

ZASTOSOWANIE EKSTRAKTU HERBATY DO STABILIZACJI OKSYDATYWNEJ EMULSJI TŁUSZCZOWEJ

Rafał Wołosiak[✉], Barbara Cieślikowska, Beata Drużyńska,
Dorota Derewiaka, Jolanta Kowalska, Ewa Majewska,
Marta Ciecierska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Streszczenie. Celem pracy było zbadanie właściwości przeciwutleniających ekstraktów herbaty zielonej oraz czerwonej (pu-erh), jak również zbadanie wpływu dodatku przeciwutleniaczy ekstrahowanych z herbaty na hamowanie procesów utleniania zachodzących w majonezach oraz modelowych emulsjach z olejem rybim. Efektywność ekstraktu w zapobieganiu występowania zmian oksydacyjnych porównana była z działaniem syntetycznych przeciwutleniaczy, EDTA oraz TBHQ, również zastosowanych w badanych emulsjach. Do przygotowanych emulsji dodano jedynie ekstrakt herbaty zielonej ze względu na znacznie lepsze właściwości antyoksydacyjne uzyskane podczas wstępnej analizy właściwości otrzymanych ekstraktów. Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że ekstrakty herbaty zielonej okazały się efektywnymi przeciwutleniaczami, szczególnie zastosowane w modelowych majonezach. Mogą one równie skutecznie zabezpieczać emulsje tego typu przed utlenieniem jak substancje syntetyczne.

Słowa kluczowe: herbata, związki fenolowe, aktywność przeciwutleniająca, emulsja

WSTĘP

Wśród niekorzystnych zmian chemicznych produktów spożywczych bardzo ważną rolę odgrywają procesy utleniania. Utlenianiu mogą ulegać prawie wszystkie składniki żywności. Szczególnie podatne na oksydację są powszechnie spotykane w żywności tłuszcze. Podczas psucia się tłuszczów powstają szkodliwe związki chemiczne będące wtórnymi produktami utleniania kwasów tłuszczowych, pogorszeniu ulegają również cechy sensoryczne produktu [Madhave i in. 1996, Sikorski 2002].

[✉]rafal_wolosiak@sggw.pl

Emulsje spożywcze są szczególnie złożonym układem, w którym trudno jest kontrolować procesy oksydacyjne. Na szybkość utleniania emulsji ma wpływ wiele czynników, takich jak: chemiczna struktura lipidów, zawartość tlenu w emulsji, jego rozpuszczalność, wielkość kuleczek tłuszczu, obecność wolnych rodników i innych prooksydantów, jak również zawartość przeciwutleniaczy oraz ich rodzaj. Nienasycone kwasy tłuszczowe są o wiele mniej odporne na utlenianie niż nasycone, a silnie niepolarne lipidy są mniej podatne na oksydację niż bardziej polarne. Duży wpływ na procesy utleniania ma zawartość tlenu w emulsji. Jest on około trzy razy lepiej rozpuszczalny w tłuszczu niż w wodzie. Niski poziom tlenu w emulsji, a co za tym idzie zwolnienie procesu utleniania, może być więc spowodowany koniecznością dyfuzji tlenu przez fazę wodną. Podczas mechanicznego wytwarzania emulsji zawartość tlenu jednak wzrasta, ponieważ proces ten sprzyja pienieniu i natlenianiu [McClemens i Decker 2000].

W celu ograniczenia zmian produktów spowodowanych utlenianiem producenci żywności stosują naturalne lub syntetyczne przeciwutleniacze. Ze względów ekonomicznych syntetyczne dodatki do żywności są chętniej stosowane przez producentów, jednak przekonania konsumentów i współczesne tendencje ograniczania wprowadzania syntetycznych substancji dodatkowych zmuszają producentów do prób stosowania naturalnych substancji pochodzenia roślinnego.

Do naturalnych przeciwutleniaczy zalicza się związki fenolowe zawarte w herbatach. Należą do nich dominujące w herbacie zielonej katechiny oraz teaflawiny i tearubiginy powstające w procesie fermentacji, dlatego najwięcej jest ich w herbacie czerwonej oraz czarnej. Przeciwutleniacze te posiadają silne właściwości przeciwutleniające potwierdzone wieloma badaniami [Nanjo i in. 1996, Wang i in. 2000, Ostrowska i in. 2001]. Nie są one jednak szeroko wykorzystywane w przemyśle spożywczym.

