

*Joanna Cieślewicz, Agnieszka Grzelakowska*

## ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W WYBRANYCH GATUNKACH HERBAT ZIELONYCH

Katedra Chemii Środowiska  
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy  
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Hermann*

*Celem badań było określenie zawartości związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych oraz ich zawartości w naparach w zależności od czasu i temperatury parzenia. Stwierdzono, że niezależnie od temperatury i długości parzenia napary otrzymane podczas drugiego parzenia odznaczają się niższą zawartością związków polifenolowych oraz mniejszą atrakcyjnością dla konsumenta.*

Słowa kluczowe: herbata zielona, polifenole, temperatura parzenia.

Key words: green tea, polyphenols, temperature of brewing.

Eating five servings of fruits and vegetables per day! Drinking green tea on a regular basis, eating chocolate from time to time, as well as savoring a couple of glasses of red wine per day have been claimed to increase life expectancy even further! (1). Zastosowanie tych wskazań w praktyce nie jest ani trudne ani czasochłonne, a polifenole zawarte w składnikach takiej diety budzą coraz większe zainteresowanie. Z roku na rok zwiększa się też liczba publikacji traktujących o właściwościach tych związków.

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi dla człowieka bogate źródło związków o właściwościach przeciwutleniających. Wśród grupy przeciwutleniaczy największe znaczenie mają: polifenole (kwasy fenolowe, flawonoidy i antocyjany), witaminy – A, C i tokoferole, karotenoidy. Podstawową cechą antyoksydantów jest ich zdolność do wymiatania reaktywnych form tlenu, które jako produkty metabolizmu stale obecne są w organizmie człowieka. Do najważniejszych skutków stresu oksydacyjnego zaliczyć można zmiany stabilności i przepuszczalności błon komórkowych, przyspieszenie starzenia się tkanek, inicjowanie i przyspieszanie procesów nowotworowych oraz degradację witamin A, C i E. Spożywanie flawonoidów może obniżać śmiertelność z powodu chorób sercowo-naczyniowych, znajdują one także zastosowanie w leczeniu chorób naczyń o charakterze zakrzepowo-zatorowym. Uważa się także, że polifenole roślinne przeciwdziałają powstawaniu wrzodów żołądka i dwunastnicy wywołanych stresem, lekami i alkoholem (2, 3). Przeprowadzone badania udowodniły również przeciwrakowe właściwości polifenolowych antyoksydantów obecnych przede wszystkim w herbatach zielonych. Zawartość związków fenolowych, może sięgać nawet 35% suchej masy liści. Przeprowadzone badania wśród mieszkańców Shizuoka (Japonia), gdzie produkuje się herbatę wykazały, niższą śmiertelność po-

wodowaną rakiem płuc, żołądka i wątroby w porównaniu z populacjami z obszarów gdzie nie spożywa się zielonej herbaty (4, 5). Spożywanie zielonej herbaty może także zmniejszać ryzyko występowania wysokiego stężenia cholesterolu we krwi i wysokiego ciśnienia, obniża także ryzyko osteoporozy. Inne badania wskazują, że spożywanie herbaty może chronić przed zakażeniami bakteryjnymi i infekcjami wirusowymi. Bogata w antyoksydanty herbata zielona powstaje przez działanie pary na zebrane liście przez 1 min, dzięki czemu dezaktywacji ulega oksydaza polifenolowa, następnie liście są suszone. Oprócz gatunku, czynnikiem decydującym o jakości naparów zielonej herbaty jest temperatura wody, użycie zbyt gorącej powoduje, że herbata jest gorzka i traci delikatny aromat. Jeżeli woda jest zbyt zimna substancje odpowiedzialne za smak zawarty w liściach nie są ekstrahowane. Za smak i aromat zielonej herbaty odpowiadają liczne substancje, smak i słodycz determinowana jest obecnością aminokwasów i naturalnych cukrów, a gorycz i cierpkość powodowane są przez polifenole (taniny). Aminokwasy rozpuszczają się w temp. 60°C podczas gdy taniny rozpuszczają się w temp. 80°C, z tego powodu parzenie herbaty w niższych temperaturach gwarantuje zachowanie jej naturalnej słodyczy. Czas parzenia oraz temperatura wody determinowana jest gatunkiem herbaty, przy czym im szlachetniejszy gatunek herbaty tym temperatura wody powinna być niższa a czas parzenia krótszy. Najlepsze gatunki wymagają jedynie 30 s i mogą być parzone kilka razy, przy czym koneserzy uważają napar z drugiego parzenia za smaczniejszy (6, 7).

