

RAFAŁ WOŁOSIAK, MARTA MAZURKIEWICZ, BEATA DRUŻYŃSKA,
ELWIRA WOROBIEJ

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA WYBRANYCH HERBAT ZIELONYCH

Streszczenie

Celem pracy było porównanie składu związków biologicznie aktywnych, przede wszystkim przeciwutleniających, zawartych w naparach herbat zielonych, a także określenie zróżnicowania właściwości przeciwutleniających tych związków, mierzonych wobec nadtlenków kwasu linolowego oraz kationorodników ABTS. Ponadto celem badań była ocena jakości sensorycznej naparów badanych herbat. Herbaty pochodziły z krajów o różnym położeniu geograficznym.

Stwierdzono duże zróżnicowanie zawartości polifenoli, kwasu askorbinowego, teiny oraz teaniny w uzyskanych naparach, przy czym najmniejszą zawartość związków aktywnych oznaczono w herbacie z Tajwanu. Skutkowało to najslabszymi jej właściwościami przeciwutleniającymi w procesie autooksydacji kwasu linolowego i wobec rodników ABTS. Wykazano ponadto niewielkie różnice aktywności trzech kolejnych naparów uzyskanych z tej samej porcji liści. Pod względem sensorycznym najbardziej akceptowana okazała się, najuboższa w składniki prozdrowotne, herbata z Tajwanu. Herbaty z wyspy Jawa, z Nepalu i Wietnamu nie różniły się istotnie pod względem pożądalności sensorycznej.

Słowa kluczowe: herbata zielona, aktywność przeciwutleniająca, ABTS, ocena sensoryczna

Wprowadzenie

Herbata należy do najbardziej rozpowszechnionych napojów na świecie. Poza krajami azjatyckimi, największą popularnością cieszyła się dotychczas herbata czarna, charakteryzująca się bardziej zdecydowanym smakiem. Jednak w ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie herbatą zieloną, także w naszym kraju, ze względu na stwierdzone jej działanie prozdrowotne. Do najważniejszych oddziaływań herbaty zielonej należy ograniczanie rozwoju chorób układu krążenia, układu nerwowego i nowotworów, działanie ożywcze i odświeżające, a także regulujące pracę mózgu [4, 5].

Dr inż. R. Wołosiak, mgr inż. M. Mazurkiewicz, dr inż. B. Drużyńska, dr inż. E. Worobiej, Zakład Oceny Jakości Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa

Właściwościach prozdrowotne herbaty zielonej związane są z obecnością w niej związków biologicznie czynnych, zwłaszcza przeciwutleniaczy [3, 12, 14]. Do najczęściej omawianych składników wykazujących działanie przeciwutleniające należą polifenole, należy jednak pamiętać o obecności innych związków biologicznie aktywnych, mających także właściwości przeciwutleniające [5, 8]. Unikalnym składnikiem herbaty jest teanina – aminokwas o działaniu antagonistycznym do teiny, odprężającym i uspokajającym, pozytywnie wpływający na pracę mózgu [6].

Celem niniejszej pracy było porównanie zawartości najważniejszych związków biologicznie aktywnych (związków fenolowych, kwasu askorbinowego, teaniny i teiny), właściwości przeciwutleniających, a także cech sensorycznych naparów herbat zielonych pochodzących z plantacji o różnym położeniu geograficznym.

Material i metody badań

Badano siedem herbat zielonych dostępnych na polskim rynku, pochodzących z regionów o różnym położeniu geograficznym. Zakupiono sześć herbat azjatyckich (uprawianych w Nepalu, Wietnamie, chińskiej prowincji Yunnan, na wyspach: Cejlon, Jawa i Tajwan) oraz jedną afrykańską (z Tanzanii). Ekstrakcję prowadzono w sposób odpowiadający warunkom zalecanym do przygotowania naparów z tego typu herbat (1 g liści + 100 ml wody o temp. 75°C przez 3 min), nie zaś w sposób pozwalający na maksymalne wydobycie rozpuszczalnych składników liści.

