

### **Bestimmung des Antioxidantien-Gehalts in grünem und schwarzem Tee**

**Julia Franz und Karin Krumbholz, Forschungsprojekt im Rahmen von „Jugend forscht“**

Im Rahmen des jährlichen Bundeswettbewerbs „Jugend forscht“ haben sich in diesem Jahr zwei Schülerinnen des Hanns-Seidel-Gymnasiums, Hösbach, Julia Franz und Karin Krumbholz dem Thema „Tee und seine Inhaltsstoffe“ gewidmet. Das Forschungsprojekt lief in der Rubrik Chemie. Untersucht wurde der Antioxidantien-Gehalt von grünem und schwarzem Tee in Abhängigkeit verschiedener Parameter. Julia Franz und Karin Krumbholz haben die Ergebnisse der Arbeit zusammengefasst.

#### **Einleitung**

Das Leben an sich kann als elektrochemischer Prozess und der Stoffwechsel lebender Organismen als Ladungstransfer beschrieben werden [1]. Tiere und Menschen brauchen die permanente Zufuhr hoch geordneter Substanzen, die grüne Pflanzen bei der Fotosynthese produzieren.

Energielieferant für alle Stoffwechselprozesse ist der unablässig stattfindende Fluss der Elektronen oder der Wasserstoff-Atome von hoch aktivierten Ausgangsprodukten (Nahrungsmitteln) zum Sauerstoff. Experten sind der Ansicht, der moderne Mensch unterliege einem oxidativen Stress, er sei chronisch prooxidativ belastet, weil sein Bedarf an antioxidativen Mikronährstoffen nicht mehr gedeckt wird [1].

#### **Antioxidantien und ihre Wirkungen**

Unter Antioxidantien versteht man allgemein Zusätze zu sauerstoffempfindlichen Stoffen, die Oxidationen verhindern. Natürliche Antioxidantien sind u. a. die Vitamine C und E. Für die Prophylaxe und Therapie von Krankheiten eröffnet sich mit der Wiederentdeckung der großen Bedeutung von Antioxidantien, vor allem von Vitaminen, ein weites Feld.

Fachleute sind der Ansicht, dass der Anteil an Antioxidantien in der Nahrung mit farbigen und frischen, naturbelassenen Lebensmitteln steigt. Diese enthalten sekundäre Pflanzenwirkstoffe, die zusammen antioxidativ wirken. Dazu gehören neben

phenolischen Verbindungen wie Flavonoiden, Salicylsäure und Anthocyanen (z. B. aus Blau-, Brom-, Heidel-, Holunderbeeren, Rotkraut) auch schwefelhaltige Substanzen und andere Stoffe.

Es gibt Hinweise darauf, dass Vertreter unter den Antioxidantien u. a. bakterizid, viruzid, mykozid und antikarzinogen wirken, Schwermetalle binden, deren Ausscheidung verstärken, Entzündungen und Allergien vorbeugen und Blutdruck, Blutzucker und Cholesterin senken.

### **Freie Radikale**

Der Begriff „Radikalfänger“ wird häufig synonym zur Bezeichnung „Antioxidantien“ verwendet. Bei allen Stoffwechselschritten treten die umgesetzten Substrate für Bruchteile von Sekunden auch im radikalischen Zustand auf [3]. Gebildet werden sie in allen Reaktionsräumen der Zellen und auch außerhalb der Zellen in den Körperflüssigkeiten.

Verlaufen die radikalischen Reaktionen enzymatisch reguliert und werden sie durch die Vielzahl der Radikalfangmechanismen kontrolliert, so ist der Organismus gesund. Sind sie aber unkontrolliert oder funktionieren die Auffangmechanismen nicht, können Schäden auftreten. Wenn die vorhandenen Entgiftungsmechanismen durch ein Übermaß an freien Radikalen überstrapaziert werden, so spricht man vom „Oxidativen Stress“ [4]. Dauert dieser Zustand bei einem Menschen latent an, erhöht sich die Gefahr zu erkranken.

