

Ocena zawartości związków biologicznie aktywnych w herbacie zielonej i czarnej

Streszczenie

W pracy porównano właściwości antyoksydacyjne naparów wykonanych z herbaty czarnej oraz zielonej. Wykonano analizę ilościową i jakościową (GC-FID, GC-MS) olejków eterycznych w materiale wyjściowym oraz oznaczono zawartość związków polifenolowych ogółem, w tym flawonoidów. Oznaczono aktywność antyoksydacyjną metodą redukcji rodnika DPPH w naparach wykonanych klasyczną ekstrakcją, odpowiadającą procesowi parzenia herbat (według PN-ISO 3103). Wykazano, że wyższą zawartością związków polifenolowych charakteryzował się napar wykonany z liści herbaty zielonej, który zawierał odpowiednio 111,6 mg/100 ml polifenoli w przeliczeniu na GAE, w tym 17 mg flawonoidów /100 ml. Z kolei w naparze z herbaty czarnej wykazano zawartość polifenoli na poziomie 38 mg GAE/100ml, w tym 6,6 mg/100ml flawonoidów. Badania dowiodły, że aktywność przeciwutleniająca herbaty czarnej, wyrażona jako % inhibicji, wynosi 65,12%, a herbaty zielonej jest wyższa i wynosi 82,74%. W przypadku zawartości olejku eterycznego wykazano, że wyższą zawartością charakteryzuje się herbata zielona 0,10%, wobec 0,05% dla herbaty czarnej. Analiza jakościowa olejków eterycznych pozwoliła zidentyfikować w herbacie zielonej 33 związki, podczas gdy w herbacie czarnej jedynie 23 związki. Na podstawie analizy składu olejku z liści herbaty zielonej wykazano, że do głównych składników należy menton, który stanowił 29,42%. Analizując skład olejku eterycznego pozyskanego z liści herbaty czarnej zauważono, że do głównych składników należą germakren D oraz neomentol, których udział procentowy wynosił odpowiednio 21,29% i 19,73%.

Słowa kluczowe: właściwości antyoksydacyjne, herbata czarna, herbata zielona, olejki eteryczne

Evaluation of the content of biologically active compounds in green and black tea

Summary

The work compared the antioxidant properties of infusions made of black and green tea. For this purpose, semi-quantitative and qualitative analysis (GC-FID, GC-MS) of essential oils in the starting material and the total polyphenolic compounds, including flavonoids, and antioxidant activity by DPPH radical reduction in infusions performed with classical extraction corresponding to the process of tea-making (according to PN -ISO 3103). It was shown that the higher content of polyphenolic compounds was characterized by an infusion made of green tea leaves, which contained respectively 111.6 mg / 100ml of polyphenols expressed as GAE, including 17 mg of flavonoids / 100ml. In turn, black tea infusion showed a polyphenol content of 38 mg GAE / 100ml, including 6.6 mg / 100ml flavonoids. Studies have shown that the antioxidant activity of black tea, expressed as % inhibition, is 65.12%, and green tea is higher and amounts to 82.74%. In the case of the content of essential oil it was shown that the highest content is characterized by green tea 0.10%, compared to 0.05% for black tea. The qualitative analysis of essential oils identified 33 compounds in green tea, while in the black tea only 23 compounds were identified. Based on the analysis of the composition of the green tea leaf oil, it was shown that the main ingredients include menton, which accounted for 29.42%. Analyzing the composition of the essential oil obtained from the leaves of black tea, it was noted that the main components include germacrone D and neomentol, the percentage of which was 21.29% and 19.73%, respectively.

Key words: antioxidant activity, black tea, green tea, essential oils

A_0 – absorbanca roztworu rodnika DPPH

$A_{\bar{r}}$ – średnia wartość absorbancji badanego roztworu zawierającego antyoksydant

Wprowadzenie

Pojęcie herbata odnosi się zarówno do popularnego napoju, jak i rośliny z rodziny herbowatych (Cabrera i in., 2006).

Ogólnie, herbata definiowana jest, jako napar otrzymywany z liści i nierozwiniętych pączków, pochodzących z różnych gatunków wiecznie zielonych krzewów herbacianych, noszących nazwę botaniczną *Camellia sinensis*. Wyróżnia się dwie

odmiany krzewu herbacianego- chińską (*sinensis*) oraz asamską- indyjską (*assamica*) (Ostrowska, 2008). Dla krzewów herbacianych środowiskiem naturalnym jest wilgotny i ciepły klimat. Smak i aromat herbaty zależny jest od rodzaju gleby, wysokości i warunków klimatycznych, w jakich była uprawiana. Istotne są również takie czynniki, jak warunki przechowywania surowca i sposób jego przetwarzania. Przykładowo, krzewy uprawiane w nawodnionej glebie, lecz na dużych wysokościach rosną wolniej ze względu na panujący chłód, charakteryzując się intensywniejszym aromatem (Matysek-Nawrocka i Cyrankiewicz, 2016).