W naparach oznaczano zawartość polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a, a wyniki wyrażano jako zawartość (+)katechiny [11]. Zawartość kwasu askorbinowego, teaniny, teiny oraz skład związków fenolowych określano metodą HPLC. Warunki rozdzielania: kolumna Discovery C18 z przedkolumną (Supelco), fazę ruchomą stanowił 0,01 M H₃PO₄ w gradiencie z metanolem (bufor fosforanowy o pH 4,3 w przypadku teaniny i kwasu askorbinowego), przepływ fazy 0,7 ml/min (1 ml/min w przypadku teaniny i kwasu askorbinowego, pompa Shimadzu LC 20AD), nastrzyk próbki na szczyt kolumny 20 µl (15 µl w przypadku teaniny i kwasu askorbinowego), detektor diodowy (FCV 10AL-VP), zakres zbierania danych: 190-800 nm [13]. Zastosowane wzorce pochodziły z firm Sigma i Fluka. Działanie przeciwutleniające wyekstrahowanych substancji określano wobec kationorodników ABTS [10] oraz w emulsji kwasu linolowego poddanej autooksydacji [7]. Oceny sensorycznej dokonano metodą ilościowej analizy opisowej przez zespół 9 przeszkolonych osób. Po przesączeniu napary przetrzymywano pod przykryciem w cieplarni w temp. 70°C przez 10 min. Po tym czasie zakodowane próbki były podawane oceniającym. Zidentyfikowano sześć wyróżników zapachu (sianowy, trawiasty, kwiatowy, owocowy, dymu, inny – typowy ziemi, błota) oraz osiem wyróżników smaku (gorzki, cierpki, słodki, kwaśny, ziołowy, trawiasty, owocowy). Zadaniem członków zespołu było określenie i zaznaczenie na 10 cm niestrukturyzowanej skali jednokierunkowej (o określeniach brzegowych: nie-

wyczuwalny, intensywny) stopnia wyczuwalności danego wyróżnika. Oceniający mieli również określić i zaznaczyć na 10 cm niestrukturyzowanej skali jednokierunkowej (z określeniami brzegowymi: niepożądany, bardzo pożądaný) stopień pożądalności naparu zgodnie z własnymi preferencjami.

Wyniki i dyskusja

Napary badanych herbat charakteryzowały się bardzo zróżnicowaną zawartością kwasu askorbinowego i polifenoli ogółem (tab. 1). Herbaty, których liście były najbardziej rozdrobnione (Cejlón i Nepal) zawierały więcej polifenoli ogółem niż w herbaty o liściach zwiniętych (Tajwan i Tanzania). Trzyminutowa ekstrakcja nie doprowadziła do całkowitego rozwinięcia zwiniętych liści, co wpłynęło na stopień wyekstrahowania związków. Zawartość polifenoli ogółem w naparze cejlońskiej herbaty była większa od wyników uzyskanych przez Witkowską i Zujko [15]. W pozostałych naparach oznaczona zawartość była mniejsza. Różnica ta jest prawdopodobnie spowodowana warunkami ekstrakcji liści (niższa temperatura wody i stosunkowo krótki czas ekstrakcji). Metodą HPLC zidentyfikowano od 50 do 100% związków fenolowych, ze zdecydowaną przewagą galusanu epigalokatechiny (rys. 1), co jest zgodne z danymi literaturowymi [1]. Udział zidentyfikowanych związków zależał przede wszystkim od zawartości w naparach trzech katechin, których wzorców nie posiadano. Napar herbaty tajwańskiej wyróżniał się niewielką zawartością polifenoli. Ten sam napar zawierał także najmniejszą ilość teaniny i teiny, podczas gdy napary pozostałych herbat nie różniły się istotnie pod względem zawartości tej ostatniej (tab. 1). Większą zawartość teaniny

