

Właściwości przeciwutleniające wybranych herbat zielonych

Antioxidant properties of selected green teas

Bernadetta Bienia¹, Angelika Uram-Dudek², Magdalena Dykiel¹,
Barbara Krochmal-Marczak¹, Barbara Sawicka³

¹ Zakład Produkcji i Bezpieczeństwa Żywności, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigonia w Krośnie, ul. Dmochowskiego 12, 38-400 Krosno, e-mail: bernadetta.bienia@pwsz.krosno.pl; ²Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigonia w Krośnie, ul. Dmochowskiego 12, 38-400 Krosno; ³Katedra Technologii Produkcji Roślinnej i Towaroznawstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

Słowa kluczowe: herbaty zielone, aktywność przeciwutleniająca, polifenole
Key words: green teas, antioxidant activity, polyphenols

Streszczenie

Celem pracy była próba określenia aktywności przeciwutleniającej herbat zielonych jako czynnika kształtującego prozdrowotne właściwości tychże herbat. Badaniu poddano napary chińskich herbat zielonych pochodzące od sześciu różnych producentów. Określono właściwości przeciwnadrodnikowe analizowanych próbek za pomocą testu z rodnikiem DPPH (rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylowy). Ponadto oznaczono zawartość związków polifenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a. Stwierdzono znaczne zróżnicowanie aktywności przeciwutleniającej oraz zawartości związków polifenolowych. Zawartość związków polifenolowych wynosiła od 35,29 do 91,32 mg/100 ml naparu. Zdolność dezaktywacji DPPH przez badane surowce kształtowała się na poziomie od 25,3 do 59,8% początkowej ilości rodnika.

Summary

The aim of this study was to determine the antioxidant activity of green teas as a factor shaping pro-health properties of these teas. The study involved the infusions of Chinese green teas from six different producers. The antiradical properties of the analyzed samples were determined by means of the DPPH radical test (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). In addition, the total polyphenol compounds were determined using the Folin-Ciocalteu method. Significant differentiation of antioxidant activity and content of polyphenol compounds was found. The content of polyphenolic compounds ranged from 35.29 to 91.32 mg / 100 ml of infusion. The deactivation capacity of DPPH was 25.3 to 59.8% of the initial amount of the radical by the tested raw materials.

Wstęp

Herbata jest aromatycznym naparem, powszechnie przygotowywanym poprzez zalewanie gorącą lub wrzącą wodą liści i pąków krzewu herbacianego (*Camellia sinensis* L.). Według chińskich legend herbatę spożywano już od III wieku p.n.e., a pierwsze pisemne wzmianki o herbacie można znaleźć w tzw. *Księdze Chou Huna*, z 770 roku p.n.e. Początkowo napar herbaciany, przygotowywany z liści dziko rosnących drzew i krzewów, stosowano jako lek oraz środek wzmacniający i poprawiający samopoczucie. Obecnie napar herbaciany jest drugim, zaraz po wodzie, najczęściej spożywanym napojem na świecie [1, 2].

Herbatę zieloną, uzyskuje się ze świeżo zebranych liści, które poddawane są natychmiastowemu suszeniu lub wstępnemu działaniu gorącej pary wodnej, a następnie ich wysuszeniu. W takich warunkach inaktywacji ulega oksydaza polifenolowa, co zapobiega utlenianiu i przemianom związków polifenolowych oraz degradacji obecnych w liściach witamin. Pozwala to na uzyskanie produktu o składzie chemicznym podobnym do świeżo zebranych liści [3, 4]. Szacuje się, że każdego roku na całym świecie wytwarzanych jest ok. 2,5 miliona ton liści herbacianych, przy czym ok. 20% produkcji stanowi herbata zielona, spożywana głównie w Azji, Afryce Północnej, Stanach Zjednoczonych i Europie [5].

