

MIROSŁAW FIK, AGNIESZKA ZAWIŚLAK

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH WYBRANYCH HERBAT

Streszczenie

Herbaty charakteryzują się odmiennym składem związków polifenolowych, co wpływa na zróżnicowanie ich właściwości przeciwutleniających. Dlatego celem pracy była analiza i porównanie aktywności przeciwutleniającej wybranych herbat, dostępnych w sprzedaży detalicznej. Aktywność przeciwutleniającą alkoholowych ekstraktów analizowanych produktów oznaczano spektrofotometrycznie na podstawie ich zdolności do eliminowania wolnych rodników DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl).

Stwierdzono, że badane herbaty charakteryzowały się na ogół dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi, ale aktywność ich ekstraktów była bardziej zróżnicowana w grupie herbat fermentowanych niż niefermentowanych i półfermentowanych. W badaniach wykazano również, że istotny wpływ na właściwości przeciwutleniające herbat ma proces fermentacji. Największymi właściwościami przeciwutleniającymi spośród badanych produktów charakteryzowały się półfermentowane herbaty oolong i pu-erh, których średnie aktywności wynosiły odpowiednio około 70% i 67%. Niefermentowane herbaty zielone i fermentowane czarne miały na ogół aktywności niższe, zawarte w przedziałach odpowiednio 53,7-61% i 39,6-68%, chociaż jedna z herbat czarnych (Yunnan Top) wykazywała aktywność 68%, a więc podobną jak herbaty półfermentowane. Analiza statystyczna potwierdziła, iż zdecydowana większość badanych produktów istotnie różni się ($p \leq 0,05$) zdolnością do redukcji rodników DPPH.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwutleniająca, ekstrakty herbaciane, katechiny, DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl).

Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie składnikami pokarmowymi pochodzenia roślinnego o działaniu przeciwutleniającym. Substancje te odgrywają istotną rolę w walce z wolnymi rodnikami, które reagując z cząsteczkami białek, lipidów i sacharydów powodują ich utlenianie, a w konsekwencji niszczenie struktur

komórkowych i tkankowych, czym przyczyniają się do rozwoju wielu schorzeń. Do naturalnych przeciwutleniaczy należą m.in. witaminy C i E, karotenoidy, niektóre pierwiastki śladowe oraz polifenole [2, 10]. Aktywne przeciwutleniacze występują w owocach, warzywach, produktach zbożowych oraz roślinach strączkowych, a także w licznych ziołach, przyprawach i przede wszystkim w herbatach. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że spożywanie produktów bogatych w związki polifenolowe może znacznie zmniejszyć ryzyko wystąpienia chorób serca poprzez działanie przeciwutleniające na niskocząsteczkowe frakcje lipoprotein (LDL), a tym samym przyczynić się do spowalniania procesu arteriosklerozy [2, 5, 10]. Substancje te stanowią najliczniejszą grupę związków wchodzących w skład liści herbaty i ich zawartość w suchej masie świeżych liści waha się w granicach od 25 do 35%. Głównymi przedstawicielami polifenoli w herbatach są katechiny, które mają największy udział we właściwościach przeciwutleniających [1, 7, 8]. Objawiają się one przede wszystkim zdolnością do hamowania generacji wolnych rodników, ich wychwytywania oraz chelatowania jonów metali ciężkich, będących katalizatorami reakcji wolnorodnikowych [2, 4, 5, 8]. Zawartość i wzajemne proporcje katechin w herbacie są ściśle powiązane ze stopniem fermentacji oraz wiekiem liści tej rośliny. W zależności od sposobu otrzymywania wyróżnia się dwa zasadnicze rodzaje herbat – czarną, fermentowaną o ciemnym naparze oraz niefermentowaną herbatę zieloną o jasnym naparze i ziołowym aromacie. Znane są również herbaty częściowo fermentowane, mające pośredni skład oraz właściwości herbat czarnych i zielonych [1, 7, 8]. Podczas procesu produkcyjnego herbaty czarnej proste polifenole zawarte w liściach ulegają oksydacyjnej polimeryzacji, w wyniku której powstają bardziej złożone związki chemiczne, tj. teoflawiny, teorubiginy oraz składniki o wyższych masach cząsteczkowych [1, 6, 7, 8]. Herbatę zieloną otrzymuje się poprzez suszenie świeżych liści lub wstępne działanie na nie parą wodną o podwyższonej temperaturze i następnie ich wysuszenie. W takich warunkach ulega inaktywacji oksydaza polifenolowa, co zapobiega utlenianiu i przemianom związków polifenolowych oraz degradacji obecnych w liściach witamin. Dzięki temu otrzymany produkt jest bogaty we flawonole, takie jak: katechiny, epikatechiny oraz epigalokatechiny i flawondiole, a także proste kwasy fenolowe [7, 8].