Celem niniejszej pracy było określenie potencjału wykorzystania ekstraktów herbaty zielonej oraz fermentowanej (pu-erh), uzyskanych w różnych warunkach do hamowania reakcji oksydacyjnej emulsji przygotowanych z olejów zawierających znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym były herbaty liściaste: niefermentowana (zielona) i fermentowana dojrzewająca (czerwona, pu-erh). Obie herbaty pochodziły z jednego regionu (chińska prowincja Yunnan) i były sprowadzane przez jednego importera. Próbkę do badań pozyskano przez zakup na rynku warszawskim. Herbaty po wyjęciu z opakowań producenta zostały przesypane do szczelnie zakręczanych butelek laboratoryjnych, które wypełniono azotem i które przechowywano w temperaturze pokojowej bez dostępu światła.

W celu przygotowania ekstraktów naważano 1 g rozdrobnionych w młódku liści badanej herbaty i dodawano 5 cm³ 80-procentowego etanolu, a następnie umieszczano na wstrząsarce WL-1 (Biosan) ustawionej na 150 obr·min⁻¹ i wstrząsano przez 14 h lub umieszczano w termostacie ustawionym na 50°C. Następnie ekstrakty sączono przez sączek bibułowy.

W ekstraktach oznaczono zawartość związków fenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a (wynik wyrażano w przeliczeniu na (+)katechinę) [Singleton i Rossi 1965],

katechin ogółem (w przeliczeniu na (-)epikatechinę) [Swain i Hillis 1959] oraz ich zdolność do dezaktywacji kationorodników ABTS (wynik wyrażano w przeliczeniu na Trolox – Trx) [Re i in. 1999].

W celu oznaczenia składu ekstraktów rozcieńczano je wodą dejonizowaną i przesączoną przez filtr nylonowy 0,2 μm Titan2. Analizę wykonywano za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) na aparacie LCMS-2010 EV Shimadzu. Wykorzystaną metodą sprzęgania LC z MS był ESI (Electrospray Ionization). Rozdział prowadzono przy użyciu kolumny Supelco Discovery C18 15 cm \times 4,6 mm, 5 μm i elucji gradientowej fazy ruchomej: A (97% H_2O , 1% kwasu octowego, 2% acetonitrylu) i B (99% acetonitrylu, 1% kwasu octowego) przy przepływie 0,5 ml/min (temperatura pieca kolumny 40°C). Z powodu braku niektórych wzorców wykrytych substancji do obliczania zawartości tych związków w ekstraktach użyto wzorców substancji o podobnej budowie.

W skład modelowych emulsji majonezowych (100 g) wchodził olej rzepakowy (50 g), woda destylowana (ok. 31,5 g), żółtko jaja kurzego (7 g), musztarda (3,4 g), sacharoza (1,5 g), 80-procentowego etanolu lub roztwór przeciwutleniaczy (1,3 ml), chlorek sodu (0,8 g), ocet 10% (0,6 g), sorbinian potasu (0,02 g) oraz chlorek żelaza(II) (50 μM w końcowej emulsji). Emulsje z olejem z dorsza (15% m/m) przygotowane były w buforze octanowym pH 5,0 przy użyciu emulgatora Tween 40 (7,5% m/m). Próbkę zawierały także sorbinian potasu (0,02% m/m) oraz chlorek żelaza(II) (33 μM w końcowej emulsji), zaś przeciwutleniacze podawano w 1,95 ml 80% etanolu. Wszystkie emulsje przechowywano w szczelnie zamykanych naczyniach, w termostacie (30°C), bez dostępu światła. Co 7 dni pobierano próbki w celu oznaczenia zawartości powstałych wodoronadtlenków spektrofotometryczną metodą z tiocyanianem żelaza(II). Reakcję zatrzymywano przez dodatek mieszaniny HCl, etanolu i chloroformu w stosunku objętościowym 1:38,7:34,4.

Obliczenia i analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu MS 2007 i Statgraphics Plus 4.1 (analiza wariancji, wykrywanie grup homogenicznych testem LSD, $\alpha = 0,05$). Wszystkie oznaczenia wykonano przynajmniej w trzech powtórzeniach. Wyjątkiem była analiza składu ekstraktów (LC/MS), którą wykonano w dwóch powtórzeniach.

