7,14	0,42 ± 0,02	4,76
A6	2,12 ± 0,01	0,47	9,34 ± 0,09	0,96	0,26 ± 0,01	3,85	0,14 ± 0,01	7,14	0,16 ± 0,01	6,25	0,41 ± 0,03	7,31

Tabela 4.9.14. Nastavak

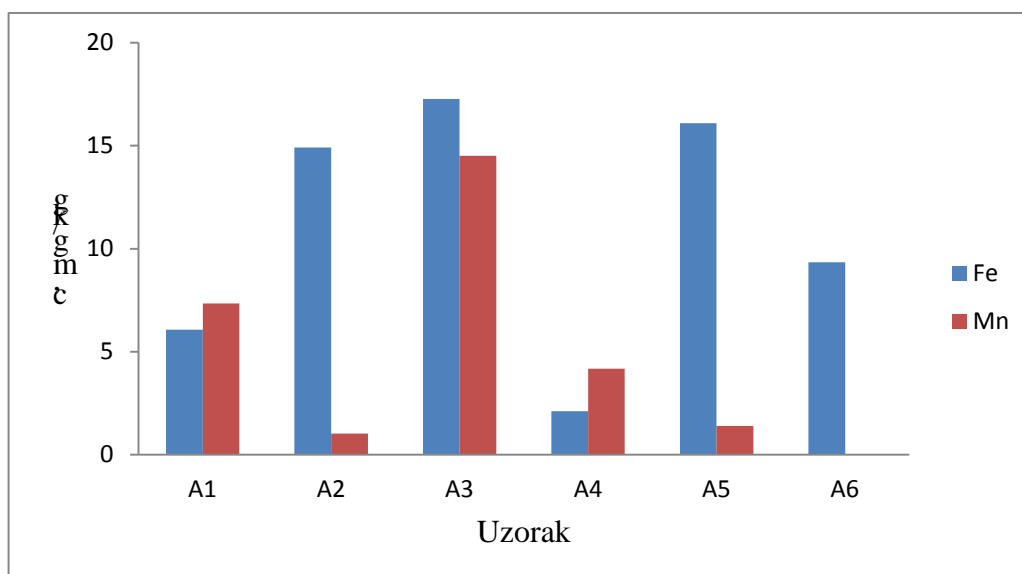
Uzorak	Mn	RSD	Ni	RSD	V	RSD	Sn	RSD	Sr	RSD
		%		%		%		%		%
A1	7,34 ± 0,09	1,22	0,188 ± 0,001	0,53	0,36 ± 0,01	2,78	0,45 ± 0,01	2,22	1,53 ± 0,03	1,96
A2	1,03 ± 0,01	0,97	0,191 ± 0,001	0,52	0,11 ± 0,01	9,09	0,76 ± 0,02	2,63	0,58 ± 0,02	3,45
A3	14,5 ± 0,4	2,76	0,123 ± 0,003	2,44	0,55 ± 0,01	1,82	0,64 ± 0,04	6,2	5,4 ± 0,3	5,56
A4	4,18 ± 0,04	0,96	0,184 ± 0,015	8,15	0,67 ± 0,01	1,49	0,69 ± 0,01	1,45	6,1 ± 0,4	6,56
A5	1,4 ± 0,1	7,14	0,105 ± 0,002	1,90	0,21 ± 0,01	4,76	0,54 ± 0,02	3,70	2,13 ± 0,03	1,41
A6	1,22 ± 0,02	1,63	0,19 ± 0,01	5,26	0,11 ± 0,01	9,09	0,43 ± 0,01	2,32	1,57 ± 0,03	1,91

Uzorak	Al	RSD	Cd	RSD	Ba	RSD	Pb	RSD	Sb	RSD
		%		%		%		%		%
A1	14,6 ± 0,2	1,37	0,021 ± 0,001	4,76	1,87 ± 0,02	1,07	0,54 ± 0,01	1,85	0,121 ± 0,001	0,83
A2	1,7 ± 0,1	5,88	0,015 ± 0,001	6,67	0,92 ± 0,03	3,26	0,42 ± 0,03	7,15	0,332 ± 0,001	0,30
A3	15,8 ± 0,1	0,63	0,018 ± 0,001	5,56	5,35 ± 0,21	3,93	0,98 ± 0,01	1,02	n.d.	-
A4	9,2 ± 0,1	1,09	0,021 ± 0,001	4,76	6,64 ± 0,04	0,60	0,53 ± 0,03	5,66	0,151 ± 0,001	0,66
A5	4,1 ± 0,1	2,44	0,020 ± 0,001	5,00	1,22 ± 0,02	1,64	0,35 ± 0,02	5,71	n.d.	-
A6	1,84 ± 0,08	4,35	0,039 ± 0,001	2,56	1,97 ± 0,03	1,52	0,15 ± 0,01	6,67	n.d.	-

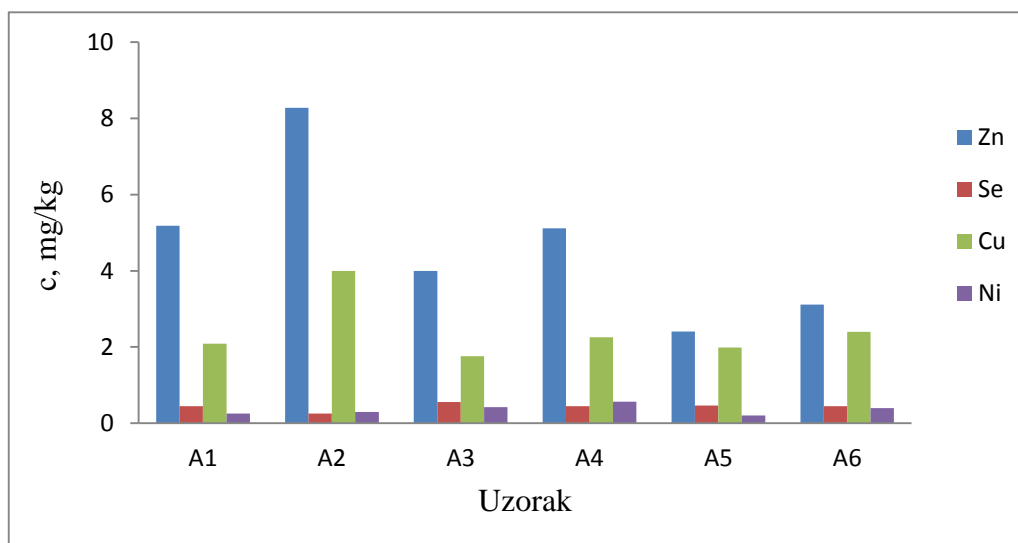
*nije detektovan



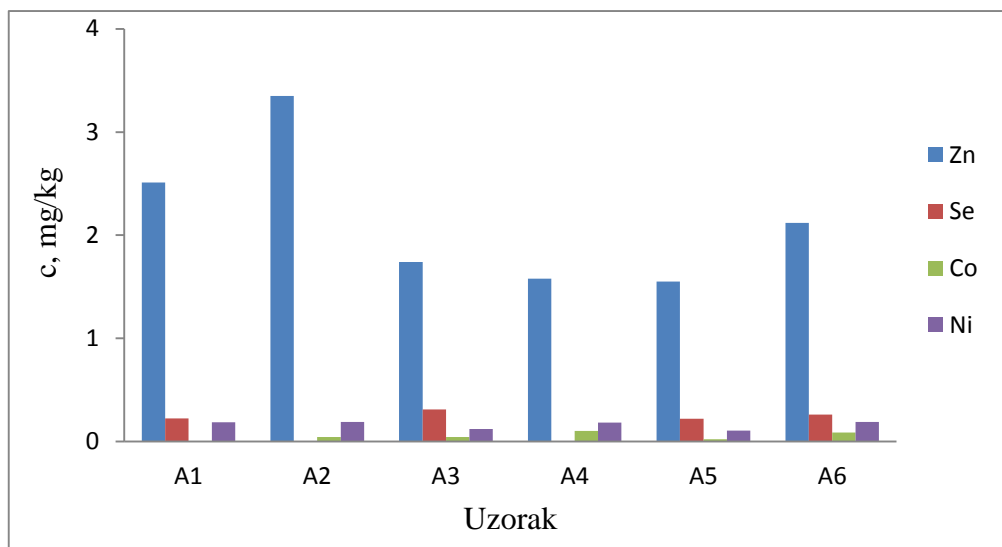
Slika 4.9.27. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



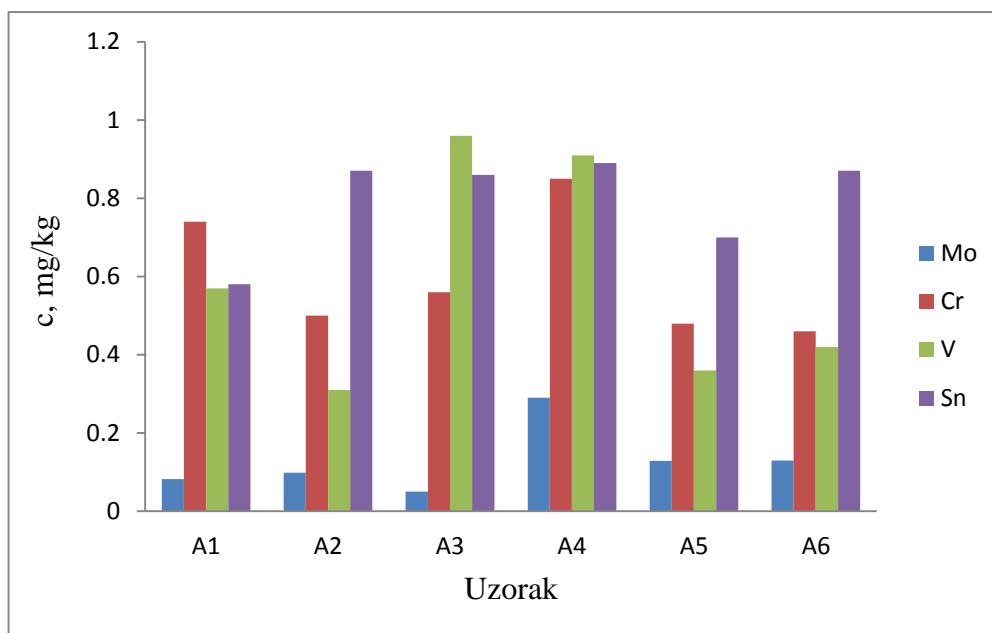
Slika 4.9.28. Sadržaj Fe i Mn u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)



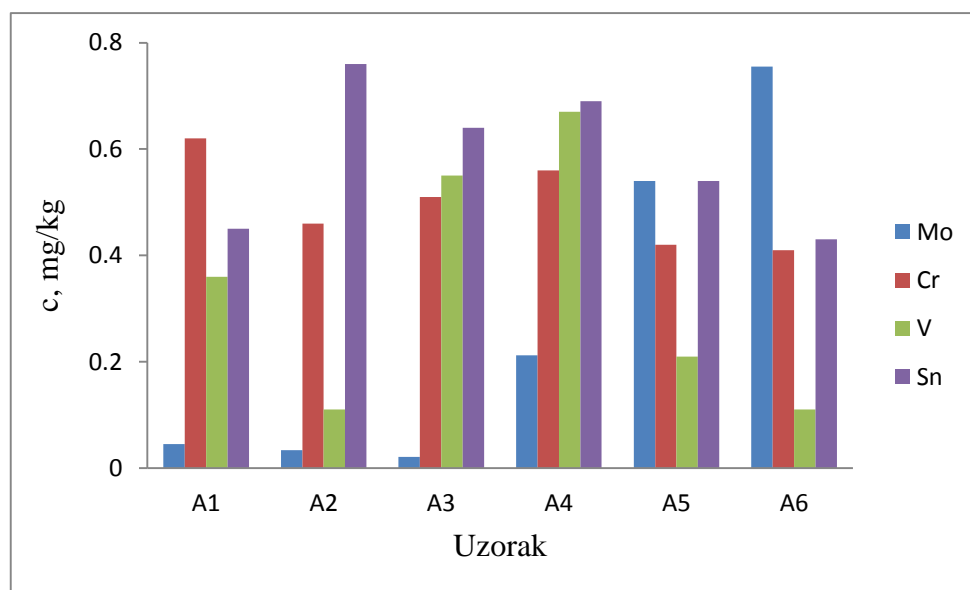
Slika 4.9.29. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



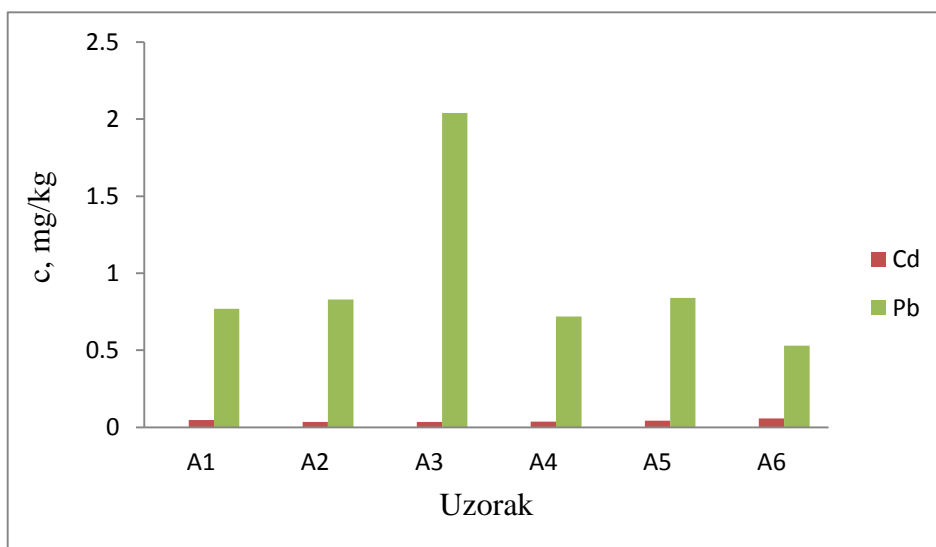
Slika 4.9.30. Sadržaj Zn, Se, Cu i Ni u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)