### **Tee und seine antioxidativen Wirkstoffe**

Die chinesische Teepflanze *Camellia sinensis*, aus der grüner Tee und schwarzer Tee entstehen, ist seit 5.000 Jahren bekannt. Im Gegensatz zum grünen Tee ist der schwarze Tee fermentiert. Bei der Fermentation laufen verschiedene chemische und enzymatische Prozesse ab. Aus phenolischen Verbindungen, die sich vom Catechin ableiten, bilden sich

hochmolekulare Stoffe. In beiden Teesorten finden sich zahlreiche niedermolekulare, im schwarzen Tee auch hochmolekulare Flavonoide.

### Gesamtgehalt der Antioxidantien im Tee

Etwa 80 Prozent des Gesamtpolyphenolgehaltes des grünen Tees entfallen auf die Catechine, von denen behauptet wird, dass sie „starke Antioxidantien sind und gegen Sauerstoffradikale zehnmal potenter wirken als Vitamin C und  $\beta$ -Carotin“ [5]. Auch die Mutationshäufigkeit von Körperzellen soll unterbunden werden. Insgesamt wird behauptet, dass grüner Tee das Altern verlangsamt und die Krebsbildung hemmt.

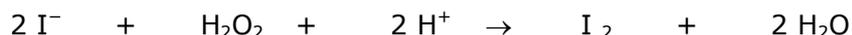
Hinter den Antioxidantien des Tees verbirgt sich ein komplexes Gemisch an Wirkstoffen, dessen Charakterisierung sehr aufwändig ist. Es sollte daher ein Summenparameter für Antioxidantien gefunden werden, mit dem Ziel, einen einfachen analytischen Test zur quantitativen Bestimmung des Gesamtgehaltes der Antioxidantien im Tee zu entwickeln. Als Grundlage der Arbeit wurde zunächst die Antioxidantien-Nachweismethode von Speidel und Stobe angewendet.<sup>1</sup>

### Untersuchungsmethoden und Beschreibung der Ergebnisse

Grundsätzlich kann man wohl sagen, dass alle antioxidativen Substanzen im Teeaufguss reduzierend wirken, indem sie  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Elektronenübertragung in Wasser überführen:



Zur Bestimmung der Konzentration an nicht umgesetzten  $\text{H}_2\text{O}_2$  wurde die folgende Reaktion benutzt:



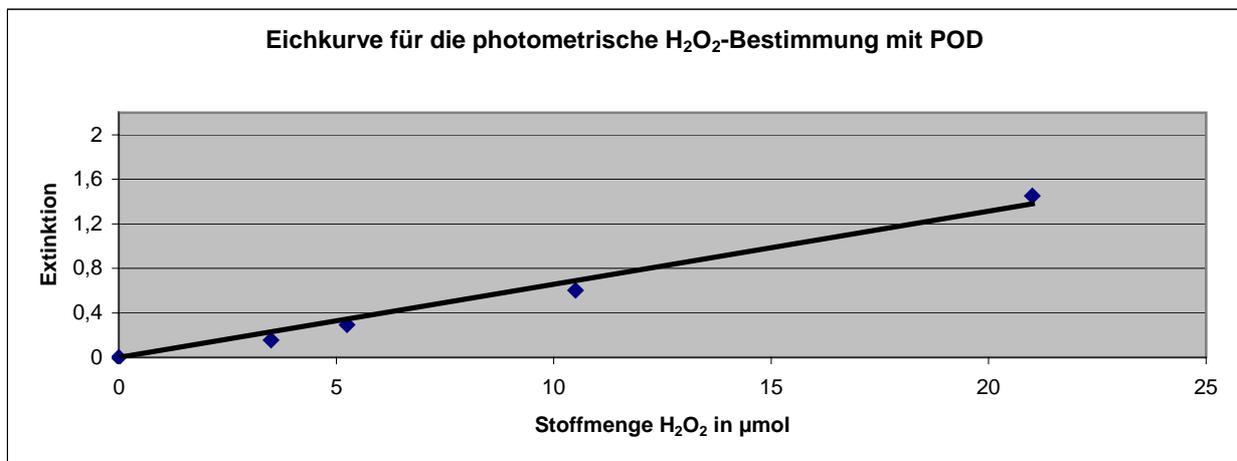
---

<sup>1</sup> *Speidel und Stobe* [6] wenden zum quantitativen Nachweis von Antioxidantien die Modifikation einer Vorschrift nach *Yen und Chen* [7] an. Danach wird eine Probe eines Teeaufgusses mit Wasserstoffperoxid-Lösung versetzt, welche wie freie Radikale reagieren. Diese werden von den Antioxidantien im Tee reduziert und somit unschädlich gemacht. Das nicht umgesetzte Wasserstoffperoxid bildet mit zugegebenem Eisen einen dunkelroten Eisenthiocyanato-Komplex, der fotometrisch bei 500 nm quantitativ erfasst wird.

## Wissenschaftlicher Informationsdienst Tee

Die quantitative Erfassung erfolgt über die fotometrische Bestimmung des blauen Iod-Stärke-Komplexes bei 578 nm nach Erstellung einer Eichkurve. Diese wird über eine Verdünnungsreihe mit definiertem  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Gehalt aus einer Stammlösung abgeleitet, deren Konzentration mit einer Kaliumpermanganat-Maßlösung exakt bestimmt wurde. Während die Entstehung von Iod und ihr visueller Nachweis über die Iod-Stärke-Reaktion eine  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration von mindestens 30mg/l benötigt [9] und in der Regel zeitlich stark verzögert einsetzt, gelingt es über die hochsensitive Katalyse mit Peroxidase (POD), die Iodbildung zu beschleunigen und bereits mit einer  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration von 0,3 mg/l fotometrisch zu detektieren [9, 10].

Es wurden 5 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung der Konzentration  $c = 0,01525 \text{ mol/l}$  (bei geringeren Konzentrationen von Antioxidantien:  $c = 0,01075 \text{ mol/l}$ ) zu 5 ml Teeaufguss pipettiert und das Gemisch 15 Minuten gerührt. Die pH-Werte der Teeaufgüsse liegen im leicht sauren Bereich, so dass für die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Reduktion keine weitere Säurezugabe erforderlich ist.



**Abb. 1: Eichkurve für die photometrische  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Bestimmung mit POD über den Iod-Stärke-Komplex**

Zur fotometrischen Bestimmung wurde folgendes Pipettierschema angewandt:

1 ml KI ( $c(\text{KI}) = 0,1 \text{ mol/l}$ )	1 ml POD-Lösung (2 mg POD in 100 ml 0,1 molarem Phosphatpuffer, pH = 7)
1 ml Stärke-Lösung ( $w = 1\%$ )	0,1 ml Probelösung

Die fotometrische Auswertung wurde immer exakt acht Minuten nach der POD-Zugabe vorgenommen. Kontrollmessungen zeigen, dass die Iodid-Oxidation dann als beendet gelten kann.

### Die „Reduktive Kapazität“ als Summenparameter für Antioxidantien

Um das Reduktionsvermögen des Tees zu bestimmen, wurde über die Stoffmenge des noch vorhandenen  $\text{H}_2\text{O}_2$  die im Teeaufguss von Antioxidantien abgegebene Stoffmenge an Elektronen berechnet. Dies geschieht auf der Basis folgender Gleichung:



Über die Extinktionswerte der Eichkurve konnte den verschiedenen Teeaufgüssen eine nicht reduzierte Restmenge an  $\text{H}_2\text{O}_2$  zugeordnet werden. Dazu wurden zu 5 ml Teeaufguss jeweils 76,25  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (entspricht 5 ml der hergestellten  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung) gegeben. Bei geringeren Stoffmengen an Antioxidantien waren es 53,75 bzw. 26,9  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ . Zur Kennzeichnung des Reduktionsvermögens und als Summenparameter für Antioxidantien im Tee wird hier der Begriff „Reduktive Kapazität“ verwendet. Er ergibt sich als Stoffmenge der von Antioxidantien auf  $\text{H}_2\text{O}_2$  übertragenen Elektronen über folgende Gleichung:

$$\text{Reduktive Kapazität} = (76,25 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 - \text{Restmenge H}_2\text{O}_2) \times 2 \times 40$$

Der Faktor 2 steht für die Elektronen, die ein  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Molekül bei der Reduktion zu Wasser benötigt. 40 (30) ist der Umrechnungsfaktor von der 5-ml-Teeprobe auf eine Tasse mit 200 ml (150 ml) Inhalt. Die Erfassungsgrenze der „Reduktiven Kapazität“ über die fotometrische Bestimmung liegt bei diesen Ansätzen bei ca. 500. „Reduktive Kapazität“ wird dabei als dimensionslose Zahl gebraucht, auch wenn sie die Stoffmenge der Elektronen in  $\mu\text{mol}$  angibt. Die „Reduktive Kapazität“ sollte aber noch weiter konkretisiert werden. Dazu wurden ihr Äquivalente an Reinstoffmustern zugeordnet, deren antioxidativer Charakter unbestritten ist. Ascorbinsäure scheint ein geeigneter Standard zu sein, da ihr Reduktionsvermögen in Labor und Natur eine breite Anwendung findet.

**„Reduktive Kapazität“:**

3.200 Einheiten entsprechen 320 mg Vitamin C

**Antioxidantien in Teeaufgüssen – Einfluss der Aufgusstemperatur**

Um den Einfluss der Aufgusstemperatur herauszufinden, wurden exemplarisch ein Grüntee im Teebeutel und ein loser Grüntee ausgewählt. Bei allen Versuchen wurde, wie vom Hersteller empfohlen, eine Brühzeit von drei Minuten eingehalten. Die Auswertung zeigt, dass die Stoffmenge der Elektronenlieferanten bei beiden Teesorten tatsächlich von der Brühtemperatur abhängt. Der lose Blatttee liefert in niederen Temperaturbereichen kaum Antioxidantien. Eine merkliche Extraktion findet erst zwischen 50 und 80 °C statt, wobei bei 80 °C schon das Maximum erreicht ist.