Początkowo herbata zaliczana była do używek i stosowana jako lek, w celu wzmocnienia organizmu oraz poprawy samopoczucia. Obecnie, dzięki wykazaniu jej prozdrowotnego działania na organizm oraz pozytywne walory sensoryczne herbata uznawana jest za jeden z najpopularniejszych napojów (zaraz po wodzie) i traktowana jest, jako uzupełnienie codziennego jadłospisu. Według danych GUS światowa, roczna produkcja herbaty rośnie z roku na rok. Przykładowo w 2005 roku wynosiła 3,7 mln ton, zaś już w 2014 roku -5,6 mln ton (GUS, 2017). Ze względu na liczne informacje dotyczące właściwości prozdrowotnych substancji biologicznie aktywnych pochodzących z roślin herbaty wzrosło zainteresowanie konsumentów tym tematem. Biorąc pod uwagę fakt, że herbata jest od wieków wykorzystywana jako napój leczniczy, ważna jest znajomość głównych składników aktywnych w naparach herbacianych (Sembratowicz i Rusinek-Prystupa, 2014).

Herbaty dostępne na rynku różnią się nie tylko smakiem, aromatem, rodzajem dodatków, barwą czy krajem pochodzenia, lecz przede wszystkim składem oraz ilością składników biologicznie aktywnych. Na wartość odżywczą oraz stężenie składników bioaktywnych w naparach ma wpływ rodzaj herbaty, stopień rozdrobnienia liści, czas i sposób parzenia oraz warunki klimatyczne (Stańczyk i in., 2008; Rusinek-Prystupa, 2008). Składnikami czynnymi wstępującymi w herbacie są związki garbnikowe takie jak: kwercetyna, tanina, katechina, saponiny oraz flawonoidy. Garbniki wykazują zdolność do tworzenia nierozpuszczalnych połączeń z białkami, dzięki czemu wpływają ściągająco na błonę śluzową oraz skórę. Wiążą także kofeinę, przez co herbata parzona dłużej cechuje się większą zawartością związków garbnikowych, a mniejszą ilością kofeiny. Napar taki wykazuje działanie kojące, uspokajające, jednak wpływa to na pogorszenie smaku poprzez zwiększenie cierpkości i goryczy. Dzięki obecności garbników herbata wykazuje działanie przeciwbiegunkowe, przeciwbakteryjne i przeciwzapalne oraz działa na błonę śluzową żołądka i jelit (Cichoń i Miśniakiewicz, 2005).

Kolejnymi istotnymi składnikami herbaty są alkaloidy purynowe, do których należy kofeina, teofilina, teobromina oraz zasady purynowe występujące w mniejszych ilościach tj. adenina, guanina, ksantina czy hipoksantina. Dzięki zawartości kofeiny, która w przypadku herbaty zwana jest teiną, napar herbaciany wykazuje właściwości pobudzające. Ponadto, teina działa rozszerzająco na naczynia krwionośne i oskrzela, usprawnia pracę mięśnia sercowego i mózgu oraz przyspiesza metabolizm. Natomiast teofilina i teobromina działają moczopędnie i wraz z teiną pobudzają układ ner-

wowy. Zawartość teiny jest zdecydowanie wyższa w herbacie czarnej niż w zielonej (Stańczyk i in., 2010).

W skład herbaty wchodzi także związki białkowe włącznie z wolnymi aminokwasami stanowiąc ok. 16-25% suchych liści. Herbaty zielone są bogatsze w białka niż herbaty czarne. Zawartość białka nie ma wpływu na jakość herbaty pod warunkiem, że występuje odpowiednia ilość taniny. Czarna herbata zawiera głównie białka rozpuszczalne w alkaliach - gluteliny, zaś zielona rozpuszczalne w wodzie - albuminy (Slimestad i Solheim, 2002). W procesie obróbki herbaty, podczas której temperatura jest podwyższona, aminokwasy wchodzi w reakcje z cukrami, katechinami i taniną tworząc aldehydy, co wpływa na powstawanie typowego aromatu herbaty (Baraniak i Kania, 2012). Spośród 17 aminokwasów wykrytych w herbacie znajduje się kwas glutaminowy, który pomaga w odnawianiu systemu nerwowego (Cichoń i Miśniakiewicz, 2005; Kazimierzak i in., 2011).

Herbata czarna zawiera także pigmenty, karoteny i ksantofile, dodatkowo w herbacie zielonej obecne są chlorofile. Jednak za barwę naparu odpowiadają głównie tearubiginy, nadające odcień czerwono-brunatny oraz teaflawiny, nadające barwę żółtą (Matsuo i in., 2017). W herbacie obecne są także związki mineralne, w tym związki wapnia, magnezu, fluoru, krzemu, manganu, sodu, fosforu, oraz miedzi. Zawarte są również kwasy organiczne, tj. szczawiowy, jabłkowy, bursztynowy, cytrynowy, pirogronowy i fumarowy, a także cukry, tj. glukoza, maltoza, fruktoza i skrobia oraz substancje lotne (linalol, geraniol) i saponiny (Stańczyk i in., 2008).

