

*Dominika PLUST, Barbara CZERNIEJEWSKA-SURMA, Zdzisław DOMISZEWSKI,
Grzegorz BIENKIEWICZ*

ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI, WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE ORAZ ZDOLNOŚCI REDUKUJĄCE NAPARÓW HERBAT BIAŁYCH LIŚCIASTYCH

POLYPHENOLS CONTENT, ANTIOXIDANT CAPACITY AND REDUCING POWER OF WHITE TEA INFUSIONS

Katedra Towaroznawstwa i Oceny Jakości, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin

Abstract. This paper defines the content of polyphenols, antioxidant activity against ABTS radicals and reducing power (FRAP) of white tea infusions. To determine total polyphenol content using the assay with Folin-Ciocalteu reagent, antioxidant properties was determined by TEAC and FRAP assay. It was demonstrated that white tea infusions have high antioxidant properties but varying dependent on size of the leaves.

Słowa kluczowe: FRAP, herbata, polifenole, TEAC, właściwości przeciwutleniające.

Key words: antioxidant properties, FRAP, polyphenols, tea, TEAC.

WSTĘP

Herbata jest drugim, po wodzie, napojem najczęściej spożywanym na świecie. Jest uzyskiwana z młodych listków, nierozwiniętych pączków i delikatnych łądyżek różnych odmian krzewu *Camelia sinensis* L. poddawanych różnym procesom produkcyjnym dającym w efekcie różne rodzaje herbaty. Skład herbaty zależy od procesu fermentacji. Rozróżnia się trzy rodzaje herbaty: fermentowane (czarna), częściowo fermentowane (żółta, czerwona i oolong) oraz niefermentowane (biała i zielona) – Almajano i in. 2008.

Herbatę białą pierwotnie produkowano na niewielką skalę wyłącznie w prowincji Fujian w Chinach. Herbaty te produkowane są z młodych pączków i listków jeszcze przed otwarciem, dzięki czemu niekiedy ich barwa jest srebrzysta, ponieważ listki i pączki pokryte są srebrnym meshkiem. Młode pąki poddawane są jedynie procesowi wędnięcia i suszenia, co wpływa na zabarwienie naparu oraz smak i zapach. Po takiej obróbce herbaty białe nie tracą wiele ze swoich naturalnych właściwości i charakteryzują się najdelikatniejszym smakiem i aromatem spośród wszystkich rodzajów herbat. Herbaty niefermentowane cenione są również za najwyższą spośród herbat zawartość polifenoli, a także ze względu na wykazywane najsilniejsze działanie antyoksydacyjne i zdolność wychwytywania wolnych rodników przez związki polifenolowe (Wiseman i in. 1997, Dreosti 2000, Frei i Higdon 2003, Hilal i Engelhardt 2007, Almajano i in. 2008). Świeże liście herbaty zawierają średnio w suchej masie 36% polifenoli, 25% węglowodanów, 15% białek, 6,5% ligniny, 5% popiołu, 4% aminokwasów, 2% tłuszczu, 1,5% kwasów organicznych, 0,5% chlorofilu, a także karotenoidy i substancje lotne, których zawartość jest mniejsza niż 0,1% (Ostrowska i in. 2005, Ostrowska 2008).

Dostępność herbat białych na polskim rynku nie jest zbyt duża, związane to jest nie tylko z ich ceną, ale także z niewiedzą społeczeństwa na temat zdrowotnych właściwości herbaty.

Celem pracy było oznaczenie zawartości polifenoli, pojemności przeciwutleniającej oraz zdolności redukujących herbat dostępnych na krajowym rynku.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wykorzystano osiem gatunków herbat białych, otrzymanych z firmy Herbaty Szlachetne:

1. Biała perła.
2. Kocie oczko.
3. Truskawka lichee.
4. Cesarska igła.
5. Snow dragon.
6. White ring.
7. Cesarska perła.
8. Srebrna truskawka.

Przygotowanie naparów:

2 g herbaty odważono z dokładnością do 0,001 g i zaparzano 0,2 dm³ wody o temp. 85°C przez 5 minut. Po tym czasie napary rozcieńczono 20-krotnie i do czasu oznaczeń przechowywano w warunkach chłodniczych.

