

## ZMĚNY OBSAHU CHLOROFYLŮ V PRŮBĚHU TECHNOLOGICKÉ PŘÍPRAVY KOMERČNÍCH ČAJŮ

### CHANGES IN CHLOROPHYLLS CONTENT DURING THE TECHNOLOGICAL PREPARATION OF COMMERCIAL TEAS

Martina Ošťádalová<sup>1</sup>, Vladimír Pažout<sup>1</sup>, Ivan Straka<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

The green leaves of *Camellia sinensis* contain many important natural pigments, one of them is very important substance named chlorophyll. Chlorophyll is a natural green pigment, which affects the green plant products. His quantity is for tea leaves significantly affected by the particular manner and interval of processing technology, especially by fermentation. The aim our work was determine the total amount of chlorophyll, chlorophyll *a*, *b*, pheophytin *a* and pheophytin *b* in choice of teas and follow the decline in the technological preparation of white, oolong and black teas. The analyse of the samples was started with extraction to acetone and consequently to ether, and then the actual analysis, we used the method of UV-VIS spectrophotometry. The results confirmed the presence of all three chlorophylls when the maximum number in green teas was detected.

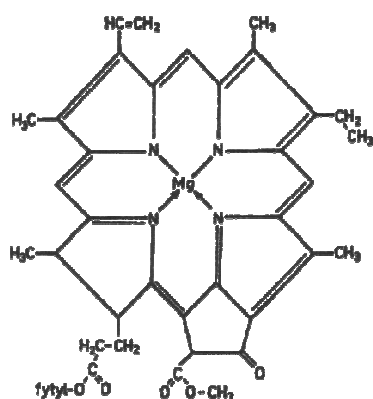
**Key words:** chlorophyll, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, pheophytin *a*, pheophytin *b*, UV-VIS spectrophotometry

#### ÚVOD

V zelených listech čajovníku čínského (*Camellia sinensis*) nacházíme řadu chemických látek, z nichž jednou z významných skupin jsou přírodní barviva a to chlorofyly.

Chlorofyl je přírodní zelené barvivo, které je zodpovědné za zelenou barvu rostlinných produktů, tedy i čajových listů. Chlorofyl je chemicky definován jako sloučenina s porfyrinovou kostrou, která je centralizovaná hořčíkem (Obr. č.1) (Heaton, 1996; Caballero, 2003; Velíšek, 1999).

#### Obrázek 1 Chemická struktura chlorofylu



Chlorofyl se v zelených listech čajovníku nachází v několika formách, jako jsou chlorofyl, chlorofyl *a* a chlorofyl *b*, přičemž po odtržení listů od matečné rostliny se zahájí reakce odštěpení kationtu  $Mg^{2+}$  za vzniku látky, kterou nazýváme feofytin *a*. Následuje odštěpení koncového řetězce fytolu na feoforbid a další chemická změna tohoto řetězce až na pyrofeoforbid. Reakce štěpení je urychlována vzdušnou vlhkostí, zvýšenou teplotou a působením slunečního záření. Štěpení chlorofylů se projeví změnou barvy substrátu z původní sytě zelené barvy až na žlutohnědou. Další možné štěpení se projeví vznikem látek černé barvy, což je způsobeno uvolněnými deriváty uhlíku. Suché čajové listy obsahují v průměru 1,4 mg chlorofylu na jeden gram hmotnosti suchých listů (Daooda, 2003; Owuor, 2003).

Cílem naší práce bylo stanovení celkového množství chlorofylu, chlorofylu *a*, *b* a sledování jejich úbytku v závislosti na způsobu technologické přípravy. Pro tyto účely jsme vybrali 3 druhy čajů, které prošly odlišnou technologickou úpravou. Jednalo se o čaje bílé (nefermentované, vyrobené z nerozvinutých čajových lístků), zelené (nefermentované plně rozvinuté lístky čajovníku) a oolong (polofermentované lístky čajovníku). Dále pak sledování množství vzniklého feofytinu *a* a feofytinu *b* a naše údaje vyhodnotit s údaji autorů jiných odborných publikací a vymezit tak normativní metody obsahu těchto látek ve výše jmenovaných čajích.

