

Agnieszka Stańczyk, Urszula Skolimowska, Anna Wędzisz

ZAWARTOŚĆ GARBNIKÓW W ZIELONYCH I CZARNYCH HERBATACH ORAZ WŁAŚCIWOŚCI ANTYBAKTERYJNE METANOLOWYCH WYCIĄGÓW*)

Zakład Bromatologii Katedry Toksykologii i Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *A. Wędzisz*

W pracy określono zawartość garbników w zielonych i czarnych herbatach oraz oznaczono właściwości antybakteryjne metanolowych wyciągów. Zawartość garbników oznaczono za pomocą metody opisanej w Farmakopei Polskiej VI. Właściwości antybakteryjne zbadano z zastosowaniem metody krążkowej.

Hasła kluczowe: zielona, czarna herbata, garbniki katecholowe, właściwości antybakteryjne.

Key words: green, black tea, catechol tannins, antibacterial properties.

Na temat herbat napisano już wiele książek i rozpraw naukowych. Sposób jej spożywania przed wiekami był swoistym rytuałem pozwalającym na wyciszenie i osiągnięcie harmonii ze światem (1). Herbata zielona jest najstarszym napojem świata. Chociaż dla Chińczyków i Japończyków od pięciu tysięcy lat stanowi napój codzienny, w Europie pojawiła się dopiero na początku XVII wieku (2, 3). Lista dobroczynnego działania zielonej herbaty na nasz organizm jest bardzo długa. Japończycy wymieniają aż 61 dolegliwości, w leczeniu, których napój ten może być pomocny. Zielonej herbacie przypisuje się następujące właściwości: ułatwia koncentrację, poprawia pamięć, obniża ryzyko zawału serca, zakrzepów i miażdżycy tętnic, obniża poziom cholesterolu i ciśnienia krwi, reguluje poziom cukru we krwi u ludzi zdrowych, służy w profilaktyce nowotworowej, wspomaga leczenie chorób infekcyjnych, wzmacnia odporność organizmu, przyspiesza przemianę materii (3, 4). Medycyna chińska do dziś wykorzystuje te właściwości z pozytywnym skutkiem. Zgodnie z chińskim obyczajem, herbata powinna posiadać aż 20 różnych korzystnych właściwości (5, 6). Zielona herbata pochodzi z tego samego krzewu co czarna, ale nie jest poddawana fermentacji – stąd jej jasny kolor i większe właściwości zdrowotne. W wyniku rozlicznych eksperymentów z herbatą zieloną pojawiła się herbata czarna (4, 7). Skład chemiczny liści herbaty jest niezwykle bogaty – stwierdzono w nich ok. 300 różnych związków (8). Świeże liście herbaty zawierają średnio (przeliczając na procentową zawartość 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% (9, 10). W herbacie występują również między innymi ksantyna, adenina, hipoksantyna, paroksantyna, lecytyna,

*) Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (własna 502-13-787).

kumaryny, witaminy B₁, B₂, B₅, C, K, PP, olejki lotne. Zawiera także wiele związków mineralnych – najważniejsze to związki wapnia, magnezu, żelaza, sodu, fosforu, miedzi, fluoru, manganu, krzemu i jodu, kwasy organiczne: szczawiowy, jabłkowy, cytrynowy, bursztynowy, pirogronowy i fumarowy, a także cukry – glukozę, maltozę, fruktozę oraz skrobię (8, 11). Charakterystycznym związkiem liści czarnej herbaty jest teanina, będąca 5-*N*-etyloamidem kwasu glutaminowego. Związek ten działa antagonistycznie w stosunku do kofeiny i jest wykorzystywany jako marker jakości herbaty (12). Zawartość flawonoidów w liściach herbaty sięga od 20 do 30% suchej masy. Frakcję białkową herbaty stanowią enzymy powszechnie występujące w roślinach. Ponieważ liście zawierają duże ilości katechin, występują tutaj także enzymy uczestniczące w ich metabolizmie, np. oksydaza polifenolowa. Specyficzny aromat herbata zawdzięcza związkowi aromatyzującym, mimo że ich zawartość sięga zaledwie 0,01% suchej masy. Jest to grupa związków najbardziej zróżnicowana pod względem budowy chemicznej, należą do nich przede wszystkim związki lotne, takie jak: alkohole, estry, kwasy i związki cykliczne. Wśród nich największe ilości stanowi geraniol (18% całkowitej zawartości składników aromatyzujących), linalol (ok. 9,5%), tlenek linalolu (ok. 9,1%), nerolidol (8,8%), a także jasmon (7,5%). Związki te mają istotny wpływ na smak i aromat naparu otrzymanego z liści herbaty (13).