Herbata jest produktem całkowicie naturalnym, nie zawiera środków suszących, sztucznych barwników oraz aromatów. Napój herbaciany spożywany bez dodatku cukru i mleka posiada praktycznie zerową kaloryczność oraz odgrywa ważną rolę w utrzymaniu odpowiedniego poziomu nawodnienia organizmu [6].

W zielonej herbacie występuje ok. 4000 związków bioaktywnych, wśród których najważniejszymi są polifenole. Stanowią one najliczniejszą grupę związków, a ich zawartość w suchej masie wynosi od 25 do 37%. Największy udział w polifenolach stanowią katechiny. Ponadto w herbacie występują aminokwasy, kwasy organiczne, garbniki, kofeina, węglowodany, białko. Wysoka zawartość katechin powoduje, że herbata zielona ma cierpki, orzeźwiający smak. Ponadto herbata jest bogata we fluor, glin, magnez oraz witaminy z grupy B, C [7, 8, 9, 1, 10, 11] – Tabela 1. Produkty pochodzące z zielonej herbaty to głównie ekstrakty z zielonej herbaty w postaci płynnej lub sproszkowanej, które różnią się udziałem polifenoli (45–90%) i zawartości kofeiny (0,4–10%) [5].

Tabela 1. Typowy skład chemiczny liści zielonej herbaty [5, 9]

Table 1. A typical chemical composition of green tea leaves [5, 9]

Składnik	Zawartość (% masy suszonych liści)
Polifenole	25–37
Węglowodany	5–7
Białko	15–20

Składnik	Zawartość (% masy suszonych liści)
Ligniny	6,5
Składniki mineralne	5
Aminokwasy	4
Kofeina	3
Lipidy	2
Kwasy organiczne	1,5
Chlorofil	0,5

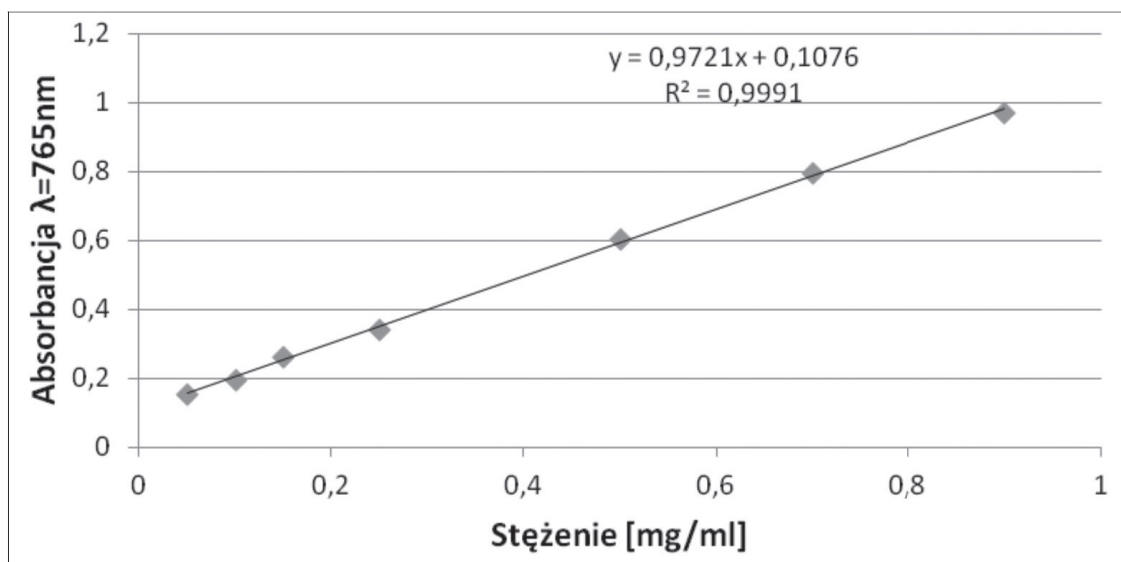
Polifenole działają pośrednio jako przeciwutleniacze, hamując czynniki transkrypcyjne wrażliwe na zmiany równowagi REDOX, przyczyniają się do hamowania aktywności enzymów „prooksydacyjnych”. Polifenole zawarte w zielonej herbacie wykazują zdolność do zmiatania reaktywnych form tlenu poprzez tworzenie bardziej stabilnych rodników fenolowych [12, 13]. Ma to szczególne znaczenie ze względu na to, że wolne rodniki reagując z cząsteczkami sacharydów, lipidów, białek, powodują ich utlenianie, czego konsekwencją jest niszczenie struktur komórkowych i tkankowych, przyczyniając się do rozwoju wielu chorób [8]. Polifenole różnią się między sobą budową chemiczną i właściwościami biologicznymi. Wspólną cechą wszystkich polifenoli są silne właściwości antyoksydacyjne, podobnie jak w przypadku witaminy C, tokoferolu czy karotenu [2]. Wolne rodniki pochodzą z naturalnych przemian metabolicznych oraz w wyniku działania na organizm substancji chemicznych, takich jak: ksenobiotyki, jony metali ciężkich, związki aromatyczne, cytostatyki oraz czynników fizycznych: promieniowanie UV, ultradźwięki, promieniowanie jonizujące [14].

