

Alicja Stachelska-Wierzchowska¹, Aleksandra Knasiak²

BADANIA ZAWARTOŚCI METYLOKSANTYN W NAPARACH WYBRANYCH HERBAT

¹Katedra Fizyki i Biofizyki, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, doktor

²Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, inżynier Kierownik: prof. dr hab. *Z.J. Wieczorek*

W pracy przedstawiono wyniki badań zawartości metyloksantyn w naparach wybranych herbat białych, zielonych i czarnych. W celu analizy jakościowej i ilościowej alkaloidów purynowych zastosowano takie metody jak spektroskopię UV, ekstrakcję ciecz-ciecz oraz chromatografię TLC. W badanych naparach herbat nie stwierdzono obecności teofiliny. Zawartość metyloksantyn w naparach zależała od rodzaju herbaty, stopnia jej rozdrobnienia. Największą zawartość kofeiny wykazywały herbaty nieprzetworzone – białe, najmniejszą koncentrację tych związków wykazywały napary herbat po pełnej fermentacji – czarne. Jednocześnie stwierdzono, że stężenie metyloksantyn w naparach herbat wzrastało wraz z wydłużaniem czasu zaparzania naparu.

Hasła kluczowe: biała herbata, zielona herbata, czarna herbata, metyloksantyny, kofeina

Key words: white tea, green tea, black tea, methylxantines, caffeine

W Polsce spożycie herbaty zajmuje drugie miejsce (zaraz po wodzie) wśród napojów najchętniej spożywanych przez konsumentów. Popularność herbat oraz obecność w nich szerokiej gamy związków chemicznych, takich jak np. alkaloidy purynowe, flawonoidy, sacharydy, białka, chlorofil itp., które nie zawsze korzystnie wpływają na organizm konsumenta, jest powodem konieczności badania ich zawartości. Na szczególną uwagę zasługują metyloksantyny, które spożywane w nadmiernej ilości negatywnie wpływają na zdrowie człowieka.

Celem pracy było wyznaczenie zawartości metyloksantyn w naparach wybranych herbat białych, zielonych oraz czarnych, dostępnych na polskim rynku.

MATERIAŁ I METODY

Badaniom poddano 3 rodzaje herbat ekspresowych i liściastych: czarne, zielone oraz białe. Herbaty zakupiono w najpopularniejszych wśród mieszkańców Olsztyna marketach (Biedronka, Lidl, Tesco) oraz sklepie Świat Kawy i Herbaty w okresie od czerwca do grudnia 2011 r. Torebki z herbatami były szczelnie zamykane, dzięki czemu uniknięto zawilgocenia suszu herbacianego.

W celu przygotowania naparów herbat wybierano po 4 torebki z każdego opakowania herbaty ekspresowej. Z suszu herbacianego przygotowywano próbę zbiorczą, z której odważano po 2 g suszu, który zalewano 200 cm³ wody

dejonizowanej o temperaturze 100°C. Napary herbat przygotowywano bezpośrednio przed pomiarami spektroskopowymi. Herbatę zaparzano w zamkniętym czajniczku do herbaty przez 1 min lub 6 min. Gorące napary przesączano przez sącdek karbowany o średniej twardości (sącdek dokładnie wyciśnięto) i pozostawiano w zamkniętych kolbach płaskodennych do ochłodzenia.

Widma absorpcji w zakresie nadfioletu substancji występujących w naparach herbat oraz wykrystalizowanych alkaloidów mierzono w temp. 25°C za pomocą spektrofotometru UV-VIS Cary 300 (Varian, Australia) oraz Cary 5000 UV-Vis-NIR Spectrophotometer, (Varian, Australia) w kuwetach kwarcowych (Hellma, Niemcy) o długości drogi optycznej 1 cm. W celu wykonania pomiarów widm absorpcji związków chemicznych, obecnych w naparach herbat do kuwety absorpcyjnej z odpowiednią ilością wody dejonizowanej dodawano 0,05-0,1 cm³ naparu herbaty o temp. pokojowej, uzyskując 3 cm³ roztworu. Widma absorpcji mierzono w zakresie 220-380 nm (od 3 do 5 razy dla jednej próbki).