Tabela 1

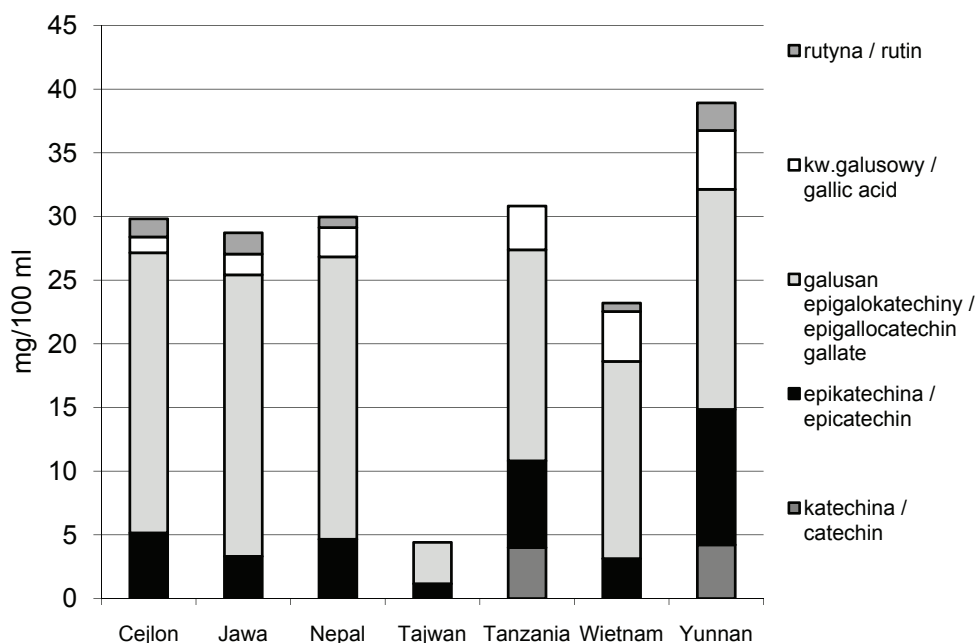
Zawartość związków aktywnych w badanych naparach herbat zielonych [mg/100 ml].
Content of active compounds in the investigated infusions of green teas [mg/100 ml].

Pochodzenie herbaty Origin of tea	Zawartość polifenoli ogółem Total content of polyphenols	Zawartość kwasu askorbinowego Content of ascorbic acid	Zawartość teaniny Content of theanine	Zawartość teiny Content of theine
Ceylon	68,5 ± 0,3	nw*	2,5 ± 0,4	12,5 ± 0,5
Java	38,0 ± 0,6	nw	2,8 ± 0,5	13,5 ± 0,7
Nepal	48,0 ± 0,3	nw	2,7 ± 0,2	12,7 ± 0,5
Taiwan	9,7 ± 0,2	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,2	2,5 ± 0,6
Tanzania	31,7 ± 0,6	0,4 ± 0,1	4,0 ± 0,1	17,9 ± 2,4
Wietnam	37,1 ± 0,5	0,9 ± 0,1	4,5 ± 0,6	10,9 ± 0,8
Yunnan	39,3 ± 0,3	0,1 ± 0,0	3,8 ± 0,1	13,6 ± 1,0

*nw – nie wykryto / not detected

odnotowano w herbatach z Tanzanii, Wietnamu i Chin (około 4 mg/100 ml) niż w próbkach pochodzących z Cejlonu, Jawy czy Nepalu (poniżej 3 mg/100 ml).

W badaniach Yao i wsp. [16] zawartość teiny była ponad dwukrotnie większa od wartości oznaczonych w niniejszej pracy. Jednak badacze ci zastosowali inne warunki ekstrakcji. Ekstrakcję prowadzili 10 min, a woda użyta do niej miała temperaturę wrzenia. Dwukrotnie wyższą zawartość teiny otrzymali Cabrera i wsp. [2]. Także i ci badacze zastosowali inną metodę ekstrakcji, do której nie użyli wody, lecz 80 % metanolu. Potwierdza to fakt, że nie całkowita zawartość teiny w danym produkcie jest istotna z punktu widzenia konsumenta, ale jej ilość, jaka w rzeczywistych warunkach ekstrahowana jest do naparu.