Pojemność przeciwutleniającą badanych naparów herbat oznaczono za pomocą następujących metod:

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) – Re i Pellegrini 1999, polegająca na spektrofotometrycznym pomiarze wygaszenia rodników ABTS[•] przez przeciwutleniacze zawarte w próbce, przy długości fali 734 nm. Przygotowanie odczynników: sporządzano odczynnik podstawowy, rozpuszczając ABTS (kwas 2,2'-azinobis-(3-etylbezotiazolinowy) w wodzie destylowanej do uzyskania stężenia końcowego 7 mM, a następnie dodając nadsiarczan potasu do końcowego stężenia 2,45 mM. Roztwór pozostawiano na 12–16 h w ciemnym miejscu w temperaturze pokojowej celem wygenerowania wolnych rodników. Po tym czasie przygotowano odczynnik roboczy: rozcieńczano odczynnik podstawowy wodą destylowaną tak, aby absorbancja mierzona przy długości fali 734 nm wynosiła 0,700 +/- 0,020 (wówczas w roztworze wodnym znajduje się $1,5 \times 10^4$ mol · dm⁻³ kationorodników ABTS[•]).

Wykonanie oznaczenia: zmieszano 30 µl odpowiednio rozcieńczonej próby z 3 cm³ odczynnika roboczego, po 30 min mierzono absorbancję próby przy długości fali 734 nm (oznaczenie wykonywano również dla wody użytej do ekstrakcji w celu wyeliminowania jej wpływu na wartość pomiaru). Wyniki przedstawiano jako aktywność przeciwutleniającą badanych naparów w mM TE (Trolox Equivalent) · dm⁻³.

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) – Benzie i Strain 1996 polegająca na spektrofotometrycznym pomiarze właściwości redukujących przy długości fali 593 nm kompleksu Fe+3–TPTZ (Fe+3–tripirydylotriazyna) do Fe+2–TPTZ.

Przygotowanie odczynników: przygotowano odczynnik roboczy przez zmieszanie w proporcji 10 : 1 : 1 (v : v : v) następujących odczynników: bufor octanowy (300 mM · dm⁻³ o pH 3,6), roztwór 2,4,6, tripirydyl-s-triazyny (10 mM · dm⁻³ w 40 mM · dm⁻³ HCl), FeCl₃ · 6H₂O (20 mM · dm⁻³).

Wykonanie oznaczenia: zmieszano 100 µl odpowiednio rozcieńczonej próby z 3 cm³ odczynnika roboczego, po 30 min zmierzono absorbancję przy długości fali 593 nm (oznaczenie wykonywano również dla wody użytej do ekstrakcji w celu wyeliminowania jej wpływu na wartość pomiaru). Wyniki przedstawiano jako zdolności redukujące w mM TE (Trolox Equivalent) · dm⁻³.

Zawartość polifenoli ogółem (Wollgast 2004).

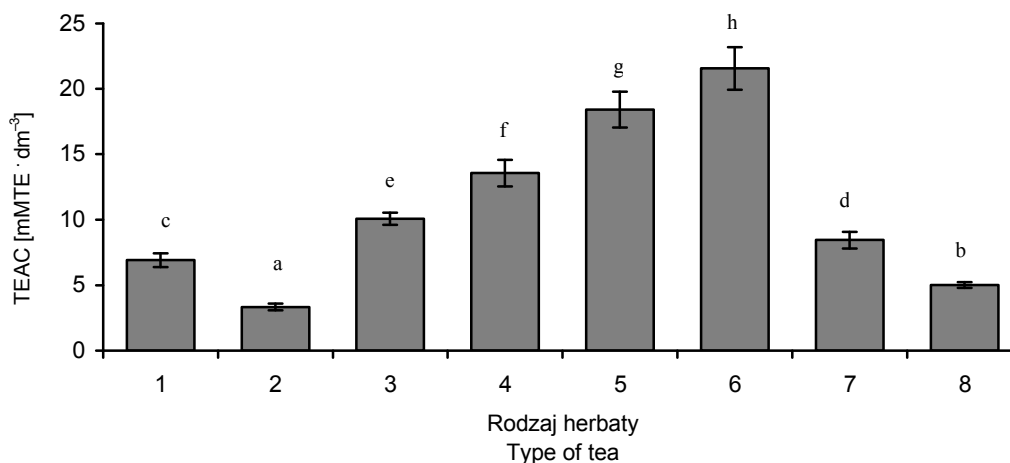
Wykonanie oznaczenia: mieszało 500 μl odpowiednio rozcieńczonej próby, 1,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu rozcieńczonego dziesięciokrotnie i 1,5 ml 7-procentowego Na_2CO_3 odstawiono w ciemne miejsce, a po 60 min zmierzono absorbancję przy długości fali 765 nm (oznaczenie wykonywano również dla wody użytej do ekstrakcji w celu wyeliminowania jej wpływu na wartość pomiaru). Wynik wyrażano w przeliczeniu na mg równoważników katechiny $\cdot \text{dm}^{-3}$.

