

APPLICATION OF MATHEMATICAL - STATISTICAL METHODS FOR DEVELOPING THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF TEA DRINKS FROM THE LEAVES OF VACCINIUM VITIS - IDEAE L.

Dragomira Buhalova*, Iliana Milkova-Tomova*, Jordanka Alexieva*, Krastena Nikolova, Minchev Y***

**University of Food Technologies, Faculty of Economics, 4000 Plovdiv, Bulgaria*

***Medical University, Faculty of Pharmacy, 9000 Varna, Bulgaria, kr.nikolova@abv.bg*

ABSTRACT

Compositions and technological factors have been developed to obtain a tea drink from *Vaccinium vitis-ideae* L. according to the vegetative period (April and June).

The influence of the technological factors (hydro module, temperature 100 ° C and heating time 5 and 10 min.) was studied by means of discriminative analysis in order to obtain extracts of high content of phenolic acids.

The mathematical processing of values for individual factors and their combinations for 2 and 3g. leaves shows, that the time factor has the greatest impact, followed by the hydro module factor - 1:2 and 1:3. Of the combinations made between the technological factors with the greatest influence are the vegetative period/extraction time and the hydro module/extraction time. Recommended are the extracts with the highest values of phenolic acids - ellagic and ferulic for April, and vanilla and cafeic for July, extracted after 5 min. of thermal treatment. Benzoic acid does not change statistically significant under the influence of these factors.

Keywords: Vaccinium vitis-ideae L, Technological Factors, Phenolic Acids.

ВЪВЕДЕНИЕ

Интересът към диворастящите горски плодове у нас [2, 7-8] е продиктуван от нарастващото търсене на натурални, органични продукти и неуспоримите доказателства в научната литература [4, 10, 16] за връзката между биологично активния състав и здравословния им ефект. Употребата на натурални богати на биологичноактивни вещества традиционни горски плодове в храната, е в унисон с естествената здравословна диета на човека. Научни изследвания [5, 8, 13, 14] идентифицират съдържащите се в дивите горски плодове биологично активни компоненти, като проучват факторите, които влияят върху запазването им. В някои хранителни продукти общото фенолно съдържание е в корелационна зависимост с антиоксидантна активност, която зависи от много фактори [6, 11, 15] като условия на системата (субстрати, температура, светлина, наличие на кислород, физически характеристики, полярност и метали), вид растителен източник, част (листа, стъбло, цвят, семена, плод), географски произход, климатични условия, време на събиране и условия на съхранение [3, 9, 17].

Целта на настоящата работка е чрез математическо-статистически методи бъдат разработени състав и технология на приготвяне на напитка тип „чай“ от листа на червена боровинка *Vaccinium vitis-ideae* L.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Анализирани са резултати от проведени експерименти, отчитащи съдържанието на фенолни киселини в екстракти от листа на червена боровинка *Vaccinium vitis-ideae* L., получени по разработена технологична схема [1]. Изследвано е влиянието на технологичните фактори съотношение плод/вода, температура (100 ° C) и продължителност

на екстракция 5 min и 10 min за вегетативни периоди месец април и юли, с цел получаване на екстракти с високо съдържание на фенолни киселини.

Базата данни включва средни стойности от четири паралелно измерени стойности на фенолни киселини по HPLC метод. С цел описание на групи екстракти по различен признак и обективно оценяване на статистическата различимост на отделните обекти бяха използвани математико-статистически методи.

Проведен е еднофакторен анализ за определяне на значимите разлики между стойностите на данните при различните комбинации на технологичните фактори. Приложен е линеен постъпков дискриминантен анализ за определяне на дискриминиращите функции за четири обособени технологични групи.

Екстрактите са кодирани като първата цифра е количеството на листата в 0.2l вода (хидромодул), втората цифра е продължителност на екстракция в минути, а третата вегетативния период- месец април (4) и месец юли (7).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получени са основни статистически характеристики за фенолни киселини ванилова, *p*-кумарова, елагова, ферулова и бензоена. Установени са средните стойности и квадратичните отклонения на значимите показатели.