Cel badań

Celem pracy było porównanie zawartości związków biologicznie aktywnych obecnych w dwóch różnych naparach herbacianych (czarnej i zielonej) poprzez wyznaczenie ogólnej zawartości polifenoli, w tym także flawonoidów. Wykonano pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej metodą redukcji rodnika DPPH oraz ilościową i jakościową analizę olejków eterycznych, uzyskanych z materiału wyjściowego.

Materiał i metoda

Materiał do badań stanowiły dwa rodzaje herbat liściastych- czarna (Golden Assam) i zielona (Big-Active), zakupione na rynku lubelskim. Badania wykonano na naparach wykonanych klasyczną ekstrakcją, odpowiadającą procesowi przygotowania naparów herbacianych zgodnie z normą PN-ISO 3103. W tym celu do zlewki odważano 2 g surowca, następnie zalewano 100 ml wrzącej wody destylowanej i przykrywano szalką Petriego na czas 10 minut w celu przeprowadzenia ekstrakcji.

Oznaczanie polifenoli

Zawartość polifenoli ogółem oznaczano wg procedury Singleton i Rossi (1965), przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu, rozcieńczonego w stosunku 1:5. Wyniki podano w mg/100 ml naparu w przeliczeniu na kwas galusowy. Pomiary wykonano w trzech powtórzeniach. Do kolby miarowej o pojemności 25 ml pobierano 0,05 ml naparów, dodawano kolejno 2 ml metanolu (cz.d.a., 99,8%), 10 ml wody destylowanej oraz 2 ml odczynnika Folina - Ciocal-

teu'a. Mieszaninę odstawiono na 3 min. Po tym czasie dodawano 1 ml 10% roztworu węglanu sodu Na_2CO_3 , dokładnie mieszano roztwór i pozostawiano na 30 minut. Po upływie tego czasu kolby z próbkami uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali $\lambda=750$ nm wobec próby zerowej, nie zawierającej dodatku naparu herbaty.

Oznaczanie flawonoidów

Zawartość flawonoidów (w przeliczeniu na epikatechinę) oznaczano spektrofotometrycznie według procedury opisanej przez Karadeniza i in. (2005). W tym celu do probówek pobierano po 0,5 ml naparów, dodawano 2,5 ml wody destylowanej oraz 0,15 ml 5% (w/w) wodnego roztworu azotanu (III) sodu NaNO_2 i mieszano. Po upływie 5 minut dodawano 0,3 ml 10% (w/w) wodnego roztworu sześciowodnego chloru glinu $\text{AlCl}_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6$, po raz kolejny mieszano i pozostawiano na 5 minut. Następnie dodawano 2 ml 1 M wodnego roztworu wodorotlenku sodu NaOH i 0,55 ml wody destylowanej. Pomiar absorbancji wykonano przy długości fali $\lambda=510$ nm. Pomiar wykonano w 3 powtórzeniach.

Oznaczanie DPPH

Aktywność antyoksydacyjną oznaczano według zmodyfikowanej metody Branda-Wiliamsa i in. (1995) (Zych i Krzepińko, 2010) z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl, Sigma Aldrich). Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali $\lambda=517$ nm. 0,5 mM alkoholowy roztwór DPPH przygotowano, rozpuszczając 19,71 mg DPPH ($M = 394,32$ g/mol) w 100 ml metanolu (cz.d.a., 99,8%). Otrzymany roztwór rozcieńczano tak, aby jego absorbancja przy długości fali $\lambda=517$ nm wynosiła ok. 0,9. Roztwór przechowywano w ciemności. Pomiar wykonano po 30 minutach od dodania roztworu rodnika, każde w 3 powtórzeniach. W pierwszym etapie doświadczenia mierzono absorbancję roztworu rodnika DPPH (A_0), a następnie zdolność badanego antyoksydantu do przeciwdziałania reakcji utleniania obliczano ze wzoru (1):

$$\% \text{inhibicji} = 100 \cdot \frac{A_0 - A_s}{A_0} \quad (1)$$

Oznaczanie olejków eterycznych

Olejki eteryczne pozyskane z pierwotnego materiału roślinnego (oznaczenie zawartości olejku eterycznego w ekstraktach zielonych wykonano metodą pośrednią poprzez przeprowadzenie procesu destylacji z parą wodną, na podstawie różnicy w zawartości składników lotnych w pierwotnym materiale roślinnym i poekstrakcyjnym) poddawano chromatograficznej analizie jakościowej i ilościowej (GC-FID, GC-MS). Skład jakościowy i ilościowy olejku eterycznego wyznaczano metodą GC/MS przy użyciu aparatu firmy Agilent model 6890 z kolumną chromatograficzną HP-5MS o długości 30 m, średnicy 0,25 mm. Grubość filmu fazy stacjonarnej wynosiła 0,25 μm , a stosowanym gazem nośnym był hel. Temperatura dozwolnika wynosiła 250°C. Stosowano gradient temperatury (60°C przez 3 minuty, następnie przyrost o 10°C/min do 300°C). Analizę MS prowadzono z zastosowaniem jonizacji elektronowej (70 V) w zakresie mas 35 - 400 jma.