ANALIZA STATYSTYCZNA WYNIKÓW

Dane zamieszczone na rysunkach są średnimi wartościami z trzech równoległych powtórzeń. Analizę statystyczną wyników wykonano w oparciu na jednoczynnikowej analizie wariancji, utworzono grupy jednorodne za pomocą testu Duncana dla $P < 0,05$. Dane opracowano statystycznie, korzystając z programu Statistica® (StatSoft, Inc. 2005).

WYNIKI I DYSKUSJA

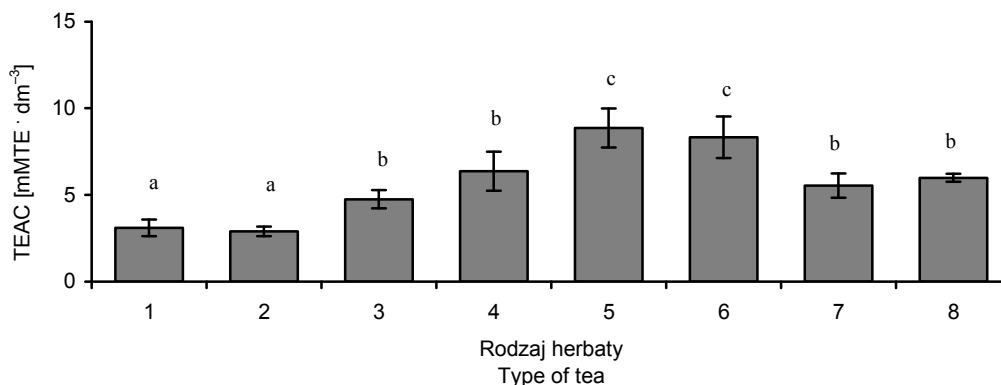
Badane napary herbat białych charakteryzowały się wysoką, ale zróżnicowaną pojemnością przeciwutleniającą, oznaczoną wobec kationorodników ABTS, która mieściła się w zakresie od 3,34 do 21,26 $\text{mM TE} \cdot \text{dm}^{-3}$ (rys. 1). Istotnie najwyższe zdolności przeciwutleniające wykazywały herbaty: Snow dragon i White ring, zaś najniższe herbata Kocie oczko (rys. 1).



Rys. 1. Pojemność przeciwutleniającą naparów herbat białych wobec kationorodników ABTS ($\text{mM TE} \cdot \text{dm}^{-3}$)
 Objasnienia – 1. Biała perła, 2. Kocie oczko, 3. Truskawka lichee, 4. Cesarska igła, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Cesarska perła, 8. Srebrna truskawka.
 Na wykresie przedstawione są średnie i odchylenia standardowe z trzech oznaczeń.
 Dane oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (test Tukeya, $P < 0,05$, $n = 3$).

Fig. 1. Antioxidant capacity of white tea infusions towards the ABTS radicals ($\text{mM TE} \cdot \text{dm}^{-3}$)
 Explanations – 1. White pearl, 2. Cat's-eye, 3. Strawberry lichee, 4. Imperial needle, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Imperial pearl, 8. Silver strawberry.
 The graph presents means and standard deviations of three parallel determinations.
 Data marked by the same letter are not significantly differ (Tukey test, $P < 0.05$, $n = 3$).