Analizę jakościową metyloksantyn wykonano stosując próbę fenoloftaleinową. W tym celu sporządzano 9 cm³ roztworu wodnego zawierającego 0,6 cm³ naparu herbacianego lub rozpuszczano 0,1 g wykrystalizowanego alkaloidu w 5 cm³ wody dejonizowanej. Do roztworów dodawano 0,01 cm³ lub 0,05 cm³ zasady sodowej (0,1 M NaOH) oraz 2 krople fenoloftaleiny. Roztwory ogrzewano do wrzenia.

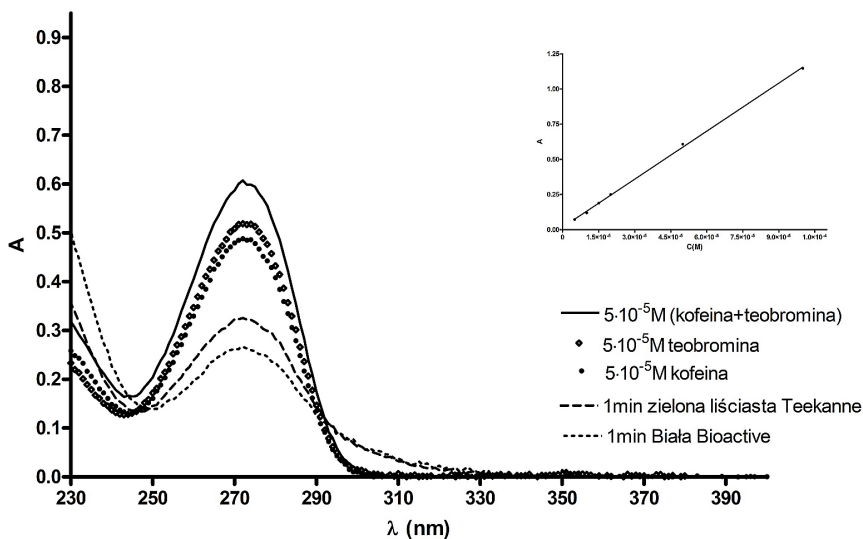
W celu wyizolowania kofeiny do naparów herbat dodawano 2 g MgO, roztwór ogrzewano do wrzenia i gotowano mieszając (przez 20 min) na łaźni olejowej (temp. 100±0,02 °C) lub piaskowej. Roztwór chłodzono do temp. pokojowej a następnie sączono pod zmniejszonym ciśnieniem. Środowisko przesączu zakwaszono 2 M roztworem H₂SO₄ do pH ≈ 2, po czym ekstrahowano chloroformem (5 x 10 cm³ chloroformu). W celu usunięcia resztek tanin do powstałego roztworu dodawano 2 razy po 3 cm³ 10 % ługu sodowego, po czym 3 cm³ wody dejonizowanej. Warstwę chloroformową suszono w szklanej kolbie stożkowej przy użyciu bezwodnego MgSO₄. Roztwór chloroformowy przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem do zważonej wcześniej szklanej kolby destylacyjnej, chloroform oddestylowano na wyparce obrotowej. Do otrzymanego związku chemicznego dodano 8cm³ etanolu i pozostawiono pod dygestorium do krystalizacji.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W piśmiennictwie istnieją rozbieżności dotyczące analizy jakościowej alkaloidów purynowych występujących w naparach herbat. Większość autorów nie stwierdziło zawartości teofiliny w naparach różnych herbat (1-5), chociaż *Ostrowska* (6) w pracy przeglądowej, *Komes* i współ. (7) oraz *Lacerda* i współ. (8) wskazują na jej występowanie w herbatach. Przeprowadzona przez nas analiza jakościowa nie potwierdziła obecności teofiliny w naparach badanych herbat. Brak teofiliny w naparach herbat prawdopodobnie wynika z jej udziału w metabolizmie teobrominy i kofeiny (9).