Analizę jakościową przeprowadzono na podstawie porównania indeksów retencji i otrzymanych widm MS dla rozdzielonych składników lotnych z danymi uzyskanymi dla substancji wzorcowych oraz danymi literaturowymi (Adams, 2001; biblioteka widm MS NIST, 2005).

Analizę ilościową przeprowadzono metodą normalizacji wewnętrznej określając udział poszczególnych składników olejków eterycznych w sumie wszystkich zidentyfikowanych związków lotnych. Skład ilościowy olejku eterycznego oraz ekstraktu określano przyjmując, że suma poszczególnych związków wynosi 100%.

Procentową zawartość olejku eterycznego oznaczano metodą destylacji z parą wodną w aparacie Derynga, zgodnie z Farmakopeą Europejską.

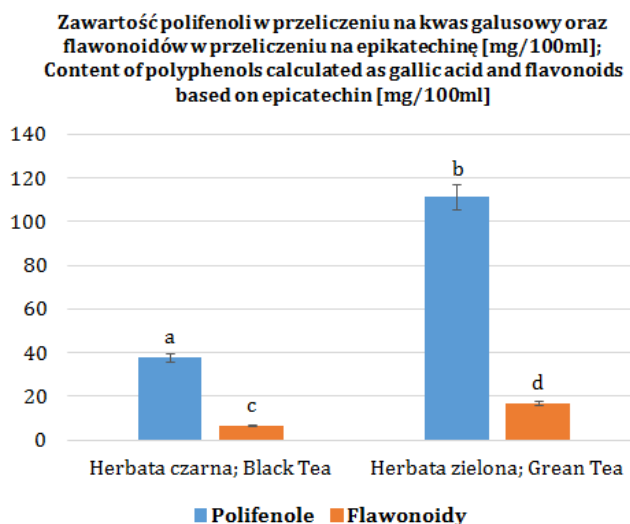
Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej w programie Statistica 6.0 PL. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Wartości oznaczone na wykresach tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$). Pomiar wykonano w 3 powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Na wykresie 1 przedstawiono zawartość polifenoli, w przeliczeniu na kwas galusowy oraz flawonoidów w przeliczeniu na epikatechinę [mg/100ml naparu]. Jak wykazały badania, dużo wyższą zawartością tych związków charakteryzował się napar z herbaty zielonej, odpowiednio 111,6 mg GAE/100ml polifenoli, w tym 17 mg/100ml flawonoidów. Z kolei w naparze z herbaty czarnej wykazano znacznie niższe wartości 38 mg GAE/100ml polifenoli, w tym 6,6 mg/100ml flawonoidów. W badaniach przeprowadzonych przez Samman i in. (2001) wykazano, że zawartość polifenoli w herbacie zielonej wynosi 117,3 mg/g s.m., co w przeliczeniu na warunki stosowane w pracy odpowiada 23,5 mg/100ml. Natomiast w innym badaniu dla herbaty czarnej stwierdzono, że stężenie związków polifenolowych waha się w przedziale 62-107 mg/g s.m., co odpowiada zakresowi 12,4-21,4 mg/100ml (Luximon-Ramma i in., 2005). Ponadto, Khokhar i Magnusdottir (2002) w swoim doświadczeniu wykazali, że stężenie polifenoli dla herbaty czarnej szacuje się w przedziale 80,5-134,9 mg/g s.m., zaś w herbacie zielonej 87,2-106,2 mg/g s.m., co w przeliczeniu odpowiada kolejno 16,1-27 mg/100ml oraz 17,4-21,3 mg/100ml. Z kolei Dmowski i Kosiorek (2017) wykazali bardzo wysokie zawartości polifenoli w herbacie czarnej, mieszczące się w zakresie od 335,32 do 534,57 mg GAE/100 ml naparu. Takie rozbieżności mogą wynikać z cech odmianowych analizowanego surowca oraz rodzaju wody użytej do przygotowania naparów. W cytowanej pracy autorzy badali wysoko gatunkowe herbaty czarne, co jest potwierdzeniem zależności zawartości związków biologicznie czynnych od użytego surowca.