Jakość herbat jest często bardzo zróżnicowana. Różne herbaty charakteryzują się odmiennym składem związków polifenolowych i mogą wykazywać większe lub mniejsze właściwości przeciwutleniające [1, 6, 7, 8].

Dlatego celem pracy było oznaczenie i porównanie aktywności przeciwutleniających wybranych rodzajów herbat, to jest fermentowanych (czarnych), półfermentowanych (czerwonych) i niefermentowanych (zielonych).

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły herbaty liściaste oraz herbaty czarne CTC firm Lipton, Tetley i Dilmah. Przebadano 18 herbat zakupionych w lokalnych sklepach na terenie Krakowa, w tym 8 zielonych, 6 czarnych i 4 czerwone. Ekstrakty do badań przygotowywano według metody Yen i Chen [13] z pewnymi zmianami. Zmiany te dotyczyły dokładnego rozdrabniania analizowanych produktów oraz zastosowania do ich ekstrakcji, zamiast wody, 96% etanolu. Wszystkie badane produkty, zarówno liściaste, jak i CTC, mielono wstępnie w młynku firmy Moulinex. Rozdrobniony materiał odważano po 2 g do gilz ekstrakcyjnych i ekstrahowano w aparacie Soxhleta 100 ml 96% alkoholu etylowego. Tak otrzymany ekstrakt herbaciany sączono i do analiz dodatkowo rozcieńczano etanolem w stosunku 1:8. Analizy przeprowadzono bezpośrednio po przygotowaniu roztworów.

Właściwości przeciwutleniające badanych herbat oznaczano metodą Brand-Wiliams i wsp. [3] z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH). Metoda ta polega na określeniu stopnia redukcji (zmiatania) rodników DPPH przez zawarte w ekstraktach herbacianych przeciwutleniacze. Do próbki pobierano 3 ml alkoholowego ekstraktu herbacianego, dodawano 1 ml 0,1 mM alkoholowego roztworu DPPH i dokładnie mieszano, a po 10 min mierzono absorbancję mieszaniny w spektrofotometrze Cecil CE 9500 przy długości fali 517 nm względem 96% alkoholu etylowego. Jednocześnie w ten sam sposób dokonywano pomiaru absorbancji próby kontrolnej, tj. mieszaniny 1 ml 0,1 mM roztworu DPPH z 3 ml 96% etanolu. Aktywność przeciwutleniającą RSA (ang. radical scavenging activity) wyrażoną stopniem eliminacji wolnych rodników obliczano z równania [9]:

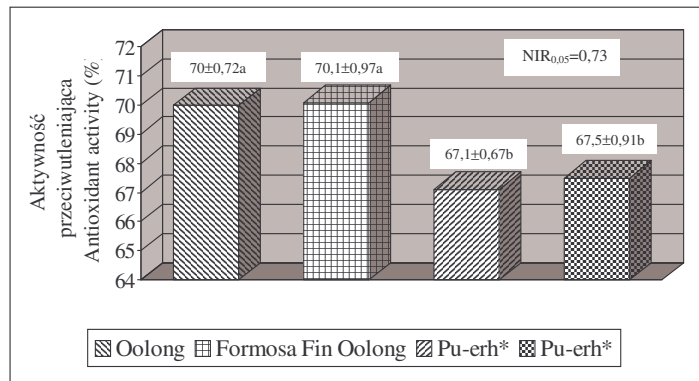
$$RSA(\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbancja } A_{517} \text{ próby badanej}}{\text{Absorbancja } A_{517} \text{ próby kontrolnej}} \right) \times 100$$

Uzyskane wyniki doświadczeń poddano analizie statystycznej przy wykorzystaniu programu Excel 97, obliczając średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe i NIR na poziomie $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