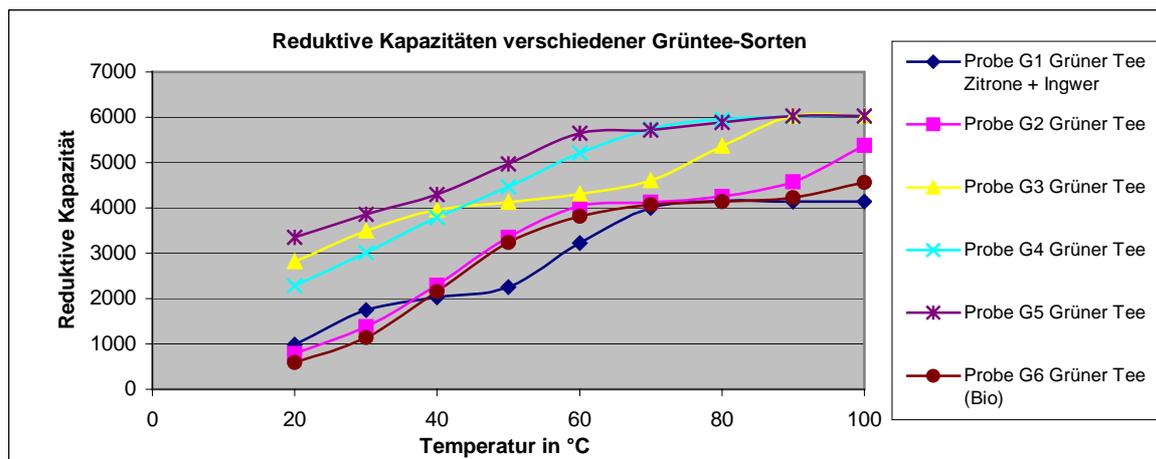
**Blattgrad der Teeblätter**

Die Unterschiede zwischen Beutel-Tee (Maximum = 6.100) und losem Blatttee (Maximum = 4.200) spiegeln, wie nachfolgend beschrieben, den Blattgrad bzw. die Teilchengröße des Tees wider. Das Teematerial im Beutel ist nahezu pulvrig fein und bietet somit dem Extraktionsmittel Wasser eine deutlich größere Oberfläche. Wie bei Lösungsvorgängen und Reaktionsgeschwindigkeiten hängt auch der Extraktionsgrad von der Oberfläche des Extraktionsgutes ab. Während die Probe A, ein biologischer Tee im Beutel, bei einer hohen Brühtemperatur von 80 °C immerhin auf eine reduktive Kapazität von 4.140 pro Tasse kommt, enttäuscht scheinbar der lose biologische Grüntee der gleichen Marke (Probe B). Auch bei zunehmender Brühtemperatur fällt er deutlich ab. Die Vermutung, dass dies mit dem Blattgrad des Tees zusammenhängt, wurde im Experiment bestätigt. Werden die groben Blattstücke des losen Tees (Probe B) im Mörser klein gemahlen und dann mit Wasser übergossen, liefert das feinere Material eine ähnliche reduktive Kapazität wie Beutel-Tee (Blatttee: 2.847, gemahlener Blatttee: 4.154, jeweils bei einer Brühtemperatur von 70 °C) .

**Vergleich: Gehalt von Antioxidantien im grünen und schwarzen Beutel-Tee**

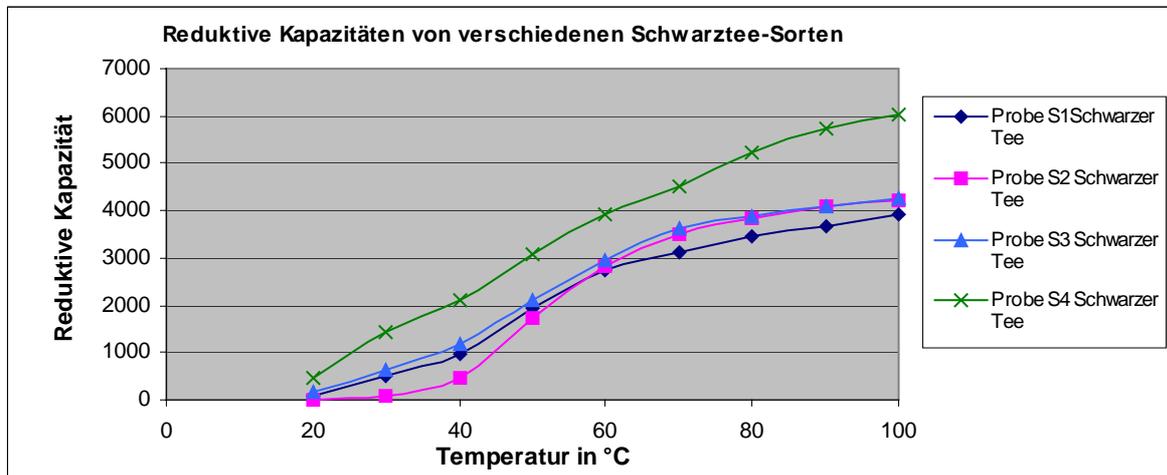
Zunächst wurden Vergleiche zwischen verschiedenen Grüntee-Sorten, die als Teebeutel im Angebot sind, angestellt. Wie sich zeigte, erreichen drei der sechs getesteten Sorten

schon bei niedrigen Brühtemperaturen ein hohes Maß an reduktiver Kapazität. Auch bei hohen Temperaturen zeichnen sich die drei Testsieger in der „Teebeutel-Klasse“ durch Spitzenwerte aus. Unter den Spitzenreitern waren sowohl Hersteller- als auch Handelsmarken.