W przypadku zawartości flawonoidów wykazano, że herbata zielona odznaczała się wyższą ich zawartością (17 mg/100ml) w stosunku do czarnej (6,6 mg/100ml). W pracy Wang i Helliwell (2001) wykazano, że zawartość flawonoli w suchej masie w liściach zielonej herbaty wahała się od 0,83-9,59, 1,79-

4,05 i 1,56-3,31 g/kg, a w liściach czarnej herbaty od 0,24-0,52, 1,04-3,03 i 1,72-2,31 g/kg odpowiednio dla myricetyny, kwercetyny i kemferolu. Zaobserwowano, że wielkość cząstek zmielonych herbacianych liści znacząco wpłynęła na wydajność flawonoli. W badaniach przeprowadzonych przez Chłopicką i in. (2015) wykazano, że woda bogata w składniki mineralne tj. magnez i wapń, może wpływać na obniżenie zawartości polifenoli i flawonoidów w naparach. Dane literaturowe dotyczące zawartości związków fenolowych w herbatach są rozbieżne i trudne do porównania.



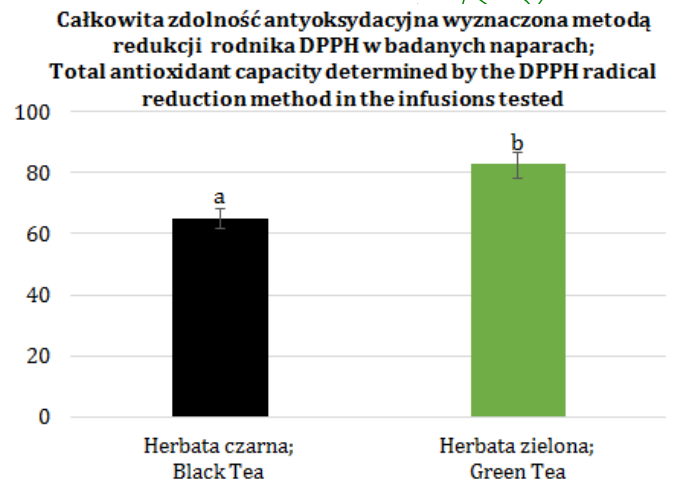
Rys. 1. Zawartość polifenoli w przeliczeniu na kwas galusowy oraz flawonoidów w przeliczeniu na epikatechinę [mg/100ml]

Fig. 1. Content of polyphenols calculated as gallic acid and flavonoids based on epicatechin [mg/100ml]

Na rysunku 2 przedstawiono aktywność przeciwutleniającą wyrażoną, jako % inhibicji badanych herbat. Właściwości przeciwutleniające herbaty czarnej determinowane są przez zawartość teaflawiny i tearubigny, natomiast dla herbaty zielonej katechiny odpowiadają za ok. 90% ogólnej pojemności przeciwutleniającej (Szajdek i Borowska, 2004). Prezentowane badania wykazały, że aktywność przeciwutleniająca herbaty czarnej wynosi 65,1%, a herbaty zielonej jest wyższa i wynosi 82,7%. Wyniki te wiążą się z zawartością związków polifenolowych, w tym flawonoidów i wskazują, że im wyższa jest ich zawartość tym wyższa zdolność wygaszania rodnika DPPH.

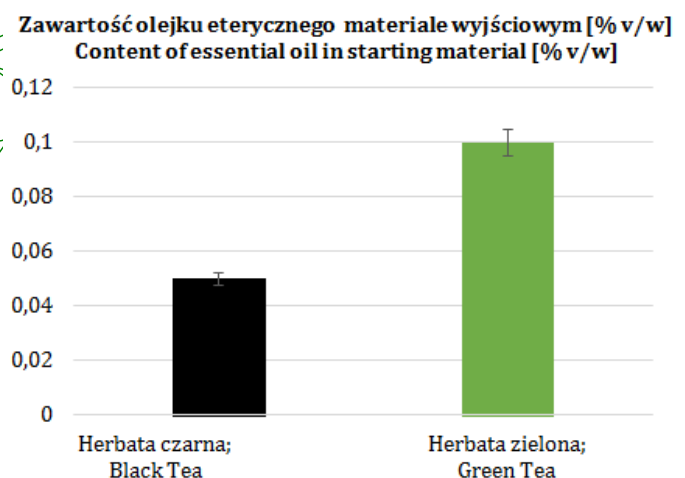
Dmowski i Kosiorek (2017) wykazali dużo wyższą aktywność przeciwutleniającą wysokogatunkowych herbat czarnych, mieszczącą się w zakresie 91,7-94,7%, co miało związek z wyższą zawartością w nich związków polifenolowych. Z kolei Fik i Zawiaślak (2004) wykazali, że w przypadku badanych 8 herbat zielonych ich aktywności przeciwutleniające zawierały się w przedziale 53,7-61%. W pracy tej również zaobserwowano, że niższą aktywnością charakteryzowały się herbaty czarne (50,5-39,6%), chociaż dwie z analizowanych próbek miały aktywność zbliżoną do aktywności herbat zielonych i czerwonych (odpowiednio 68% i 60,4%). Według Yen i Chen (1995) aktywność wiązania rodników DPPH dla herbaty czarnej i zielonej wyraża się odpowiednio na poziomie 49% i 59,4%. Zawartość teaflawin determinuje właściwości przeciwutleniające naparów herbacianych. W przypadku herbat

czarnych jest ona znacznie niższa niż dla herbat zielonych. Zawartość teaflawin jest zróżnicowana i zależy od wielu czynników, m.in. pochodzenia oraz warunków stosowanych w procesie technologicznym (Zujko i in., 2005). Dla przykładu w pracy Toyama i in. (2002) stwierdzono słabszą zdolność do wiązania rodnika DPPH przez ekstrakt z czarnej herbaty w porównaniu do herbaty zielonej.