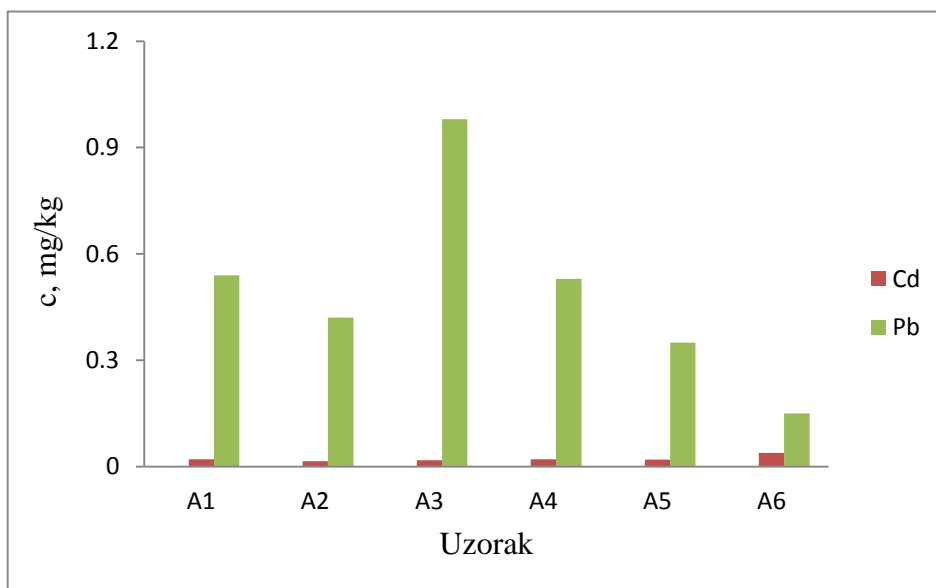
Slika 4.9.31. Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



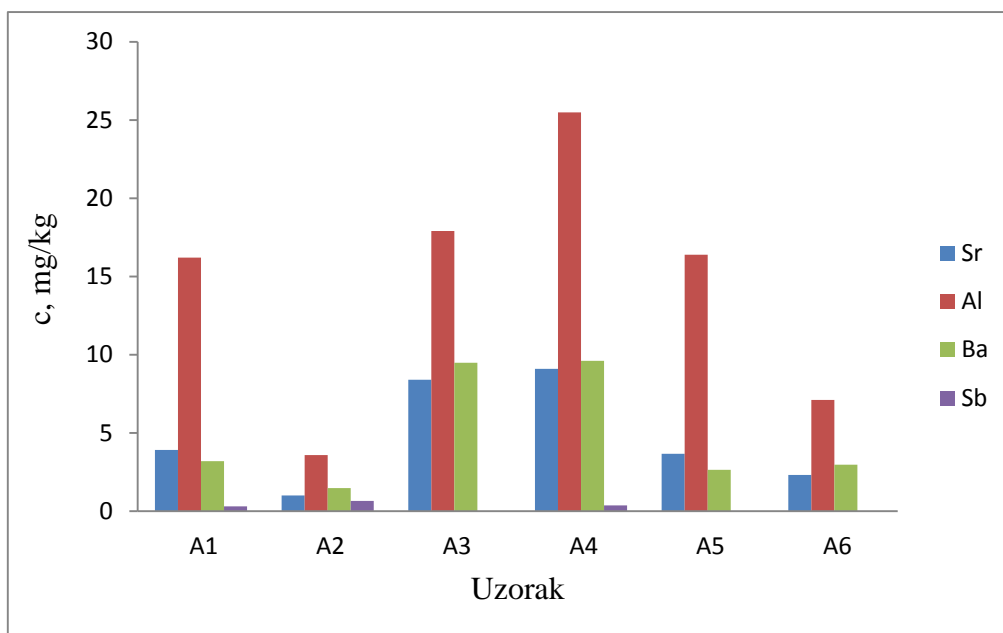
Slika 4.9.32. Sadržaj Mo, Cr, V i Sn u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)



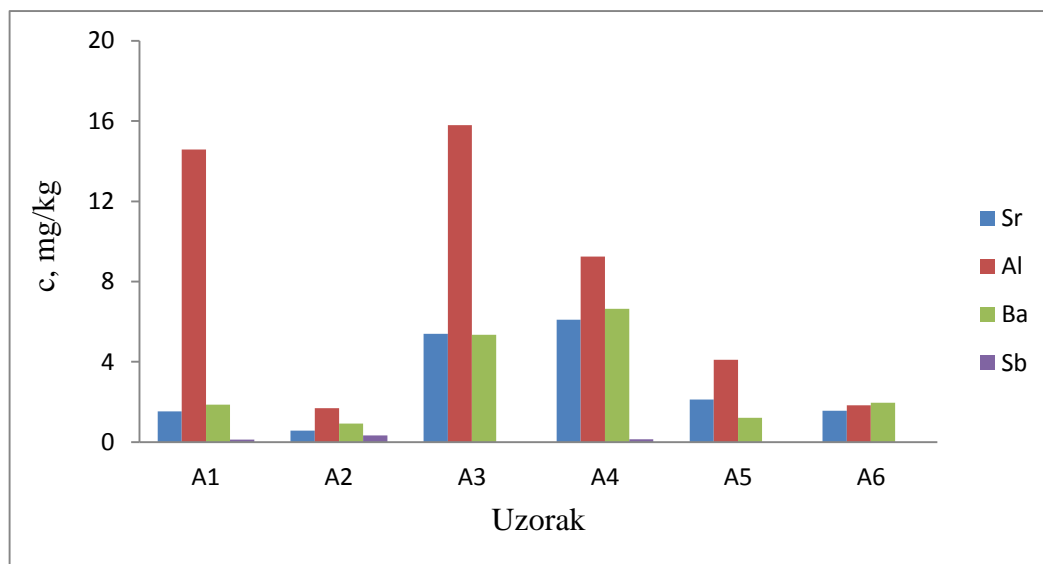
Slika 4.9.33. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.34. Sadržaj Cd i Pb u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)



Slika 4.9.35. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak mokre digestije)



Slika 4.9.36. Sadržaj Sr, Al, Ba i Sb u uzorcima filter čajeva od aronije (postupak pripreme infuza)

Sadržaj elemenata je veći u uzorcima filter čajeva koji su pripremljeni mokrom digestijom u odnosu na pripremu infuza. Mokrom digestijom se dobija ukupni sadržaj metala, pa je samim tim i njihova koncentracija veća nego kod pripreme infuza.

Kada se uporede koncentracije metala u analiziranim uzorcima filter čajeva sa rezultatima dobijenim za čajeve iz drugih zemalja (tabele 4.9.12.i 4.9.13.), može se zaključiti da su čajevi dostupni na tržištu Srbije podjednako bogati makro i mikro elementima kao i čajevi proizvedeni u Turskoj, Kini, Japanu, Indiji, Keniji i Šri Lanki (*Kara, 2009; Karadas i Kara, 2012; Fernandez-Caceres i sar., 2001*)

Tabela 4.9.12. Poređenje srednjih koncentracija metala (mg/kg) u analiziranim uzorcima crnog, zelenog i biljnih filter čajeva sa rezultatima dobijenim za čajeve iz Turske*

Uzorak	Sr	Ca	Mg	Mn	Ba	Fe	Cu	Zn	Cr	K	Ni
Čaj od majčine dušice	45,6 (16)**	7759 (6124)	2115 (1599)	116 (87)	81,6 (21)	440 (822)	6,1 (6,26)	22,4 (35,4)	0,57 (2,07)	14708 (9992)	1,5 (2,16)
Čaj od žalfije	18,3 (25,3)	9299 (12096)	4631 (3713)	66,4 (65)	32,8 (25)	1106 (922)	5,6 (6,3)	28 (39,1)	0,66 (1,88)	18594 (10526)	6,0 (1,70)
Čaj od kamilice	49,0 (11,1)	6959 (5615)	2319 (1882)	96,4 (48)	9,8 (4,04)	521 (153)	8,2 (10,6)	24,4 (14,3)	1,70 (0,77)	18399 (23369)	1,5 (1,38)
Čaj od koprive	134 (46)	38401 (8854)	7324 (2436)	66,5 (26)	37,5 (47)	999 (105)	11,2 (6,97)	22,0 (38,3)	1,77 (1,28)	17472 (18973)	2,0 (1,03)
Čaj od lipa	38,7 (27,5)	14162 (8296)	2822 (2156)	113 (104)	14 (39)	109 (58)	9,5 (9,1)	20,9 (26,7)	0,60 (0,60)	13993 (18577)	3,6 (1,11)
Čaj od šipka	39,2 (43,5)	8020 (5807)	2931 (1582)	47,5 (126)	8,2 (60)	27,5 (89)	3,0 (5,62)	3,2 (13,9)	0,23 (56)	13519 (18269)	1,6 (1,64)
Čaj od mente	111,5 (43,5)	11940 (8205)	3630 (3104)	98,0 (73)	31,78 (12,2)	281 (532)	10,04 (6,7)	23,6 (29)	1,01 (0,11)	- (11456)	2,40 (1,53)
Crni čaj	12,1 (69)	3153 (3350)	1992 (1050)	580 (6435)	18,9 (59)	243 (96,5)	13,1 (19,01)	18,6 (17,5)	0,88 (0,78)	14313 (16842)	4,0 (1,03)
Zeleni čaj	15,4 (19)	3668 (3242)	2095 (1359)	786 (6517)	21,7 (36)	231 (135)	11,1 (16,9)	21,4 (3,2)	0,75 (0,66)	13327 (17437)	4,9 (5,95)

*Kara, 2009; Karadas i Kara, 2012 **U zagradama su podaci za čajeve iz Srbije

Tabela 4.9.13. Poređenje koncentracije metala (mg/kg) u analiziranim uzorcima crnog i zelenog čaja sa rezultatima dobijenim za čajeve iz Japana^{*}, Kine^{*}, Indije^{*}, Šri Lanke^{*} i Kenije^{*}

Uzorak*	Sr	Ca	Mg	Mn	Ba	Fe	Cu	Zn	Al	K
Zeleni čaj (Kina)	10,7-17,0	2893,3-5193,3	1780,7- 2210,0	667,9- 1317,2	6,6-15	108,5- 321,8	12,5- 37,0	26,6- 51,0	745,3- 2230,7	12600,8- 16994,1
Zeleni čaj (Japan)	11,8-13,6	3618,1-4029,1	1778,5- 2066,4	660,7- 1069,7	1,3-9,2	193,0- 144,5	9,4-10,2	21,0- 25,2	919,5- 952,5	11900,5- 14610,0
Zeleni čaj (Srbija)	19	3242	1359	6517	36	135	16,9	3,2	1538	17437
Crni čaj (Kina)	11,3-17,8	4150,5-5203,3	1699,5- 2184,5	664,4- 1114,4	6,5-7,7	176,0- 946,2	22,5- 37,5	35,8- 49,6	798,4- 2210,1	14227,6- 14840,4
Crni čaj (Šri Lanka)	7,2-23,3	3335,2-4642,9	1717,0- 2009,3	148,0- 530,9	7,3-14,0	74,0-141,5	17,6- 26,5	20,0- 36,8	509,8- 915,2	14626,8- 16700,3
Crni čaj (Kenija)	38,0-38,7	2990,6-3212,2	1611,3- 1738,0	797,6- 874,6	12,8- 13,3	247,2- 282,4	11,1- 11,8	24,4- 26,9	593,0- 704,1	14606,7- 17196,2
Crni čaj (Indija)	10,7-18,5	3844,3-4540,5	1611,3- 2126,6	431,4- 527,0	5,2-10,2	90,3-170,9	15,5- 24,4	23,9- 37,7	465,9- 510,8	16022,5- 17654,0
Crni čaj (Srbija)	69	3350	13590	6435	59	96,5	19,01	17,5	1358	16842

**Fernandez-Caceres i sar., 2001*

4.10. Doprinos makro i mikroelemenata u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima dnevnim potrebama

Doprinos makro i mikroelemenata u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima, dnevnim potrebama organizma dat je u tabelama 4.10.1. i 4.10.2. Izračunat je za šoljicu engleskog čaja (*cup of tea*), na osnovu dnevnih potreba organizma muškarca srednjih godina (*Institute of Medicine, 1997*). Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se dnevne potrebe organizma za pojedine elemente mogu zadovoljiti jednom šoljicom čaja. U pogledu makroelemenata (Ca i Mg), od biljnih filter čajeva, najveći doprinos daje čaj od uve (Ca 75,4%) i čaj od nane (Mg 86,1%), a najmanji doprinos daju zeleni (Ca 2,3%) i crni čaj (Mg 10,3). Među voćnim filter čajevima, najveći doprinos daje čaj od jagode (Ca 33,1%, Mg 46,8%), a najmanji čaj od maline (Ca 2,6%, Mg 13,2%). Kod filter čajeva od aronije najveći doprinos daje uzorak A3 (Ca 9,8%) i uzorak A4 (Mg 3,5%). Šoljica biljnih filter čajeva u velikoj meri zadovoljava dnevne potrebe organizma za Fe i Zn, dok šoljica voćnih čajeva zadovoljava dnevne potrebe u manjoj meri. Mn u crnom, zelenom, biljnim i voćnim filter čajevima zadovoljava dnevne potrebe organizma preko 100%. Crni, zeleni i biljni filter čajevi u maloj meri zadovoljavaju dnevne potrebe organizma za Cu, Mo i Se.