**Abb. 2: Reduktive Kapazitäten von verschiedenen grünen Tees im Beutel in Abhängigkeit von der Aufgusstemperatur (2 g Tee/200 ml Wasser)**

Da sich schwarzer Tee im Wesentlichen nur durch die Fermentation vom Grüntee unterscheidet, lag es nahe, auch diesen zu überprüfen. Die Ergebnisse zeigen, dass die meisten schwarzen Tees bezüglich ihres Antioxidantien-Gehaltes mit den Grüntees der unteren Kategorie vergleichbar sind. Ausnahme ist die Probe S4. Dieser Schwarztee kann sich mit den besten grünen Tees messen. Im Unterschied zu den Grünteesorten, die bereits bei 70–80 °C ein hohes Antioxidantien-Niveau mit einem submaximalen Wert erreichen, steigt die reduktive Kapazität bei Probe S4 nahezu linear mit der Aufgusstemperatur an.

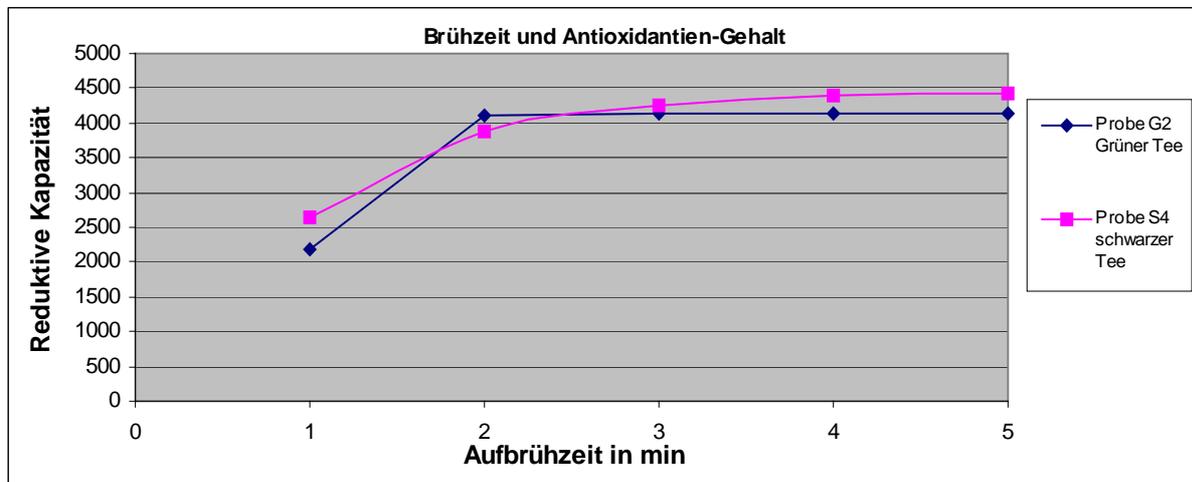


**Abb. 3: Antioxidantien-Gehalt von schwarzen Tees im Beutel in Abhängigkeit von der Aufgusstemperatur (2 g Tee/200 ml Wasser)**

Die Diagramme in Abb. 2 und 3 spiegeln die Löslichkeit der Polyphenole in den beiden Teearten wider. Die höhermolekularen Gerbstoffe in den fermentierten schwarzen Tees benötigen höhere Temperaturen, um von Wasser extrahiert zu werden.