Rys. 2. Całkowita zdolność antyoksydacyjna wyznaczona metodą redukcji rodnika DPPH w badanych naparach

Fig. 2. Total antioxidant capacity determined by the DPPH radical reduction method in the infusions tested



Rys. 3. Zawartość olejku eterycznego w materiale wyjściowym [% v/w]

Fig. 3. Content of essential oil in starting material [% v/w]

Rysunek 3 przedstawia zawartość olejku eterycznego uzyskanego z materiału wyjściowego herbaty zielonej i czarnej. Wykazano, że wyższą zawartością olejku eterycznego cechuje się herbata zielona-0,10%, wobec 0,05% dla herbaty czarnej. Rehman i in. (2008) w swoich badaniach wykazali, że zawartość procentowa olejku eterycznego w herbacie czarnej waha się w granicach 0,09-0,63%. Rozbieżność ta może być wynikiem różnego gatunku herbat czarnych. W doświadczeniu Pripdeevch i Machan (2011) stwierdzono, że herbata poddana procesowi fermentacji (herbata czarna) charakteryzuje się znacznie niższą zawartością olejku eterycznego w porównaniu do herbaty niefermentowanej (herbata zielona).

Tab. 1 Zawartość procentowa składników olejku eterycznego w herbacie zielonej
 Tab. 1 The content percent of components of the essential oil in green tea

| Herbata zielona; Green tea | | |
|-------------------------------|---|---|
| Lp. | Składnik; Component | Zawartość procentowa; Percentage [%] |
| 1. | Benzaldehyd; Benzaldehyde | 0,53 |
| 2. | 6-metylo-5-hepten-2-on; Hepten-2-one-6-methyl-5 | 0,09 |
| 3. | Limonen; Limonene | 0,25 |
| 4. | 1,8-cyneol; Cineole 1,8- | 0,45 |
| 5. | Linalol; Linalool | 1,72 |
| 6. | Cytronelal; Citronellal | 1,76 |
| 7. | Menton; Menthone | 29,42 |
| 8. | Izomenton; Menthol-iso | 7,21 |
| 9. | Neomentol; Menthol-neo | 1,83 |
| 10. | Izomentol; Menthol-iso | 22,11 |
| 11. | Neozomentol; Menthol-neo-iso | 0,22 |
| 12. | Pulegon; Pulegone | 2,98 |
| 13. | Piperiton; Piperitone | 3,37 |
| 14. | Geranial; Geranial | 1,26 |
| 15. | Tymol; Thymol | 2,14 |
| 16. | Izoleden; Isoledene | 0,26 |
| 17. | E-beta-damascenon; Damascenone-E-beta | 0,20 |
| 18. | Beta-burbonen; Bourbonene-beta | 1,21 |
| 19. | Beta-elemen; Elemene-beta | 2,10 |
| 20. | E-kariofilen; Caryophyllene-E | 8,91 |
| 21. | Beta-kopaen; Copaene-beta | 0,35 |
| 22. | E-beta-farnezen; Farnesene-E-beta | 0,14 |
| 23. | Alfa-humulen; Humulene-alpha | 0,48 |
| 24. | Cis-muuroła-4,(14),5-die; Muuroła-4,(14),5-diene-cis | 0,38 |
| 25. | Gamma-muurolen; Muurolene gamma | 0,22 |
| 26. | Germakren D; Germacrene D | 5,28 |
| 27. | Alfa-selinen; Selinene alpha | 0,30 |
| 28. | Bicyklogermakren; Bicyclogermacrene | 0,66 |
| 29. | Germakren A; Germacrene A | 0,42 |
| 30. | Gamma-kadinen; Cadinene gamma | 0,23 |
| 31. | Delta kadinen; Cadinene delta | 0,64 |
| 32. | Cis-kalamen; Calamene-cis | 0,30 |
| 33. | Alfa-kadinen; Cadinene alpha | 0,13 |