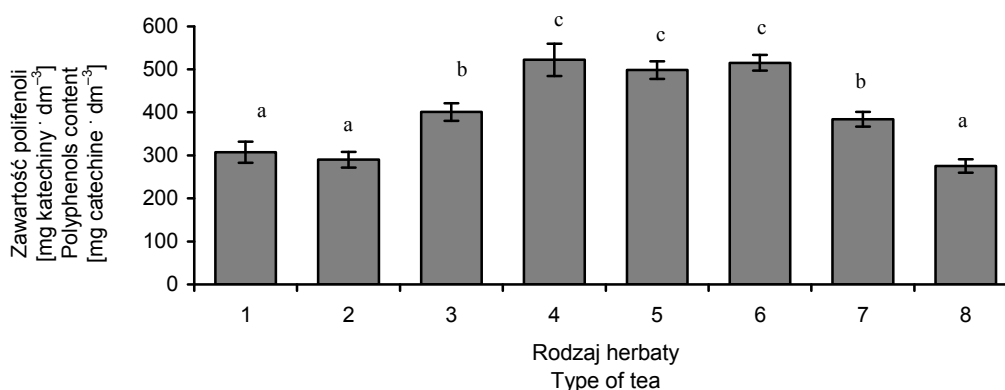
Zdolności redukujące naparów herbat białych również były zróżnicowane, ale już nie w takim stopniu jak pojemność przeciwutleniająca i zawierały się w zakresie od 2,91 do 8,85 mM TE · dm⁻³. Podobnie jak w przypadku pojemności przeciwutleniającej najwyższe wartości dotyczyły herbaty Snow dragon i White ring, najniższe herbaty Kocie oczko (rys. 2).



Rys. 2. Zdolności redukujące naparów herbat białych oznaczone metodą FRAP (mM TE · dm⁻³)
Objaśnienia – 1. Biała perła, 2. Kocie oczko, 3. Truskawka lichee, 4. Cesarska igła, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Cesarska perła, 8. Srebrna truskawka.
Na wykresie przedstawione są średnie i odchylenia standardowe z trzech oznaczeń.
Dane oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (test Tukeya, P < 0,05, n = 3).

Fig. 2. Reducing Power of white tea infusions investigated by FRAP assay (mM TE · dm⁻³)
Explanations – 1. White pearl, 2. Cat's-eye, 3. Strawberry lichee, 4. Imperial needle, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Imperial pearl, 8. Silver strawberry.
The graph presents means and standard deviations of three parallel determinations.
Data marked by the same letter are not significantly differ (Tukey test, P < 0.05, n = 3).

Wszystkie badane herbaty wykazywały istotną z punktu żywieniowego zawartość polifenoli ogółem od 274 do 552 mg · dm⁻³ naparu. Najwięcej tych bioaktywnych związków zawierały herbaty Cesarska igła i White ring, natomiast najmniej Srebrna truskawka (rys. 3).



Rys. 3. Zawartość polifenoli ogółem w naparach herbat białych
Objaśnienia – 1. Biała perła, 2. Kocie oczko, 3. Truskawka lichee, 4. Cesarska igła, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Cesarska perła, 8. Srebrna truskawka.
Na wykresie przedstawione są średnie i odchylenia standardowe z trzech oznaczeń.
Dane oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (test Tukeya, P < 0,05, n = 3).

Fig. 3. Total polyphenol content of white tea infusions
Explanations – 1. White pearl, 2. Cat's-eye, 3. Strawberry lichee, 4. Imperial needle, 5. Snow dragon, 6. White ring, 7. Imperial pearl, 8. Silver strawberry.
The graph presents means and standard deviations of three parallel determinations.
Data marked by the same letter are not significantly differ (Tukey test, P < 0.05, n = 3).