Tabela 4.10.1. Doprinos (%) makro i mikroelemenata u crnom, zelenom i biljnim filter čajevima dnevnim potrebama organizma

Uzorak	Ca	Mg	Cu	Fe	Mo	Se	Zn
Crni čaj	3,6	10,3	0,1	3,8	n.d.*	5,8	11,3
Zeleni čaj	2,3	18,0	0,1	100	0,34	0,7	2,0
Čaj od uve	75,4	38,8	0,1	2,8	n.d.	0,2	19,3
Čaj od kantariona	13,6	19,1	0,1	12,8	n.d.	0,2	8,0
Čaj od hibiskusa	57,2	20,5	-	3,3	0,1	0,1	7,5
Čaj od majčine dušice	19,2	25,3	-	3,4	n.d.	0,2	10,4
Rtanjski čaj	40,4	27,4	-	3,3	0,1	0,2	14,7
Čaj od koprive	38,3	20,2	-	17,4	n.d.	0,1	15,7
Čaj od šipka	28,7	13,7	0,1	3,4	n.d.	0,4	6,5
Čaj od zove	8,3	45,8	0,1	5,8	0,1	0,2	5,2

Čaj od lipa	6,3	11,3	-	1,2	n.d.	n.d.	1,7
Čaj od žalfije	40,4	64,6	-	3,5	n.d.	0,2	4,7
Čaj od mente	59,1	86,1	-	56,3	n.d.	0,3	6,8
Čaj od hajdučke trave	17,0	21,8	0,4	27,1	n.d.	0,3	5,5
Čaj od kamilice	24,4	23,4	-	6,4	0,1	0,2	5,1

* nije detektovan

Tabela 4.10.2. Doprinos (%) makro i mikroelemenata u voćnim filter čajevima dnevnim potrebama

Uzorak	Ca	Mg	Cu	Fe	Mo	Se	Zn
Čaj od višnje	2,4	15,1	-	1,9	0,1	0,2	11,0
Čaj od jagode	33,1	14,0	-	12,7	0,1	0,2	5,2
Čaj od maline	2,6	13,2	-	3,0	0,1	n.d.	4,7
Čaj od šumskog voća	17,8	17,1	-	10,9	n.d.	0,2	8,5
Čaj od kajsije	21,6	20,9	0,1	1,9	0,1	0,3	6,9
Čaj od divlje trešnje	21,6	21,4	-	11,4	n.d.	n.d.	3,1
Čaj od borovnice	30,6	24,6	0,1	28,9	n.d.	0,3	12,5
Čaj od jabuke sa cimetom	26,6	20,1	-	24,0	n.d.	0,1	15,0
Čaj od nara	24,3	24,8	-	25,3	n.d.	0,3	17,5
Čaj od ananasa	8,3	15,1	-	14,0	n.d.	0,3	9,6
Čaj od južnog voća	17,9	20,4	-	1,6	0,1	0,2	7,8

* nije detektovan

Tabela 4.10.3. Doprinos (%) makro i mikroelemenata u filter čajevima od aronije dnevnim potrebama

Uzorak	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Mo	Se	Zn
A1	4,4	1,9	-	7,6	31,9	-	0,1	2,3
A2	3,3	2,6	-	18,6	4,47	-	n.d.*	3,0
A3	9,8	2,1	-	21,6	63,0	-	0,1	1,6
A4	2,1	3,5	-	2,6	18,2	0,1	n.d.	1,4
A5	3,6	1,2	-	20,1	6,1	-	0,1	1,4
A6	1,34	2,4	-	11,7	4,3	-	0,1	1,9

* nije detektovan

4.11. Statistička analiza dobijenih podataka

Koeficijent korelacije je mera linearnog odnosa između dva podatka. Korelaciona analiza sadržaja elemenata u filter čajevima data je u tabeli 4.11.1. Na osnovu dobijenih vrednosti za Pirson-ov koeficijent korelacije, može se uočiti sedam grupa elemenata:

grupa 1- Ca, Sr, Mg, Zn, Fe, Mo,

grupa 2- K, V,

grupa 3- Fe, Mo, Cr, Ni, Sn,

grupa 4- Cu, Mn, Al, As,

grupa 5- Fe, Al, Cu,

grupa 6- Sr, Ba,

grupa 7- Pb, Cd.

Na osnovu dobijenih podataka može se zaključiti da između alkalnih i zemnoalkalnih metala postoji dobra korelacija, što može da ukaže na zajedničko poreklo ovih elemenata. Između esencijalnih mikroelemenata takođe postoji dobra korelacija, kao i između toksičnih metala.

Bolje tumačenje veze između elemenata u analiziranim filter čajevima može se dobiti korišćenjem analize glavnih komponentata (PCA). U cilju diferencijacije ispitivanih uzoraka na osnovu sadržaja metala, formirana je matrica podataka dimenzija 20×26, sa analiziranim elementima u kolonama (20) i uzorcima filter čajeva u redovima (26). Broj optimalnih faktora koji je korišćen u analizi izabran je na osnovu kriterijuma tačke preloma na *Cattel*-ovom skri (*scree*) testu. Na osnovu ovog testa, kriterijum za određivanje broja faktora predstavlja tačka u kojoj karakteristične vrednosti formiraju silazni trend, tzv. tačku preloma. Karakteristične vrednosti su varijanse glavnih komponentata. Šest glavnih komponentata (PC) je ekstrahovano prema *Kaiser*-ovom (*Kaiser, 1960*) kriterijumu (*Jackson, 1991*), sa vrednostima 5,67; 3,40; 2,52; 1,96; 1,62 i 1,41. Pomoću prve komponente (PC1) je objašnjeno 27,01%, pomoću druge komponente (PC2) 16,20%, pomoću treće (PC3) 12,02%, pomoću četvrte (PC4) 9,33%, pomoću pete (PC5) 7,71% i pomoću šeste (PC6) 6,71% disperzije merenja (tabela 4.11.2.). Dobijeni faktori objašnjavaju zajedno 78,97% disperzije merenja. Na osnovu podataka u tabeli 4.11.2. može se videti da prvu komponentu opisuju Fe, Cr, Ni, Sn sa visokim pozitivnim faktorskim zasićenjem (> 0,9) i K i V sa nižim faktorskim

zasićenjem ($> 0,5$). Takođe, Fe, Cr, Ni, Sn imaju veoma bliske vrednosti faktorskih zasićenja i mogu pružiti istu vrstu informacija u pogledu klasifikovanja ispitivanih uzoraka. Visoka faktorska zasićenja su i za Cu i Mn ($>0,9$), Al ($>0,7$) i Pb ($>0,5$) koji opisuju drugu komponentu, za Ca i Mg ($>0,9$), Zn i Mo ($>0,7$) koji opisuju treću komponentu, za Sr i Ba ($>0,8$) koji opisuju četvrtu, za Se ($>0,7$) i V ($>0,6$) koji opisuju petu i Cd i Sb ($>0,8$) i Pb ($>0,5$) koji opisuju šestu komponentu. Cd i Pb, koji opisuju šestu komponentu, imaju visoko pozitivno faktorsko zasićenje, dok Sb ima visoko negativno faktorsko zasićenje. Slična klasifikacija metala je postignuta i korelacionom analizom.

Dijagram rasipanja (2-D grafik faktorskih opterećenja), prikazan na slici 4.11.1., uzima u obzir prva dva faktora koji objašnjavaju zajedno 67,21% disperzije merenja. Kao što se može videti sa grafika, postoji veza između Fe, Cr, Ni i Sn koji opisuju prvi faktor, Mn, Pb i Cu koji opisuju drugi faktor i Ba, Mg, Zn, Sr, Mo, Ca, Se, Sb, Cd i Na koji opisuju oba faktora zajedno. Ostali elementi (Al, K i V) pokazuju jako individualno ponašanje.

3-D grafik faktorskih opterećenja koji uzima u obzir prve tri komponente, prikazan je na slici 4.11.2. Vrlo visoka pozitivna faktorska zasićenja imaju Fe, Cr, Ni i Sn, dok K i V imaju negativna zasićenja. Faktor 2 opisuju Cu, Mn i Al koji imaju visoka zasićenja, dok Pb nema visoko zasićenje kao ostali elementi u grupi. U faktoru 3 dominiraju Ca i Mg sa visokim zasićenjem i Zn i Mo sa nižim vrednostima. U tabeli 4.11.2. date su i vrednosti glavnih komponenti za filter čajeve na osnovu multi-elementne analize. Na osnovu vrednosti koje opisuju prvu komponentu (PC), može se zaključiti da koncentracije Fe, Cr Ni i Sn su najveće, dok koncentracije K i V su najniže za čaj od uve, čaj od žalfije, čaj od majčine dušice, čaj od mente, rtanjski čaj, čaj od hibiskusa u odnosu na druge vrste filter čajeva. Takođe, koncentracije Fe, Cr, Ni i Sn su niže, a koncentracije za K i V su veće za čaj od ananasa, čaj od kamilice, čaj od hajdučke trave i zovu. Drugu komponentu (PC2) zasićuju metali Cu, Mn, Al i Pb čije su koncentracije najveće u crnom i zelenom filter čaju. Koncentracije Ca, Mg, Zn i Mo koji opisuju treću komponentu (PC3) su najveće za čaj od hibiskusa, čaj od žalfije, čaj od uve, čaj od koprive, rtanjski čaj, čaj od zove i čaj od nane. Koncentracije Sr i Ba (PC4) su najveće u crnom čaju, čaju od hibiskusa, čaju od koprive, čaju od šipka, čaju od uve, čaju od borovnice i čaju od jagode. Koncentracija Se (PC5) je najveća u čaju od šipaka, čaju od žalfije i čaju od divlje trešnje. Sadržaj Cd i Pb (PC5) je veći, a sadržaj Sb je manji u čaju od uve, čaju od hibiskusa, čaju od majčine dušice, rtanjskom čaju,

čaju od koprive, čaju od šipka i čaju od zove. Koncentracije Cd i Pb (PC6) su niže, a koncentracija Sb je veća u filter čaju od višnje i čaju od maline.

Klasifikacija filter čajeva na osnovu sadržaja metala predstavljena je dijagramima rasipanja (slika 4.11.3 i 4.11.4). Najveći procenat disperzije merenja 43,20% objašnjavaju prve dve komponente (PC1-PC2), a zatim slede sledeće kombinacije glavnih komponenti: PC1-PC3 (39,03%), PC1-PC4 (36,34%), PC1-PC5 (34,72%) i PC1-PC6 (33,72%). Uključujući 3-D dijagram rasipanja, najveći procenat ukupne varijanse 55,23% objašnjavaju prve tri komponente (PC1-PC2-PC3), a zatim slede PC1-PC2-PC4 (52,54%), PC1-PC2-PC5 (50,92%) i PC1-PC2-PC6 (49,92%). Na osnovu dobijenih dijagrama može se videti da se analizirani filter čajevi mogu svrstati u četiri grupe: grupa 1 - čaj od hibiskusa, čaj od koprive, čaj od nane, rtanjski čaj, čaj od majčine dušice, čaj od uve i čaj od žalfije; grupa 2 - crni i zeleni čaj; grupa 3 - čaj od jagode, čaj od zove, čaj od ananasa, čaj od nara, čaj od borovnice, čaj od hajdučke trave, čaj od kamilice i čaj od kajsije; grupa 4 - čaj od južnog voća, čaj od divlje trešnje, čaj od šumskog voća, čaj od jabuke sa cimetom, čaj od kantariona, čaj od šipka, čaj od trešnje i čaj od maline.

Slična klasifikacija analiziranih uzoraka filter čajeva dobijena je primenom klaster analize (slika 4.11.5). Primenom *Ward*-ovog metoda kao kriterijuma grupisanja i *Euclid*-ove udaljenosti kao procene stepena različitosti grupa, dobijene su četiri grupe: grupa 1 - čaj od jabuke sa cimetom, čaj od divlje trešnje, čaj od šipka, čaj od šumskog voća, čaj od južnog voća, čaj od kantariona, čaj od maline i čaj od hajdučke trave; grupa 2 - čaj od mente, čaj od majčine dušice, čaj od koprive, čaj od žalfije, rtanjski čaj, čaj od uve i čaj od hibiskusa; grupa 3 - čaj od ananasa, čaj od kamilice, čaj od jagode, čaj od kajsije, čaj od šipaka, čaj od borovnice i čaj od lipe; grupa 4 - zeleni i crni čaj. Na osnovu grupisanja uzoraka može se videti da su klasteri 3 i 4 blizu jedan drugom, što ukazuje na sličan sadržaj metala u istim. Pored toga, prema klaster analizi, čaj od zove je grupa za sebe.

Prema literaturnim podacima (*McKay i sar., 2002, Cabrera i sar., 2003, Karak i sar., 2010, Szymczycha-Madeja i sar., 2013*), razlike u sadržaju metala između različitih vrsta čajeva, pripisuju se razlikama u njihovoj strukturi, biljnoj vrsti, starosti zasada, pedološkim karakteristikama zemljišta, apsorpciji iz zemljišta, količini padavina i primeni agrotehničkih mera. Kada su u pitanju agrotehničke mere, prvenstveno se misli na upotrebu pesticida i veštačkih đubriva. Tako, korišćenje bakarnih fungicida, uzrokuje prisustvo neželjenih koncentracija bakra i povećava akumulaciju olova i kadmijuma u crnom čaju (*Seenivasan i*

sar., 2008). Organske supstance, prisutne u zemljištu, kompleksiraju jone metala i time smanjuju njihovu biodostupnost, kao i stepen njihove sorpcije od strane biljaka (*Salahinejad i Aflaki., 2010*).

pH vrednost zemljišta je jedan od glavnih faktora koji kontroliše dostupnost nekih elemenata (Al, Cu, Cd, Pb,...). Koncentracije Al, Cu, Pb i Zn u čajevima variraju u zavisnosti od korišćenja različitih biljnih delova (koren, stablo i lišće). Shodno tome, sadržaj elemenata u filter čaju i čaju od listova iste biljke, mogu značajno da se razlikuju. Razlike u sastavu i sadržaju metala različitih vrsta čajeva dostupnih na tržištu, uglavnom su posledica primene različitih metoda koji se koriste u procesu dobijanja čajeva. Takođe, geografsko podneblje, stepen fermentacije, način sazrevanja i skladištenje mogu da utiču na sastav i sadržaj metala. Na primer, Al, Cr, Cu, Pb i Zn mogu da dospeju čaj u različitim fazama njegove proizvodnje (npr. sušenje, mlevenje i pakovanje). Takođe, povećan sadržaj Al i Cu u crnom čaju može da bude posledica sušenja listova na visokoj temperaturi i zaustavljanja fermentacije u sudovima napravljenim od Al-Cu legure (*Szymczycha-Madeja i sar., 2013*).