Ze względu na właściwości zielonej herbaty, jej spożywanie przynosi wiele korzyści zdrowotnych. Polifenole obecne w herbacie stanowią istotne czynniki w walce ze szkodliwymi dla organizmu wolnymi rodnikami. Spożywanie produktów bogatych w te związki znacznie zmniejsza ryzyko występowania stanów zapalnych, alergii, chorób układu krążenia. Zielona herbata działa antybakteryjnie (przeciwko *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* i *Streptococcus mutant* oraz groźnej *Helicobacter pylori*) oraz przeciwwirusowo. Herbaciane flawonoidy zmniejszają stan zapalny, działają przeciwbakteryjnie i zapobiegają próchnicy zębów [2, 17]. Picie zielonej herbaty może obniżyć ryzyko wystąpienia nowotworów piersi, prostaty, jelita grubego i cienkiego, odbytu, pęcherza moczowego, żołądka, trzustki, wątroby, przełyku czy płuc [17, 18]. Regularna konsumpcja herbaty zielonej może także wspomagać walkę z otyłością i cukrzycą [15, 16]. Celem niniejszej pracy była próba określenia aktywności przeciwutleniającej herbat zielonych jako czynnika kształtującego prozdrowotne właściwości tych herbat.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły zielone herbaty liściaste pochodzące z Chin od sześciu producentów (Bentley's – A, Biofix – B, Mayo – C, Loyd – D, Malwa – E, Irving – F). Zostały one zakupione w sklepach na terenie Krosna (województwo podkarpackie). Badania dla każdej próbki przeprowadzane były w temperaturze pokojowej (20°C). Ekstrakcję prowadzono w sposób odpowiadający warunkom zalecanym przez producenta do przygotowania naparów z tego typu herbat (1g liści + 100 ml wody o temp. 80°C przez 3 minuty). Uzyskane napary po przesączeniu przeznaczano do analizy. W naparach oznaczano aktywność przeciwutleniającą (test z rodnikiem DPPH) oraz ogólną zawartość związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu'a.

Zawartość związków fenolowych ogółem w badanych naparach oznaczano metodą kolorymetryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Pomiarów absorbancji dokonywano przy długości fali $\lambda = 765 \text{ nm}$ po 30 minutach inkubacji przy użyciu spektrofotometru firmy Jenway. Zawartość związków polifenolowych ogółem w badanym ekstrakcie obliczono na podstawie krzywej wzorcowej wyznaczonej dla kwasu galusowego, dla której współczynnik determinacji wynosił $R^2=0,999$. Zawartość związków fenolowych w przeliczeniu na kwas galusowy odczytywano z krzywej wzorcowej i wyrażono w mg kwasu galusowego (mg/100 ml ekstraktu) (Rysunek 1).