Zawartość garbników w zielonej herbacie wynosi ok. 3% suchej masy liścia. Można wśród nich wyróżnić garbniki hydrolizujące – przede wszystkim galotaniny i elagotaniny oraz garbniki niehydrolizujące, zwane garbnikami katechinowymi (głównie tanina). Susz herbaty zawiera 4–12% taniny (14, 15).

Celem pracy było określenie zawartości garbników w zielonych i czarnych herbatach oraz oznaczenie właściwości antybakteryjnych wyciągów metanolowych.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badanym były herbaty zielone i czarne:

- Herbata zielona liściasta „SIR ROGER” Sp. z o. o.,
- Herbata zielona z Azji Południowej „Herbapol”,
- Herbata zielona Oryginalna liściasta P. P. H. „Biofix”,
- Cejlońska herbata czarna DILMAH,
- Herbata czarna liściasta TETLEY,
- Herbata czarna liściasta BROOK BOND.

Zawartość garbników oznaczono za pomocą metody opisanej w FP VI (16)

Zawartość garbników w przeliczeniu na pirogalol obliczano wg wzoru (C₆H₆O₃) (X, w %) wg wzoru:

$$X = \frac{15,625 (A_1 - A_2) m_2}{A_3 m_1}$$

gdzie:

A₁ – absorbcja polifenoli w roztworze badanym;

A₂ – absorbcja polifenoli niewiążących się z proszkiem skórzanym w roztworze badanym;

A₃ – absorbcja roztworu porównawczego pirogalolu;

m_1 – odważka surowca w g;
 m_2 – odważka pirogalolu w g.

Badanie działania antybakteryjnego wyciągów flawonoidowych z zielonych i czarnych herbat (17).

Materiał biologiczny. Materiał biologiczny stanowił szczep *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Przygotowywanie wyciągów metanolowych. Wyciąg metanolowy podstawowy. W kolbach okrągłodennych poj. 50 cm³ umieszczano po 2 g wysuszonych liści herbacianych, zalewano 25 cm³ metanolu i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną na łaźni wodnej przez 30 min. Wyciągi sączono przez karbowane sączki, surowce ponownie przenoszono do kolb i ekstrahowano metanolem (2 × 25 cm³). Połączone wyciągi odparowano do sucha na wyparce rotacyjne firmy Büchi Typ 169.

Oczyszczanie wyciągu metanolowego. Suchą pozostałość zalewano 25–50 cm³ gorącej wody i ogrzewano na łaźni wodnej przez 15 min. Po ochłodzeniu pozostawiano w lodówce na 24 godz. Następnie sączono płyny przez karbowane sączki, osady przemywano małą porcją ciepłej wody. Przesącze wodne ekstrahowano octanem etylu (3 × 25 cm³). Połączone wyciągi zagęszczano do obj. 10 cm³. Równoległe wykonano ślepą próbę, przy użyciu tych samych odczynników.

Podłoże hodowlane. W pracy zastosowano podłoże *Mueller-Hintona* firmy Merck w ilości 38 g/dm³ wody, o składzie podanym w tab. I.

Tabela I. Skład podłoża *Mueller-Hintona*
 Table I. Composition of Mueller-Hinton substrate

Składnik podłoża	Ilość (g/dm ³)
Wyciąg mięsny	2,0
Hydrolizat kazeiny	17,5
Skrobia	1,5
Agar	13,0

pH pożywki = 7,1; warunki sterylizacji: temp. 37°C.