### **Einfluss der Brühzeit auf den Antioxidantiengehalt in Tee**

Von Interesse war auch der Einfluss der Brühzeit auf die reductive Kapazität. Zum Vergleich wurden ein grüner (Probe G2) und ein schwarzer Tee (Probe S4) – beide vom gleichen Hersteller – bei 70 °C aufgebrüht. Dann wurden die Antioxidantien bei konstanter Temperatur in den 1-, 2-, 3-, 4- und 5-Minuten-Extrakten bestimmt.



**Abb. 4: Antioxidantien-Gehalt im grünen und schwarzen Tee bei 70 °C in Abhängigkeit von der Brühzeit**

Die Auswertung zeigt, dass sich der schwarze und der grüne Tee hinsichtlich der Antioxidantien-Extraktion weitgehend analog verhalten.

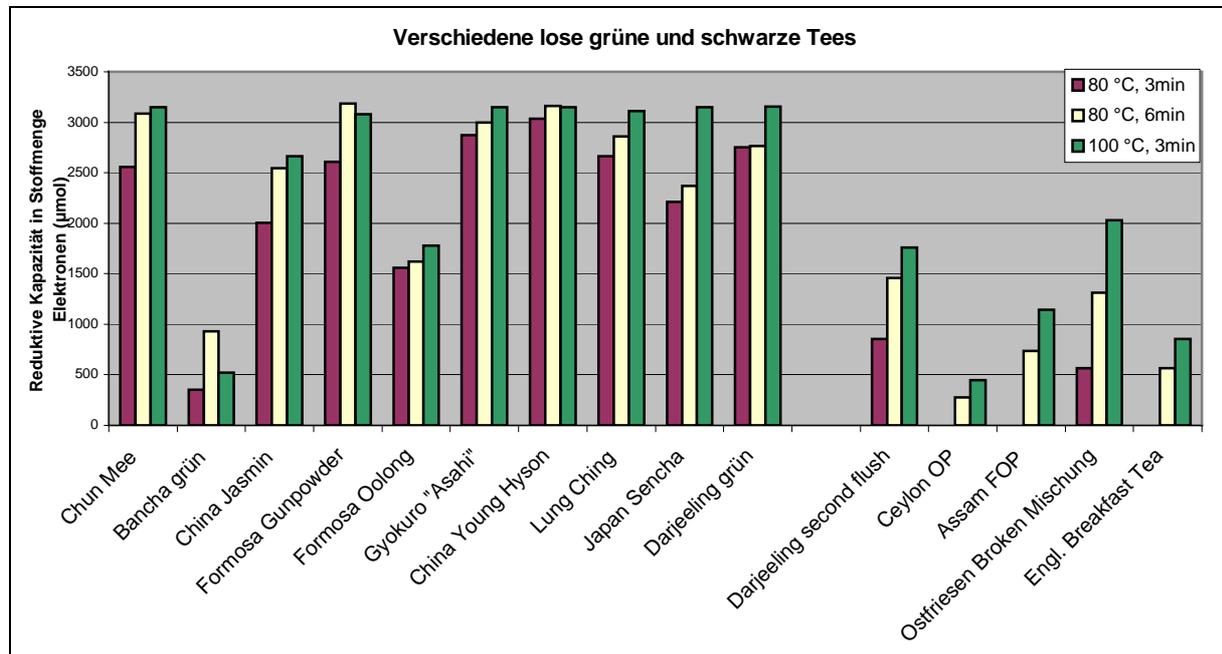
Nach einer empfohlenen Brühzeit von drei Minuten beträgt die reduktive Kapazität beim schwarzen Tee 4.267, nach fünf Minuten 4.419. Dies bedeutet, dass dem Teetrinker nach zwei Minuten Brühzeit ca. 87 Prozent, nach 2,5 Minuten ca. 92 Prozent und nach drei Minuten 96 Prozent der potenziellen reduktiven Kapazität zur Verfügung stehen<sup>2</sup>.

