

Dariusz Klódko, Arkadiusz Telesiński, Maciej Bońkowski

OKREŚLENIE ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY ZAWARTOŚCIĄ FLUORU ORAZ WYBRANYCH WITAMIN W NAPARACH RÓŻNYCH RODZAJÓW HERBAT

Katedra Biochemii Akademii Rolniczej w Szczecinie

Kierownik: dr hab. *H. Zakrzewska*

W pracy przedstawiono wyniki przeprowadzonych badań zawartości fluoru i wybranych witamin rozpuszczalnych w wodzie w naparach różnych rodzajów herbat. Podjęto również próbę określenia zależności pomiędzy zawartością w naparach fluoru oraz oznaczanych witamin.

Hasła kluczowe: fluor, witaminy, herbata.

Key words: fluoride, vitamins, tea.

Fluor dla człowieka jest tzw. mikroelementem istotnym, chociaż nie opisano dotąd chorób o etiologii związanej jednocześnie z jego deficytem w organizmie (1). Z pozytywnych działań fluoru należy wymienić jego kariostatyczne działanie na zęby (2). Jednak różnica pomiędzy dawką toksyczną a terapeutyczną fluoru jest minimalna (2, 3). Fluor łatwo penetruje przez błony biologiczne do wszystkich komórek tkanek miękkich i twardych (4). Nadmierna kumulacja fluoru w tkankach ujemnie oddziałuje na przebieg licznych procesów metabolicznych i może powodować fluorozę, blokować czynność wielu enzymów, zwłaszcza metalozależnych, zaburzenia w syntezie białek, w przemianach cukrowców, tłuszczowców i wykorzystywaniu energii oraz prowadzić do niedoborów magnezu (5, 6). Fluor może także wpływać stymulująco na procesy wolnorodnikowe i znacząco zmieniać aktywność enzymów antyoksydacyjnych (1, 7).

Dowodzono, że cennym źródłem fluoru w diecie może być herbata. *Zakrzewska* (4) podaje, że zawartość fluoru w herbacie może osiągnąć nawet $400 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Zawarte w naparze herbaty fluorki są biodostępne, nie tylko w następstwie absorpcji w przewodzie pokarmowym, ale także w pewnej mierze, w wyniku absorpcji w jamie ustnej (8).

Oprócz fluoru, napar herbaciany zawiera wiele innych związków, w tym metyloksantyny, flawonoidy, a także witaminy.

Witamina C i β -karoten są niskocząsteczkowymi substancjami należącymi do związków wykazujących dużą aktywność przeciwutleniającą i przeciwoxidodnorodnikową (9). Ważną właściwością witaminy C, mającą duże znaczenie biologiczne, jest jej aktywność redukująca. Witamina C redukuje jony żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , co z kolei ma istotne znaczenie w pobieraniu żelaza, ponieważ pierwiastek ten jest adsorbowany w dwunastnicy tylko w postaci zredukowanej Fe^{2+} . Zaobserwowano również, że kwas askorbinowy hamuje rakotwórczą aktywność związków nitrozowych takich,

jak *N*-nitrozoaminy (np. dimetylonitrozoamina), co może być następstwem redukcji tych związków do postaci nieaktywnych (9).

Ryboflawina oraz amid kwasu nikotynowego wchodzi w skład wielu koenzymów enzymów oksydoredukcyjnych, mogących chronić przed uszkodzeniami wolnorodnikowymi, m. in. reduktazy glutationowej.

Napar herbaciany zawiera zatem zarówno substancje o właściwościach antyoksydacyjnych, jak i fluorki mogące między innymi oddziaływać prooksydacyjnie. Interesującym wydaje się więc określenie zależności pomiędzy zawartością fluoru i wybranych witamin w naparach herbacianych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na trzech rodzajach herbat ekspresowych: zielonych, czarnych, czerwonych, pochodzących od różnych producentów (tab. I). Herbaty zakupione zostały w różnych punktach sprzedaży na terenie miasta Szczecin w okresie od września do listopada 2005 r.

Tabela I. Herbaty użyte w doświadczeniu

Table I. Teas grades used in the experiment

Herbaty zielone	Herbaty czerwone	Herbaty czarne
Teekanne	Teekanne	Teekanne „Gold”
Vitax	Vitax	Teekanne „Assam”
Bioactive	Bioactive	Bastek „Familtea”
Biofix	Biofluid	Unilevel „Saga”
Bastek	Bastek	Bastek „Earl Grey”

W celu przygotowania naparów herbat wybierano po trzy torebki z każdego opakowania danej herbaty, a następnie przygotowywano z zawartego w nich suszu herbacianego próbkę zbiorczą. Odważano po 100 mg z przygotowanej próby zbiorczej, a następnie sporządzone naważki

zalewano 50 cm³ wody dejonizowanej o temp. 100°C. Herbatę parzono 1, 3 i 6 min. Tak sporządzone napary sączono przez filtr strzykawkowy Spartan 30/0,45 RC.