Na rycinie 1 przedstawiono widma absorpcji metyloksantyn zawartych w wodnych 5·10⁻⁵ M roztworach wzorcowych kofeiny i teobrominy oraz ich mieszaniny a

także przykład uzyskanych widm alkaloidów występujących w naparach badanych herbat absorbujących światło w zakresie 220-380 nm.



Ryc. 1. Widma absorpcji 5·10⁻⁵ M kofeiny, teobrominy, mieszaniny kofeiny z teobrominą oraz 1min naparów herbat zielonej i białej (duży rysunek). Zależność absorpcji ($\lambda=273$ nm) od stężenia mieszaniny kofeiny i teobrominy (mały rysunek)

Fig. 1. Absorption spectra of 5·10⁻⁵ M caffeine, theobromine, caffeine and theobromine mixture and 1min infusions of green and white teas (big picture). Dependence of the absorption ($\lambda=273$ nm) values on the concentration of caffeine and theobromine mixture (small picture)

Stężenia molowe metyloksantyn zawartych w naparach herbat (przykład, tab. I) wyznaczono korzystając ze współczynników kierunkowych prostej przedstawionej na ryc. 1 (mały rysunek).

Uzyskane wyniki wskazują, że największe stężenia metyloksantyn występowały w naparach herbat nie poddawanych procesowi fermentacji - białych oraz zielonych, podczas gdy herbaty czarne charakteryzowały się najmniejszą ich zawartością. Uzyskane wyniki potwierdzają rezultaty badań uzyskanych przez *Kłódkę* i współ. (3) oraz *Kim* i współ. (5). Stężenie metyloksantyn zależało od stopnia rozdrobnienia liści herbacianych. Zauważono, że napary herbat rozdrobnionych (ekspresowych) zawierały mniejsze średnie stężenie metyloksantyn niż napary herbat liściastych. Wyniki te są zgodne z danymi przedstawionymi przez *Hicks* i współ. (1), ale odbiegają od rezultatów uzyskanych przez *Komes* i współ. (7). Jednocześnie stwierdzono wzrost stężenia metyloksantyn w naparach badanych herbat wraz z czasem ich zaparzania (ryc. 2).

Tab e l a 1. Średnie stężenie molowe (C_{sr}) metyloksantyn oraz zawartości kofeiny w 200 cm³ 6 min. naparów różnych rodzajów herbat