Tabela 4.11.1. Korelaciona matrica elemenata (Pirsonova korelacija)

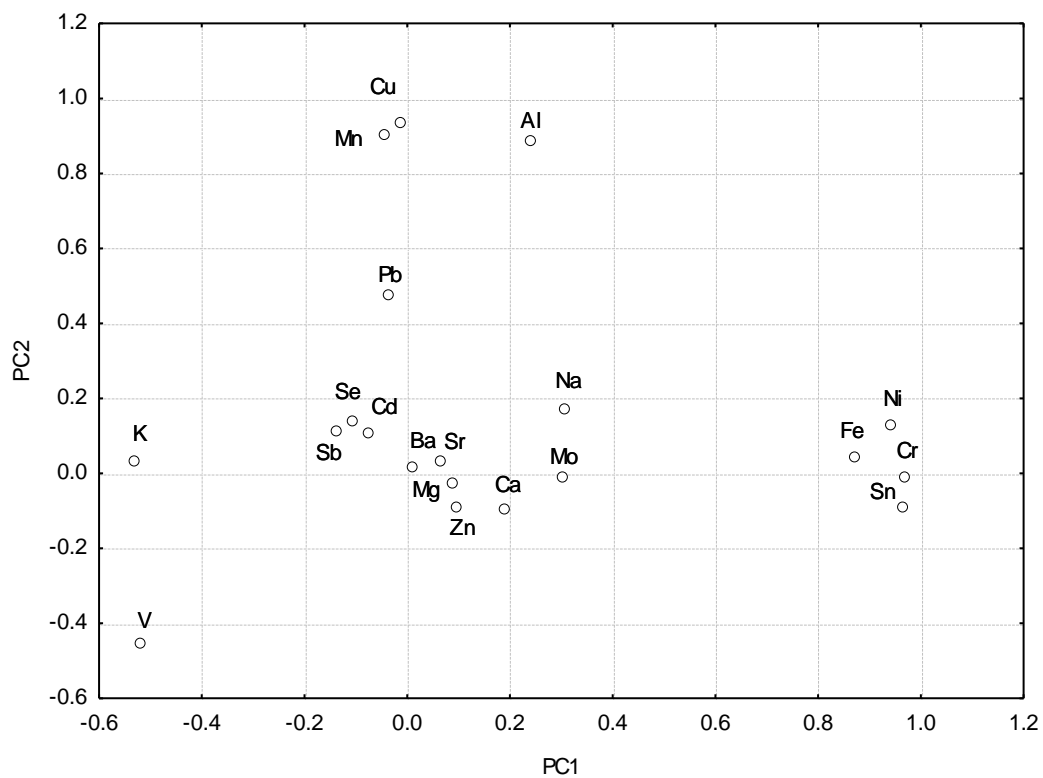
	Ca	K	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Se	Mo	Cr	Mn
Ca	1,00	0,07	0,85	0,12	0,76	0,59	-0,15	0,05	0,70	0,27	-0,27
K		1,00	0,02	0,23	-0,08	-0,48	0,14	-0,02	-0,26	-0,41	0,02
Mg			1,00	0,18	0,46	0,40	-0,04	0,07	0,71	0,15	-0,23
Na				1,00	0,04	-0,05	0,10	-0,14	-0,06	-0,08	-0,12
Zn					1,00	0,33	-0,13	-0,10	0,40	0,12	-0,23
Fe						1,00	-0,04	-0,02	0,57	0,91	-0,10
Cu							1,00	0,12	-0,05	-0,02	0,83
Se								1,00	0,29	-0,09	0,24
Mo									1,00	0,36	-0,13
Cr										1,00	-0,07
Mn											1,00
Ni											
V											
Al											
Sr											
Ba											
Sb											
Sn											
As											
Cd											
Pb											

	Ni	V	Al	Sr	Ba	Sb	Sn	As	Cd	Pb
Ca	0,22	-0,15	0,00	0,42	0,15	-0,42	0,26	0,06	0,26	0,15
K	-0,40	0,62	-0,28	-0,09	-0,03	0,09	-0,38	0,16	0,01	-0,12
Mg	0,08	-0,05	0,04	0,15	-0,14	-0,34	0,13	0,06	0,18	0,14
Na	-0,08	0,35	-0,15	-0,12	-0,36	0,11	-0,04	0,04	-0,05	-0,17
Zn	0,16	-0,14	0,01	0,40	0,12	-0,56	0,15	-0,07	0,25	0,46
Fe	0,86	-0,52	0,67	0,30	0,00	-0,03	0,88	-0,08	-0,08	0,32
Cu	0,08	-0,32	0,75	0,14	-0,06	-0,15	-0,09	0,57	0,02	0,37
Se	-0,15	-0,18	0,17	0,17	0,24	-0,25	-0,12	0,14	0,23	0,00
Mo	0,30	-0,43	0,20	0,20	-0,04	-0,25	0,34	0,06	0,09	0,39
Cr	0,94	-0,43	0,24	0,38	0,11	0,13	0,97	-0,17	-0,08	0,08
Mn	0,08	-0,40	0,76	0,27	0,24	0,00	-0,09	0,67	-0,13	0,21
Ni	1,00	-0,53	0,36	0,33	0,11	0,14	0,91	-0,07	-0,11	0,09
V		1,00	-0,74	-0,14	-0,17	0,17	-0,32	-0,10	-0,07	-0,47
Al			1,00	0,14	0,00	-0,14	0,15	0,23	-0,16	0,35
Sr				1,00	0,68	-0,14	0,40	0,27	0,06	0,17
Ba					1,00	-0,01	0,08	0,15	0,21	0,06
Sb						1,00	0,15	0,13	-0,71	-0,50
Sn							1,00	-0,21	-0,12	-0,04
Cd									1,00	0,58
Pb										1,00

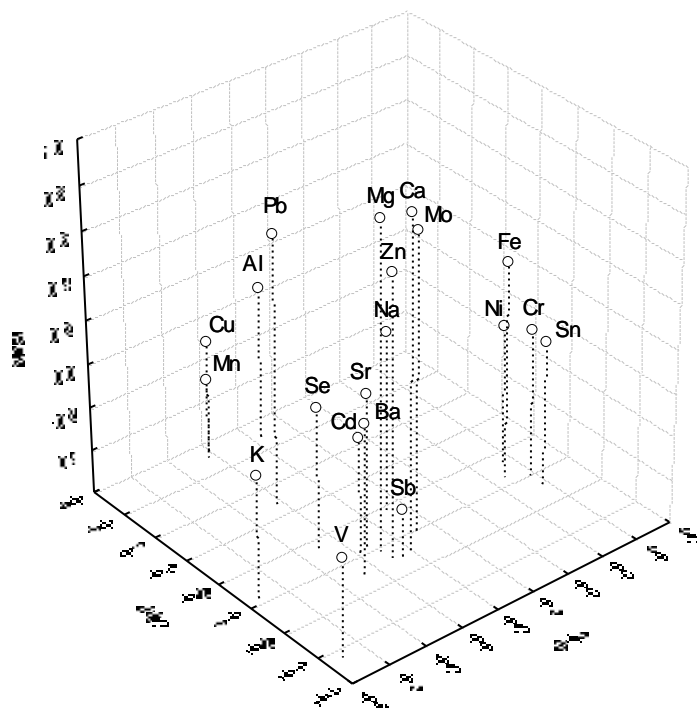
Tabela 4.11.2. Doprinos metala i vrste čaja u objašnjenju ekstrahovanih glavnih komponenti

Metali	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	Uzorak	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Ca	0,19	-0,10	0,92	0,21	-0,07	-0,16	Crni čaj	-1,33	4,46	0,80	-2,77	1,35	-1,86
K	-0,53	-0,03	0,04	-0,12	-0,57	-0,04	Zeleni čaj	-1,63	6,34	1,46	0,85	0,84	1,54
Mg	0,09	-0,03	0,90	-0,11	-0,15	-0,07	Čaj od uve	6,98	1,26	2,68	0,79	-0,02	1,22
Na	-0,07	-0,03	-0,10	0,30	-0,48	-0,02	Čaj od kantariona	-0,98	-0,33	-0,23	-0,06	-1,91	1,57
Zn	0,10	-0,09	0,71	0,25	0,03	-0,34	Čaj od hibiskusa	1,06	2,49	1,81	-1,87	2,87	-0,74
Fe	0,87	0,04	0,40	-0,03	0,18	0,04	Čaj od majčine dušice	0,97	0,08	0,42	-0,93	-0,07	0,19
Cu	0,01	0,94	-0,08	-0,05	-0,16	-0,14	Rtanjski čaj	0,73	0,85	0,22	0,04	-0,23	-0,39
Se	0,10	-0,14	-0,05	-0,16	0,74	0,17	Čaj od koprive	0,05	1,56	1,77	-1,83	-0,92	1,87
Mo	0,31	-0,01	0,76	-0,08	0,19	0,03	Čaj od šipka	-0,29	-0,27	2,86	-1,85	-3,10	1,36
Cr	0,97	-0,01	0,09	0,10	0,08	0,04	Čaj od zove	-2,09	1,09	1,12	1,10	1,72	0,48
Mn	-0,04	0,90	-0,23	0,22	0,06	0,05	Čaj od lipe	-0,84	0,61	0,01	-0,95	1,25	0,61
Ni	0,94	0,13	0,04	0,09	0,12	0,05	Čaj od žalfije	3,26	1,84	3,75	1,24	-1,49	-3,08
V	-0,51	0,46	0,15	-0,05	-0,67	-0,12	Čaj od mente	0,14	1,03	1,03	1,45	0,75	0,12
Al	0,24	0,88	0,10	-0,09	0,31	0,02	Čaj od hajdučke trave	-1,17	0,30	0,53	1,17	-0,22	0,28
Sr	0,31	0,17	0,23	0,84	-0,07	-0,04	Čaj od kamilice	-1,49	0,31	1,24	3,43	1,44	0,83
Ba	0,01	0,01	-0,06	0,90	0,20	-0,07	Čaj od višnje	-0,47	-1,66	-0,72	1,66	-0,44	-0,98
Sb	0,14	-0,11	-0,38	-0,02	-0,11	0,83	Čaj od jagode	-0,69	0,74	-1,56	-1,92	0,98	0,65
Sn	0,97	-0,09	0,07	0,13	0,02	0,08	Čaj od maline	-0,39	-1,49	0,57	1,41	-0,42	-0,65
Cd	0,08	0,10	-0,09	-0,10	0,01	0,90	Čaj od šumskog voća	-1,42	-0,19	-1,91	0,44	-0,86	-0,56
Pb	-0,03	0,26	0,34	0,00	0,29	0,53	Čaj od kajsije	-1,31	0,36	-1,51	-0,32	-0,08	-0,36

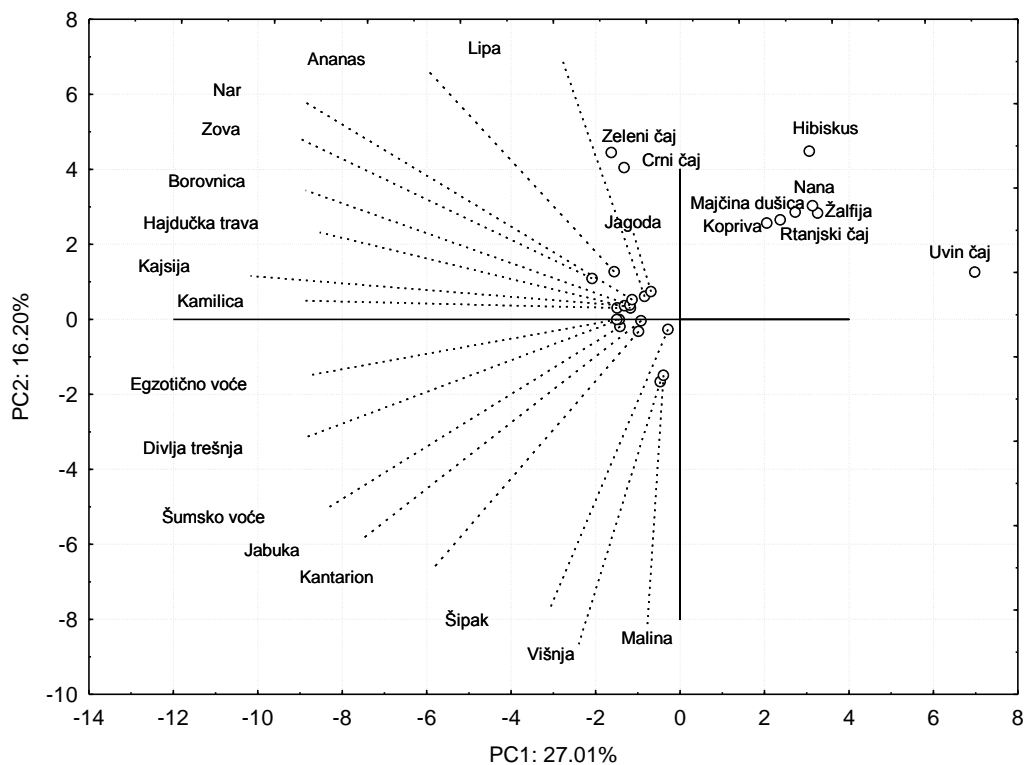
Karakt. vred.	5,67	3,40	2,52	1,96	1,62	1,41	Čaj od divlje trešnje	-1,44	-0,01	-1,00	-0,27	-1,52	-1,42
Var. (%)	27,01	16,20	12,02	9,33	7,71	6,71	Čaj od borovnice	-1,19	0,38	-1,54	-0,84	0,40	-0,88
Kumul.var. (%)	27,01	43,20	55,23	64,56	72,27	78,97	Čaj od jabuke sa cim.	-0,92	0,04	-1,70	0,00	-0,50	-0,59
							Čaj od nara	-1,13	0,52	-1,16	-0,53	0,42	-0,68
							Čaj od ananasa	-1,50	-0,01	-1,82	0,30	-0,86	-0,15
							Čaj od južnog voća	1,56	1,27	0,21	0,28	0,63	1,62



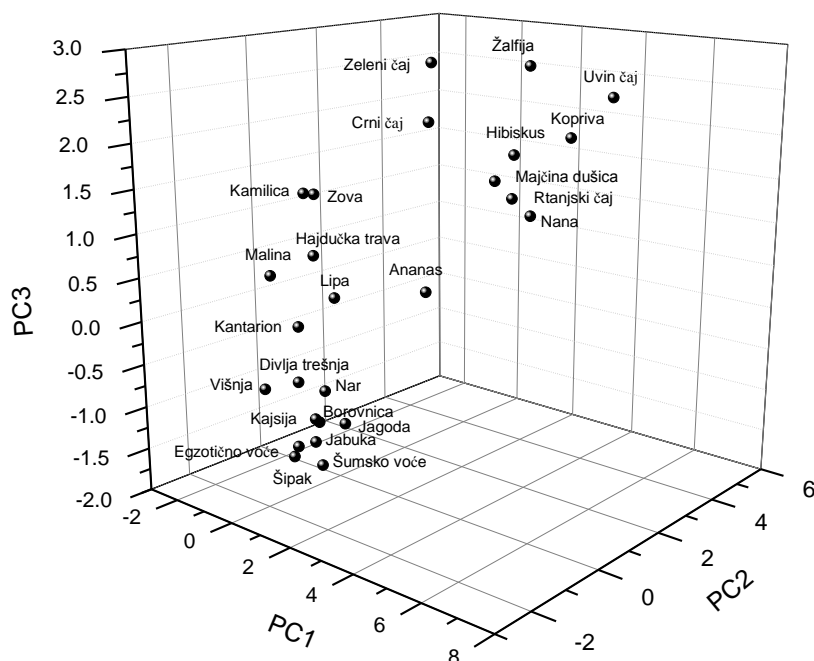
Slika 4.11.1. 2-D grafički prikaz PCA analize dobijen na osnovu sadržaja metala u analiziranim filter čajevima