Rysunek 1. Krzywa wzorcowa do oznaczania zawartości związków polifenolowych ogółem w przeliczeniu na kwas galusowy

Figure 1. Standardization curve to determine total polyphenolic compounds expressed as gallic acid equivalents

Właściwości przeciwrodnikowe badanych naparów oznaczano testem z rodnikiem DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) wg metodyki opracowanej przez Sánchez-Moreno i wsp. [21] z modyfikacją Szlachty i Małeckiej [19] polegającą na ustaleniu częstotliwości pomiarów i dobraniu optymalnego stężenia etanolowego roztworu DPPH. Metoda ta pozwala na określenie stopnia wygaszania rodnika DPPH w określonym czasie, zainicjowanego w obecności przeciwutleniacza. Rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylowy jest stabilny, wykazuje maksimum absorpcji przy długości fali $\lambda = 515$ nm. W obecności przeciwutleniacza ulega on redukcji, którą charakteryzuje zmiana barwy etanolowego roztworu DPPH: z fioletowej na żółtą. Aktywność przeciwutleniająca naparów została wyrażona jako procent wygaszonego rodnika DPPH po inkubacji z badaną próbką w określonym czasie ($t = 10$ minut) w odniesieniu do próbki kontrolnej.

Zdolność antyoksydacyjną badanego naparu obliczono, korzystając ze wzoru:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH [\%]} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \cdot 100$$

gdzie:

A_0 – absorbanca próbki kontrolnej

A_t – absorbanca badanej próbki po upływie określonego czasu ($t = 10$ minut)

Redukcja DPPH mierzona jako spadek absorbancji roztworu jest uwarunkowana właściwościami przeciwutleniającymi próby. Im silniejsze są właściwości danej próbki, tym zmniejszenie absorbancji odzwierciedlające redukcję rodnika DPPH jest większe. Próbki o mniejszej zdolności dezaktywacji wolnego rodnika wykazują niewielki spadek absorbancji.

Uzyskane wyniki zestawiono i poddano weryfikacji statystycznej za pomocą programu Statistica, wersja 13.3 (StatSoft). W opracowaniu wyników uwzględniono średnie arytmetyczne oraz odchylenie standardowe. Istotność różnic między średnimi weryfikowano testem Tukey'a przy dwóch poziomach istotności $P < 0,05$ i $P < 0,01$.

Wyniki i ich omówienie

Badane napary zielonych herbat charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków fenolowych: od 35,29 do 91,32 mg/100 ml naparu. Średnia zawartość polifenoli w badanych naparach wynosiła 60,66 mg/100 ml naparu (Tabela 2).

Właściwości przeciwutleniające wybranych herbat...

Tabela 2. Zawartość związków fenolowych ogółem
Table 2. Content of total phenolic compounds

Badana próbka	Zawartość polifenoli ogółem [mg/100ml naparu]	SEM
A	68,96±0,33 ^{aA}	0,19
B	35,29±0,54 ^{bB}	0,31
C	38,07±0,36 ^{cC}	0,21
D	79,90±0,66 ^{dD}	0,38
E	50,34±0,49 ^{eE}	0,28
F	91,32±0,36 ^{fF}	0,21
Średnia	60,66	

Objaśnienia:

a–f – wartości w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P < 0,05$)

A–F – wartości w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P < 0,01$)