WYNIKI I DISKUSJA

Obie badane herbaty, zieloną i pu-erh, ekstrahowano w temperaturze pokojowej i 50°C przez 14 h przy stosunku materiału do rozpuszczalnika (80-procentowy etanol), przy którym spodziewano się uzyskać dużą zawartość związków aktywnych w ekstraktach (1 : 5 m/v), co byłoby podstawą do ich przemysłowego wykorzystania. Na tym etapie badań oznaczono też aktywność przeciwrodnikową ekstraktów. Całość miała na celu wstępną selekcję materiału i sposobu ekstrakcji do dalszych badań. W wyniku ekstrakcji herbaty pu-erh w temperaturze pokojowej uzyskano dziesięciokrotnie mniejszą zawartość związków fenolowych ogółem niż herbaty zielonej (tab. 1). Dysproporcja ta była nieco zmniejszona po ekstrakcji w wyższej temperaturze (słabsza ekstrakcja związków fenolowych ogółem z herbaty zielonej). Katechiny natomiast za każdym razem lepiej ekstrahowały się w 50°C, zaś różnice między herbatą zieloną i pu-erh były znacznie

większe niż w przypadku związków fenolowych ogółem. Zjawisko to jest bez wątpienia spowodowane procesem fermentacji i dojrzewania herbaty pu-erh, podczas którego zawarte w zielonej herbacie katechiny ulegają złożonym reakcjom, a powstające w nich związki i ich właściwości nie są jeszcze dobrze poznane. Zawartość związków fenolowych w zielonej herbacie może sięgać 25–35% suchej masy liści [Ostrowska i in. 2001], co jest zgodne z otrzymanymi w pracy wartościami, natomiast niska zawartość związków fenolowych oznaczona po ekstrakcji herbaty fermentowanej wynika prawdopodobnie z ich daleko idącej modyfikacji podczas przetwarzania, a także z faktu ograniczonej reaktywności powstałych produktów przemian z odczynnikami Folina-Ciocalteu'a. Udział katechin w związkach fenolowych zielonej herbaty wynosi około 80% [Ostrowska i in. 2005]. W niniejszych badaniach udział ten wynosił maksymalnie 63%, co wraz z oznaczoną zawartością związków fenolowych ogółem bliską dolnej granicy podanej w literaturze świadczy o mało wyczerpującej ekstrakcji, szczególnie właśnie katechin.

Aktywność wyekstrahowanych składników herbat wobec kationorodników ABTS była także bardzo zróżnicowana (tab. 1). Najlepiej działający ekstrakt uzyskano po ekstrakcji herbaty zielonej w podwyższonej temperaturze, a proporcje między aktywnościami poszczególnych ekstraktów przypominały stwierdzone w przypadku katechin, co pośrednio potwierdza ich istotne znaczenie dla działania przeciwutleniającego herbaty. Uzyskane w badaniach zielonej herbaty wartości są przynajmniej o 40% większe od skumulowanych wartości odpowiadających trzykrotnej ekstrakcji wodą w warunkach zalecanych dla przygotowania naparu wysokiej jakości [Wołosiak i in. 2008]. Jest to efekt zastosowania w niniejszych badaniach innego rozpuszczalnika i długiego czasu ekstrakcji, choć trzeba mieć na uwadze, że warunki procesu w obu przypadkach nie pozwalały na wyczerpującą ekstrakcję.

W badanych ekstraktach zidentyfikowano przy użyciu techniki LC/MS wszystkie występujące w zielonej herbacie katechiny (tab. 2), lecz ich sumaryczna zawartość była trzykrotnie mniejsza od oznaczonej metodą spektrofotometryczną. Pozwala to na wysunięcie

Tabela 1. Oznaczona zawartość związków fenolowych ogółem i katechin oraz aktywność przeciwrodnikowa w badanych herbatach

Table 1. The content of total phenolics and catechins as well as antiradical activity determined in investigated teas

Material, temperatura ekstrakcji Material, extraction temperature	Związki fenolowe ogółem Total phenolics [g·100 g ⁻¹ s.m.]	Katechiny Catechins [g·100 g ⁻¹ s.m.]	Aktywność przeciwrodnikowa Antiradical activity [g Trx·100 g ⁻¹ s.m.]
Herbata zielona, 22°C Green tea, 22°C	23,1 (±2,8) d	10,4 (±0,4) c	54,5 (±0,2) c
Herbata zielona, 50°C Green tea, 50°C	19,0 (±1,1) c	11,6 (±1,4) d	56,9 (±0,4) d
Pu-erh, 22°C – Pu-erh, 22°C	2,3 (±0,2) a	0,2 (±0,1) a	5,7 (±0,1) a
Pu-erh, 50°C – Pu-erh, 50°C	3,3 (±0,3) b	0,3 (±0,1) b	7,9 (±0,1) b

Różnice między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$).

Differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

Tabela 2. Związki zidentyfikowane w ekstraktach zielonej herbaty

Table 2. Compounds identified in green tea extracts

Zidentyfikowane związki Identified compounds	Ekstrakcja w 22°C Extraction at 22°C [g·100 g ⁻¹ s.m.]	Ekstrakcja w 50°C Extraction at 50°C [g·100 g ⁻¹ s.m.]
Katechina – Catechin	0,35 (±0,01)	0,43 (±0,01)
Epikatechina – Epicatechin	1,09 (±0,02)	1,30 (±0,06)
Galokatechina – Gallocatechin	0,28 (±0,01)	0,32 (±0,01)
Epigalokatechina – Epigallocatechin	1,13 (±0,01)	1,28 (±0,05)
Galusan katechiny i epikatechiny – Catechin and epicatechin gallate	0,10 (±0,01)	0,23 (±0,01)
Galusan epigalokatechiny – Epigallocatechin gallate	0,16 (±0,01)	0,33 (±0,03)
Pochodne kwercetyny – Quercetin derivatives	0,05 (±0,01)	0,06 (±0,01)
Kofeina – Caffeine	1,08 (±0,01)	1,24 (±0,19)
Teobromina – Theobromine	0,09 (±0,01)	0,09 (±0,01)
Teanina – Theanine	2,34 (±0,03)	2,44 (±0,24)
Kwas askorbinowy – Ascorbic acid	0,02 (±0,01)	0,02 (±0,01)

przypuszczenia, że użyte parametry analizy nie pozwoliły na uzyskanie jonizacji badanych związków na tyle efektywnej, aby wiarygodnie oznaczyć je ilościowo. Potwierdzają to inne proporcje wielkości pików otrzymane przy użyciu detektora spektrofotometrycznego UV-VIS, a szczególnie znacznie większy pik odpowiadający galusanowi epigalokatechiny, który jest powszechnie uważany za głównego przedstawiciela katechin zielonej herbaty [Cabrera i in. 2003, Ostrowska i in. 2005]. Ponadto przy użyciu LC/MS wykryto obecność trzech pochodnych kwercetyny, alkaloidy purynowe (kofeinę i teobrominę), a także charakterystyczny dla liści herbaty aminokwas teaninę i nieznaczne ilości kwasu askorbinowego.

Do badań aktywności hamowania katalizowanej dodatkiem jonów żelaza(II) reakcji autooksydacji modelowych emulsji wybrano ekstrakt zielonej herbaty przygotowywany w temperaturze 50°C, kierując się jego najlepszą aktywnością przeciwrodnikową i dużą zawartością katechin. W badaniach tych zastosowano także w celach porównawczych dwa syntetyczne związki: chelator metali EDTA oraz *tert*-butylohydrochinon (TBHQ) – silny przeciwutleniacz fenolowy. Badane ekstrakty zastosowano w ilościach 0,02 i 0,05%, zaś przeciwutleniacze syntetyczne w maksymalnych możliwych dawkach, odpowiednio 0,08 i 0,02%. Po 7 dniach termostatowania badane w modelowych majonezach przeciwutleniacze wykazywały aktywność w przedziale 51–86% (tab. 3). Aktywność ta spadła po kolejnych 7 dniach w ekstraktach zielonej herbaty, lecz utrzymała się lub wzrosła w emulsjach z dodatkiem związków syntetycznych. Efektywność związków naturalnych ponownie poprawiła się w ostatnim okresie badań. Najbardziej skuteczne były w tym układzie składniki ekstraktu herbaty dodane w ilości 0,05%, a najmniej skuteczny był TBHQ. Choć wykazywał on mniejszą aktywność, jego działanie było jednak bardziej przewidywalne od mieszanki naturalnych związków fenolowych dodanych w równoważnej ilości (mniejszy rozrzut wyników w poszczególnych próbkach).