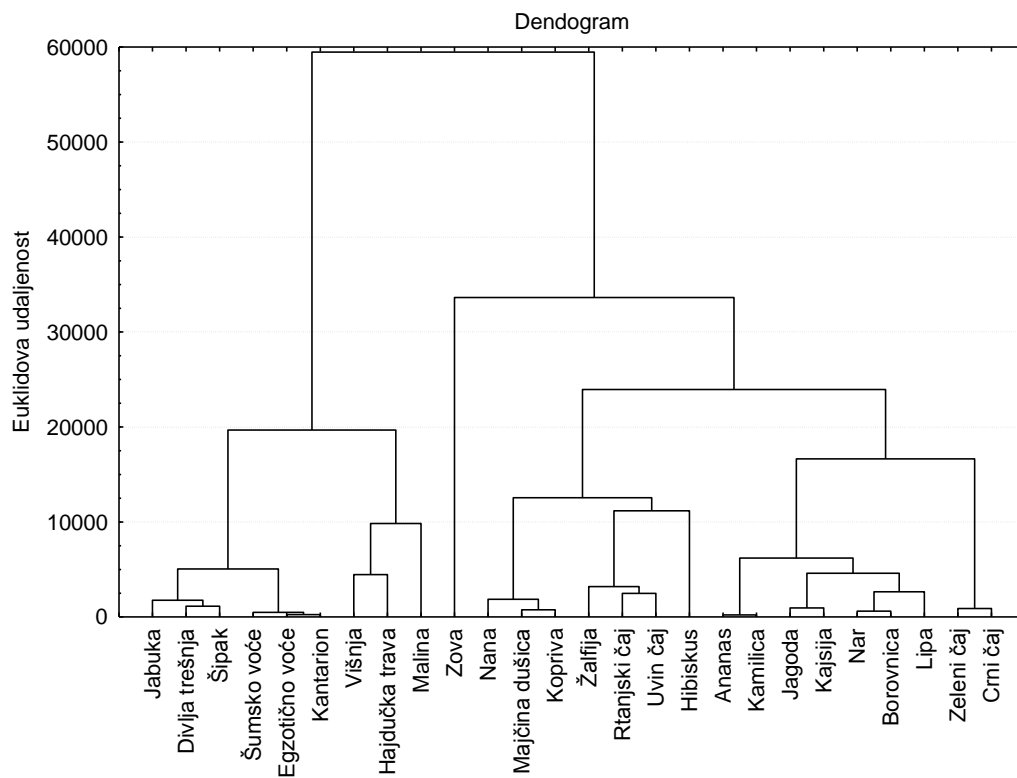
Slika 4.11.2. 3-D grafički prikaz PCA analize dobijen na osnovu sadržaja metala u analiziranim filter čajevima



Slika 4.11.3. 2-D grafički prikaz PCA analize dobijen kada se za originalne varijable uzme sadržaj metala u analiziranim filter čajevima



Slika 4.11.4. 3-D grafički prikaz PCA analize dobijen kada se za originalne varijable uzme sadržaj metala u analiziranim filter čajevima



Slika 4.11.5. Klasteri izdvojeni presecanjem dendograma koji predstavlja meru različitosti sadržaja metala u analiziranim filter čajevima

5. Izvod

U doktorskoj disertaciji "Mineralni i polifenolni profil zelenog, crnog, biljnih i voćnih filter čajeva i njihov antioksidativni kapacitet" dati su rezultati određivanja ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana, pojedinačnih polifenolnih jedinjenja, mineralnog sastava, a ispitan je antioksidativni potencijal navedenih filter čajeva primenom odgovarajućih instrumentalnih analitičkih metoda (UV/Vis spektrofotometrija, ciklična voltometrija, HPLC hromatografija, ICP spektrometrija).

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- U cilju identifikacije i kvantifikacije, polifenolna jedinjenja su iz zelenog, crnog, biljnih i voćnih filter čajeva ekstrahovana različitim rastvaračima. Najveći stepen ekstrakcije za većinu uzoraka filter čajeva je postignut vodom kao rastvaračem, dalje metanolom, etanolom i acetonom.
- Sadržaj ukupnih polifenola u vodenim ekstraktima zelenog, crnog i biljnih filter čajeva kreće se u granicama od 26,2 mg GAE/g u čaju od koprive do 241 mg GAE/g u zelenom čaju. Sadržaj ukupnih polifenola u voćnim filter čajevima kreće se u granicama od 46 mg GAE/g za čaj od šumskog voća do 224 mg GAE/g u čaju od maline. Sadržaj ukupnih polifenola u filter čajevima od aronije je u intervalu od 7,2 mg GAE/g (A2) do 40,6 mg GAE/g (A4).
- Sadržaj ukupnih flavonoida u vodenim ekstraktima zelenog, crnog i biljnih filter čajeva kreće se u granicama od 11,8 mg CE/g u čaju od kamilice do 85 mg CE/g u zelenom čaju. Sadržaj ukupnih flavonoida u voćnim filter čajevima kreće se u granicama od 16,5 mg CE/g u čaju od šumskog voća do 32 mg CE/g u čaju od maline. Sadržaj ukupnih flavonoida u filter čajevima od aronije je u intervalu od 11,1 mg CE/g (A5) do 25,7 mg CE/g (A4).
- Sadržaj ukupnih monomernih antocijana se kreće od 5,84 mg CGE/100g u čaju od višnje do 453 mg CGE/100g u čaju od hibiskusa.
- Antioksidativna aktivnost određena ABTS metodom za zeleni, crni i biljne filter čajevе je u opsegu od 2,98 mmol TE/g za čaj od koprive do 3,27 mmol TE/g za čaj od lipe. Za voćne filter čajeva antioksidativna aktivnost je u granicama od 2,6 mmol TE/g za čaj egzotični ukus do 3,23 mmol TE/g za čaj od kajsije. Za filter čajevе od aronije antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,051 mmol TE/g (A6) do 2,744 mmol TE/g (A2).

- Antioksidativna aktivnost određena DPPH metodom za zeleni, crni i biljne filter čajeve je u opsegu od 0,062 mmol TE/g za čaj od kamilice do 0,181 mmol TE/g za crni čaj. Za voćne filter čajeve antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,034 mmol TE/g za čaj egzotični ukus do 0,181 mmol TE/g za čaj od višnje. Za filter čajeve od aronije antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,051 mmol TE/g (A6) do 0,074 mmol TE/g (A2).
- Antioksidativna aktivnost određena FRAP metodom za zeleni, crni i biljne filter čajeve je u opsegu od 0,127 mmol FE/g za čaj od koprive do 1,83 mmol FE/g za zeleni čaj. Za voćne filter čajeve antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,30 mmol FE/g za čaj egzotični ukus do 1,121 mmol FE/g za čaj od maline. Za filter čajeve od aronije antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,136 mmol FE/g (A2) do 0,153 mmol FE/g (A4).
- Antioksidativna aktivnost određena Fe(III)/Fe(II) metodom za zeleni, crni i biljne filter čajeve je u opsegu od 1,30 mmol AAE/g za čaj od zove do 7,5 mmol AAE/g za zeleni čaj. Za voćne filter čajeve, antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,42 mmol AAE/g za čaj egzotični ukus do 3,93 mmol AAE/g za čaj od maline. Za filter čajeve od aronije antioksidativna aktivnost je u granicama od 0,14 mmol AAE/g (A1) do 3,48 mmol AAE/g (A4).
- Primenom ciklične voltometrije, od biljnih filter čajeva, zeleni čaj je pokazao najveću antioksidativnu aktivnost, a zatim čaj od uve, crni čaj i čaj od hibiskusa. Kod voćnih filter čajeva, najveću antioksidativnu aktivnost su pokazali čajevi od maline, višnje i borovnice. Kod filter čajeva od aronije, najveću antioksidativnu aktivnost su pokazali uzorci A4, A5 i A3.
- Najveću vrednost ACI indeksa od biljnih filter čajeva, pokazali su zeleni čaj i čaj od uve, a od voćnih filter čajeva čajevi od maline i višnje.
- Primenom HPLC hromatografije identifikovane su kvantifikovane sledeće grupe polifenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima: fenolne kiseline (galna, protokatehinska i kafena kiselina), flavoni (rutin i morin), flavon-3-oli (kvarcetin), flavan-3-oli ((+)-katehin, (-)-epikatehin, (-)-epigalokatehin galat, (-)-epigalokatehin), procijanidini (B1, B2 i B3) i antocijani (cijanidin-3-O-

galaktozid, cijanidin-3-*O*-glukozid, cijanidin-3-*O*-arabinozid, cijanidin-3-*O*-ksilozid, delfinidin-3-*O*-sambubiozid, delfinidin-3-*O*-glukozid i cijanidin-3-*O*-sambubiozid).

Od ispitivanih polifenolnih jedinjenja u svim uzorcima filter čajeva najviše je zastupljena galna kiselina, zatim slede rutin, (-)-epikatehin i procijanidin B1. U pogledu sadržaja polifenolnih jedinjenja kod biljnih filter čajeva, zeleni čaj, crni čaj, čajevi od uve, žalfije i kantariona su sa najvećim sadržajem ukupnih polifenola i flavonoida. Kod voćnih filter čajeva, čajevi od maline i višnje su sa najvećim sadržajem ukupnih polifenola i flavonoida, a zatim slede čajevi od jagode, borovnice, jabuke i ananasa. Kod filter čajeva od aronije nađene su relativno visoke vrednosti za antocijane, dok su vrednosti za rutin, morin, galnu kiselinu, protokatehinsku kiselinu i kafenu kiselinu nešto niže.

- Od makroelemenata u uzorcima čajeva najzastupljeniji su K i Ca, potom slede Mg i Na. Od mikroelemenata najzastupljeniji su: Fe, Zn, Mn, Cu i Se.
U pogledu sadržaja teških metala (Cd, Pb) može se zaključiti da su koncentracije teških metala ispod MDK vrednosti propisanih nacionalnom zakonskom regulativom, kao i evropskim i svetskim regulativama. Kada se uporede koncentracije metala u analiziranim uzorcima filter čajeva sa rezultatima dobijenim za čajeve iz drugih zemalja, može se zaključiti da su čajevi dostupni na tržištu Srbije podjednako bogati makro i mikro elementima, kao i čajevi proizvedeni u Turskoj, Kini, Japanu, Indiji, Keniji i Šri Lanki
- Ispitivani uzorci filter čajeva u jednoj šoljici čaja (*cup of tea*) u velikoj meri zadovoljavaju dnevne potrebe organizma.
- Korelacija sadržaja metala pokazala je dobru korelaciju ($R^2 > 0,5$) u okviru sedam grupa elemenata: grupa 1: K, Fe, V; grupa 2: Ca, Mg, Zn, Fe, Mo; grupa 3: Mg, Cu, Mo; grupa 4: Fe, Cr, Ni, V, Sn; grupa 5: Sr, Ba; grupa 6: Cd, Sb i grupa 7: As, Cd, Pb.
- Primenom PCA analize, analizirani filter čajevi su svrstani u četiri grupe: grupa 1 - hibiskus, kopriva, nana, rtanjski čaj, majčina dušica, čaj od uve i žalfija; grupa 2 - crni i zeleni čaj; grupa 3 - jagoda, zova, ananas, nar, borovnica, hajdučka trava, kamilica i kajsija i grupa 4 - egzotično voće, divlja trešnja, šumsko voće, jabuka, kantarion, šipak, trešnja i malina. Primenom klaster

analize, takođe su dobijene su četiri grupe: grupa 1 - jabuka, trešanja, šipak, šumsko voće, egzotično voće, kantarion, trešnja, malina i hajdučka trava; grupa 2 - nana, majčina dušica, kopriva, žalfija, rtanjski čaj, uva i hibiskus; grupa 3 - ananas, kamilica, jagoda, kajsija, šipak, borovnica i lipa i grupa 4 - zeleni i crni čaj. Čaj od zove nije pripao nijednoj grupi.

- Konačno, može se zaključiti da od ispitivanih uzoraka biljnih filter čajeva, zeleni čaj ima najveći sadržaj polifenolnih jedinjenja i najveću antioksidativnu aktivnost, a zatim slede čaj od uve i crni čaj. Od voćnih filter čajeva, čajevi od maline i višnje su bogati izvori polifenolnih jedinjenja. Uzorci A4 i A6 filter čajeva od aronije su takođe dobar izvor polifenolnih jedinjenja. Određivanje sadržaja metala u filter čajevima je korisno u smislu kontrole njihove zdravstvene ispravnosti. Takođe, dobijene vrednosti ukazuju na to, da pojedini filter čajevi mogu da posluže kao izvor nutrijenata u ljudskoj ishrani.

6. Summary

The PhD thesis, entitled "The mineral and polyphenol profile of green, black, herbal and fruit bagged teas and its antioxidant capacity" put forwards the results of the determination of the total polyphenols, flavonoids and monomeric anthocyanins content, individual polyphenolic compounds, multielement analysis as well as the antioxidant potential of the filter teas used analytical instrumental methods (UV/Vis spectrophotometry, cyclic voltammetry, HPLC chromatography, ICP spectrometry).

Based on the obtained results the following conclusions can be made:

- In order to identification and quantification, polyphenol compounds from green, black, herbal and fruit bagged teas were extracted by various solvents. The highest degree of extraction is achieved using a water as a solvent, followed by methanol, ethanol and acetone.
- Total polyphenols content of green, black and herbal bagged teas was varied from 26.2 mg GAE/g for nettle tea to 241 mg GAE/g for green tea. Total polyphenols content of fruit bagged teas was varied from 46 mg GAE/g for forest fruit tea to 224 mg GAE/g for raspberry tea. Total polyphenols content of aronia bagged teas was varied from 7.2 mg GAE/g for sample A2 to 40.6 mg GAE/g for sample A4.
- Total flavonoids content of green, black and herbal bagged teas was varied from 11.8 mg CE/g for chamomile tea to 85 mg CE/g for green tea. Total flavonoids content of fruit bagged teas was varied from 16.5 mg CE/g for forest fruit tea to 32 mg CE/g for raspberry tea. Total flavonoids content of aronia bagged teas was varied from 11.1 mg CE/g for sample A5 to 25.7 mg CE/g for sample A4.
- The total monomeric anthocyanins content was varied from 5.84 mg CGE/100g for cherry tea to 453 mg CGE/100g for hibiscus tea.
- Using the ABTS method, the antioxidant activity of herbal bagged teas was changed in the range of 2.98 mmol TE/g for nettle tea to 3.27 mmol TE/g for linden tea. The antioxidant activity of fruit bagged teas was changed in the range of 2.6 mmol TE/g for exotic fruit tea to 3.23 mmol TE/g for apricot tea. The antioxidant activity of aronia bagged teas was changed in the range of 0.051 mmol TE/g for sample A6 to 2.744 mmol TE/g for sample A2.
- Using the DPPH method, the antioxidant activity of herbal bagged teas was changed in the range of 0.062 mmol TE/g for chamomile tea to 0.081 mmol TE/g

for black tea. The antioxidant activity of fruit bagged teas was changed in the range of 0.034 mmol TE/g for exotic flavor tea to 0.181 mmol TE/g for cherry tea. For aronia bagged teas, the antioxidant activity was changed in the range of 0.051 mmol TE/g for sample A6 to 0,074 mmol TE/g for sample A2.