Celem badań było określenie zawartości związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych oraz ich zawartości w naparach w zależności od czasu trwania i temperatury parzenia.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiły różne gatunki zielonych herbat zakupionych w sieci sklepów „Czas na herbatę”. Do badań użyto 5 gatunków herbat liściastych – Darjeeling green, Sencha Makato, Japońska Sencha, China Green Yunan, China Chun Mee, a także 2 gatunki o liściach mniej zwiniętych herbaty Yun Ming zielony lub bardziej zwiniętych herbaty China Gunpowder Super. Została także wykorzystana herbata ekspresowa – organic japan classic (Ronnefeldt). W tab. I przedstawiono zalecane parametry parzenia herbat (8).

Odważoną próbkę liści herbacianych zalewano wodą dejonizowaną podgrzaną do temp. 70 bądź 100°C i parzono przez okres 3 lub 6 min (I parzenie), następnie próbkę filtrowano, a wilgotne liście po raz kolejny zalewano wodą o określonej temperaturze (II parzenie). Całkowita zawartość związków polifenolowych została oznaczona metodą kolorymetryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (9). Podstawą oznaczania jest odwracalna reakcja redukcji przez fenole w środowisku alkalicznym molibdenu(VI) do molibdenu(V) zawartego w odczynniku Folina-Ciocalteu. Po 30 min inkubacji roztworu w ciemności mierzono absorbancję przy dł. fali 760 nm za pomocą spektrofometru UV/VIS Lambda 20 firmy Perkin-Elmer. Całkowitą zawartość polifenoli przedstawiono w ekwiwalentach kwasu galusowego w przeliczeniu na 1 g suchej masy herbaty (mgGAE/g<sub>sm</sub>). Na podstawie otrzymanych zawartości związków polifenolowych obliczono wartości stosunków zawartości

polifenoli w naparach pochodzących z I i II parzenia. Istotność różnic zweryfikowano metodą analizy wariancji. Dla otrzymanych ekstraktów wodnych związków polifenolowych wykonano również widma w zakresie UV, a przykładowe widma przedstawiono na ryc. 1.

Tabela 1. Gatunki herbat użyte w badaniach (8, \*informacja umieszczona na opakowaniu)

Table 1. Tea brands used in the experiments (8, \*information found on the package)

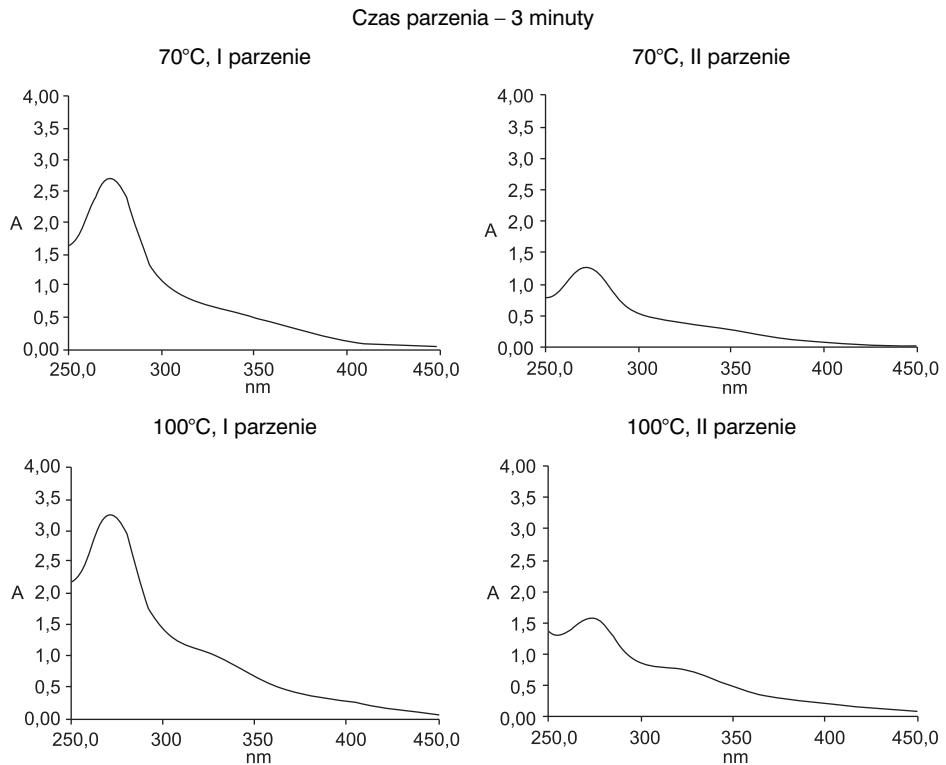
Numer	Gatunek	Temperatura (°C)	Czas parzenia
1	Darjeeling green	ok. 75	nie więcej niż 4 min
2	Yun Ming zielony	ok. 85	3–4
3	Sencha Makato	75 do 80	30 do 60 s do 4 min
4	Japońska Sencha	75 do 80	30 do 60 s do 4 min
5	China Green Yunan	ok. 85	3–4 min
6	China Gunpowder Super	70–80	2–4 min
7	China Chun Mee	ok. 70	3–5 min
8	organic japan classic*	–	2–3 min