Tab. 2 Zawartość procentowa składników olejku eterycznego w herbacie czarnej
 Tab. 2 The content percent of components of the essential oil in black tea

| Herbata czarna; Black tea | | |
|------------------------------|---|---|
| Lp. | Składnik; Component | Zawartość procentowa; Percentage [%] |
| 1. | Benzaldehyd; Benzaldehyde | 0,98 |
| 2. | 6-metylo-5-hepten-2-on; Hepten-2-one-6-methyl-5 | 1,41 |
| 3. | p-cymen; cymene-p | 1,42 |
| 4. | Linalol; Linalool | 4,95 |
| 5. | Neomentol; Menthol-neo | 19,73 |
| 6. | Neozomentol; Menthol-neo-iso | 1,24 |
| 7. | Tymol; Thymol | 10,27 |
| 8. | Z-beta-damascenon; Damascenone-Z-beta | 0,54 |
| 9. | Beta-burbonen; Bourbonene-beta | 1,04 |
| 10. | Beta-elemen; Elemene-beta | 3,81 |
| 11. | E-kariofilen; Caryophyllene-E | 10,54 |
| 12. | E-alfa-jonon; Ionone E alpha | 3,16 |
| 13. | Acetonian geranylu; Geranyl acetone | 1,76 |
| 14. | Alfa-humulen; Humulene-alpha | 1,03 |
| 15. | Cis-muuroła-4,(14),5-die; Muuroła-4,(14),5-diene-cis | 1,11 |
| 16. | Gamma-muurolen; Muurolene gamma | 0,74 |
| 17. | Germakren D; Germacrene D | 21,29 |
| 18. | Bicyklogermakren; Bicyclogermacrene | 1,15 |
| 19. | Alfa-muurolen; Muurolene-alpha | 0,66 |
| 20. | Gamma-kadinen; Cadinene gamma | 0,87 |
| 21. | Tlenek kariofilenu; Caryophyllene oxide | 5,03 |
| 22. | Wiridiflorol; Viridiflorol | 3,30 |
| 23. | Alfa-kadinal; Cadinol alpha | 1,91 |

W tabeli 1 i 2 przedstawiono skład olejków eterycznych uzyskanych z liści herbaty czarnej i zielonej. Analiza jakościowa olejków pozwoliła zidentyfikować w herbacie zielonej 33 związki, podczas gdy w herbacie czarnej 23 związki. Większość zidentyfikowanych związków należy do grupy monoterpenoidów oraz ich estrów. Na podstawie analizy składu olejku z liści herbaty zielonej wykazano, że do głównych składników należy menton (29,42%). Nieco niższy udział uzyskał izomentol (22,11%). Najniższym udziałem charakteryzuje się 6-metylo-5-hepten-2-on (0,09%) oraz alfa-kadinen (0,13%). Wyniki te nieco różnią się od danych przedstawionych w pracy Pripdeevch i Machan (2011), gdzie głównym składnikiem dominującym olejku eterycznego pozyskanego z liści herbaty zielonej był hetrienol-21,57%. Najniższym udziałem procentowym (ok. 0,15%) charakteryzuje się benzaldehyd, . Uzyskane różne wartości

procentowego udziału poszczególnych związków mogą być spowodowane odmiennymi cechami surowca wynikającymi m.in. z kraju pochodzenia oraz warunków upraw.

Analizując skład olejku eterycznego pozyskanego z liści herbaty czarnej zauważono, że do głównych składników należy germakren D, którego udział procentowy wynosi 21,29% oraz neomentol z udziałem 19,73%. Germakreny są to lotne pochodne węglowodorów organicznych. Związki te są wytwarzane przez wiele roślin i wykazują właściwości bakteriobójcze i owadobójcze. W badaniach przeprowadzonych przez Rehman i in. (2008) dotyczących składu olejków eterycznych w różnych rodzajach herbat czarnych wykazano, że głównym składnikiem jest beta-pinen (29,7%). Spośród wszystkich związków wyznaczonych w badanym oleju najniższą wartość odnotowano dla Z-beta-damaskenu (0,54%). Podobnie jak w przypadku herbaty czarnej różnice w uzyskanych wynikach mogą być spowodowane tymi samymi czynnikami, tj. warunki uprawy, sposób zbioru i pochodzenie surowca.

Wnioski

Wykazano, że wyższą zawartością związków polifenolowych (w tym flawonoidów), najsilniejszymi właściwościami przeciwnadkwasotworczymi wobec DPPH oraz wyższą zawartością olejków eterycznych charakteryzował się napar z herbaty zielonej, wobec herbaty czarnej.

Analiza jakościowa olejków pozwoliła zidentyfikować w herbacie czarnej 23 związki wchodzące w skład olejku eterycznego, podczas gdy w oleju uzyskanym z herbaty zielonej zidentyfikowano 33 związki.

W składzie olejku eterycznego, wyizolowanego z herbaty czarnej największy udział wykazano dla germakrenu D oraz neomentolu, zaś dla herbaty zielonej mentonu i izomentolu.