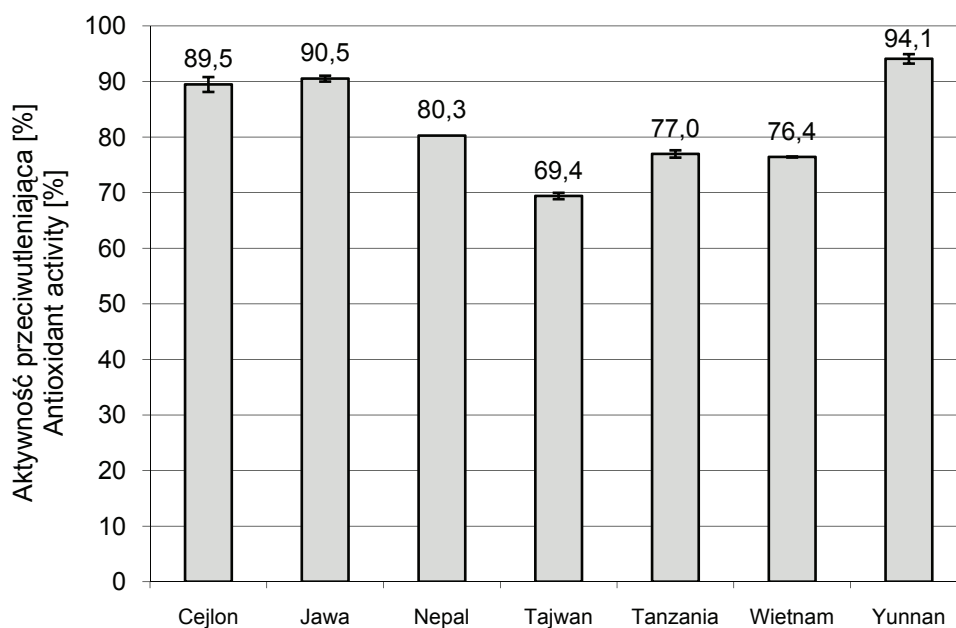
Rys. 1. Skład zidentyfikowanych związków fenolowych w badanych naparach herbat zielonych.

Fig. 1. Composition of the phenolic compounds identified in the investigated infusions of green teas.

Wszystkie napary bardzo silnie i w dość zbliżony sposób hamowały powstawanie nadtlenków kwasu linolowego w układzie symulującym proces utleniania zachodzący w organizmie człowieka (napary trzykrotnie rozcieńczone, rys. 2), jedynie herbata z Tajwanu wykazała kilkukrotnie mniejszą aktywność (napar nierozcieńczony), co wyraźnie wiąże się z mniejszą zawartością substancji aktywnych oznaczonych w jej

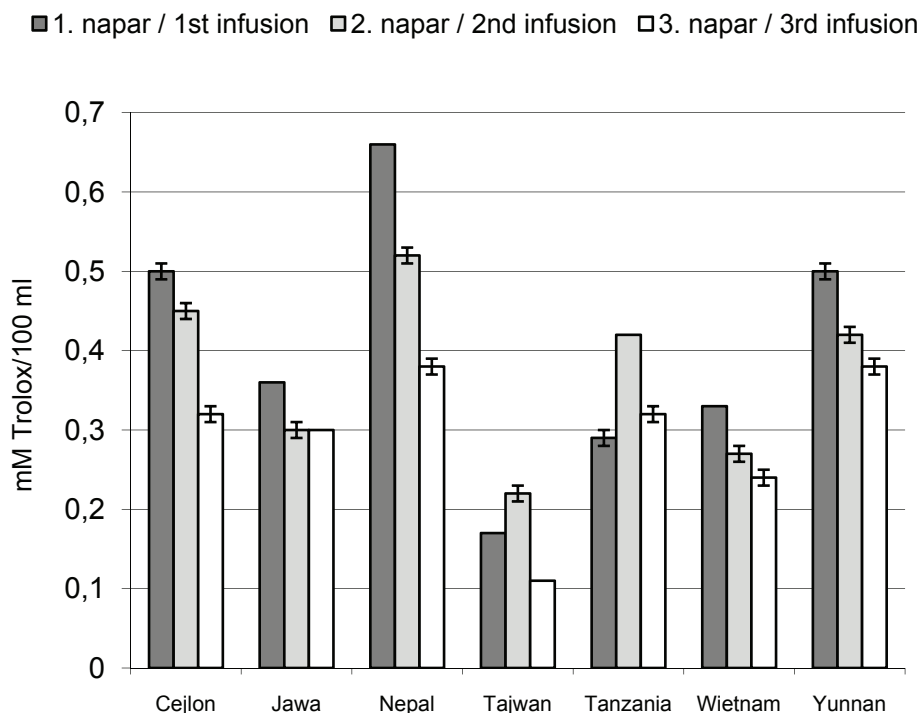
naparze. Kolejne napary uzyskane z tej samej porcji liści nie zmieniały w sposób znaczący swej aktywności przeciwrodnikowej (rys. 3), co po części może być spowodowane niepełną ekstrakcją liści. Najprawdopodobniej przede wszystkim na skutek ich rozdrobnienia lub zwinienia odpowiednie napary wykazały zmniejszoną w niewielkim stopniu lub zwiększoną aktywność wobec kationorodników ABTS po kolejnych ekstrakcjach.