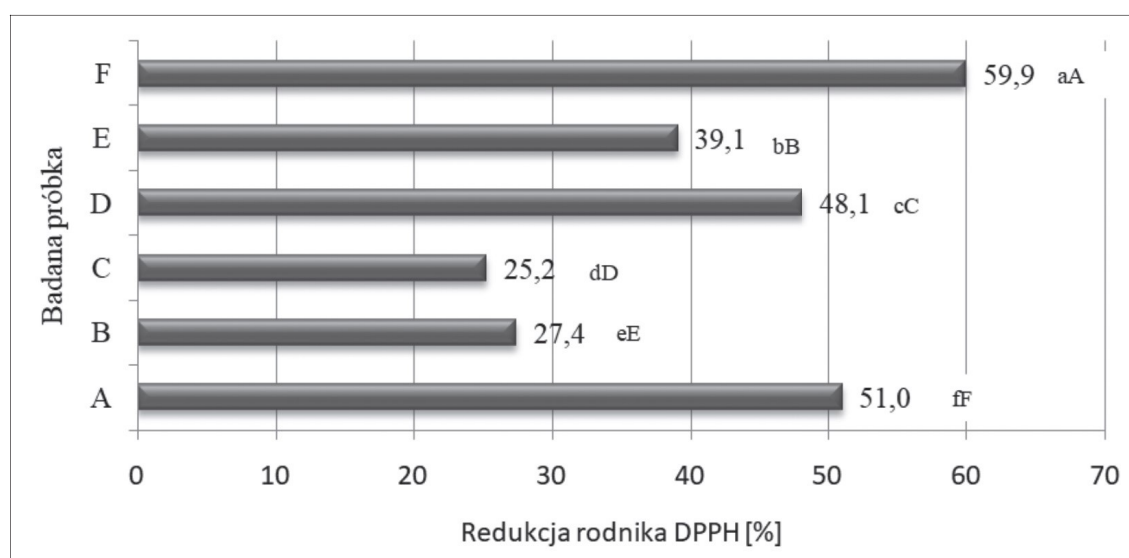
Analiza ilościowa naparów zielonych herbat wykazała istotne różnice w zawartości polifenoli ogółem. Największą zawartością polifenoli charakteryzowała się herbata zielona oznaczona symbolem F (91,32 mg/100 ml naparu), zaś najmniej związków fenolowych zawierały herbaty oznaczone symbolem B oraz C (odpowiednio 35,29 i 38,07 mg/100 ml naparu).

Wołosiak i wsp. [22] uzyskali zawartość polifenoli na poziomie od 9,7 do 68,5 mg/100 ml. Większą zawartość polifenoli ogółem obserwowali w herbatach, których liście były najbardziej rozdrobnione (pochodzące z Cejlonu i Nepalu, odpowiednio 68,5 i 48,0 mg/100 ml), zaś mniejszą w herbatach o liściach zwiniętych (pochodzących z Tajwanu i Tanzanii, odpowiednio 9,7 i 31,7 mg/100 ml). Cieśliewicz i Grzelakowska [20] uzyskały zawartość polifenoli w różnych herbatach od 9,5 do 47,3 mg GAE/g s.m. (kwasu galusowego) w przypadku pierwszego parzenia i od 6,7 do 22,1 mg GAE/g s.m. w przypadku parzenia drugiego. Muzolf-Panek [10] uzyskała zawartość polifenoli w sześciu badanych herbatach zielonych na poziomie od 224,9 do 448,8 mg/g ekstraktu. Badania Satoha i wsp. [23] dowodzą o zawartości związków polifenolowych na poziomie 312,5 mg związków polifenolowych w 1 g ekstraktu. Spotykane w literaturze zawartości polifenoli w herbatach zielonych mieszczą się w bardzo szerokich granicach. Porównywanie uzyskiwanych wyników utrudnia fakt stosowania różnych rozpuszczalników – woda, metanol, ale także sposób przedstawiania wyników w przeliczeniu na ekwiwalenty kwasu galusowego czy katechiny na 1 g suchej masy herbaty bądź objętość 100 lub 200 ml [20].

Herbaty zielone, wykorzystane w badaniach, wykazywały zróżnicowaną zdolność wygaszania rodnika DPPH, wyrażoną w procentach, po upływie 10 minut inkubacji roztworu rodnika DPPH z badanym naparem (Rysunek 2).