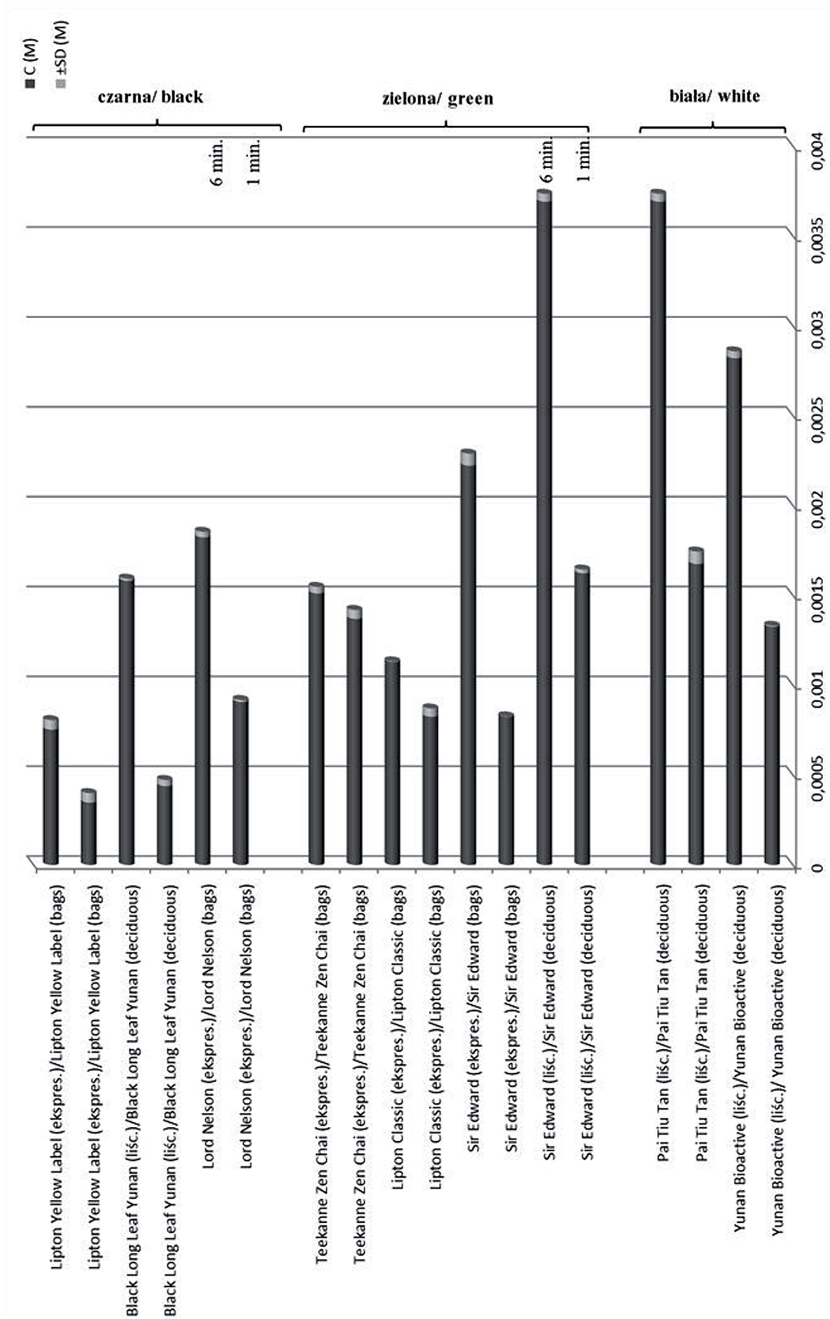
Table 1. The average molar concentration of methylxantines and caffeine contents in 200 cm³ of 6 min. infusions of different kind of teas

Rodzaj herbaty	Nazwa herbaty	Stężenie metyloksantyn $C_{sr} \pm SD$ (10^{-3} M)	Ilość pomiarów	Masa kofeiny $m \pm SD$ (10^{-3} g)	Ilość powtórzeń
Biała	Yunan Bioactive (liściasta)	$2,820 \pm 0,038$	6	$41,42 \pm 1,92$	6
	Pai Tiu Tan (liściasta)	$3,691 \pm 0,044$	9	$42,36 \pm 2,12$	9
Zielona	Sir Edward (liściasta)	$2,222 \pm 0,067$	9	$24,40 \pm 1,30$	9
	Sir Edward (ekspres.)	$1,130 \pm 0,003$	9	$16,00 \pm 0,35$	9
	Mieszanka herbat ziel. Lipton (liściasta)	$1,911 \pm 0,012$	14	$19,84 \pm 0,64$	14
	Lipton classic (ekspres.)	$1,661 \pm 0,011$	14	$16,52 \pm 0,42$	14
	Teekanne Zen Chai (ekspres.)	$1,511 \pm 0,036$	9	$21,38 \pm 0,76$	9
Czarna	Lord Nelson (ekspres.)	$1,823 \pm 0,031$	9	$17,88 \pm 0,36$	9
	Black Long Leaf Yunan (liściasta)	$1,581 \pm 0,012$	9	$14,40 \pm 0,23$	9
	Lipton Yellow Label (ekspres.)	$0,753 \pm 0,053$	9	$9,23 \pm 0,13$	9

Badania zawartości metyloksantyn w naparach wybranych herbat

Studies of contents of methylxantines in infusions of selected teas

Z analizy ilościowej kofeiny wykrystalizowanej z naparów herbat (tab. I) wynika, że największą zawartością kofeiny charakteryzowały się herbaty nieprzetworzone, niepoddane fermentacji białe a następnie zielone. Podobną zależność w przypadku naparów herbat zielonych oraz czarnych zaobserwowali inni autorzy (3, 5, 10). Niewielkie rozbieżności mogły być spowodowane stratami substancji w wyniku zastosowanej procedury izolacji kofeiny.