Według Pellegrini i wsp. [9] aktywność przeciwutleniająca zielonej herbaty wynosi około 6 mmol/l Troloxu (i jest ona dwukrotnie niższa w stosunku do wina czerwonego i prawie dwukrotnie wyższa od aktywności soku grejpfrutowego). Badany w niniejszej pracy napar herbaty z Nepalu wykazał więc zbliżoną aktywność, a pozostałe ekstrakty miały nieco słabsze właściwości. Trzeba jednak podkreślić, że w analizie wyników uwzględniono jedynie pierwsze napary przygotowane na drodze dość krótkiej ekstrakcji.



Rys. 2. Aktywność przeciwutleniająca badanych naparów herbat zielonych wobec nadtlenków kwasu linolowego.

Fig. 2. Antioxidant activity of the investigated infusions of green teas towards linoleic acid peroxides.



Rys. 3. Aktywność badanych naparów herbat zielonych wobec kationorodników ABTS.

Fig. 3. Antioxidant activity of the investigated infusions of green teas towards the ABTS radical cations.

Średnie wartości uzyskane w ocenie preferencji sensorycznej naparów były dość zbliżone do siebie (37-61%). Herbaty z wyspy Jawa, z Nepalu i Wietnamu okazały się najintensywniejsze pod względem sensorycznym (intensywność oznaczanych wyróżników – przede wszystkim zapachu sianowego i trawiastego oraz smaku gorzkiego, cierpkiego, ziołowego i trawiastego – była oceniana wysoko), natomiast w przypadku próbek z Cejlonu, Tanzanii i Yunnan intensywność wyróżników była na niskim poziomie, dominował zapach „inny” (ziemi, błota). W herbacie z Tajwanu istotny był smak ziołowy, a także zapach sianowy i kwiatowy. Wyraźnie zaznaczającą się obecność tego ostatniego przy dość zharmonizowanym profilu mogła przyczynić się do najwyższego stopnia preferencji tej herbaty. Jest to herbata, którą zaliczyć można do bardziej wyrazistych pod względem smaku i zapachu, a jednocześnie spośród innych, również wyrazistych napojów była stosunkowo najmniej cierpka i gorzka. Największa liczba osób wybrała zaś herbatę z Cejlonu jako tę, która najmniej im odpowiadała ze wszystkich ocenianych naparów. W herbacie tej oceniający wyczuli dość intensywny zapach ziemi, błota, a w smaku została odebrana raczej jako mało wyrazista. Napary

herbat z Nepalu, Wietnamu, Tanzanii i Chin nie różniły się istotnie pod względem pożądalności sensorycznej.