Zawartość witamin: tiaminy, ryboflawiny, kwasu askorbinowego oraz amidu kwasu nikotynowego w naparach herbat oznaczano za pomocą zestawu do wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC Series 200 firmy Perkin-Elmer, gdzie fazą ruchomą był roztwór o stęż. 50 mmol/dm³ KH₂PO₄ (A) i metanol (B), w gradiencie od 0 do 30% A w czasie 8 min., a następnie w tym stosunku utrzymane przez 7 min. Długość fali wynosiła $\lambda = 245$ nm, przepływ 1 cm³ · min⁻¹, a nastrzyk 20 mm³. Czas retencji, najmniejszą oznaczalną ilość oraz odzysk dla badanych witamin zestawiono w tab. II.

Pomiaru zawartości fluorków w naparach wykonano metodą potencjometryczną wykorzystując pH-metr/jonometr Orion 920 A oraz stosując roztwór TISAB III jako stabilizator siły jonowej. Dokonano również pomiaru zawartości fluorków w wodzie dejonizowanej, używanej do zaparzania herbaty.

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki zostały opracowane statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji. Najmniej istotne różnice NIR pomiędzy zawartością poszczególnych związków w naparach jedno-, trzy- i sześciominutowych wyliczono opierając się na teście *Tukey'a* dla

przedziału ufności $\alpha = 0,05$. Obliczono współczynniki korelacji liniowej *Pearsona* pomiędzy zawartością poszczególnych oznaczanych składników naparów oraz wykorzystano analizę skupień do aglomeracji składników w grupy o największym stopniu powiązania. Do analiz statystycznych wykorzystano program Statistica 7,0.

Tabela II. Czas retencji, najmniejsza oznaczalna ilość i odzysk dla oznaczanych witamin

Table II. Retention time, detection limit and recovery of vitamins

Witamina	Czas retencji (min.)	Najmniejsza oznaczalna ilość ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	Odzysk (%)
C	1,45	1,50	96,20
B ₁	5,50	0,03	97,51
PP	7,20	0,01	99,42
B ₂	9,80	0,04	98,32

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W naparach jedno-, jak i trzy- oraz sześciominutowych herbat pochodzących od różnych producentów w większości przypadków stwierdzono istotne różnice pomiędzy zawartością fluorów i witamin (tab. III). Napary badanych herbat odznaczały się bardzo dużym zróżnicowaniem zawartości oznaczanych witamin. Zawartość ryboflawiny wynosiła, w zależności od herbaty $0,193 - 0,391 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$, kwasu askorbinowego $1,272 - 29,984 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Jak podają *Wu i Wei* (10) zielona herbata zawiera znacznie więcej witamin niż herbata czarna co jest spowodowane różnicami w procesie otrzymywania tych dwóch herbat. Potwierdzają to wyniki prezentowanych badań, w których nie stwierdzono zawartości tiaminy i amidu kwasu nikotynowego w jednodominutowych naparach oraz tiaminy w naparach trzyminutowych wszystkich herbat czarnych. Natomiast w naparach herbat zielonych i czerwonych tylko w niektórych przypadkach w naparach jedno- oraz trzyminutowych nie odnotowano zawartości tych witamin. *Wu i Wei* (10) podają również, że pomimo tego, iż w liściach herbaty występuje wiele witamin, to do naparów przechodzą one w niewielkich ilościach. Dlatego też obecnie w celu wzbogacenia czarnych herbat w witaminy stosuje się fermentację z użyciem odpowiednich kultur bakterii. W wyniku tego procesu zwiększa się zawartość w naparach ryboflawiny, tiaminy, czy kwasu askorbinowego. Natomiast zawartość amidu kwasu nikotynowego nie zmienia się znacząco w wyniku fermentacji (11).

Zawartość fluorów w naparach herbat mieściła się w granicach od $0,073$ do $0,652 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Podobne zawartości fluorów w naparach stwierdziła *Kaczmarek* (8), badając trzydzieści sześć herbat dostępnych na polskim rynku.