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki pojemności przeciwutleniającej, zdolności redukujących i zawartości polifenoli świadczą o tym, że herbaty białe charakteryzują się zróżnicowanymi, ale na ogół wysokimi właściwościami przeciwutleniającymi. W badaniach przeprowadzonych przez Rusak i in. (2008) dostrzega się zbliżone, bądź słabsze zdolności zmiatania kationorodników ABTS dla herbat białych, jak w niniejszej pracy: dla herbat białych rozdrobnionych 0,67 mM TE na 100 ml, natomiast dla liściastych 0,76 mM TE na 100 ml. Wołosiak i in. (2008) wykazali niższe wyniki (od 0,18 dla herbat zielonych pochodzących z Tajwanu do 0,68 mM TE na 100 ml dla herbat z Nepalu) niż w przypadku badanych w niniejszej pracy herbat białych.

W uzyskanych wynikach dostrzega się dodatnią korelację pomiędzy zawartością związków aktywnych – polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą ($r = 0,92$) i właściwościami redukcyjnymi ($r = 0,77$).

Generalnie zaobserwowano, że cechy fizyczne liści mają wpływ na właściwości uzyskiwanych naparów herbat białych. Napary herbat o liściach rozdrobnionych miały lepsze właściwości przeciwutleniające i zawierały więcej polifenoli ogółem niż ekstrakty przygotowane z herbat o liściach zwiniętych. Jest to zbieżne z wynikami uzyskiwanymi dla herbat czarnych i zielonych przez innych autorów (Majchrzak i in. 2004, Rusak i in. 2008, Wołosiak i in. 2008).

WNIOSKI

1. Napary herbat białych charakteryzują się wysoką ale zróżnicowaną pojemnością przeciwutleniającą wobec kationorodników ABTS, zdolnościami redukującymi oraz zawartością polifenoli ogółem.

2. Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy zawartością związków aktywnych – polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą ($r = 0,92$) i właściwościami redukcyjnymi ($r = 0,77$) wykazywanymi przez napary herbat białych.

3. Herbaty o liściach bardziej rozdrobnionych, mniej zwiniętych wykazują wyższe właściwości przeciwutleniające niż herbaty o liściach zwiniętych.

PIŚMIENNICTWO

- Almajano P., Carbo R., Lopez Jimenez J.A., Gordon M.H.** 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem.* 108, 55–63.
- Benzie I.F.F., Strain J.J.** 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Ann. Biochem.* 239, 70–76.
- Dreosti I.E.** 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition.* 7/8 (16), 692–694.
- Frei B., Higdon J.V.** 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *J Nutr.* 133 (10), 3275S–3284S.
- Hilal Y., Engelhardt U.** 2007. Characterisation of white tea – comparison to green and black tea. *J. Verbraucherschutz Lebensmittelsicherh.* 2, 414–421.
- Majrzhak D., Mitter S., Elmadfa I.** 2004. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. *Food Chem.* 88, 447–451.
- Ostrowska J., Łuczaj W., Skrzydlewska E.** 2005. Porównanie właściwości antyoksydacyjnych czarnej i zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.* 38 (3), 211–221.
- Ostrowska J.** 2008. Herbaty – naturalne źródło antyoksydantów. *Gaz. Farm.* 1, 46–50.

- Re R., Pellegrini N.** 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 1231–1237.
- Rusak G., Komes D., Likić S., Horzić D., Kovać M.** 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chem.* 110, 852–858.
- StatSoft, Inc.** 2005. STATISTICA data analysis software system, version 7.1. www.statsoft.com.
- Wiseman S.A., Balentine D.A., Frei B.** 1997. Antioxidants in tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 8 (37), 705–718.
- Wollgast J.** 2004. The contents and effects of polyphenols in chocolate. Qualitative and quantitative analyses of polyphenols in chocolate and chocolate raw products as well as evaluation of potential implications of chocolate consumption in human health. Praca doktorska wykonana na Uniwersytecie w Giessen, Niemcy.
- Wołosiak R., Mazurkiewicz M., Drużyńska B., Worobiej E.** 2008. Aktywność przeciwutleniająca wybranych herbat zielonych. *Żywn. Technol. Jakość.* 4 (59), 290–297.