Zaobserwowane różnice w zawartości polifenoli oraz zdolności wygaszania rodnika DPPH w herbatach różnych marek mogą wynikać z różnic gatunkowych, wieku rośliny oraz warunków jej uprawy, jak również procesu produkcyjnego [26, 27]. Tym samym badane herbaty mogą różnić się zawartością poszczególnych związków należących do grupy polifenolowych.

Metody zaprezentowane w niniejszej pracy służą do oznaczania zdolności antyutleniających związków wchodzących w skład badanych herbat. Metody te oparte są na różnych mechanizmach reakcji, przebiegają w różnych środowiskach, a także różnią się odczynnikami, który jest redukowany przez antyutleniacz.



Rysunek 2. Redukcja rodnika DPPH [%]

Figure 2. Reduction of DPPH radical [%]

Objaśnienia:

a-f – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P < 0,05$)

A-F – wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ($P < 0,01$)

Po 10 minutach inkubacji badane napary wygaszały od 25,3 do 59,8% DPPH. Najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi odznaczały się herbaty oznaczone symbolem F i A (odpowiednio 59,8 i 51,4%). Herbaty zielone C i B dezaktywowały odpowiednio 25,3 oraz 27,3% początkowej ilości rodnika DPPH (Rysunek 2).

Jak wykazały badania [24, 23], spośród wszystkich rodzajów herbat: czarnej, czerwonej i zielonej, herbata zielona charakteryzuje się najwyższą aktywnością przeciwutleniającą w teście DPPH. W badaniach Fik i Zawisłak [8] oznaczone aktywności przeciwutleniające zawierały się w przedziale od 53,7 do 61,0%.

Według Benzie i Szeto [7] właściwości przeciwutleniające herbat zielonych są zdecydowanie większe niż herbat oolong i czarnej, chociaż w obrębie każdej z tych grup produktów występowały od dwu- do trzykrotne różnice w aktywności przeciwutleniającej. Badania Betlej i wsp. [25] wykazały również zróżnicowaną aktywność antyoksydacyjną herbat zielonych, a ich średnia wartość wynosiła 79,65%. Wśród herbat pochodzących z Chin wartość ta wynosiła od 75,19% do 84,27%. Wyższe wartości obserwowano w herbatach pochodzących z Ceylonu. Ponadto autorki [27] wykazały wyższą aktywność antyoksydacyjną herbat zielonych liściastych w porównaniu do herbat granulowanych. Również Muzolf-Panek [10] wykazała zróżnicowaną aktywność przeciwutleniającą badanych herbat zielonych.

Wnioski

1. Całkowita zawartość polifenoli była zróżnicowana w zależności od marki herbaty.
2. Zaobserwowane różnice w zawartości polifenoli w herbatach zielonych różnych marek, pochodzących z Chin, mogą wynikać z różnic odmianowych i wieku rośliny oraz warunków jej uprawy.
3. Zielona herbata cechuje się wysokim potencjałem przeciwutleniającym, charakteryzującym się zdolnością do dezaktywacji reaktywnych form tlenu.

Literatura

- [1] Caprari M., Herbata, Wyd. KDC, Warszawa 2009, s.192.
- [2] Sharangi A.B., Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camelia sinensis* L.), A review, Food Research International, 2009, 42, s. 529–535.
- [3] Młodecki H., Piekarski I., Zagadnienia zdrowotne żywności, PZWL, Warszawa 1987, s. 471.
- [4] Kurlito K., Kurowski G., Laskowska B., Malinowska M., Sikora E., Vogt O., Wpływ warunków parzenia na zawartość antyoksydantów w naparach różnych rodzajów herbat, Wiadomości Chemiczne, 2013, 67, s. 1129–1147.
- [5] Chacko S.M., Thambi P.T., Kuttan R., Nishigaki I., Beneficial effects of green tea: a literature review, Chinese Medicine, 2010, 5, s. 13–15.
- [6] Piszcz P., Marciniak I., Głód B.K., Właściwości antyoksydacyjne herbat, Camera Separatoria, 2017, 9(1), s. 36–45.
- [7] Benzie I.F.F., Szeto Y.T., Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay, Journal of Agricultural Food Chemistry, 1999, 47, s. 633–636.
- [8] Fik M., Zawisłak A., Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, 3(40), s. 98–105.
- [9] Sinija V.R., Mishra H.N., Green tea: health benefits, Journal of Nutritional & Environmental Medicine, 2008, 17(4), s. 232–242.
- [10] Muzolf-Panek M., Aktywność przeciwutleniająca i protutleniająca katechin występujących w herbacie zielonej, Praca doktorska. Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Poznań 2009.