Екстрактите получени от 1g листа имат най-ниски стойности за изследваните фенолни киселини, независимо от факторите вегетативен период и продължителност на обработка при постоянна температура на екстракция. Стойностите на фенолните киселини в екстракти от 2g и 3g са сравними, като най - значими са факторите вегетативен период и продължителност на екстракция. Затова статистическата обработка е направена за стойностите на фенолните киселини в екстракти от 2g и 3g в зависимост от вегетативен период и продължителност на екстракция при температура 100 °C. За по-точна представа за влиянието на отделните фактори е проведен мултивариационния дисперсионния анализ [12], като за целта факторите са разглеждани самостоятелно и в комбинации. Данните показват, че най-силно влияе факторът вегетативен период, следван от факторите хидромодул и време на екстракция (Таблица 1). Има синергичния ефект на факторите вегетативен период и време на екстракция, следван от комбинацията на факторите вегетативен период и хидромодул.

Таблица 1. Мултивариационен дисперсионен анализ в зависимост от факторите вегетативен период, хидромодул и продължителност

Effect	Test	Value	F	Effect df	Error df	p	Partial eta-squared	Non-centrality	Observed power $\alpha=0.05$
Intercept	Wilks	0.000027	11338 2.9	9	28	0.00	0.999973	1020446	1,00
Season	Wilks	0.000622	5001.7	9	28	0.00	0.999378	45016	1,00
Weigth	Wilks	0.000002	2413.5	18	56	0.00	0.998713	43444	1,00
Time	Wilks	0.002639	1175.6	9	28	0.00	0.997361	10581	1,00
Season*Weigth	Wilks	0.000017	747.4	18	56	0.00	0.995855	13453	1,00
Season*Time	Wilks	0.001385	2243.3	9	28	0.00	0.998615	20190	1,00
Weigth*Time	Wilks	0.000119	281.8	18	56	0.00	0.989080	5072	1,00
Season*weigth*Time	Wilks	0.000297	177.4	18	56	0.00	0.982763	3193	1,00

Влиянието на комбинацията на двата фактора вегетативен период/хидромодул има по-голямо тегло в сравнение с факторите вегетативен период /продължителност на обработка.

Тенденциите на съдържанието фенолните киселини в зависимост от технологичните параметри са обобщени в таблица 2.

Ваниловата и кафеената киселина нарастват в екстрактите от 2g и 3g от април до юли, р-кумаровата намалява рязко. Обратна тенденция се наблюдава при феруловата киселина. Стойностите на елаговата киселина също намаляват интензивно,. Следователно, за получаване на екстракти богати на ванилова и кафеена киселини, се препоръчват 3g листа набрани през месец юли.

Таблица 2. Тенденции в съдържанието на фенолни киселини в зависимост от технологичните фактори

	Април	Юли	Април	Юли
	3-5-4	3-5-7	5-4	5-7
Ванилова				
р-Кумарова				
Елагова				
Кафеена				
Ферулова				
3,4 – дихидрокс бензоена				

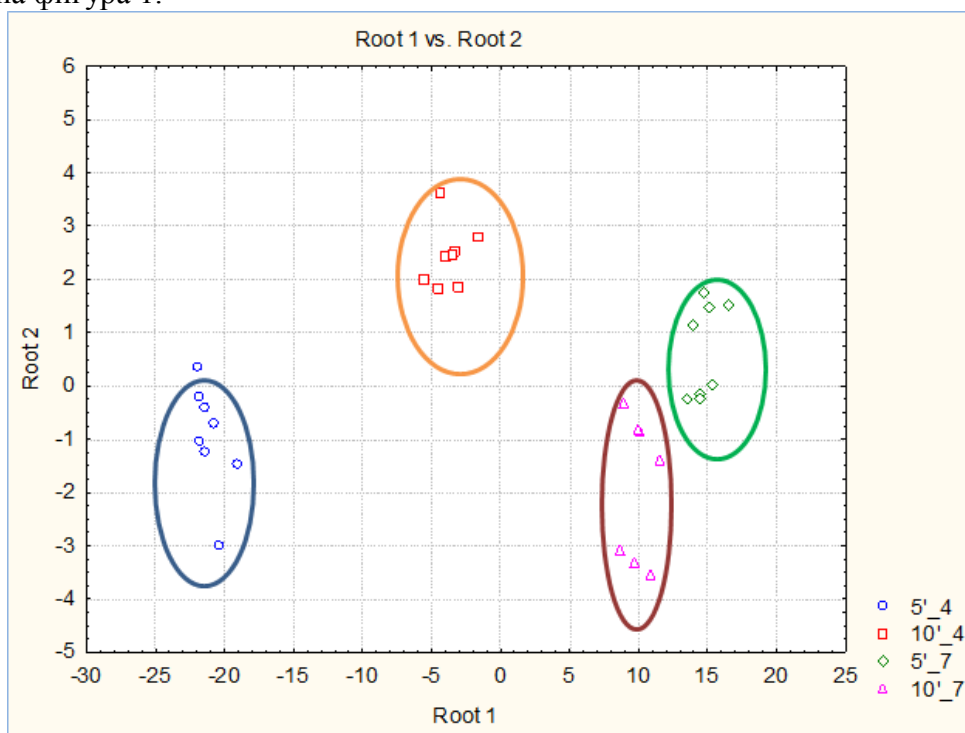
Ванилова и кумарова киселини имат високи стойности през юли, като ваниловата достига до 220 µg/g при 5 min продължителност на екстракция, а елаговата достига до стойности 260 µg/g при 5min екстракция за месец април. За листа от месец юли факторът продължителност на екстракция не влияе на стойностите на елаговата киселина. Следователно, за вегетативен период юли, увеличаването на времето за екстракция не влияе на извличането на елагова киселина. Кафеената киселина има високи стойности при 10min екстракция през април и близки стойности през юли, независимо от времето за екстракция. При феруловата киселина най-високи стойности са получени за екстракти от месец април и 5 min продължителност на екстракция. Бензоената киселина не се променя статистически значимо под влияние на факторите продължителност на екстракция, вегетативен период и количество екстрахирани листа.