- Using FRAP method, the antioxidant activity for herbal bagged teas was changed in the range from 0.127 mmol FE/g for nettle tea to 1.83 mmol FE/g for green tea. The antioxidant activity of fruit bagged teas was changed in the range from 0.300 mmol FE/g for exotic flavor tea to 1.121 mmol FE/g for raspberry tea. The antioxidant activity for aronia bagged teas was changed in the range from 0.136 mmol FE/g for the sample A2 to 0.153 mmol FE/g for the sample A4.
- Using the Fe(III)/Fe(II) - method, the antioxidant activity for herbal bagged teas was changed in the range from 1.30 mmol AAE/g for elder tea to 7.5 mmol AAE/g for green tea. The antioxidant activity for fruit bagged teas was changed in the range from 0.42 mmol AAE/g for exotic flavor tea to 3.93 mmol AAE/g for raspberry tea. The antioxidant activity of aronia bagged teas was changed in the range from 0.14 mmol AAE/g for the sample A1 to 3.48 mmol AAE/g for the sample A4.
- Using the Fe(III)/Fe(II) – method, the antioxidant activity for fruit bagged teas is changed in the range from 1.30 mmol AAE/g for elder tea to 7.5 mmol AAE/g for green tea. The antioxidant activity for fruit bagged teas is changed in range from 0.42 mmol AAE/g for exotic flavor tea to 3.93 mmol AAE/g for raspberry tea. The antioxidant activity for aronia bagged teas is changed in the range from 0.14 mmol AAE/g for the sample A1 to 3.48 mmol AAE/g for the sample A4.
- Using the cyclic voltammetry, among herbal bagged teas, green tea was shown the biggest antioxidant activity, followed by bearberry tea, black tea and hibiscus tea. For fruit bagged teas, the biggest antioxidant activity was shown following teas: raspberry, cherry and blueberry. For aronia bagged teas, the biggest antioxidant activity was shown samples A4, A5 and A3.
- The greatest values of ACI index were shown green tea and bearberry tea among herbal teas and raspberry and cherry teas among fruit bagged teas.
- Using HPLC chromatography, following polyphenolic compounds were indentificated and quantificated: phenolic acids (gallic, protocatechuic and caffeic

acid), flavons (rutin and morin), flavon-3-ols (quercetin), flavan-3-ols ((+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechingalat, (-)-epigallocatechin), procyanidins (B1, B2 and B3) and anthocyanins (cyanidin-3-*O*-galactoside, cyanidin-3-*O*-glucoside, cyanidin-3-*O*-arabinoside, cyanidin-3-*O*-xyloside, delphinidin-3-*O*-sambubioside, delphinidin-3-*O*-glucoside and cyanidin-3-*O*-sambubioside).

Among the polyphenolic compounds in all bagged tea samples, the gallic acid is most abundant followed by rutin, (-)-epicatechin and procyanidin B1. Among the herbal bagged teas, green tea, black tea, bearberry tea, sage tea and St. John's wart tea have the highest content of total polyphenols and flavonoids. Among fruit bagged teas, raspberry and cherry teas have highest content of total polyphenols and flavonoids, followed by strawberry, blueberry, apple and pineapple teas. Aronia bagged teas samples have relatively high content for anthocyanins, while the content of rutin, morin gallic acid, protocatechuic acid and caffeic acid is lower.

- Concerning the content of macroelements in bagged tea samples, the most abundant are K and Ca, followed by Mg and Na. Concerning the content of microelements, the most abundant are: Fe, Zn, Mn, Cu and Se.

Taking into account the levels of toxic elements (Cd, Pb) determined in this PhD study, analyzed bagged tea samples were found to be safe for human consumption. When metals concentrations in bagged teas are compared with the results obtained for teas from other countries, it can be concluded that bagged teas available at Serbian market are rich in macro and micro elements as well as the teas made in Turkey, China, Japan, India, Kenya, Sri Lanka...

- In relation to the obtained results, analyzed tea samples contain all kinds of minerals and trace elements and could be contribute to the daily dietary requirements.
- The correlation of the content of metal has shown a good correlation ($R^2 > 0,5$) within the seven groups of elements:

group 1: K, Fe, V,

group 2: Ca, Mg, Zn, Fe, Mo,

group 3: Mg, Cu, Mo,

group 4: Fe, Cr, Ni, V, Sn,

group 5: Sr, Ba,

group 6: Cd, Sb,

group 7: As, Cd, Pb.

- Based on the PCA analysis, it can be seen that the analyzed bagged tea samples can be classified into four groups: group 1- hibiscus, nettle, mint, rtanj tea, thyme, bearberry tea and sage; group 2 – black and green tea; group 3 – strawberry, elder, pineapple, pomegranate, blueberry, yarrow, chamomile and apricot; group 4 – exotic fruit, wild cherry, forest fruit, apple, St. John`s wart, rose hip, cherry and raspberry. Using the cluster analysis four groups were obtained: group 1 – apple, cherry, rose hip, forest fruit, exotic fruit, St John`s wart, raspberry and yarrow; group 2 – mint, thyme, nettle, sage, rtanj tea , bearberry tea and hibiscus; group 3 – pineapple, chamomile, strawberry, apricot, rose hip, blueberry and lime; group 4 – green and black tea. In addition, according to cluster analysis elder tea doesn`t belong to any of these groups.
- In conclusion, among herbal bagged teas, green tea has the highest amount of polyphenolic compounds and shows the biggest antioxidant activity, followed by bearberry and black teas. Among fruit bagged teas, raspberry and cherry teas are rich of polyphenolic compounds. Samples A4 and A6 of aronia begged teas are also rich in polyphenolc compounds. Taking into account nutrition requirement and health risk related with consumption of tea beverages, it is important to control the metal composition these beverages. Obtained results have shown that some bagged teas can be a good source of nutrients in human diet.

7. Literatura

- Acworth I.N., *The Handbook of Redox Biochemistry*, ESA, Inc., Chelmsford, (2003).
- Anesini C., Ferraro G.E., Filip R., Total phenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina, *J. Agric. Food Chem.*, 56, (2008), 9225–9229.
- Antić-Jovanović A., *Atomska spektroskopija, spektrohemijski aspekti*, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, (2006).
- AOAC method 930.15, Loss on drying (moisture) for feeds (at 135°C for 2 hours) dry matter on oven drying for feeds (at 135°C for 2 hours) In: *Official Methods of Analysis*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., (1990), 69-70.
- Arsenijević S., *Opšta i neorganska hemija*, Naučna knjiga, Beograd, (1986).
- Arts M.J.T.J., Haenen G.R.M.M., Voss H.P., Bast A., Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, *Food Chem. Toxicol.*, 42, (2004), 45–49.
- Ashraf W., Mian A.A., Leves of selected heavy metals in black tea varieties consumed in Saudi Arabia., *J. FBT. IAU.*, 81, (2008), 101-104.
- Atoui A.L., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P., Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile, *Food Chem.*, 89, (2005), 27–36.
- Aurélie M., Martine P.G., Sébastien D., Isabelle Le.H., Philippe B., Effect of water composition on aluminium, calcium and organic carbon extraction in tea infusions, *Food Chem.*, 106, (2008), 1467–1475.
- Bard A.J., Faulkner L.R., *Electrochemical Methods*, John Wiley & Sons, New York, (2000).
- Benzie I.F., Strain J.J., Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, *Methods Enzymol.*, 299, (1999), 15–27.
- Bogdanović D., Ubavić M., Dozet D., Hemijska svojstva i obezbeđenost zemljišta Vojvodine neophodnim makroelementima, Teški metali i pesticidi u zemljištvu, Zbornik, Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, (1993), 197–215.

- Božin B, Mimica-Đukić N., Samojlik I., Anackov G., Igić R., Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chem.*, 4, (2008), 925-929.
- Brady N.C., Weil R., *The Nature and Properties of Soils*, Prentice Hall, New Jersey, (1999).
- Brand M., Aronia: Native shrubs with untapped potential, *Arnoldia*, 67, (2010), 14–25.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol. (Food Sci. Technol.-Leb)*, 28, (1995), 25-30.
- Buřičová L., Andjelkovic M., Čermáková A., Réblová Z., Jurček O., Kolehmainen E., Verhé R., Kvasnička F., Antioxidant capacity and antioxidants of strawberry, blackberry and raspberry leaves, *Czech. J. Food Sci.*, 2, (2011), 181-189.
- Bushway A.A., Hu W., Shupp J.M., Quality characteristics of five disease resistant apple cultivars, *J. Am. Pomol. Soc.*, 56, (2002), 94–105.
- Butorac A., *Opća agronomija*, Školska knjiga, Zagreb, (1999).
- Cabrera C., Giménez R., López M.C., Determination of tea components with antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem.*, 51, (2003), 4427–4435.
- Campos A.M., Lissi E.A., Kinetics of the reaction between 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols, *Int. J. Chem. Kinet.*, 29, (1997), 219-224.
- Cattell R.B., r_p and other coefficients of pattern similarity, *Psychometrika*, 14, (1949), 279-298.
- Cattell R.B., Factor analysis: an introduction to essentials, I. The purpose and underlying models, *Biometrics*, 21, (1965), 190-215.
- Čeković Ž., Jedan vek hemije slobodnih radikala 1900 - 2000, *Hemijski pregled*, 41, (2000), 4-12.
- Chen Z.Y., Chan P.T., Antioxidative activity of green tea catechins in canola oil, *Chem. Phys. Lipids*, 82, (1996), 163-172.
- Chen Z.Y., Chan P.T., Ma H.M., Fung K.P., Wang J., Antioxidative effect of ethanol tea extracts on oxidation of canola oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, (1996), 375-380.
- Cochran W.G., Analysis of covariance: its nature and uses, *Biometrics*, 13, (1957), 261-281.

Commission Regulation (EC), *Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*, Official Journal of the European Communities, No 1881/2006, (2006).

Cooley W.W., Lohnes P.R., *Multivariate Data Analysis*, John Wiley & Sons, New York, (1971).

Council Directive, *On the quality of water intended for human consumption*, Official Journal of the European Communities, 98/83/EC (1998).

Cronbach L.J., Gleser G.C., Assessing similarity between profiles, *Psychol. Bull.*, 50, (1953), 456-47.

Daničić V., *Vitaminologija, sve o vitaminima i mineralima*, Tarifa, Beograd, (2012).

Davalos A., Gomez-Cordoves C., Bartolome B., Commercial dietary antioxidant supplements assayed for their antioxidant activity by different methodologies, *J. Agric. Food Chem.*, 51, (2003), 2512–2519.

Dufresne C.J., Farnworth E.R., A review of latest research findings on the health promotion properties of tea, *J. Nutr. Biochem.*, 12, (2001), 404–421.

Eastwood M.A., Interaction of dietary antioxidants in vivo: how fruit and vegetables prevent disease, *QJM - Int. J. Med.*, 92, (1999), 527–530.

Erdemoğlu S.B., Pyrzyniska K., Güçerc Ş., Speciation of aluminum in tea infusion by ion-exchange resins and flame AAS detection, *Anal. Chim. Acta*, 411, (2000), 81–89.

Fernandez-Caceres P.L., Martin M.J., Pablos F., Gustavo Gonzalez A., Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) varieties and their geographical origin according to their metal content, *J. Agric. Food Chem.*, 49, (2001), 4775-4779.

Fernandez P.L., Martin M.J., Gonzalez A.G., Pablos F., HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas. *Analyst*, 125, (2000), 421-425

Filipović I., Lipanović S., *Opća i anorganska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, (1988).

Fisher R.A., Mackenzie W.A., Studies in crop variation. II. The manurial response of different potato varieties, *J. Agric. Sci.*, 13, (1923), 311-320.

- Fisher R.A., The general sampling distribution of the multiple correlation coefficient, *P. Roy. Soc.*, A121, (1928), 654-673.
- Fisher R.A., The use of multiple measurements in taxonomic problems, *Ann. Eugen.*, 7, (1936), 179-188.
- Fu L., Xu B.T., Gan R.Y., Zhang Y., Xu X.R., Xia E.Q., Li H.B., Total phenolic contents and antioxidant capacities of herbal and tea infusions, *Int. J.Mol. Sci.*, 12, (2011), 2112–2124.
- Giusti M.M., Wrolstad R.E., *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy*, *Curr. Prot. Food Anal. Chem.*, (2003), F1.2.1.-F1.2.13.
- Gutman R.L., Ryu B.H., Rediscovering tea. An exploration of the scientific literature, *Herbal Gram*, 37, (1996) 33–48.
- Ha Y.L., Csallany A.S., α -Tocopherol oxidation mediated by superoxide ($O_2^{\cdot-}$). II. Identification of the stable α -tocopherol oxidation products, *Lipids*, 27, (1992), 201-205.
- Hagerman A.E., Rice M.E., Ritchard N.T., Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin (4-8) catechin (procyanidin), *J. Agric. Food Chem.*, 46, (1998), 2590-2595.
- Halliwell B., Whiteman M., Measuring reactive species and oxidative damage in vivo in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.*, 142, (2004), 231-255.
- Harman H.H., *Modern Factor Analysis*, The University of Chicago Press, Chicago, (1960).
- Hollman P.C., Katan M.B., Health effects and bioavailability of dietary flavonols, *Free Radical Res.*, 31, (1999), S75–S80.
- Hotelling H., Analysis of a complex of statistical variables into principal components, *J. Educ. Psychol.*, 24, (1933), 417-441; 498-520.
- Hotelling H., Relations between two sets of variates, *Biometrika*, 28, (1936), 321-377.
- Hsieh Y.H.P., Hsieh Y.P. Kinetics of Fe(III) reduction by ascorbic acid in aqueous solution, *J. Agric. Food. Chem.*, 48, (2000), 1569-1573.