Wnioski

1. Badane herbaty charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków biologicznie aktywnych – polifenoli, kwasu askorbinowego, teaniny i teiny.
2. Cechy fizyczne liści mogą w większym stopniu niż geograficzne pochodzenie determinować właściwości uzyskiwanych naparów herbat – pierwsze napary herbat o liściach rozdrobnionych miały dobre właściwości przeciwutleniające i zawierały większą ilość polifenoli ogółem niż ekstrakty przygotowane z herbat o liściach zwiniętych; aktywność przeciwrodnikowa tych ostatnich rosła w kolejno przygotowywanych ekstraktach w przeciwieństwie do naparów liści rozdrobnionych.
3. Napar herbaty z Tajwanu charakteryzujący się najmniejszą zawartością substancji aktywnych i w konsekwencji najgorszym działaniem przeciwutleniającym okazał się najbardziej pożądanym sensorycznie.

Praca była prezentowana podczas VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 - 7 grudnia 2007 r.

Literatura

- [1] Belitz H.-D., Grosch W.: Coffee, tea, cocoa. In: Food chemistry. Springer, Berlin, 1999, pp. 878-894.
- [2] Cabrera C., Giménez R., López C.: Determination of tea components with antioxidant activity. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 4427-4435.
- [3] Dreosti I.E.: Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. Nutrition, 2000, **7/8(16)**, 692-694.
- [4] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **1 (38)**, 3-11.
- [5] Hojden B.: Herbata zielona i jej właściwości lecznicze. Wiad. Ziel., 2000, **9 (42)**, 14-15.
- [6] Juneja L.R., Chu D., Okubo T., Nagato Y., Yokogoshi H.: L-theanine – a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. Trends Food Sci. Technol., 1999, **10**, 199-204.
- [7] Kuo J.-M., Yeh D.-B., Pan B.S.: Rapid photometric assay evaluating antioxidative activity in edible plant material. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 3206-3209.
- [8] Lee Ch.: Antioxidant ability of caffeine and its metabolitem based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. Clin. Chim. Acta, 2000, **295**, 141-154.
- [9] Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F.: Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. Am. Soc. Nutr. Sci., 2003,
- [10] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Rad. Biol. Med., 1999, **26**, 1231-1237.

- [11] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vit.*, 1965, **16**, 144-158.
- [12] Wang H., Provan G.J., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, **11**, 152-160.
- [13] Wang H., Provan G.J., Helliwell K.: HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. *Food Chem.*, 2003, **81**, 307-312.
- [14] Wiseman S.A., Balentine D.A., Frei B.: Antioxidants in tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1997, **8 (37)**, 705-718.
- [15] Witkowska A., Zujko M.: Wpływ warunków ekstrakcji na całkowitą zawartość polifenoli oraz właściwości organoleptyczne naparów herbaty. *Bromatol. Chemia Toksykol.*, 2003, Supl., 401-404.
- [16] Yao L., Liu X., Jiang Y., Caffin N., D'Arcy B., Singanusong R., Datta N., Xu Y.: Compositional analysis of teas from Australian supermarkets. *Food Chem.*, 2006, **94**, 115-122.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE SELECTED GREEN TEAS

S u m m a r y

The objective of the study was to compare the composition of biologically active compounds, first of all antioxidants, contained in the infusions of green teas, as well as to determine the diversity of antioxidant properties of those compounds measured towards the linoleic acid peroxides and ABTS radical cations. Moreover, the other objective of the study was to assess the sensory quality of the infusions of the teas investigated. The teas studied originated from countries located in various part of the world.

A high diversity was found in the contents of polyphenols, ascorbic acid, theine, and theanine in the infusions made, and the lowest content of active compounds was determined in the tea from Taiwan. This fact resulted in its worst antioxidant properties under the linoleic acid auto-oxidation process and towards the ABTS radicals. Furthermore, small differences were found in the activity of three subsequent infusions obtained from the same batch of leaves. The tea from Taiwan appeared to be the best acceptable one from the sensory point of view, although it contained the lowest amounts of pro-healthy components. The teas from Java, Nepal, and Vietnam significantly differed in their sensory desirability.

Key words: green tea, antioxidant activity, ABTS, sensory assessment ☒