Bibliografia

- Adams, R.P. (2001). *Identification of Essential Oil Compounds by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. Allured: Carol Stream, IL, USA.
- Baraniak, J., Kania, M. (2015). Borówka, winorośl i granatowiec – znane rośliny o aktywności przeciwutleniającej. *Postępy Fitoterapii*, 1, 50-55.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie, *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Cabrera, C., Artacho, R., Gimenez, R. (2006). Beneficial Effects of Green Tea—A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
- Chłopicka, J., Niedziela, A., Bartoń, H. (2015). Aktywności antyoksydacyjna i całkowita zawartości polifenoli w naparach kawy w zależności od rodzaju kawy i sposobu jej przygotowania. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLVII, 1, 5-11.
- Cichoń, Z., Miśniakiewicz, M. (2005). Analiza jakości czarnych herbat liściastych. *Zeszyty Naukowe / Akademia Ekonomiczna w Krakowie*, 678, 103-127.
- Dmowski, P., Kisior, A. (2017). Właściwości przeciwutleniające czarnych herbat wysokogatunkowych dostępnych na rynku e-commerce. *Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni*, 99, 9-17.
- Fik, M., Zawiślak, A. (2004). Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 3 (40), 98 – 105.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H., S., Koca, N., Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4), 297-303.
- Kazimierczak, R., Hallmann, E., Sokołowska, O., Rembiałkowska, E. (2011). Zawartość związków bioaktywnych w roślinach zielarskich z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 56(3), 200-205.
- Khokhar, S., Magnusdottir, S.G.M. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (3), 565–570. doi:10.1021/jf010153l
- Luximon-Ramma, A., Baharun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, D., Okezie, D. (2005). Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*, 38(4), 357-367. doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.005.
- Mały Rocznik Statystyczny Polski (2017). GUS. Warszawa.
- Mass Spectral Library (2005). NIST/EPA/NIH, USA.
- Matsuo, Y., Ryosuke, O., Oowatashi, R., Saito, Y., Tanaka, T. (2017). Nonenzymatic Biomimetic Synthesis of Black Tea Pigment Theaflavins. *Synlett*, 28(18), 2505-2508. doi:10.1055/s-0036-1588529.
- Matysek-Nawrocka, M., Cyrankiewicz, P. (2016). Substancje biologicznie aktywne pozyskiwane z herbaty, kawy i kakao oraz ich zastosowanie w kosmetykach. *Postępy Fito-terapii*, 17(2), 139-144.
- Ostrowska, J. (2008). Herbaty – naturalne źródło antyoksydantów. *Gazeta Farmaceutyczna*, 1, 46-50.
- PN-ISO 3103:1996 - wersja polska, Herbata --Przygotowanie naparu do badań sensorycznych.
- Pripdeevech, P., Machan, T. (2011). Fingerprint of volatile flavour constituents and antioxidant activities of teas from Thailand. *Food Chemistry*, 125(2), 797-802. doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.074.
- Rehman, S., Bhatti, H.N., Iqbal, Z., Rashid, U. (2008). Essential oil composition of commercial black tea (*Camellia sinensis*). *Food Science Technology*, 43(2), 246-350. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01458.x.
- Rusinek-Prystupa, E. (2008). Zawartość związków biologicznie czynnych w naparach różnych gatunków herbat w zależności od czasu parzenia. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 46(1), 48-52.
- Samman, S., Sandström, B., Bjorndal, M., Klaus, T., Bukhave, M., Sorensen, M. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 3(1), 607-612. doi.org/10.1093/ajcn/73.3.607.
- Sembratowicz, I., Rusinek-Prystupa, E. (2014). Effects of Brewing Time on the Content of Minerals in Infusions of Medicinal Herbs. *Polish Journal of Environmental Studies*, 23(1), 177-186.
- Singleton, V.L., Rosi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic re-

- gents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Slimestad, R., Solheim, H. (2002). Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L.). *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50, 3228-3231.
- Stańczyk A., Rogala E., Wędzisz A. (2010). Oznaczenie zawartości garbników oraz wybranych składników mineralnych w zielonych herbatach. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 43, 505-508.
- Stańczyk, A., Skolimowska, U., Wędzisz, A. (2008). Zawartość garbników w zielonych i czarnych herbatach oraz właściwości antybakteryjne metanolowych wyciągów. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 41(4), 976-80.
- Szajdek, A., Borowska, J. (2004). Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(41), 5 – 28.
- Toyama, K., Terasawa, N., Yamazaki, N. (2002). Radical scavenging activity of Japanese black tea. *Food Science and Technology Research*, 8(3), 218-220.
- Wang, H., Helliwell, K. (2001). Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Food Research International*, 34(2-3), 223-227. [doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00156-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00156-3)
- Yen, G.Ch., Chen, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27-32.
- Zujko, M., Witkowska, A., Kiernożek, B. (2005). Antioxidant activities of herbal infusions. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 37, 189-190.
- Zych, I., Krzepiło, A. (2010). Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej wybranych antyoksydantów i naparów metodą redukcji rodnika DPPH. *Chemia Dydaktyka Ekologia Metrologia*, 15(1), 51-54.

Klaudia Kałwa

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności

ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

e-mail: klaudia.kalwa91@gmail.com