Hurtado-Fernández E., Gómez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A., Fernández-Gutiérrez A., Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 53, (2010), 1130-1160.

http://cecra.dh.pmf.uns.ac.rs/pdf/drugiseminar/priprema_Maletic.pdf

<http://gastronomija.info>

<http://stetoskop.info>

<http://stetoskop.info/Caj-magicni-napitak-528-s5-content.htm>

<http://tehnologijahrane.com>

<http://mediko.sveznadar.info/20Lijekoviti/Caj/Caj.html>

<http://cajeviza.net/caj-od-jabuke/>

http://novosti.rs/vesti/zivot_+.304.html:531962-Crni-caj-Tamnoputi-brat-blizanac (Slika 2.1.3.1. *Crni čaj*)

<http://reporter.mk/2015/04/27/zelen-caj> (Slika 2.1.3.2. *Zeleni čaj*)

<http://cajeviza.net/uvin-caj-za-urinarne-infekcije-i-bubrege-priprema-trudnice-prm/> (Slika 2.1.4.1. *Čaj od uve*)

<http://cajeviza.net/caj-od-kantariona-kao-lek-za-depresiju-zeludac-kandidu/> (Slika 2.1.4.2. *Čaj od kantariona*)

<http://cajeviza.net/hibiskus-caj-lekovitost/> (Slika 2.1.4.3. *Čaj od hibiskusa*)

<http://putokaz.me/herbarijum/810-majcina-dusica> (Slika 2.1.4.4. *Čaj od majčine dušice*)

<http://cajne-kronike.com/hr/rtanjski-caj/#prettyPhoto> (Slika 2.1.4.5. *Rtanjski čaj*)

<http://cajeviza.net/caj-od-koprive-korisna-svojstva-priprema-upotreba-i-mere-opreza/> (Slika 2.1.4.6. *Čaj od koprive*)

<http://mediflora.rs/zdravlje-u-svakojsolji-caja-od-sipka/> (Slika 2.1.4.7. *Čaj od šipka*)

<http://najboljicajevi.com/caj-od-zove-dejstvo-i-recept/> (Slika 2.1.4.8. *Čaj od zove*)

<http://lijecenje.blogspot.rs/2013/01/caj-od-lipe.html> (Slika 2.1.4.9. *Čaj od lipe*)

<http://najboljicajevi.com/caj-od-zalfije-kadulje-dejstvo-i-priprema/> (Slika 2.1.4.10. *Čaj od žalfije*)

<http://najboljicajevi.com/caj-od-nane-peperminta-dejstvo-i-priprema/> (Slika 2.1.4.11. *Čaj od nane*)

<http://stvarukusa.rs/clanak/caj-od-hajducke-trave-cisti-krv-popravlja-varenje-eliminise-bolove-u-zglobovima> (Slika 2.1.4.12. *Čaj od hajdučke trave*)

http://b92.net/zdravlje/vesti.php?yyyy=2016&mm=09&nav_id=1171438 (Slika 2.1.4.13. *Čaj od kamilice*)

<http://learn-myself.com/hr/cherry-tea-from-frozen-cherrie-8525/> (Slika 2.1.5.1. *Čaj od višnje*)

<http://magicnobilje.com/vesti/aktuelno/244756/umesto-ruskog-caja-list-sumske-jagode> (Slika 2.1.5.2. *Čaj od jagode*)

<http://najboljicajevi.com/caj-od-lista-maline-za-zdravlje-u-trudnoci-priprema-i-cena> (Slika 2.1.5.3. *Čaj od maline*)

<http://istineilaziohrani.blogspot.rs/2014/10/voce-i-lCHF.html> (Slika 2.1.5.4. *Čaj od šumskog voća*)

<http://cajeviza.net/kostice-kajsije-kao-lek-protiv-raka-vitamin-b17-ulje-id> (Slika 2.1.5.5. *Čaj od kajsije*)

<http://dijetamesecevemene.com/zdravi-recepti/sok-od-tresnje-kalorije-vitamini> (Slika 2.1.5.6. *Čaj od divlje trešnje*)

<http://zenasamja.me/zdravlje/433/cudesna-borovnica> (Slika 2.1.5.7. *Čaj od Borovnice*)

<http://fitxs.rs/carobni-napitak-za-vas-organizam-voda-jabuka-i-cimet> (Slika 2.1.5.8. *Čaj od jabuke sa cimetom*)

<http://prirodnoizdravo.com/caj-od-kore-nara-protiv-proliva-i-stomacnih-tegoba> (Slika 2.1.5.9. *Čaj od nara*)

<http://artemisinin.rs/vesti/bromelain-enzim-ananasa-i-njegova-lekovita-svojstva-b81.html> (Slika 2.1.5.10. *Čaj od ananasa*)

<https://krstarica.com/zivot/zene/zimsko-voce-2> (Slika 2.1.5.11. Čaj od južnog voća)

<http://cajeviza.net/caj-od-lista-i-bobica-aronije-lekovitost-priprema-i-upotreba>(Slika 2.1.5.12. Čaj od aronije)

Institute of Medicine, *Dietry reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*, National Academy of Science, (1997). www.nap.edu

Institute of Medicine, *Dietry reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids*, National Academy of Science, (2000), www.nap.edu

Institute of Medicine, *Dietry reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*, National Academy of Science, (2001), www.nap.edu

Institute of Medicine, *Dietry reference intakes for water, potassium, sodium, chloride and sulfate*, National Academy of Science, (2004), www.nap.edu

Jackson J.E., *A User's Guide to Principal Components*, John Wiley & Sons, New York, (1991).

Jakobek L, Šeruga M, Krivak P., The influence of interaction among phenolic compounds on the antiradical activity of chokeberries (*Aronia melanocarpa*), *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 62, (2011), 345-52.

Jančić R., *Sto naših najpoznatijih lekovitih biljaka*, Naučna knjiga, Beograd, (1988).

Jaređić M., Vučetić J.I., *Mikroelementi u biološkom materijalu*, Studentski trg, Beograd, (1997).

Kabata-Pendias A., Pendias H., *Trace Element in Soils and Plant*, CRC Press, Boca Raton, (1992).

Kabata-Pendias A., Pendias H., *Trace Elements in Soils and Plants*, CRC Press, Boca Raton, (2001).

Kabata-Pendias A., Pendias H., *Mikroelementie Močvah i Rastenijah*, Mir, Moskva, (1989).

Kaiser H.F., The application of electronic computers to factor analysis, *Educ. Psychol. Meas.*, 20, (1960), 141-151.

Kakuzo O., *Knjiga o čaju*, Liber, Beograd, (2008).

Kara D., Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis, *Food Chem.*, 114, (2009), 347-354.

Karadas C., Kara D., Chemometric approach to evaluate trace metal concentrations in some spices and herbs, *Food Chem.*, 130, (2012), 196-202.

Karak T., Bhagat R.M., Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion, 43, (2010), 2234-2252.

Karori S.M., Wachira F.N., Wanyoko J.K., Ngure R.M., Antioxidant capacity of different types of tea products, *Afr. J. Biotechnol.*, 6, (2007), 2287-2296.

Kastori R., Petrović N., Uticaj teških metala na biljke, Teški metali i pesticidi u zemljištu, Zbornik, Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, (1993), 55–72.

Katsube T., Imawaka N., Kawano Y., Yamazaki Y., Shiwaku K., Yamane Y., Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity, *Food Chem.*, 97, (2006), 25-31.

Khokhar S., Magnusdottir S.G.M., Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agric. Food Chem.*, 50, (2002), 565–570.

Kojić M., *Botanika*, Bard Fin, Beograd, (2003)

Kolomejceva-Jovanović L., *Hemija i zaštita životne sredine*, Ekološka hemija, Savez inženjera i tehničara Srbije, Beograd, (2010).

Koraćević D., Bjelaković G., Đorđević V.B., Nikolić J., Pavlović D.D., Kocić G., *Biohemija*, Savremena administracija, Beograd, (2003).

Kovačić Z.J., *Multivarijaciona analiza*, Univerzitet u Beogradu, Ekonomski fakultet, Beograd, (1994).

Kulling S.E., Rawel H.M., Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristic components and potential health effects, *Planta Med.*, 74, (2008), 1625- 34.

Lamble K., Hill S.J., Determination of trace metals in tea using both microwave digestion at atmospheric pressure and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analyst*, 120, (1995), 413-417.

- Lepp N.W., Dickinson M.D., The consequences of routine long-term copperfungicide usage in tropical beverage crops: Current status and future trends. In T. D. Lekkas (Ed.), Proceedings of the international conference on heavy metals in the environment, Athens, (1985), 274–276.
- Leucuta S., Vlase L., Gocan S., Radu L., Fodorea C., Determination of phenolic compounds from Geranium sanguineum by HPLC, *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.*, 28, (2005), 3109-3117.
- Lončarić Z., Kádár I., Jurković Z., Kovačević V., Popović B., Karalić K., Teški metali od polja do stola (Heavy metals from farm to fork), Zbornik radova, 47. hrvatski I 7. međunarodni simpozij agronoma, Opatija, Hrvatska, (2012), 14–23.
- Lough W.J., Wainer I.W., *High Performance Liquid Chromatography: Fundamental principles and practice*, Blackie Academic & Professional, Montreal, (1995).
- Luximon-Ramma A., Bahorun T., Crozier A., Zbarsky V., Datla K.P., Dexter D.T., Aruoma O.I., Characterization of the antioxidant function of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas, *Food. Res. Int.*, 38, (2005), 357-367.
- Määttä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Mattila P.H., Gonzalez- Paramas A.M., Törrönen A.R., Distribution and content of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species, *J. Agric. Food Chem.*, 52, (2004), 4477-86.
- Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C., Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies, *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, (2005), 230S-242S.
- Marcos A., Fisher A., Rea G., Hill S.J., Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13, (1998), 521-525.
- Marković D., Cakić S., Nikolić G., *Hromatografija*, Tehnološki fakultet, Leskovac, (1996).
- McKay D.L., Blumberg J.B., The role of tea in human health, *J. Am. Coll Nutr.*, 21, (2002), 1-13.
- Mihailović M.B, *Selen u ishrani ljudi i životinja*, Veterinarska komora Srbije, Beograd, (1996).

- Milić B., Đilas S., Čanadanović-Brunet J., Sakač M., *Biljni polifenoli*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, (2000).
- Miller J.N., Miller J.C., *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Prentice Hall, (2005).
- Milosavljević S.M., *Strukturne instrumentalne metode*, Hemijski fakultet, Beograd, (1994).
- Milovanović G., *Hromatografske metode odvajanja*, PMF Univerziteta u Beogradu i Jugoslovenski zavod za produktivnost rada i informacione sisteme, Beograd, (1985).
- Mimić-Oka J., Simić D., Simić T., Free radicals in cardiovascular diseases, *Facta Univ., Series: Med. . Biol.*, 6, (1999), 11-22.
- Mitić S. *Elektrtoanalitička hemija*, Prirodno-matematički fakultet, Niš, (2008).
- Mišović J., *Uvod u hromatografiju*, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, (1981).
- Montaser A., Golightly D.W., *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, VCH Publishers, New York, (1988).
- Naczki M., Shahidi F., Extraction and analysis of phenolics in food, *J. Chromatogr. A.*, 1054, (2004), 95–111.
- Naithani V., Nair S., Kakkar P., Decline in antioxidant capacity of Indian herbal tea during storage and its relation to phenolic content, *Food Res. Int.*, 39, (2006), 176–181.
- Nardi E.P., Evangelista F.S., Tormen L., Curtius A.J., Souza S.S., Barbosa F., The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples, *Food Chem.*, 112, (2009), 727-732.
- Oktay M., Gulcin I., Kufrevioglu O.I., Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts, *Lebensm. Wiss. Technol. (Food Sci. Technol.)*, 36, (2003), 263-271.
- Onisi M., The feasibility of a tea drinking program for dental public health in primary schools', *J. Dent. Hlth.*, 35, (1993), 402-405.
- Ou B., Prior R.L., Huang D., The chemistry behind dietary antioxidant capacity assays, *J. Agric. Food. Chem.*, 53, (2005), 1841-1856.

- Oyaizu M., Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Jpn. J. Nutr.*, 44, (1986), 307-315.
- Parkes G.D., Fil D., *Meliorova moderna neorganska hemija*, Naučna knjiga, Beograd, (1973).
- Pearson K., On lines and planes of closest fit to system of points in space, *Phylos. Mag.*, 2, (1901), 559-572.
- Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L., Gomez E., Tiemann K.J., Parsons J.G., Carrillo G., Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs up on alfalfa growth and heavy metal uptake, *Environ. Pollut.*, 119, (2002), 291–301.
- Percival M., Antioxidants, *Clin. Nutr. Insights*, NUT031 1/96 Rev. 10/98, (1998).
- Perić-Grujić A.A., Pocajt V.V., Ristić M.Đ., Određivanje sadržaja teških metala u čajevima sa tržišta u Beogradu, Srbija, *Hem. Ind.*, 63, (2009), 433-436.
- Piljac-Zegarac J., Valek L., Stipcevic T., Martinez S., Electrochemical determination of antioxidant capacity of fruit tea infusions, *Food Chem.*, 121, (2010), 820–825.
- Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama*, Službeni glasnik Republike Srbije br. 25/2010 i 28/2011, (2011).
- Pravilnik o kvalitetu čaja, biljnog čaja i njihovih proizvoda*, Službeni glasnik Republike Srbije br. 4/2012, (2012)
- Prior R.L., Wu X., Schiach K., Standardized methods for determination of antioxidant capacities and phenolics in foods and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 53, (2005), 4290-4302.
- Ražić S., Onjia A., Potkonjak B., Trace elements analysis of *Echinacea purpurea*-herbal medicinal, *J. Pharm. Bimed. Anal.* 33, (2003), 845-850.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio. Med.*, 26, (1999), 1231-1237.
- Reports of the Scientific Committee for Food, *Nutrient and energy intakes for the European Community*, Commission of the European Communities, Luxemburg. (1993).

- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B., The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Res.*, 2, (1995), 375-83.
- Robards K., Prenzer P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W., Phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits, *Food Chem.*, 66, (1999), 401-436.
- Robbins R.J., Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology, *J. Agric. Food Chem.*, 51, (2003), 2866-2887.
- Salahinejad M., Aflaki F., Toxic and essential mineral elements content of black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran, *Bio. Trace. Elem. Res.*, 134, (2010), 109-117.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto, F.A., procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *J. Sci. Food Agric.*, 76, (1994), 270-276.
- Seenivasan S., Manikandan N., Muraleedharan N.N., Selvasundaram R., Heavy metal content of black teas from south India, *Food Control.*, 19 (2008), 746–749.
- Shahidi F., Antioxidants in food and food antioxidants, *Nahrung*, 44, (2000), 158–163.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol.*, 299, (1999), 152–178.
- Slimestad R., Torskangeroll K., Nateland H.S., Johannessen T., Giske N.H., Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*, *J. Food Comp. Anal.*, 18, (2005), 61- 8.
- Snyder L.R, Kirkland J.J, Dolan J.W., *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Wiley, (2011).
- Srećković M., *Čajevi za zdravlje*, Politika, Beograd, (1991).
- SRPS EN 1131:2005, *Sokovi od voća i povrća. Određivanje relativne gustine*, (2005).
- Stodt U., Engelhardt U.H., Progress in the analysis of selected tea constituents over the past 20 years, *Food Res. Int.*, 53, (2013), 636-648.

Stratil P., Klejdus B., Kuban V., Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods, *J. Agric. Food Chem.*, 54, (2006), 607–616.