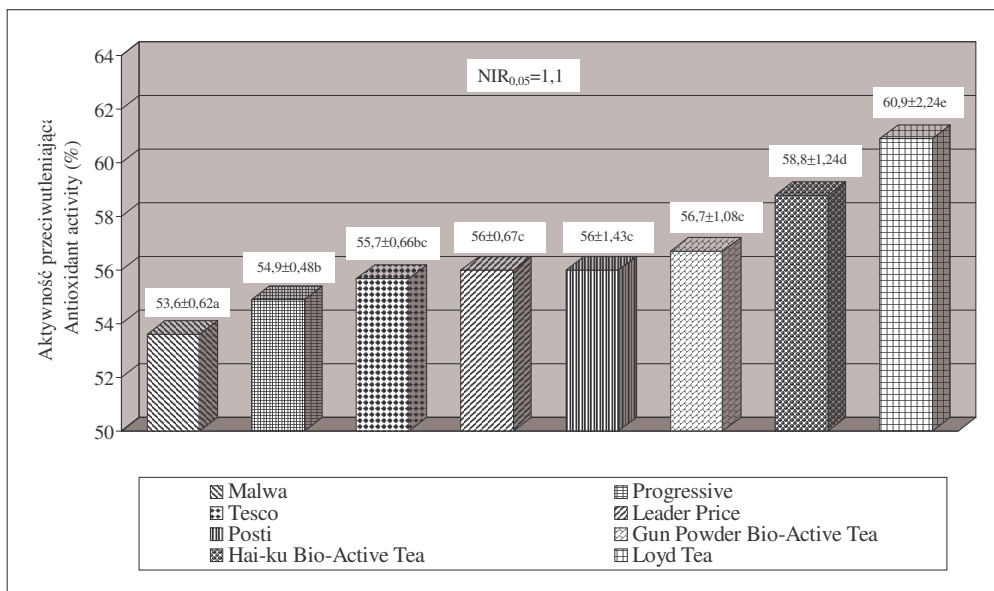
Wyniki aktywności przeciwutleniającej różnych rodzajów herbat przedstawiono na rys. 1–3 jako wartości średnie z trzech powtórzeń. Stwierdzono, że spośród badanych produktów najefektywniejszymi zmiataczami stabilnych rodników DPPH charakteryzowały się półfermentowane herbaty oolong i pu-erh, których uśrednione wartości RSA wynosiły odpowiednio 70% i 67,1–67,5% (rys. 1).

Niższymi właściwościami przeciwutleniającymi cechowało się 8 analizowanych herbat zielonych, których oznaczone aktywności zawierały się w przedziale od 53,7 do 61% (rys. 2).



Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat oolong i puerh. Wyniki podano jako wartości średnie ± odchylenie standardowe - oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$). *Herbaty pochodzące z różnych firm.

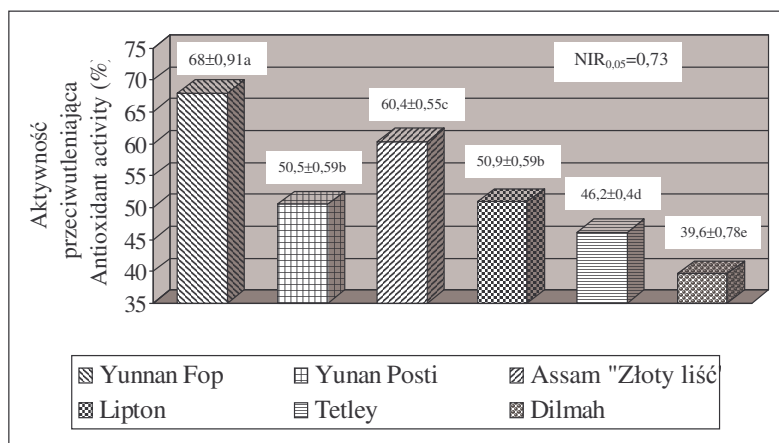
Fig. 1. Antioxidant activity of the oolong and pu-erh tea extracts. The results are expressed as the means ±SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($p \leq 0.05$). *Teas from various firms.



Rys. 2. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat zielonych. Wyniki podano jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe – oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$).