Ocenę organoleptyczną otrzymanych naparów herbat dokonał odpowiednio przeszkolony zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Ocenie poddano smak, barwę oraz aromat naparów.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na ryc. 1 przedstawiono przykładowe widma ekstraktów z analizowanych herbat w zakresie 250–450 nm. Widma otrzymane dla próbek ekstrahowanych w temp. 70°C miały generalnie zbliżony przebieg, z maksimum przypadającym przy ok. 275 nm, przy czym widma ekstraktów z drugiej ekstrakcji odznaczały się niższymi wartościami absorbancji. Odmiennie natomiast kształtowały się właściwości spektrometryczne ekstraktów otrzymanych po ekstrakcji w temp. 100°C. W większości przypadków widma te odznaczały się zbliżonym przebiegiem do widm otrzymanych dla roztworów ekstrahowanych w temp. 70°C. Jednak w warunkach przyjętych w doświadczeniu (ekstrakcja: 0,5 g herbaty/250 cm<sup>3</sup> wody) nie udało się uzyskać ani jednego widma o typowym przebiegu w przypadku pierwszej ekstrakcji trwającej 6 min. Zastosowanie temp. 100°C generuje reakcję epimeryzacji, a także utlenianie i degradację katechin (10), co może znacząco wpływać na właściwości spektrometryczne ekstraktów.

Na ryc. 2A i 2B przedstawiono zróżnicowanie zawartości polifenoli w ekstraktach otrzymanych podczas I i II parzenia w temp. 70°C w czasie ekstrakcji trwającej 3 i 6 min. Zawartość polifenoli w różnych herbatach wahała się od 9,5 do 47,3 mgGAE/g<sub>sm</sub> w przypadku I parzenia i od 6,7 do 22,1 mgGAE/g<sub>sm</sub> w przypadku parzenia drugiego. Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej stwierdzono, że istotnie zróżnicowaną zawartością polifenoli odznaczały się ekstrakty z I i II parzenia, natomiast różnice wynikające z gatunku herbaty i czasu trwania ekstrakcji nie były statystycznie istotne (tab. II).



Ryc. 1. Widma absorpcyjne wybranych naparów herbaty Sencha Makato (herbata nr 3).

Fig. 1. Absorption spectra of selected Sencha Makato the infusions (tea no 3).