Obliczone współczynniki korelacji wykazały, że jedynie w naparach herbat zielonych istniała istotna, ujemna korelacja pomiędzy zawartością fluorów, a zawartością ryboflawiny (tab. IV). Odnotowano jednak istotne zależności pomiędzy zawartością poszczególnych witamin: ujemną – pomiędzy koncentracją kwasu askorbinowego, a zawartością tiaminy i amidu kwasu nikotynowego w naparach herbat zielonych oraz czerwonych, również pomiędzy stężeniem kwasu askorbinowego

Tab e l a III. Zawartość fluorków, tiaminy, ryboflawiny, amidu kwasu nikotynowego i kwasu askorbinowego w naparach różnych rodzajów herbat w zależności od czasu parzenia ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

Tab l e III. Content of fluorides, thiamin, riboflavin, nicotine amide and ascorbic acid in different kinds of tea infusions depending on infusion time ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)

Rodzaj herbaty	F-			B ₁			B ₂			PP			C		
	1 min.	3 min.	6 min.	1 min.	3 min.	6 min.	1 min.	3 min.	6 min.	1 min.	3 min.	6 min.	1 min.	3 min.	6 min.
Teekanne	0,256	0,258	0,262	0,049	0,060	0,062	0,332	0,333	0,345	0,108	0,120	0,262	6,413	1,653	1,486
Vitax	0,222	0,196	0,211	0,072	0,068	0,062	0,269	0,281	0,292	0,276	0,329	0,414	21,578	3,384	2,345
Bioactive	0,208	0,190	0,241	0,076	0,065	0,064	0,321	0,333	0,314	0,373	0,418	0,419	5,358	2,667	1,327
Biofix	0,410	0,552	0,693	ns	ns	0,074	0,193	0,228	0,311	ns	0,144	0,199	28,449	2,304	1,663
Bastek	0,118	0,149	0,164	ns	ns	ns	0,391	0,375	0,377	ns	0,029	0,247	29,894	29,245	1,557
NIR _{0,05} – LSD _{0,05}	0,026	0,021	0,033	0,009	0,004	0,003	0,013	0,023	0,011	0,065	0,013	0,032	1,231	0,978	0,432
Teekanne	0,087	0,087	0,166	ns	ns	ns	0,327	0,328	0,310	ns	0,032	0,070	26,751	18,004	6,002
Vitax	0,088	0,119	0,183	0,026	0,033	0,036	0,335	0,348	0,359	ns	ns	0,044	15,852	10,949	8,156
Bioactive	0,225	0,412	0,581	0,029	0,043	0,061	0,346	0,349	0,355	ns	0,021	0,042	18,051	9,144	2,217
Biofluid	0,092	0,102	0,136	0,033	0,104	0,120	0,313	0,333	0,344	0,022	0,031	0,060	14,436	1,311	1,272
Bastek	0,128	0,132	0,120	ns	ns	0,033	0,281	0,276	0,344	0,027	0,028	0,039	11,587	3,073	2,685
NIR _{0,05} – LSD _{0,05}	0,055	0,042	0,031	0,002	0,005	0,010	0,021	0,013	0,009	0,003	0,004	0,010	2,098	1,098	0,444
Teekanne „Gold”	0,073	0,181	0,183	ns	ns	0,049	0,327	0,344	0,342	ns	0,016	0,016	11,062	1,878	1,690
Teekanne „Assam”	0,210	0,202	0,292	ns	ns	0,055	0,333	0,343	0,341	ns	0,019	0,020	11,473	8,965	1,549
Bastek „Familitea”	0,068	0,126	0,121	ns	ns	ns	0,245	0,258	0,287	ns	ns	0,040	18,121	10,939	1,966
Unilevel „Saga”	0,390	0,457	0,441	ns	ns	ns	0,322	0,348	0,345	ns	ns	0,107	12,284	8,408	6,379
Bastek „Earl Grey”	0,549	0,557	0,652	ns	ns	0,044	0,216	0,253	0,310	ns	0,054	0,073	26,793	2,044	1,703
NIR _{0,05} – LSD _{0,05}	0,044	0,094	0,055	-	-	0,004	0,012	0,017	0,014	-	0,003	0,006	2,967	1,077	0,232

ns – nie stwierdzono.

i ryboflawiny w naparach herbat czarnych, a także dodatnią pomiędzy zawartością tiaminy i koncentracją amidu kwasu nikotynowego. Z dendrogramów analizy skupień wynika, że w naparach herbat zielonych zawartość fluorków była silnie powiązana z zawartością ryboflawiny, tiaminy i amidu kwasu nikotynowego. Natomiast w naparach herbat czerwonych najsilniej powiązane były ze sobą zawartość tiaminy i amidu kwasu nikotynowego. W bliskim sąsiedztwie odnajdziemy jednak także zawartość fluorków i ryboflawiny. W naparach herbat czarnych zaś najsilniej powiązane ze sobą były: stężenie fluorków ze stężeniem ryboflawiny oraz koncentracja tiaminy z koncentracją amidu kwasu nikotynowego. We wszystkich rodzajach herbat od pozostałych oznaczanych składników najdalej oddalona była zawartość kwasu askorbinowego.