За по-добра визуализация на получените резултати е проведен каноничен анализ в зависимост от влиянието на технологичните фактори. В таблица 3 е представена близостта на отделните групи.

Таблица 3. Близост на групите в зависимост от технологичните фактори

Групи	2-5-4	3-5-4	2-10-4	3-10-4	2-5-7	3-5-7	2-10-7	3-10-7
2-5-4	x							
3-5-4	10	x						
2-10-4	2	18	x					
3-10-4	8	16	7	x				
2-5-7	10	29	6	3	x			
3-5-7	29	36	26	7	11	x		
2-10-7	10	27	6	3	0.1	10	x	
3-10-7	33	44	29	10	12	1	11	x

Най-ниски стойности имат екстрактите от 2g листа от месец юли и 5 и 10 min продължителност на обработка. Видно е, че групите са неразличими. Подобна е и тенденцията при 2g листа от месец април и 5 и 10 min продължителност на обработка. Екстрактите от 3g листа от месец юли, 10 min. продължителност на обработка имат най-големи статистически различия в сравнение с екстрактите от 3g от месец април при 5min време за екстракция. Следователно, според каноничния анализ добре се обособяват 4 групи, отчитащи вегетационния период и времето на екстракция. Обособените групи са представени на фигура 1.



Фигура 1. Резултати от каноничен анализ на обособените групи

В таблица 4 са дадени изчислените махаланобисови разстояния между центроидите на отделните групи екстракти. Махаланобисовите разстояния определят близостта между отделните групи. Според анализа групата 5'_4 най-силно се различава от 5'_7, по-малко от 10'_7 и най-слабо от 10'_4. Групата 10'_4 е най-близка до 10'_7 и най-далечна от 5'_7. Групата 10'_7 много слабо се различава от 5'_7, малко повече от 10'_4 и най-значимо от 5'_4.

Най-важна за обособяване на групите е елаговата киселина, следвана от р-кумаровата

и кафеената киселина. Стойностите на феруловата и бензоената киселини намаляват много слабо. Направените математико-статистически обработки на стойностите на фенолните киселини открояват тенденция за различаване на изследваните екстракти.

Таблица 4. Мехалонобисови разстояния между групите

	Махалонобисови разстояния			
	5 ^{**} април	10 ^{**} април	5 ^{**} юли	10 ^{**} юли
5 ^{**} април	0	311	1282	964
10 ^{**} април	311	0	346	209
5 ^{**} юли	1282	346	0	32
10 ^{**} юли	964	209	32	0

ИЗВОДИ

1. Установено е, че количеството на фенолни киселини в екстрактите, получени при хидромодул 2:200 и 3:200 от листа от месец юли и 5 min продължителност на обработка са статистически неразличими с тези получени при 10 min.

2. Използвайки математико-статистическа обработка са идентифицирани тенденции за съдържание на фенолни киселини във водни екстракти на листа от червена боровинка, в зависимост от продължителност на екстракция, хидромодула и вегетационния период.

3. Установено е, че при 5 min продължителност на екстракция, 100⁰ С температура на водната фаза и хидромодул 3:200, независимо от вегетационния период се получава напитка, която се характеризира с добър количествен и качествен състав на фенолни киселини.

4. От технологична гледна точка, препоръчителния режим на екстракция е 5 min., независимо от факторите вегетативен период и продължителност на обработка, при 100⁰ С.