### **MATERIÁL A METODY**

Pro analýzu chlorofylů bylo námi náhodně vybráno 14 vzorků čajů od nejdostupnějších výrobců v rámci ČR (Oxalis, spol. s r.o., Slušovice; Mabroc-Czechia, s.r.o., Velké Meziříčí; Scivias, Telč; Spolek milců čaje, s.r.o., Praha - Holešovice (dále je SMČ)). Jednalo se o 4 vzorky čaje bílého, 6 vzorků čaje zeleného a 4 vzorky čaje oolong. Přehled analyzovaných vzorků čajů je uveden v tabulce (Tab. č. 1).

**Tabulka 1** Přehled analyzovaných vzorků čajů

Vzorek č.	Druh	Zpracovatel	Oblast	Označení
<b>Bílý čaj</b>				
1.	Pai Mu Tan	Scivias	Čína	B1
2.	White Monkey	Oxalis	Čína	WB2
3.	China Jasmin, Dragon, Phoenix	Oxalis	Čína	JB5
4.	Snow Buds	Oxalis	Čína	B6
<b>Zelený čaj</b>				
5.	Ché ngon So	Oxalis	Vietnam	V3
6.	Yunnan green	Oxalis	Čína	Z1
7.	Darjeeling Green, SFTGFOP1 CH	Oxalis	Indie	ZD7
8.	Assam Green, Tea OP	Oxalis	Indie	ZA6
9.	Green Tea	Mabroc- Czechia	Ceylon	D6
10.	Gun powder			Č5
<b>Oolong čaj</b>				
11.	Formosa Fina Oolong	Oxalis	Taiwan	F2
12.	Se Zhong	SMČ	Čína	OS3
13.	Milk Oolong	Oxalis	Čína	O6
14.	Ti Kuan Yin	Oxalis	Čína	OZ1

### **Metoda:**

Pro stanovení chlorofylů byla využita metoda UV-VIS spektroskopie za použití analyzátoru typu CECIL CE 7210 v pásmu vlnových délek 190 - 900 nm. Principem metody byla extrakce chlorofylů v acetonu a feofytinů v etheru a následně měření jeho absorbance při vlnových délkách 642,5 a 660 nm oproti acetonu a etheru jako slepému vzorku. Jejich koncentrace byla stanovena na základě výpočtu a výsledky jsou uváděny v mg na 1 litr čajového nálevu (Davídek, 1984; Wright, 2005).

### **Postup a příprava vzorků:**

Pro spektrofotometrické měření a hodnocení jsme vzali v úvahu doporučení výše uvedeného autora a vzorek jsme tedy připravili následujícím způsobem: (Davídek, 1984).

0,1 g vzorku čaje byl nejprve extrahován v 85 % acetonu a následně byla měřena absorbance oproti acetonu jako slepému vzorku. Poté bylo do vzorku s acetonem přidáno stejné množství etheru a byla opět měřena absorbance oproti etheru jako slepému vzorku. Takto získané absorbance byly přepočítány na aktuální koncentrace chlorofylů a jejich derivátů podle doporučení ve výše uvedené literatuře.

Všechny vzorky byly měřeny celkem 3x a následně byla provedena statistická analýza. Nejprve dostupnými metodami průzkumové analýzy a potom za použití klasického oboustranného Studentova t-testu za využití statistického programu Unistat verze 5,6 společnosti Unistat, Ltd. (Velká Británie).

### VÝSLEDKY

Ve skupině bílých čajů byly měřeny 4 vzorky, v zelených čajů 6 vzorků a ze skupiny oolong 4 vzorky čajů, přičemž každý vzorek byl změřen třikrát a byla tak zjištěna celková koncentrace (v mg/l čajového nálevu) chlorofylů bez rozlišení, chlorofylu *a*, chlorofylu *b*, feofytinu *a* a feofytinu *b*.

Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách (Tab. č. 2 - 4), kde jsou uvedeny průměrné hodnoty ze všech jednotlivých měření.

**Tabulka 2** Průměrné hodnoty chlorofylů a feofytinů u bílých čajů (v mg/l čajového nálevu):

Extrakční činidlo	aceton			ether	
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
B1	0,845	1,358	1,904	0,895	1,256
B2	0,021	0,028	0,053	0,035	0,032
B5	0	0	0	0	0
B6	0,064	0,237	0,123	0,042	0,081

**Tabulka 3** Průměrné hodnoty chlorofylů a feofytinů u zelených čajů (v mg/l čajového nálevu):

Extrakční činidlo	aceton			ether	
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
Č5	1,628	0,248	0,314	0,164	0,207
D6	0,863	0,277	0,420	0,183	0,277
V3	0,304	0,009	0,032	0,006	0,021
Z1	1,429	0,333	0,444	0,220	0,293
zA6	1,982	0,565	0,822	0,373	0,543
ZD7	0,962	0,300	0,045	0,198	0,030

**Tabulka 4** Průměrné hodnoty chlorofylů a feofytinů u čajů oolong (v mg/l čajového nálevu):

Extrakční čínidlo vzorek	aceton			ether	
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
F 2	0,364	0,285	0,733	0,188	0,484
O3	0,072	0,000	0,008	0,000	0,005
O6	0,272	0,342	0,644	0,226	0,425
OZ1	0,003	0,003	0,006	0,002	0,004

Výsledky splnily kritéria průzkumové analýzy mezi než patří nezávislost měřených vzorků, symetrická distribuce naměřených hodnot a nepřítomnost extrémních hodnot. Za vhodný test byl tedy použit Studentův oboustranný t-test na hladině významnosti ( $P < 0,05$ ) a bylo zjištěno, že jak mezi hodnotami zelených, bílých tak i oolong čajů je statisticky významný rozdíl v naměřených hodnotách. Další analýza nebyla prováděna, protože vyžaduje větší rozptyl ve výběru výrobců čajů, aby mohla být využita shluková analýza, která by tak definovala jednotlivé subskupiny čajů v rámci jedné skupiny.

Celkový přehled o koncentraci chlorofylů (v mg/l čajového nálevu) je zobrazen v následující tabulce (Tab č. 5), kde je uvedena průměrná hodnota chlorofylů a feofytinů pro čaj bílý, zelený a oolong.