W ostatnim doświadczeniu badano aktywność przeciwutleniaczy w 15% emulsji oleju z dorsza (tab. 4). Po 7 dniach reakcji najskuteczniejszy okazał się silny chelator – EDTA (40% aktywności), a najsłabsze składniki ekstraktu herbaty i TBHQ (w ilości 0,02%, odpowiednio 13 i 17% aktywności). Działanie badanych związków było więc wobec tego

Tabela 3. Aktywność badanych przeciwutleniaczy w modelowym majonezie

Table 3. The activity of antioxidants investigated in model mayonnaise

Dodatek przeciwutleniaczy Antioxidant addition	Aktywność po 7 dniach Acitivity after 7 days [%]	Aktywność po 14 dniach Acitivity after 14 days [%]	Aktywność po 21 dniach Acitivity after 21 days [%]
Związki fenolowe 0,02% Phenolics 0.02%	74,3 ($\pm 10,0$) a, b, c	69,2 ($\pm 0,2$) b	75,0 ($\pm 4,3$) a, b
Związki fenolowe 0,05% Phenolics 0.05%	86,4 ($\pm 5,2$) c	78,2 ($\pm 0,4$) c	91,6 ($\pm 2,7$) c
EDTA 0.08%	69,7 ($\pm 1,2$) b	70,0 ($\pm 2,1$) b	73,1 ($\pm 1,6$) b
TBHQ 0.02%	51,1 ($\pm 3,4$) a	61,8 ($\pm 1,1$) a	62,0 ($\pm 1,5$) a

Różnice między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$).

Differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

Tabela 4. Aktywność badanych przeciwutleniaczy w modelowej emulsji z olejem rybim

Table 4. The activity of antioxidants investigated in model fish oil emulsion

Dodatek przeciwutleniaczy Antioxidant addition	Aktywność po 7 dniach Acitivity after 7 days [%]	Aktywność po 14 dniach Acitivity after 14 days [%]	Aktywność po 21 dniach Acitivity after 21 days [%]
Związki fenolowe 0,02% Phenolics 0.02%	12,5 ($\pm 1,9$) a	-25,3 ($\pm 1,2$) a	-38,7 ($\pm 3,6$) a
Związki fenolowe 0,05% Phenolics 0.05%	25,3 ($\pm 3,2$) b	-9,2 ($\pm 2,3$) b	-9,6 ($\pm 2,0$) b
EDTA 0.08%	40,0 ($\pm 1,9$) c	3,5 ($\pm 8,3$) b	-13,5 ($\pm 0,7$) b
TBHQ 0.02%	16,6 ($\pm 0,2$) a, b	-10,7 ($\pm 3,2$) b	-13,8 ($\pm 4,9$) b
Związki fenolowe Phenolics (0.01%) + EDTA (0.04%)	23,5 ($\pm 11,1$) a, b, c	-3,6 ($\pm 6,2$) b	-13,1 ($\pm 0,9$) b
Związki fenolowe Phenolics (0.01%) + TBHQ (0.01%)	28,9 ($\pm 14,6$) a, b, c	-23,9 ($\pm 9,7$) a, b	-34,6 ($\pm 2,1$) a

Różnice między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$).

Differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

silnie nienasyconego tłuszczu wyraźnie gorsze niż w modelowym majonezie. Obserwacja ta potwierdziła się w kolejnych etapach doświadczenia: po 14 dniach jedynie EDTA nie wykazywał działania prooksydacyjnego, zaś po 21 dniach wszystkie przeciwutleniacze powodowały przyspieszenie reakcji (najsilniej fenolowe składniki ekstraktu w ilości 0,02%). W układzie tym zdecydowano się więc poddać badaniom także połączenia stosowanych w pracy przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych (w dwukrotnie zmniejszonych dawkach). Dobre efekty (przekroczenie aktywności przeciwutleniaczy zastosowanych oddzielnie) dało jedynie połączenie składników herbaty i TBHQ, lecz tylko w pierwszym etapie doświadczenia.