5. От стойностите за фенолните киселини в изследваните екстракти, факторът вегитативен период има най-голямо влияние следван от факторите хидромодул и продължителност на екстракция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухалова, Д. 2015: Бухалова, Д. „Проучване върху горски плодове и приложението им в храните”. Дисертационен труд. УХТ. Пловдив.

2. Крачанова, М., Крачанов, Хр., Денев, П., Николова, М., Карагъзов, В., Славов, А., Янакиева, И., Ричнев, А., „Функционални храни от плодове и зеленчуци, богати на антиоксиданти“. Сборник доклади от Трети международен симпозиум "Екологични подходи при производството на безопасни храни", 41 – 48, 2010.

3. Михайлова, Д., Георгиева Л., 2013а. „ Съдържание на общи фенолни вещества и антиоксидантна, активност на инфузи от избрани български растения.“ В: Н.тр. Русенски Университет, 52, 10.2:148 -152 .

4. Balansky, R., Ganchev, G., Itcheva, M., Kratchanova, M., Denev, P., Kratchanov, Ch., Polasa, K., D'Agostini, F., Steele, V.E., De Flora, S., „Inhibition of lung tumor development by berry extracts in mice exposed to cigarette smoke“. International Journal of Cancer, 1(November): 131(9), 1991-7, 2012.

5. BaSeFood, „Sustainable Exploitation of Bioactive Components From The Black Sea Area Traditional Foods“, Report, 2012.

6. Di Majo, D., La Guardia, M., Giammanco, S., La Neve, L., Giammanco, M., „The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents“. *Food Chem*, 111: 45–9, 2008.

7. Denev, P., Ciz, M., Ambrozova, G., Lojek, A., Yanakieva, I., Kratchanova, M., „Solid phase extraction of berries' anthocyanins and evaluation of their antioxidative properties“. *Food Chemistry*, 123: 1055-1061, 2010.

8. Denev, P., Kratchanov, Ch., Ciz, M., Lojek, A., Kratchanova, M., „Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Polyphenols: in vitro and in vivo Evidences and Possible Mechanisms of Action“. *A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5): 471-489, 2012

9. Ferioli, F., Giambanelli, E., D'Antuono, L., Costa, H., Albuquerque, T., Silva, A., Hayran, O., Kocaoglu, B., „Comparison of leafy kale populations from Italy, Portugal, and Turkey for their bioactive compound content: phenolics, glucosinolates, carotenoids, and chlorophylls“. *J Sci Food Agric*, 93: 3478–3489, 2013

10. Gao, X., Cassidy, A., Schwarzschild, M.A., Rimm, E.B. and Ascherio, A., „Habitual intake of dietary flavonoids and risk of Parkinson's disease, *Neurology*“. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31824f7fc4, 2012.

11. Hu, S., Xu, X., Jeong, J., Kim, H., „Relationship of phenolic compounds and free-radical scavenging activity in black and red rice extrac“. *Korean J Breed Sci*, 42:129–38, 2010.

12. Romisch, U., Valentin M., „Anwendung der statistischen Versuchsplanung zur Entwicklung glutenfreier Gebacke“. *DAGSTAT Dortmund, Germany (Marz)*: 23-26, 2010.

13. Ross, A., Kasum, M., „Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety“. *Annu. Rev. Nutr.*, 22: 19-34.1, 2002.

14. Sanches-Silva, A., Albuquerque, T., Finglas, P., Ribeiro, T., Valente, A., Vasilopoulou, E., Trichopoulou, A., Alexieva, I., Boyko, N., Costea, C., Hayran, O., Jorjadze, M., Kaprelyants, L., Karpenko, D., D'Antuonom, L., Costaa, H., „Carotenoids, vitamins (A, B2, C and E) and total folate of traditional foods from Black Sea Area countries“. *J Sci.Food Agric.*, 93: 3545–3557, 2013.

15. Sulaiman, F., Yusoff, M., Eldeen, M., Seow, M., Sajak, B., Supriatno, L., „Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa sp.*)“. *J Food Compos Anal*, 24:1–10, 2011.

16. Terry, I. 2011: Terry, I. *Health-promoting Properties of Fruit and Vegetables*. CABI, ISBN-13: 978 1 84593 528 3.

17. Triantafillou, J., Chatziantoniou, S., Bathrakis, A., Hatzigrigorakis, C., „Antioxidant content of Greek herb extracts and evaluation of antioxidant capacity in pork samples“. *Proceedings of the Nutrition Society*, 67: 276, 2009.