**Tabulka 5** Celkový přehled o koncentraci chlorofylů a feofytinů v mg/l čajového nálevu v analyzovaných druzích čajů

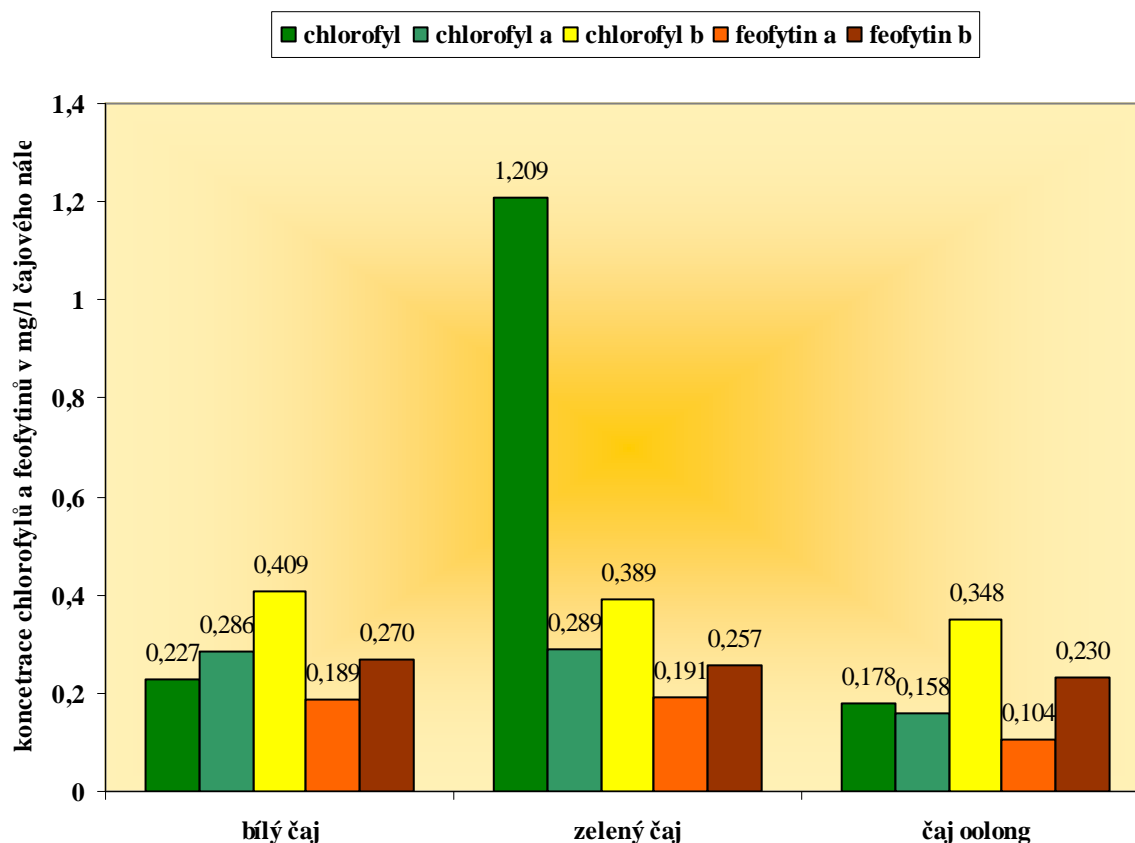
čaj bílý					
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
<b>průměr</b>	0,227	0,286	0,409	0,189	0,270
<b>odchylka</b>	0,376	0,637	0,845	0,420	0,558
<b>počet</b>	12	12	12	12	12
čaj zelený					
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
<b>průměr</b>	1,209	0,289	0,389	0,191	0,257
<b>odchylka</b>	0,861	0,286	0,408	0,189	0,269
<b>počet</b>	18	18	18	18	18
čaj oolong					
	chlorofyl	chlorofyl <i>a</i>	chlorofyl <i>b</i>	feofytin <i>a</i>	feofytin <i>b</i>
<b>průměr</b>	0,178	0,158	0,348	0,104	0,230
<b>odchylka</b>	0,188	0,175	0,420	0,116	0,277
<b>počet</b>	12	12	12	12	12

Jak lze vidět z výše uvedených tabulek, nejvyšší množství chlorofylu nacházíme ve vzorcích zelených čajů (1,209mg/l) a mnohem menší množství pak ve vzorcích bílých čajů (0,227mg/l)

a výrazně nízké ve vzorcích oolongu (0,178mg/l), zatímco chlorofyl *a* a *b* jsou prakticky u všech druhů čajů na stejné úrovni s nepatrnými nevýznamnými rozdíly. Ovšem zajímavé je, že u vzorků bílých a oolong čajů bylo naměřeno v porovnání s chlorofylem výrazněji vyšší množství chlorofylu *b*.

Pro lepší orientaci a jednodušší porovnání jsou průměrné hodnoty chlorofylů u všech třech druhů čajů (bílý, zelený, oolong) vyjádřeny grafickým na obrázku (Obr. č. 2).