- [11] Namita P., Mukesh R., Vijay K., *Camellia Sinensis* (Green Tea): A review, *Global Journal of Pharmacology*, 2012, 6(2), s. 52–59.
- [12] Forester S., Lambert J., Antioxidant effects of green tea, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55(6), s. 844–854.
- [13] Frei B., Higdon J.V., Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*: evidence from Animals studiem, *Journal of Nutrition*, 2003, 133(10), s. 3275–3284.
- [14] Bartosz G., *Druga twarz tlenu*. Wyd. PWN, Warszawa 2006.
- [15] Hsu C-H., Tsai T-H., Kao Y-H., Hwang K-C., Tseng T-Y., Chou P., Effect of green tea extract on obese women: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, *Clinical Nutrition*, 2008, 27, s. 363–370.
- [16] Kao Y.-H., Chang H.-H., Lee M.-J. & Chen C.-L. , Tea, obesity, and diabetes, *Molecular Nutrition & Food Research*, 2006, 50, s. 188–210.
- [17] Cabrera C., Artach, R., Jimenez R., Beneficial effects of green tea – a review, *Journal of the American College of Nutrition*, 2006, 25, s. 79–99.
- [18] Yang G., Shu X.O., Li H., Chow W-H., Ji B-T., Zhang X., Gao Y.T., Zheng W., Prospective cohort study of green tea consumption and colorectal cancer risk in women, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2007, 16, s. 1219–1223.
- [19] Szlachta M., Małecka M., Właściwości przeciwutleniające herbatek owocowych, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 1(56), s. 92–102.
- [20] Cieślewicz J., Grzelakowska A., Zawartość związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2014, 47(2), s. 155–162.
- [21] Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F., A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1994, 3, s. 94–96.
- [22] Wołosiak R., Mazurkiewicz M., Drużyńska B., Worobiej E., Aktywność przeciwutleniająca wybranych herbat zielonych, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 4(59), s. 290–297.
- [23] Satoh E., Tohyama N., Nishimura M., Comparison of the antioxidant activity of roasted tea with green, oolong, and black teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2005, 56, s. 551–559.
- [24] Ohmori R., Iwamoto T., Tago M., Takeo T., Unno T., Itakura H., Kondo K., Antioxidant activity of various teas against free radical and LDL oxidation, *Lipids*, 2005, 40, s. 849–853.
- [25] Betlej I., Baran J., Uram A., Właściwości prozdrowotne herbat na przykładzie analizy zawartości antyoksydantów, [w:] *Rośliny zielarskie, kosmetyki naturalne i żywność funkcjonalna*, red. J. Chrzanowska, H. Różański, Wyd. PWSZ im. S. Pigonia w Krośnie, Krosno 2015, s. 60–64.
- [26] Graham H.N., Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, *Preventive Medicine*, 1992, 21, 334–350.
- [27] Hara Y., *Green tea. Health benefits and applications*. Marcel Dekker Inc., Nowy Jork, 2001, s. 280.

Do cytowania:

Bienia B., Uram-Dudek A., Dykiel M., Krochmal-Marczak B., Sawicka B., Właściwości przeciwutleniające wybranych herbat zielonych, *Herbalism*, 2019, (5), s. 32–40.