Ryc. 2. Stężenie molowe metyloksantyn w 200 cm³ 1 min. oraz 6 min. naparów różnych herbat
 Fig. 2. The molar concentration of methylxanthines in 200 cm³ of 1 min. and 6 min. infusions of various types of teas

WNIOSKI

1. W naparach herbacianych stwierdzono obecność takich metyloksantyn jak kofeina oraz teobromina. Zastosowane metody analityczne nie potwierdziły obecności teofiliny w naparach badanych herbat.
2. Napary herbat niefermentowanych (biała, zielona) charakteryzowały się większą zawartością kofeiny niż herbat poddanych fermentacji (czarnych).
3. Stężenie metyloksantyn w naparach herbat wzrastało wraz z wydłużaniem czasu zaparzania naparu.

A. Stachelska-Wierzchowska, A. Knasiak

STUDIES OF CONTENTS OF METHYLYXANTINES IN INFUSIONS OF SELECTED TEAS

Summary

This publication presented results of studies of content of the methylxantines derivatives into infusions of selected white, green and black teas. To qualitative and quantitative analysis of a purine alkaloids we have applied the UV spectroscopy, extraction liquid-liquid and TLC methods used.

We were not observed of the theophylline in the examined tea infusions. Contents of methylxantines derivatives in the tea infusions were dependent on kind of teas and their crumble. The highest content of caffeine was found in non-fermented teas, such as white teas, and the smallest concentration of methylxantines was found in infusions of fermented teas - black teas. Simultaneously we observed increase of methylxantines concentration during prolonged infusions.

PIŚMIENNICTWO

1. Hicks M.B., Hsieh Y.-H., Bell L.N.: Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. Food Res. Int., 1996; 29(2-3), 325-330.-2. Horie H., Kohata H.: Analysis of tea component by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis. J. Chromatogr. A, 2000; 881, 425-438.-3. Klódka D., Bońkowski M., Telesiński A.: Zawartość wybranych metyloksantyn i związków fenolowych w naparach różnych rodzajów herbat rozdrabnianych (dust i fannings) w zależności od czasu parzenia, Żywność, Nauka, Technologia, Jakość, 2008; 1(56), 103-113.-4. Yang X.R., Ye Ch.X., Xu J.K., Jiang Y.M.: Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia asamica* var. *kucha* by HPLC, Food Chem., 2007, 1132-1136.-5. Kim Y., Goodner K.L., Park J.D., Choi J., Talcott S.T.: Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation, Food Chemistry, 2011; 129, 1331-1342.-6. Ostrowska J.: Herbaty-naturalne źródło antyoksydantów, Gazeta Farmaceutyczna, 2008; 46-50.-7. Komes D., Horzic D., Belscak A., Kovacevic Ganic K, Vulic I.: Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds, Food Res. Intern., 2010; 43, 167-176.-8. Lacerda M.E.G., Filho H.C.A., Kaplan M.A.C.: Comparative evaluation of methylxanthine percentages in commercial samples of black tea and mate tea, Braz. J. Food Technol., 2000; 3, 17-21.-9. Heck, C. I., Mejia, E. G.: Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. Journal of Food Science, 2007; 72 (9), 138-151.-10. Reto, M., Figueira, M. E., Filipe, M. F., Almeida, C. M. M.: Chemical composition of green tea (*Camellia sinensis*) infusions commercialized in Portugal. Plant Foods, 2007; 62, 139-144.

Adres: 10-719 Olsztyn, ul. M. Oczapowskiego 4.