WNIOSKI

1. Ekstrakcja 80-procentowym etanolem przeprowadzana w temperaturze 50°C była efektywniejsza pod względem wydobycia katechin (główniej frakcji polifenoli zielonej herbaty o właściwościach silnie przeciwutleniających) z liści surowca niż ekstrakcja w temperaturze pokojowej (22°C). Odwrotny efekt zaobserwowano w przypadku związków fenolowych ogółem.
2. Bardzo mała zawartość oznaczanych przeciwutleniaczy w herbacie pu-erh oraz jej słaba aktywność wobec kationorodników ABTS mogą świadczyć o daleko idących zmianach w przeciwutleniaczach podczas fermentacji i dojrzewania liści herbacianych, prowadzących do utraty aktywności mierzonej *in vitro*.
3. Badane majonezy zawierające dodatek 0,05% związków fenolowych zielonej herbaty okazały się najodporniejsze na proces utleniania, podczas gdy mniejszy dodatek tych przeciwutleniaczy (0,02%) dawał podobny efekt, jak zastosowanie przeciwutleniaczy syntetycznych w maksymalnych dopuszczalnych dawkach.
4. Zastosowane przeciwutleniacze (naturalne i syntetyczne) okazały się nieskuteczne przy dłuższym przechowywaniu modelowych emulsji z silnie nienasyconym olejem rybim.

LITERATURA

- Cabrera C., Gimenez R., Lopez M.C., 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4427–4435.
- Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., 1996. Food antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives. Marcel Dekker, New York.
- McClements D.J., Decker E.A., 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsion: impact of molecular environment on chemical reaction in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65, 1270–1281.
- Nanjo F., Goto K., Seto R., Suzuki M., Sakai M., Hara Y., 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic. Biol. Med.* 21, 895–902.
- Ostrowska J., Luczaj W., Skrzydlewska E., 2005. Porównanie właściwości antyoksydacyjnych czarnej i zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.* 3, 211–221.
- Ostrowska J., Stankiewicz A., Skrzydlewska E., 2001. Antyoksydacyjne właściwości zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2, 131–140.
- Re R., Proteggente A., Pellergrini N., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 9–10, 1231–1237.
- Sikorski Z.E. (red.), 2002. *Chemia żywności*. WNT, Warszawa.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Swain T., Hillis W., 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric.* 1, 63–68.
- Wang H., Provan G.J., Helliwell K., 2000. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 152–160.
- Wołosiak R., Mazurkiewicz M., Drużyńska B., Worobiej E., 2008. Aktywność przeciwutleniająca wybranych herbat zielonych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 4, 290–297.

TEA EXTRACT APPLICATION FOR OXIDATIVE STABILIZATION OF LIPID EMULSIONS

Summary. Among the undesirable chemical changes of food products oxidation reactions play a very important role. Oxidation concerns almost all food constituents. Especially susceptible to oxidation are fats, commonly found in food. During fat deterioration some toxic compounds are formed, being secondary products of fatty acid oxidation, but also sensory properties are spoiled. Food emulsions are particularly complex systems, where oxidation processes are hard to control. Lipid emulsion oxidation rate is influenced by many factor, such as chemical structure of lipid, oxygen content, its solubility, fat droplet size, presence of free radicals and other prooxidants, and also the content and kind of antioxidants. Among the natural antioxidants known of their activity are phenolics found in teas. They are both green tea catechins as well as theaflavins and thearubigins created during tea fermentation, therefore dominating in red or black tea. Those antioxidants are not, however, commonly used in food industry. The aim of this study was the investigation of application potential of green and semi-fermented tea, pu-erh, extracted in two different conditions, in slowing oxidative reaction in emulsions prepared from oils containing much polyunsaturated fatty acids: mayonnaise and fish oil emulsion. The material were leaf teas from Yunnan, China, that were bought on Warsaw market. Extraction performed with 80% ethanol at 50°C was more effective in terms of catechin gain than room temperature extraction (22°C). Opposite effect was observed for total phenolics. A very low content of investigated antioxidants in pu-erh as well as its low activity against ABTS radical cations may be result of deep changes in tea leaf antioxidants, leading to loss of antioxidant activity *in vitro*.

Technique of LC/MS made possible the identification of all green tea catechins, however their total content was threefold lower than obtained by spectrophotometric method. This observation leads to an assumption that analysis parameters applied did not cause ionisation effective enough for reliable determination. This was also confirmed by different proportions of peak quantities obtained after MS and UV-VIS detection, especially a low MS peak of epigallocatechin gallate that is known as main green tea catechin. Mayonnaises investigated with 0.05% phenolic addition were most resistant to lipid oxidation, when lower addition (0.02%) gave a similar effect to synthetic antioxidant in maximum additions. Natural and synthetic antioxidants applied in the study were ineffective for longer storage of model emulsions with highly unsaturated fish lipid.

Key words: tea, phenolics, antioxidant activity, emulsion