Metody hodowli. Aktywacja i hodowla bakterii

Przed przystąpieniem do badań szczep *Streptococcus mutans* ATCC 25175 uaktywniano przeszczepiając go na pożywkę bulionową o pH = 7,1 w temp. 37°C przez 72 godz.

Przygotowanie inokulum. Hodowlę bakterii *Streptococcus mutans*

ATCC 25175 prowadzono na skosach z agarem odżywcym. Hodowlę bakterii inkubowano w temp. 37°C przez 72 godz. w warunkach tlenowych cieplarki laboratoryjnej. Po tym czasie zawiesinę komórek przemywano i zawieszano w 0,85% roztworze NaCl do uzyskanie gęstości 1000000 jtk/cm³.

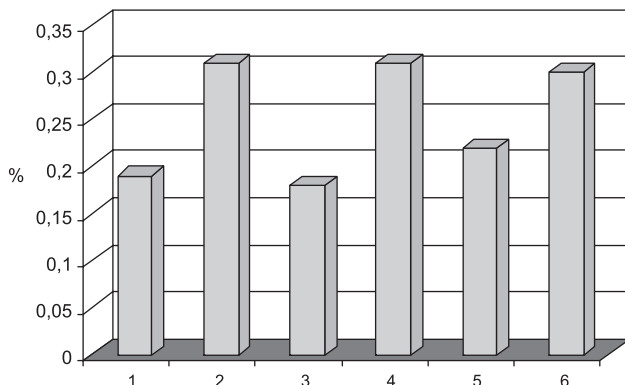
Określenie działania hamującego wyciągów flawonoidowych

W celu wyznaczenia działania hamującego zastosowano metodę krążkową, polegającą na wysianiu na płytkę z pożywką bulionową 0,1 cm³ inokulum bakterii *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Następnie, krążki o średnicy 5 mm, na które naniesiono 0,005 cm³ wyciągów flawonoidowych pochodzących z herbat, umieszczano na specjalnie oznaczonych miejscach.

Płytki inkubowano w temp. 37°C w ciągu 72 godz. Po tym czasie mierzono strefy przejaśnienia, informujące o zahamowaniu wzrostu bakterii.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Oznaczona wg FP VI zawartość garbników w zielonych herbatach mieściła się w przedziale od 0,14 do 0,31%, a czarnych herbatach od 0,22 do 0,31%. Najniższą zawartość garbników stwierdzono w herbacie zielonej Oryginalnej Biofix 0,14%, a najwyższą w herbacie zielonej z Azji Południowej 0,31%. Wśród herbat czarnych najniższą zawartość garbników stwierdzono w herbacie Tetley 0,22%, zaś najwyższą w herbacie Dilmah 0,31% (ryc. 1).

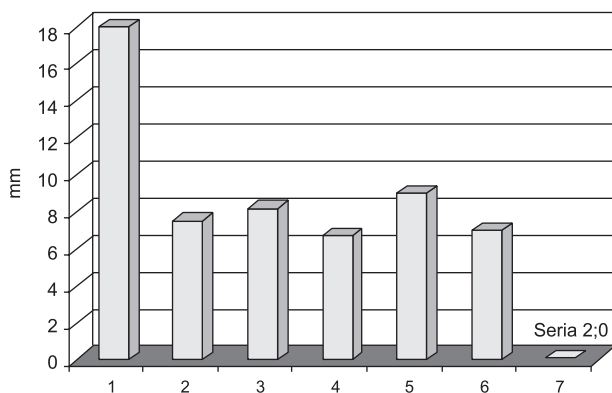


Ryc. 1. Zawartość garbników (%) w zielonych i czarnych herbatach.

1 – herbata zielona „SIR ROGER”, 2 –herbata zielona z Azji Południowej, 3 – herbata zielona Oryginalna „BIOFIX”, 4 – herbata czarna „DILMAH”, 5 – herbata czarna „TETLEY”, 6 -herbata czarna „BROOK BOND”.