Suzuki S., Green tea flavonoids, *Shokuhin Kogyo*, 26, (1983), 57-65.

Szymczycha-Madeja A., Welna M., Zyrnicki W., Multi-Element Analysis, Bioavailability and Fractionation of Herbal Tea Products, *J. Braz. Chem. Soc.*, 5, (2013), 777-787.

Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klapac T., *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*, Hrvatska agencija za hranu (HAH), Osijek, (2010).

Tabachnick B.G., Fidell, L.S., *Using Multivariate Statistics*, Harper & Row Publishers, New York, (1989).

Todorović M., *Optičke metode instrumentalne analize*, Hemijski fakultet, Beograd, (1997).

Tomas-Barberan F., Espin J.C., Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables, *J. Sci. Food Agric.*, 81, (2001), 853-876.

Ubavić M., Bogdanović D., *Agrohemija*, Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, (2011).

Ui M., Yasuda H., Shibata M., Maruyama T., Horita H., Hara T., Yasuda T., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* (in Japanese), 38, (1991), 1098-1102.

US FDA, *Food and drug administration for edible plant parts*, (2001).

Vaya J., Aviram M., Nutritional antioxidants: Mechanisms of action, analyses of activities and aedical applications, *Curr. Med. Chem. - Imm. Endoc. & Metab. Agents*, 1, (2001), 99 - 117.

Vidović S., Cvetković D., Ramić M., Dunjić M., Malbaša R., Tepić A., Šumić Z., Veličanski A., Jokić S., Screening of changes in content of health benefit compounds, antioxidant activity and microbiological status of medicinal plants during the production of herbal filter tea, *Ind. Crop. Prod.*, 50 (2013), 338-345.

Wang H., Provan G.J., Helliwell K., Tea flavonoids their functions, utilisation and analysis, *Trends Food. Sci. Tech.*, 11, (2001), 152-160.

Wang Y., Ho C.T., Polyphenolic chemistry of tea and coffee: A century of progress, *J. Agric. Food Chem.*, 57, (2009), 8109–8114.

WHO, *Trace Elements in Human Nutrition and Health*, World Health Organization, Geneva, (1996).

WHO, *Quality control methods for medicinal plant materials*, World Health Organization, Geneva, (1998).

WHO, *Antimony in Drinking-water*, Background document for development of WHO Guidelines for Drinkingwater Quality, WHO/SDE/WSH/03.04/74, World Health Organization, Geneva, (2003).

Wilks S.S., Certain generalization in the analysis of variance, *Biometrika*, 24, (1932), 471-474.

Wiseman S., Waterhouse A., Korver O., The health effects of tea and tea components: Opportunities for standardizing research methods, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 41, (2001), 387–412.

Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A., Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and applications to major families of antioxidants, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, (2001), 1173-1183.

Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S., Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia* and *Sambucus* and their antioxidant capacity, *J Agric Food Chem.*, 52, (2004), 7846-56.

Wu D., Cederbaum A.I., Alcohol, oxidative stress, and free radical damage, *Alcohol Res. Health*, 27, (2003), 277-84.

www.snagabilja.com

www.lucardo.co.rs

www.herbateka.eu/node/2542

www.lekovitebiljke.com/vocewww.herbateka.eu/node/2542

www.zdravlje-bilje.com/srp/voce-i-povrce.36/ananas-egzoticna

Yang J., Meyers K.J., Van der Heide J., Liu R.H., Varietal differences in phenol content and antioxidant and antiproliferative activities of onions, *J. Agric. Food Chem.*, 52, (2004), 6787-6793.

Yao L.H., Jiang Y.M., Caffin N., Arcy B.D., Datta N., Liu X., Singanusong Y.X., Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chem.*, 96, (2006), 614–620.

Zhao H., Fan W., Dong J., Lu J., Chen J., Shan L., Lin Y., Kong W., Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties, *Food Chem.*, 107, (2008), 296–304.

Zhao H., Chen W., Lu J., Zhao M., Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers, *Food Chem.*, 119, (2010), 1150–1158.

Zheng W., Wang S.Y., Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries and lingonberries, *J Agric Food Chem.*, 51, (2003), 502- 9.

Zhishen J., Mengcheng, T., Wu Jianming W., The determination of flavonoids content in mulberry and scavenging effect on superoxide radicals, *Food Chem.*, 64, (1999), 555–559.

Zirojević T., Jović S., Čeleketić D., Petrović A., Slobodni radikali i njihov biološki značaj, VI Savetovanje industrije alkoholnih i bezalkoholnih pića i sirćeta, Zbornik radova, Vrnjačka Banja, (2002), 45-54.

Životić D., *Lekovito bilje u narodnoj medicini*, Beograd, (1985).

8. Biografija sa bibliografijom

Jovana Krstić je rođena 21.07.1986. godine u Nišu. Završila je osnovnu školu "Učitelj Tasa" i gimnaziju "Stevan Sremac" u Nišu. Osnovne studije na Odseku za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, upisala je školske 2005/06. godine. Diplomirala je 23.09.2011. sa prosečnom ocenom 8,92. Diplomski rad, pod nazivom "Uticaj pesticida atrazina i dikambe na raspodelu hroma (III) između zemljišta i tečne faze" odbranila je ocenom 10 i stekla zvanje diplomirani hemičar.

Doktorske studije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Nišu upisala je školske 2011/12. Položila je sve ispite i odbranila je sve studijske istraživačke radove sa prosečnom ocenom 10. Bila je stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja. Od 2014. godine je istraživač-saradnik na Departmanu za hemiju na Prirodno-matematičkog fakultetu u Nišu. Kao stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, bila je angažovana na naučnoistraživačkom projektu pod nazivom "Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena" (evidencioni broj 172047) od 22.02.2012. godine. Angažovana je u izvođenju eksperimentalnih vežbi iz predmeta: *Instrumentalna analitička hemija* (osnovne akademske studije), *Odabrana poglavlja instrumentalne analize* (osnovne akademske studije) i *Analiza toksičnih supstanci* (master akademske studije). Učestvovala je na nučnim skupovima u zemlji i inostranstvu i kao autor i koautor je publikovala rezultate istraživanja u međunarodnim i nacionalnim časopisima.

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu, M21

- Aleksandra N. Pavlović, Jelena M. Brcanović, Jovana N. Veljković, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Biljana M. Kaličanin, Danijela A. Kostić, Miodrag S. Đorđević, Dragan S. Velimirović, Characterization of commercially available products of aronia according to their metal content, *Fruits*, 2015, 70(6), 385-393.

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu, M22

- Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Gordana S. Stojanović, Dragan D. Manojlović, Biljana M. Kaličanin, Jovana N. Veljković, Cyclic voltammetry determination of antioxidant capacity of cocoa powder, dark chocolate and milk chocolate samples: Correlation with spectrophotometric assays and

individual phenolic compounds, *Food Technology and Biotechnology*, 2013, 51(4), 460-470.

- Jovana N. Veljković, Aleksandra N. Pavlović, Jelena M. Brčanović, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Milan N. Mitić, Differentiation of black, green, herbal and fruit tea infusions based on multi-element analysis using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Chemical Papers*, 2016, 70(4) 488-494.

Rad u međunarodnom časopisu, M23

- Jovana N. Veljković, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Gordana S. Stojanović, Biljana M. Kaličanin, Dalibor M. Stanković, Milan B. Stojković, Milan N. Mitić, Jelena M. Brčanović, Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches, *Journal of Food Nutrition and Research*, 2013, 52(1), 12-24.
- Milan N. Mitic, Danijela A. Kostic, Aleksandra N. Pavlovic, Danica S. Dimitrijevic, Jovana N. Veljkovic, Effects of solvent extraction system on concentration and antioxidant activity of strawberry phenolics, *Agro FOOD Industry Hi-Tec.*, 2014, 25(5), 24-29.

Rad u nacionalnom časopisu, M52

- Jovana N. Veljković, Jelena M. Brčanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Biljana M. Kaličanin, Milan N. Mitić, Bagged *Aronia melanocarpa* tea: Phenolic profile and antioxidant activity, *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 2014, 31(4), 245-252.

Rad u naučnom časopisu, M53

- Jelena M. Brčanović, Aleksandra N. Pavlović, Jovana N. Veljković, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Milan N. Mitić, Effect of storage temperature and thermal

processing on catechins, procyanidins and total flavonoids stability in commercially available cocoa powders, *Facta Universitatis: Series Physics, Chemistry and Technology*, 2015, 12(1), 39-49.

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu, M34

- Jelena Brcanović, Aleksandra Pavlović, Snežana Mitić, Snežana Tošić, Jovana Veljković, Milan Mitić, Total polyphenols, flavonoid content and antioxidant capacity of cocoa products, 22nd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 107, September 5-9, 2012, Ohrid, Republic of Macedonia
- Jovana Veljković, Aleksandra Pavlović, Snežana Mitić, Snežana Tošić, Jelena Brcanović, Snežana Jovanović, Total polyphenols, flavonoid content and antioxidant capacity of commercially available fruit teas in Serbia, 22nd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 106, September 5-9, 2012, Ohrid, Republic of Macedonia
- Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Jovana N. Veljković, Snežana B. Tošić, Milan N. Mitić, Milan M. Stojković, Ružica J. Micić, HPLC method for the quantification of flavanols and procyanidins in milk chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity, 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, ICOSECS 8, Book of Abstract, F P07, 240, June 27-29, 2013, Belgrade, Serbia
- Jovana Veljković, Aleksandra Pavlović, Jelena Brcanović, Snežana Mitić, Ružica Micić, Emilija Pecev, Tamara Laketić, Total polyphenol, flavonoid content and antioxidant capacity of commercially available black, green and herbal tea infusions, 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries, ICOSECS 8, Book of Abstract, F P27, 240, June 27-29, 2013, Belgrade, Serbia

-
- Jovana N. Veljković, Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana B. Tošić, Milan M. Stojković, Dušan Đ. Paunović, Branka T. Stojanović, Total Phenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Chokeberry, 15th JCF-Fruhjahrssymposium, Book of Abstracts, 296, March 6th-9th, 2013, Berlin
 - Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Jovana N. Veljković, Milan N. Mitić, Jovana Lj. Pavlović, Characterization Anthocyanin by UV/Vis Spectroscopy and HPLC Detection in Chokeberry, 15th JCF-Fruhjahrssymposium, Book of Abstracts, 284, March 6th-9th, 2013, Berlin.
 - Jelena M. Brcanović, Aleksandra N. Pavlović, Jovana N. Krstić, Snežana S. Mitić, Emilija T. Pecev-Marinković, Determination of macro and microelements in dark chocolate using ICP-OES, 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 68, October 8-11, 2014, Ohrid, Republic of Macedonia.
 - Jovana N. Krstić, Aleksandra N. Pavlović, Jelena M. Brcanović, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Toxic elements content in herbal tea infusions, 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 67, October 8-11, 2014, Ohrid, Republic of Macedonia
 - Jovana N. Krstić, Jelena M. Mrmošanin, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Multi-element analysis of beeged *Aronia melanocarpa* teas using ICP-AES, 24th Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 45, September 11-14, 2016, Ohrid, Republic of Macedonia
 - Jovana N. Krstić, Jelena M. Mrmošanin, Aleksandra N. Pavlović, Milan N. Mitić, Effect of storage temperature and time on the stability of phenolic compounds in cocoa powders, 24th Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Book of Abstracts, 99, September 11-14, 2016, Ohrid, Republic of Macedonia

Saopštenje sa nacionalnog skupa štampano u celini, M63

- Milena Ivanović, Aleksandra Pavlović, Milan Mitić, Emilija Pecev-Marinković, Jovana Krstić, Jelena Mrmošanin, Determination of total and individual anthocyanins in raspberries grown in South Serbia, XXI Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Vol. 21. (23), 263-267, 11-12. mart 2016., Čačak

Saopštenje sa nacionalnog skupa štampano u izvodu, M64

- Jelena M. Brčanović, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Milan B. Stojković, Milan N. Mitić, Jovana N. Veljković, Cocoa phenolic profiles and the correlation of individual phenolic constituents, Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Knjiga izvoda radova, XA PO6, 17, 19-20. oktobar 2012., Beograd
- Jovana N. Veljković, Aleksandra N. Pavlović, Snežana S. Mitić, Snežana B. Tošić, Milan B. Stojković, Jelena M. Brčanović, Correlations among different in vitro antioxidant assays and individual and total phenolic and flavonoid contents of fruit tea infusions, Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Knjiga izvoda radova, XA P28, 39, 19-20. oktobar 2012., Beograd
- Aleksandra N. Pavlović, Jelena M. Brčanović, Jovana N. Krstić, Snežana S. Mitić, Ružica J. Micić, Milan B. Stojković, Branka T. Stojanović, Korelacija između antioksidativne aktivnosti i sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u crnoj čokoladi (Correlation of antioxidative activity with total and individual polyphenolic compounds of dark chocolate), 51. Savetovanje srpskog hemijskog društva i 2. Konferencija mladih hemičara Srbije (51th Meeting of the Serbian Chemical Society and 2nd Conference of the Young Chemists of Serbia), HTH O 01, Niš, 5-7 juni (June 5-7), 2014.

- Aleksandra N. Pavlović, Jovana Veljković, Jelena M. Brcanović, Snežana S. Mitić, Snežana Tošić, Milan Mitić, Sadržaj toksičnih elemenata u voćnim infuz čajevima (Toxic elements content of fruit tea infusions), 51. Savetovanje srpskog hemijskog društva i 2. Konferencija mladih hemičara Srbije (51th Meeting of the Serbian Chemical Society and 2nd Conference of the Young Chemists of Serbia), HTH P 03, Niš, 5-7 juni (June 5-7), 2014.



ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом:

MINERALNI I POLIFENOLNI PROFIL ZELENOG, CRNOG, BILJNIH I VOĆNIH
FILTER ČAJEVA I NJIHOV ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

У Нишу, 14.2.2017

Аутор дисертације:

Јована Н. Крстић

Потпис аутора дисертације:

J. Krstić



**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

MINERALNI I POLIFENOLNI PROFIL ZELENOG, CRNOG, BILJNIH I VOĆNIH
FILTER ČAJEVA I NJIHOV ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 14.2.2017

Аутор дисертације:

Јована Н. Крстић

Потпис аутора дисертације:

J. Krstić



ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:
MINERALNI I POLIFENOLNI PROFIL ZELENOG, CRNOG, BILJNIH I VOĆNIH FILTER ČAJEVA I NJIHOV ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

У Нишу, 14.2.2017

Аутор дисертације:

Јована Н. Крстић

Потпис аутора дисертације:

Ј.Крстић



ТИПОВИ ЛИЦЕНЦИ КРЕАТИВНЕ ЗАЈЕДНИЦЕ

1. Ауторство (CC BY)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.