Tab e l a II. Wyniki 2-czynnikowej analizy wariancji – temp. 70°C

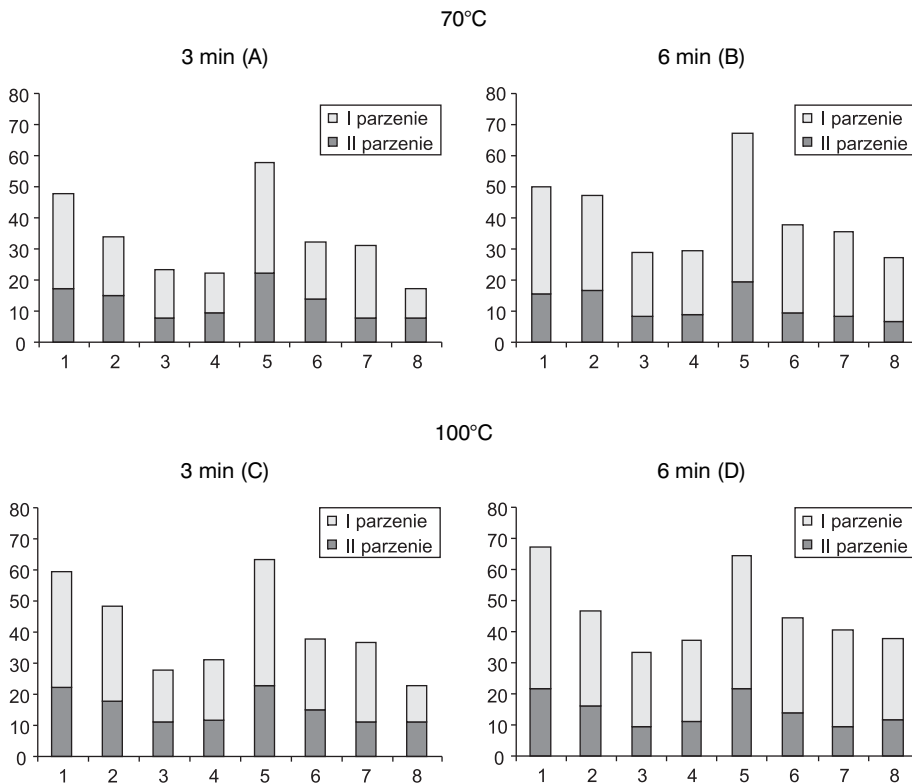
Tab l e II. Results of two-way analysis of variance – temp. 70°C

Czynniki	2	
	1	II
3 min	20,68	12,66
6 min	28,68	11,60
Wartości średnie dla 11 cz. NUR przy p < 0,05	16,67	20,14
	n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy p < 0,05	24,68	12,13
	5,266	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie

Zawartość związków polifenolowych w ekstraktach otrzymanych podczas parzenia liści herbat w temp. 100°C wahała się także w bardzo szerokich granicach (ryc. 2C i 2D). W przypadku I parzenia, zawartość polifenoli wynosiła od 11,9 do 45,6 mgGAE/g<sub>sm</sub>, podczas gdy w ekstraktach z drugiego parzenia zawartość wahała się

w granicach od 9,3 do 22,7 mgGAE/g<sub>sm</sub>. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że istotne statycznie różnice występowały jedynie pomiędzy zawartościami polifenoli w ekstraktach pochodzących z I i II parzenia (tab. III).



Ryc. 2. Zawartość związków polifenolowych w naparach herbat (mgGAE/g<sub>sm</sub>).

Fig. 2. The content of polyphenols in tea infusions (mgGAE/g<sub>dw</sub>).

Tabela III. Wyniki 2-czynnikowej analizy wariancji – temp. 100°C

Table III. Results of two-way analysis of variance – temp. 100°C

Czynniki	2	
	1	II
3 min	25,63	15,30
6 min	32,01	14,33
Wartości średnie dla 1 cz. NUR przy p < 0,05	20,46	23,17
	n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy p < 0,05	28,82	14,81
	5,263	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie

Dodatkowo przeprowadzono 3-czynnikową analizę wariancji uwzględniającą wszystkie analizowane czynniki. Również w tym przypadku statystycznie istotne różnice w zawartości związków polifenolowych stwierdzono wyłącznie dla ekstraktów pochodzących z I bądź II parzenia (tab. IV)