Podobną zależność odnośnie kwasu askorbinowego stwierdzono analizując dendrogramy analizy skupień zawartości oznaczanych składników naparu herbacianego w zależności od czasu parzenia. Ponadto, zarówno w naparach jedno-, trzy-, jak i sześciominutowych zawartość fluorków była silnie powiązana z zawartością ryboflawiny, a stężenie tiaminy ze stężeniem amidu kwasu nikotynowego. Zawartość

Tabela IV. Współczynniki korelacji prostej Pearsona między zawartością w naparach herbat fluorków, tiaminy, ryboflawiny, amidu kwasu nikotynowego oraz kwasu askorbinowego

Table IV. Pearson's coefficient of linear correlation between content (in tea infusions) of fluorides, thiamin, riboflavin, nicotine amide and ascorbic acid

Składnik herbaty	F	B ₁	B ₂	PP	C	F	B ₁	B ₂	PP	C
	w zależności od rodzaju herbaty					w zależności od czasu parzenia				
	Herbaty zielone					1 min.				
F										
B ₁	0,03					-0,02				
B ₂	-0,54*	-0,03				-0,41	0,27			
PP	-0,18	0,71*	-0,02			-0,06	0,77*	0,03		
C	-0,23	-0,54*	-0,02	-0,66*		-0,09	-0,41	0,01	-0,45	
	Herbaty czerwone					3 min				
F										
B ₁	0,20					0,05				
B ₂	0,40	0,50				-0,31	0,21			
PP	0,16	0,28	-0,04			0,19	0,57*	-0,03		
C	-0,30	-0,56*	-0,05	-0,68*		-0,02	-0,62*	-0,03	-0,54*	
	Herbaty czarne					6 min.				
F										
B ₁	0,17					0,04				
B ₂	-0,13	0,29				-0,12	0,10			
PP	0,48	0,18	0,14			0,03	0,25	-0,16		
C	-0,01	-0,48	-0,56*	-0,50		-0,40	-0,22	-0,40	-0,10	

* – istotność na poziomie $p = 0,05$.

tiaminy i amidu kwasu nikotynowego były także istotnie dodatnio skorelowane liniowo w naparach jedno- oraz trzypięciominutowych (tab. IV). W naparach herbat trzypięciominutowych odnotowano również istotną ujemną zależność pomiędzy zawartością kwasu askorbinowego oraz zawartością tiaminy i amidu kwasu nikotynowego.

Liście herbaty, jak i sporządzone z nich napary oprócz fluorków oraz witamin odznaczają się bogactwem wielu innych związków mających różnorodny wpływ na organizm człowieka. Należą do nich związki mające właściwości zarówno pro-, jak i antyoksydacyjne, a wśród nich katechiny, kwercetyna i kwas galusowy (12, 13, 14). W literaturze istnieje wiele doniesień o koncentracji fluorków, witamin oraz związków polifenolowych w naparach różnych rodzajów herbat, a także ich wpływie na reakcje wolnorodnikowe w organizmie człowieka (7, 14, 15). W liściach herbaty, a co za tym idzie i w naparach z nich sporządzonych mogą również występować inne związki lub pierwiastki toksycznie oddziałujące na organizm, np. azotany (V) i (III) (16) czy glin (17). Na skład liści herbaty ma wpływ wiele czynników, między innymi sposób obróbki liści herbaty a także czas ich parzenia (8, 10, 11, 12). Dlatego istotne jest określenie zależności pomiędzy zawartością w herbacie różnych związków mających korzystny i niekorzystny wpływ na organizm. W pracy określono zależność pomiędzy zawartością fluorków oraz niektórych witamin w naparach herbacianych.