Fig. 2. Antioxidant activity of the green tea extracts. The results are expressed as the means \pm SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($p \leq 0.05$).

Natomiast najmniejszą aktywnością charakteryzowały się na ogół herbaty czarne (rys. 3), chociaż dwa rodzaje wśród nich miały średnią aktywność zbliżoną do aktywności herbat zielonych i czerwonych.



Rys. 3. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów herbat czarnych. Wyniki podano jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe - oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$).

Fig. 3. Antioxidant activity of the black tea extracts. The results are expressed as the means \pm SD; The means designated by the same letters do not differ statistically significant ($P \leq 0.05$).

Otrzymane w tej pracy wyniki różnią się jednak od niektórych opublikowanych danych przez innych autorów [1, 7, 11], którzy wykazali najwyższą aktywność przeciwutleniającą ekstraktów niefermentowanej herbaty zielonej, nieco niższą półfermentowanej czerwonej, a następnie fermentowanej czarnej. Według Benzie i Szeto [1], właściwości przeciwutleniające herbat zielonych są zdecydowanie większe aniżeli herbat oolong i czarnej, chociaż w obrębie każdej z tych grup produktów występowały od dwu- do trzykrotne różnice w aktywności przeciwutleniającej. Prawdopodobnie zróżnicowanie to jest spowodowane między innymi różnymi regionami geograficznymi ich upraw, okresem zbioru oraz różnymi warunkami przechowywania. Znane są jednak prace badawcze, w których stwierdzono, podobne jak w niniejszej pracy, uszeregowanie herbat według ich właściwości przeciwutleniających [6, 13]. Między innymi Yen i Chen [13], badając cztery rodzaje tych produktów o różnym stopniu fermentacji, wykazali, że herbata fermentowana w

ok. 10% ma większą zdolność do eliminacji wolnych rodników DPPH niż herbata zielona, która przecież zawiera w swoim składzie większą ilość katechin. Uważa się bowiem, że największy wpływ na aktywność przeciwutleniającą naparów herbacianych mają katechiny, których jest najwięcej w herbatach zielonych (30–42% suchej masy liści), podczas gdy ich zawartość w herbacie oolong wynosi od 8 do 20%, a w czarnej od 3 do 10%. W trakcie procesu fermentacji herbat katechiny ulegając przemianom tworzą nowe związki chemiczne, takie jak teoflawiny i teorubiginy odpowiedzialne za charakterystyczny smak i barwę herbaty czarnej [1, 6, 7, 8]. W jednym z nowszych doniesień [6] stwierdzono jednak, że teoflawiny występujące w herbacie półfermentowanej i czarnej charakteryzują się przynajmniej tym samym potencjałem przeciwutleniającym jak katechiny obecne w herbacie zielonej. Powstają one w wyniku utleniania oraz dimeryzacji katechin i są przypuszczalnie tak samo skuteczne w ochronie frakcji LDL człowieka przed oksydacją jak ich prekursorzy [6]. Konwersja katechin do teoflawin podczas procesu produkcyjnego nie powinna więc mieć wpływu na ich zdolności do eliminacji wolnych rodników i dlatego też niektórzy autorzy [6, 12] sugerują, że picie herbat fermentowanych przynosi te same korzyści zdrowotne, wynikające z ich właściwości przeciwutleniających, jak spożywanie herbat zielonych. Ponadto pewien wpływ na właściwości przeciwutleniające tego rodzaju produktów ma również uwalniający się w procesie ich fermentacji z galusanu katechiny kwas galusowy [7].