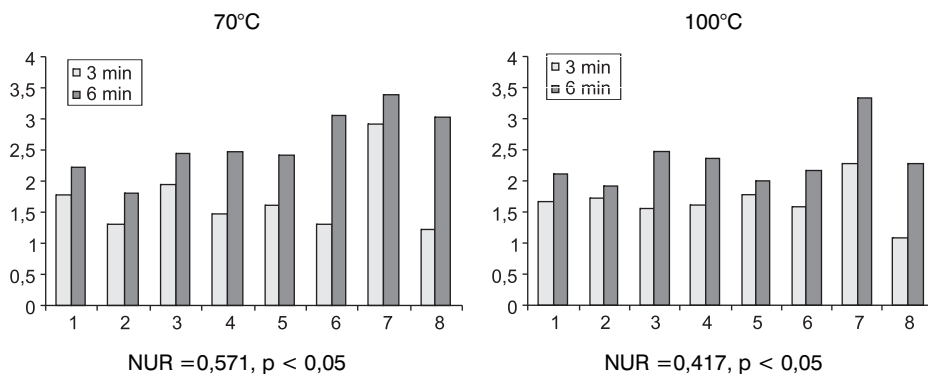
Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wartości stosunków zawartości polifenoli w ekstraktach pochodzących z I i II parzenia. Niezależnie od temperatury istotnie wyższymi wartościami tych stosunków odznaczały się ekstrakty z herbat parzonych w ciągu 6 min (ryc. 3).

Tab e l a IV. Wyniki 3-czynnikowej analizy wariancji

Tab l e IV. Results of three-way analysis of variance

Czynniki		3	
1	2	70	100
3 min	I	20,68	25,63
	II	12,66	15,30
6 min	I	28,68	32,01
	II	11,60	14,33
Wartości średnie dla 1 cz. NUR przy $p < 0,05$		18,57	21,65
		n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy $p < 0,05$		26,75	13,47
		3,645	
Wartości średnie dla 3 cz. NUR przy $p < 0,05$		18,40	21,82
		n.i.	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie; czynnik 3 – temperatura parzenia



Ryc. 3. Wartości stosunków zawartości związków polifenolowych w naparach otrzymanych podczas I i II parzenia.

Fig. 3. Ratios of the polyphenol content in infusions obtained during the Ist and the IIInd brewing.

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 cm<sup>3</sup>. Trzeba mieć także na uwadze zmienność wynikającą z właściwości poszczególnych gatunków herbaty. Zawartości polifenoli uzyskane w przedstawionych badaniach były generalnie niższe w porównaniu z dostępnymi danymi literaturowymi – 76,9–92,1 mgGAE/g<sub>sm</sub> (11; ekstrakcja wodą), 20–160 mg/200 cm<sup>3</sup> (12; ekstrakcja wodą), 140–220 mgGAE/g<sub>sm</sub> (13; ekstrakcja metanolem) oraz od 30 do 196 mgGAE/g<sub>sm</sub> (14; ekstrakcja metanolem), stwierdzano również spadek zawartości związków polifenolowych w poszczególnych naparach przy wielokrotnej ekstrakcji. Pomimo, że temperatura nie okazała się czynnikiem istotnym statystycznie, zróżnicowanie wydajności ekstrakcji otrzymali także *Perva-Uzunalić* i współpr. (10). Wydajność ekstrakcji katechin była wyższa w temp. 80°C w porównaniu z wydajnością otrzymaną w temp. 95°C. Podobne wyniki uzyskali *Labbé* i współpr. (15) przy czym wzrost zawartości katechin przy podwyższaniu temperatury następował do temp. 80°C, natomiast przy stałej temperaturze wydłużenie czasu ekstrakcji powodowało zwiększenie zawartości polifenoli w uzyskanych naparach.

## WNIOSKI

1. Badane herbaty odznaczały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych, przy czym najwyższe stężenia tych związków stwierdzono w naparach z liści herbaty China Green Yunan.
2. Istotnie wyższą zawartością związków polifenolowych odznaczały się napary z pierwszego parzenia w porównaniu z naparami uzyskanymi podczas parzenia drugiego.
3. Czas oraz temperatura parzenia okazały się parametrami nieistotnymi statystycznie.
4. Badanie sensoryczne wskazało na preferowanie przez konsumentów herbat o wyższej zawartości związków polifenolowych w naparze.