Biorąc pod uwagę zarówno współczynniki korelacji liniowej *Pearsona*, jak i analizę skupień należy stwierdzić pewne powiązanie zawartości fluorków w naparach herbat z zawartością ryboflawiny oraz stężenie tiaminy ze stężeniem amidu kwasu nikotynowego. Natomiast zawartość kwasu askorbinowego, pomimo odnotowanych istotnych ujemnych korelacji liniowych z niektórymi oznaczanymi witaminami, jest najmniej powiązana z ich zawartością oraz z koncentracją fluorków.

WNIOSKI

1. Zawartość witamin oraz fluorków w naparach herbat była bardzo zróżnicowana zarówno w zależności od rodzaju herbaty, czasu parzenia oraz jej producenta.
2. Nie wszystkie napary herbaciane zawierały tiaminę i amid kwasu nikotynowego.
3. Można stwierdzić, że zawartość fluorków i ryboflawiny oraz tiaminy i amidu kwasu nikotynowego w naparach herbacianych są w pewien sposób zależne od siebie.

D. Kłódka, A. Telesiński, M. Bońkowski

ESTIMATING THE DEPENDENCE BETWEEN THE CONTENT OF FLUORINE
AND OF SELECTED VITAMINS IN DIFFERENT KINDS OF TEA INFUSIONS

Summary

Tea infusions may contain both antioxidative substances and pro-oxidative fluorides. This work presents findings on the content of fluorine and some water-soluble vitamins (thiamins, riboflavins, ascorbic acid, and nicotinic acid amide) in infusions of green, red and black tea infused one, three and six minutes. It has been also attempted to determine the dependence between the content of each studied infusion

components. Pearson's coefficients of linear correlation between the contents of the individual infusion components were calculated and cluster analysis was used to classify the components into groups with highest level of association. The results showed that the content of vitamins and fluorides in infusions of teas widely differed, depending on the kind of tea, infusion time and tea supplier. Besides, some tea-infusions did not contain thiamin and/or nicotinic acid amide. From the coefficients of linear correlation and cluster analyses it has been found that the contents of fluorides and riboflavins and thiamins and the amide of the nicotinic acid in tea infusions were to some extent interdependent.

PIŚMIENNICTWO

1. Chlubek D., Stachowska E., Bober J.: Udział fluorków w reakcjach wolnorodnikowych i ich wpływ na aktywność enzymów antyoksydacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001; 34: 263-266. – 2. Floriańczyk B.: Fluor w środowisku człowieka. *Ekopartner*, 1996; 7/8(57/58): 26-27. – 3. Jędrzejczak D., Milewicz A.: Toksykologia fluoru, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1996; 3: 205-211. – 4. Zakrzewska H.: Fluor i jego związki w środowisku naturalnym i żywności. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1995; 28: 393-398. – 5. Skupień-Wysocka K.: Fluor w warzywach i owocach, *Stomat. Współczesna*, 1996; 3: 507-511. – 6. Dąbrowska E., Balunowska M., Letko R.: Zagrożenia wynikające z nadmiernej podaży fluoru. *Nowa Stomat.*, 2001; 4: 22-27. – 7. Chlubek D.: Fluoride and oxidative stress. *Fluoride*, 2003; 36: 217-228. – 8. Kaczmarek U.: Wartości pH i stężenia fluorków w wybranych herbatach. *Annal. Acad. Med. Stetin.*, 2004; 50: 58-61. – 9. Sroka Z., Gamian A., Cisowski W.: Niskocząsteczkowe związki przeciwutleniające pochodzenia naturalnego. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 34-41. – 10. Wu C.D., Wei G.-H.: Tea as functional food or oral health, *Nutrition*, 2002; 18(5): 443-444.
11. Pasha C., Reddy G.: Nutritional and medicinal improvement of black tea by yeast fermentation. *Food Chem.*, 2005; 89: 449-453. – 12. Wang H., Provan G.J., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000; 11: 152-160. – 13. Yao L., Liang Y., Datta N., Singanusong R., Liu X., Duan J., Raymont K., Lisle A., Xu Y.: HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camelia sinensis*) grown in Australia. *Food Chem.*, 2004; 84: 253-263. – 14. Yen G., Chen H.Y., Peng H.H.: Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extract. *J. Agric. Food Chem.*, 1997; 45: 30-34. – 15. Fik M., Zawisław A.: Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004; 3(40): 98-105. – 16. Śmiechowska M., Przybyłowski P., Dmowski P., Newerli-Guz J.: Określenie zawartości azotanów(V) i (III) oraz garbników w herbatach czarnych importowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003; 2(35): 98-105. – 17. Horie H., Kohata K.: Analysis of tea component by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 2000; 881: 425-438.

Adres: 71-434 Szczecin, ul. J. Słowackiego 17.