**Obrázek 2 Grafické vyjádření průměrné koncentrace chlorofylů a feofytinů u všech třech druhů analyzovaných čajů (v mg/l čajového nálevu)**



Množství feofytinů bylo naměřeno v rozpětí 0,189 - 270 mg/l u bílých čajů, u zelených 0,191 - 0,257 mg/l a u čajů oolong 0,104 - 0,230 mg/l. Jak lze vidět v grafu (Obr. č. 2), tak jejich množství není výrazně rozdílné u žádného druhu námi analyzovaných čajů. Zajímavé zjištění ovšem bylo, že v u zelených čajů je obsah feofytinů v porovnání s chlorofylem a zbylými druhy čaji výrazně nízké.

## DISKUSE A ZÁVĚR

Celkové množství chlorofylu bylo v nejvyšším množství naměřeno u skupiny zelených čajů, přičemž oolong a bílý se od sebe v obsahu chlorofylu statisticky významně neliší.

V porovnání s výsledky Wolfa (1959), který studoval celkový obsah chlorofylů v zelených listech čajovníku čínského a ve vybraných druzích čajů, jsme získali v průběhu experimentální práce v naší laboratoři s našimi výsledky jistou podobnost.

Autor dospěl k hodnotám u zeleného čaje 1,39 mg chlorofylu na g hmotnosti suchých listů a v oolong a černém čaji došel k nižším hodnotám a sice 0,082 mg a 0,101 mg na g hmotnosti suchých listů . Obdobné údaje v poslední době zjistil při analýze větších souborů komerčních čajů i ve své práci Wright (2005), který ovšem nezveřejňuje podrobné údaje potřebné (např. přesný počet vzorků) a proto přesnou shodu jeho výsledků s našimi nemůžeme statisticky vyhodnotit.

Přes výše uvedené jsme na základě našich výsledků prokázali, že zelené čaje obsahují oproti jiným druhům čajů vyšší obsah chlorofylu a tak lze prokázat, že jeho množství je redukováno při technologických operacích, zejména při fermentaci, kdy se rozkládá na jeho deriváty, jako je zejména feofytiny, které mohou ovlivňovat výslednou barvu čajových produktů a nálevů z nich.

## LITERATURA

- BEDÁŇOVÁ, Iveta a kol. 2007. *Základy statistiky pro studující medicíny*. Brno:VFU, 2007. 129 s. ISBN:978-7305-026-9.
- CABALLERO, Benjamin. 2003. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. Amsterdam: Elsevier Comp., 2003. p. 5737 - 5762. ISBN:0-12-227055-X.
- DAOOD, H., G. 2003. Chlorophyll. *Elsevier Science Ltd.*, 2003, p. 1196 -1205.
- DAVÍDEK, Jiří a kol. 1981. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2.vyd. Praha: SNTL. 1981..718 s.
- HEATON, James et col. 1996. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends in Food Science ad Technology*, vol. 7, 1996.
- MELOUN, Milan a kol. 2006. *Kompndium statistického zpracování dat*. 2.vyd. Praha:Academia. 2006. 982. s. ISBN:80-200-1396-2.
- PINGHAI, Ding. 2006. *Use of nondestructive spectroscopy to assess chlorophyll and nitrogen in fresh leaves*. Dissertation. Oregon: Oregon State University, 2006, s. 221.
- OWUOR, P.,O. 2003. Tea/Chemistry. *Science Ltd.*, 2003, p. 5743 - 5751.
- VELÍŠEK, Jan. 1999. *Chemie potravin 3*. 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 368 s. ISBN:80-902391-5-3.
- WRIGHT, L .P. 2005. *Biochemical analysis for identification of quality in black tea (Camellia sinensis)*. Dissertation. Pretoria: University in Pretoria, 2005, s. 216.
- WOLF, F.,W., 1959. The chlorophyll Content of Tea. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, vol. 86, no. 3, 1959, s.184 - 189.

## Kontaktní adresa:

Ing. Martina Ošťádalová, Ústav vegetabilních potravin a rostlinné produkce, Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, Palackého 1/3, 612 42 Brno-Královo Pole  
Email: [m.ostadalova@gmail.com](mailto:m.ostadalova@gmail.com)