J. Cieślęwicz, A. Grzelakowska

### THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN SELECTED BRANDS OF GREEN TEA

#### Summary

The objective of the study was to determine the content of polyphenols in selected brands of green tea, as well their content in infusions depending on the duration and temperature of brewing. Five brands of leaf tea were used in the research – Darjeeling green, Sencha Makato, Japan Sencha, China Green Yunan, China Chun Mee, two brands of tea with rolled leaves – Yun Ming and China Gunpowder Super and tea bags – Organic Japan Classic (Ronnefeldt). Each type of tea was brewed two times with water at a temperature of 70 or 100°C for a period 3 or 6 minutes. The total content of polyphenols was determined by the colorimetric method using the Folin-Ciocalteu reagent and was presented in gallic acid equivalents per 1 gram of dry weight of tea (mgGAE/g<sub>dw</sub>). Based on the obtained content of polyphenols, ratios of

polyphenol content in infusions from the 1st and the 2nd brewing were calculated. The significance of differences was verified by the analysis of variance.

The content of polyphenols in infusions obtained at a temperature of 70°C ranged from 9.5 to 47.3 mgGAE/g<sub>dw</sub> for the first brewing, and from 6.7 to 22.1 mgGAE/g<sub>dw</sub> for the second brewing. Also the content of polyphenols in the extracts obtained during the brewing of tea leaves at a temperature of 100°C varied within very wide ranges. In the case of the first brewing, the content of polyphenols ranged from 11.9 to 45.6 mgGAE/g<sub>dw</sub>, whereas in the extracts from the second brewing – from 9.3 to 22.7 mgGAE/g<sub>dw</sub>. As evidenced by the performed statistical analysis, statistically significant differences occurred only between the content of polyphenols in the extracts from the 1st and the 2nd brewing. Infusions from the first brewing were characterised by a significantly higher content of polyphenols compared to infusions obtained during the second brewing. Time and temperature of brewing have proven to be statistically insignificant parameters.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L.*: Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011; 50: 586-621. – 2. *Barbosa D.S.*: Green tea polyphenolic compounds and human health. *J. Verbr. Lebensm.*, 2007; 2: 407-413. – 3. *Zaveri N.T.*: Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.*, 2006; 78: 2073-2080. – 4. *Oguni I., Chen, S.J., Lin, P.Z., Hara Y.*: Protection against cancer risk by Japanese green tea. *Prev. Med.*, 1992; 21: 332-333. – 5. *Zhong L., Goldberg M. S., Gao Y.-T., Hanley J. A., Parent M.-É., Jin F.*: A populational-based case-control study of lung cancer and green tea consumption among women living in Shanghai. *China Epidemiol.*, 2001; 12: 695-700. – 6. *Wei K., Wang L., Zhou J., He W., Zeng J., Jiang Y., Cheng H.*: Catechin contents in tea *Camellia sinensis* as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. *Food Chem.*, 2011; 125: 44-48. – 7. *Rusinek-Prystupa E.*: Zawartość związków biologicznie czynnych w naparach różnych gatunków herbat w zależności od czasu parzenia. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 47(1): 48-52. – 8. *Int.*: [http://www.krainaherbaty.pl/pol\\_m\\_Herbaty\\_Herbaty-zielone-4118.html](http://www.krainaherbaty.pl/pol_m_Herbaty_Herbaty-zielone-4118.html). – 9. *Farmakopea Polska VI 2005.* – 10. *Perva-Uzunalić A., Škerget M., Knez Ž., Weinreich B., Otto F., Grüner S.*: Extraction of active ingredients from green tea *Camellia sinensis*: extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem.*, 2006; 96: 597-605.

11. *Drużynska B., Stepińska A., Wolosiak R.*: The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2007; 61: 27-36. – 12. *Manach C., Scalbert A., Morand Ch., Rémésy Ch., Jiménez L.*: Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 79: 727-747. – 13. *Anesini C., Ferraro G.E., Filip R.*: Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 56: 9225-9229. – 14. *Hajimahmoodi M., Hanifeh M., Oveisi M.R., Sadeghi N., Jannat B.*: Determination of total antioxidant capacity of green teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 2008; 5(3): 167-172. – 15. *Labbé D., Tremblay A., Bazinet L.*: Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. *Sep. Pur. Tech.*, 2006; 49: 1-9.

Adres: 85-029 Bydgoszcz, ul. Bernardyńska 6