Otrzymane w niniejszej pracy wyniki charakteryzowały się dużą powtarzalnością, a o ich małym rozproszeniu świadczą stosunkowo niskie współczynniki zmienności, których wartości średnie wszystkich analizowanych produktów nie przekraczały 0,86%. Jednakże w przypadku badanych herbat, zwłaszcza zielonych i czarnych, wykazano znaczne różnice w uzyskanych wartościach aktywności przeciwutleniającej RSA. Otrzymane wyniki RSA analizowanych ośmiu herbat zielonych zawierały się w zakresie od 53,6 do około 61,0%, a sześciu czarnych w szerokim przedziale od 39,6 do 68,0%. Do określenia wielkości różnic w obrębie poszczególnych grup produktów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. W przypadku herbat czarnych i czerwonych obliczona wartość NIR przy $p \leq 0,05$ wynosiła 0,73, a zielonych 1,1. Na podstawie porównania wartości średnich z NIR stwierdzono, że występują istotne różnice w aktywności przeciwutleniającej większości badanych herbat (rys. 1-3). Z przeprowadzonych badań może więc wynikać, że prawdopodobnie pomiędzy marką herbaty i jej jakością, a co za tym idzie i zawartością związków przeciwutleniających, istnieje pewna zależność polegająca na tym, że lepszym gatunkom produktu z reguły odpowiada większa jego aktywność przeciwutleniająca. Mogą na to mieć wpływ zarówno jakość herbat stosowanych do mieszanek, jak również zachowanie optymalnych warunków procesu technologicznego.

Wnioski

1. Wszystkie badane herbaty charakteryzowały się na ogół dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi, ale aktywność ich ekstraktów była bardziej zróżnicowana w grupie herbat fermentowanych (herbaty czarne) niż niefermentowanych (herbaty zielone) i półfermentowanych (herbaty czerwone).
2. Na aktywność przeciwutleniającą alkoholowych ekstraktów herbacianych miał znaczny wpływ stopień fermentacji herbat podczas procesu produkcyjnego, przy czym wyższą aktywnością związaną z eliminacją rodników DPPH charakteryzowały się herbaty półfermentowane niż fermentowane i niefermentowane.

Literatura

- [1] Benzie I. F. F., Szeto Y. T.: Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing / antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 633-636.
- [2] Borkowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [3] Brand-Wiliams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [4] Kalt W., Forney C. F., Martin A., Prior R. L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4638-4644.
- [5] Kurppa L.: Background information for evaluating the use and possibilities of flavonoids in food technology. *Innov. in Food Technol.*, 2003, **2**, 76-78.
- [6] Leung L. K., Su Y., Chen R., Zhang Z., Huang Y., Chen Z. Y.: Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. *J. Food Nutr.*, 2001, **131**, 2248-2251.
- [7] Lin J. K., Lin Ch. L., Liang Y. Ch., Lin-Shiau S. Y., Juan I. M.: Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3635-3642.
- [8] Ostrowska J., Stankiewicz A., Skrzydlewska E.: Antyoksydacyjne właściwości zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001, **34** (2), 131-140.
- [9] Tang S. Z., Kerry J. P., Sheehan D., Buckley D. J.: Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. *Food Chem.*, 2002, **76**, 45-51.
- [10] Vinson J. A., Hao Y., Su X., Zubik L.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3630-3634.
- [11] Von Gadow A., Joubert E., Hansmann C. F.: Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem.*, 1997, **60** (1), 73-77.
- [12] Wang H., Provan G. J., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, **11**, 152-160.
- [13] Yen G. Ch., Chen H. Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME SELECTED TEAS – A COMPARISON

S u m m a r y

Teas are characterized by diverse compositions of polyphenolic compounds and owing to this fact their antioxidant properties are also different. Thus, the main objective of this paper was to analyse and compare antioxidant activity of some selected teas available on the local market. For the products investigated, the antioxidant activity of their alcoholic extracts was spectrophotometrically measured on the basis of their scavenging effects on the DPPH radicals (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

It was stated that the antioxidant activity of all teas investigated was generally good, however, the stronger differences were found in the group of fermented teas if compared with non-fermented or semi-fermented ones. Moreover, the investigation results proved that the fermentation process had a significant impact on the antioxidant activity of teas. Among all the products analyzed, the semi-fermented oolong and pu-erh teas showed the highest antioxidant activity and the mean values determined were about 70% and 67,3%, respectively. Except for the Yunnan Top (black) tea, the non-fermented (green) and fermented (black) teas generally showed a lower antioxidant activity within a range between 53.7% and 61%, and 39.6 - 68%, respectively. Although one of the black teas, the Yunnan Top, had 68% of the antioxidant activity, i.e. this value was similar to the corresponding value of the semi-fermented teas. On the basis of the statistical analysis, it was confirmed that the majority of products examined significantly ($P \leq 0,05$) differed in their scavenging effect on the DPPH radicals.

Key words: antioxidant activity, tea extracts, catechins, and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). ☒