Fig. 1. Tannin content (%) of green and Black tea grades.

1 – SIR ROGER green tea, 2 – green tea from South Asia, 3 – Original BIOFIX green tea, 4 – DILMAH black tea, 5 – TETLEY black tea, 6 – BROOKE BOND black tea.



Ryc. 2. Zależność hamowania wzrostu bakterii *Streptococcus mutans* ATCC 25175 od gatunku herbat.

1 – herbata zielona „SIR ROGER”, 2 –herbata zielona z Azji Południowej, 3 – herbata zielona Oryginalna „BIOFIX”, 4 – herbata czarna „DILMAH”, 5 – herbata czarna „TETLEY”, 6 -herbata czarna „BROOK BOND”, 7 – ślepa próba.

Fig. 2. Relationship between *Streptococcus mutans* growth inhibition activity and tea grade.

1 – SIR ROGER green tea, 2 – green tea from South Asia, 3 – Original BIOFIX green tea, 4 – DILMAH black tea, 5 – TETLEY black tea, 6 – BROOKE BOND black tea, 7 – blind trial.

Ponadto, oceniono działanie antybakteryjne wyciągów flawonoidowych badanych herbat. Dla herbat zielonych średnica stref zahamowania wzrostu mieściła się w przedziale 7,33 do 17,67 mm, natomiast dla herbat czarnych od 6,00 do 9,67 mm (ryc. 2).

Należy stwierdzić, że silniejsze działanie antybakteryjne posiadają wyciągi z czarnych herbat niż z herbat zielonych.

A. Stańczyk, U. Skolimowska, A. Wędzisz

TANNIN CONTENTS IN GREEN AND BLACK TEA GRADES
AND THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF THE METHANOLIC EXTRACTS

Summary

Tea belongs to beverages that gain more and more popularity, mainly due to its favourable organoleptic and sanitary characteristics. The aim of the work was to determine the contents of tannins in green and black tea grades. The black tea was found to contain more tannins. Another aim was to determine antibacterial characteristics of green and black tea methanolic extracts. The black tea methanolic extracts were found to show stronger antibacterial activity than those of green tea.

PIŚMIENNICTWO

1. *Górecka D., Korczak J., Długosz B., Hęś M.*: Ocena jakości wybranych gatunków herbat różnego pochodzenia. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004; 37: 145-149. – 2. www.mertea.pl. – 3. cokupic.pl. – 4. www.mayday-info.pl. – 5. www.omnihal.pl. – 6. www.herbaciarnia.pl. – 7. www.jroik.manpol.pl. – 8. *Procyk A.*: O herbacie prawie wszystko. *Wiadomości Zielarskie*. 1991; 11: 11-13. – 9. *Ostrowska J.*: Herbaty – naturalne źródło antyoksydantów. *Gazeta Farmaceutyczna* 2008; 1: 46-50. – 10. *Ostrowska J., Łuczaj W., Skrzydlewska E.*: Porównanie właściwości antyoksydacyjnych czarnej i zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 38(3): 211-221.

11. *Urbanik M.*: Herbata – lek i używka. *Farmacja Polska*. 2000; 56(24): 1153-1157. – 12. *Matławska J.*: Herbata, herbatki, ziółka. *Panacea*, 2005; 10: 20-21. – 13. *Ostrowska J., Stankiewicz A., Skrzydlewska E.*: Antyoksydacyjne właściwości zielonej herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001; 34: 131-139. – 14. *Burdzenia O.*: Renesans zielonej herbaty. *Cz. I. Lek w Polsce*. 2004; 11(14): 85-95. – 15. *Królikowska M.*: Analiza fitochemiczna roślinnych surowców leczniczych dla studentów farmacji. AM w Łodzi, 1988: 138-149. – 16. *Farmakopea Polska VI*. – 17. *Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.*: Mikrobiologia żywności. PZWL, Warszawa 1983.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1.