### Aufgusstemperatur von losem grünen und schwarzen Tee

Nach eingehender Beratung im Teeladen wurden für die Untersuchungsreihe hochwertige lose Grün- und Schwarzteesorten ausgewählt. In Abb. 5 beziehen sich die ersten zehn Säulen des Diagramms auf Grüntees, die letzten fünf auf schwarze Tees. Deutlich zurück liegen der „Bancha grün“ (was wegen der sehr groben Blattstücke nicht wundert) und der wegen seiner blutzuckersenkenden Wirkung [12] gelobte „Oolong“.

Gewinner ist die Sorte „China Young Hyson“. Vom Oolong-Tee ist bekannt, dass es sich um einen teilfermentierten Tee handelt. Das erklärt, warum seine Werte mehr zu den Schwarztee-Sorten tendieren.

<sup>2</sup> Bei den Untersuchungen zeigte sich, dass die Kurve ab 4 min konstant war und sich somit unter diesen Bedingungen nicht mehr Antioxidantien herauslösen lassen. Deshalb wurde der Wert nach 5 Minuten Brühzeit als 100 % gesetzt.



**Abb. 5: Reduktive Kapazitäten von losen Tees bei 80/100 °C Aufgusstemperatur und 3/6 min Brühzeit (2 g Tee/150 ml Wasser)**

Wie schon bei den Teebeuteln, fallen auch bei den losen Tees die schwarzen hinter die grünen zurück. Grundsätzlich lagen die Werte für die losen Tees deutlich unter denen der Teebeutel. Beim Vergleich der Werte wurden die unterschiedlichen Aufgussvolumina rechnerisch korrigiert. Der Hauptgrund dafür dürfte die unterschiedliche Blattgröße sein.<sup>3</sup> Bei einer Aufgusstemperatur von 100 °C nähert sich die Mehrzahl der Grüntees dem Spitzenwert von 3.100. Die Verdoppelung der Brühzeit auf sechs Minuten hat bei allen Tees einen steigernden Effekt.

Am deutlichsten fiel er bei „Chun Mee“ (20 %), „Bancha grün“ (160 %) und „Formosa Gunpowder“ (20 %) aus. Die extreme Steigerung beim Bancha kann aufgrund der durchgeführten Experimente nicht erklärt werden. Schwarze Tees liefern vergleichbare Ergebnisse.

<sup>3</sup> Trockenmasse = die Masse der zerteilten Teeblätter im trockenen Teebeutel (bei losen Tee wurde ein gehäufte Teelöffel Teeblätter mit ca. 2g verwendet). Für losen Tee wurden statt 200ml nur 150ml Wasser verwendet, da loser Tee traditionell aus kleinen Tasse getrunken wird.

### **Aufguss-Rituale**

Mehrfachaufgüsse, wie sie bei bestimmten asiatischen Tee-Ritualen zelebriert werden, haben in der Versuchsreihe, die nur den Summenparameter Antioxidantien erfasst und weitere gesundheitlich relevante Inhaltsstoffe des Tees unberücksichtigt lässt, zu keinen positiven Ergebnissen geführt. Bereits beim zweiten Aufguss des „China Young Hyson“-Tees liegen die Antioxidantien unterhalb der Erfassungsgrenze, wenn beim ersten Aufguss eine Brühzeit von drei Minuten eingehalten wird. Es gibt auch Teetrinker, die den ersten Aufguss nach einer Minute Brühzeit grundsätzlich verwerfen und den zweiten Aufguss trinken. Bei „China Young Hyson“ liegt die reduktive Kapazität dann nur noch in der Größenordnung von 1.000.

### **Fazit**

Nach Abschluss dieser Untersuchungen bleibt die Erkenntnis, dass sowohl grüner als auch schwarzer Tee eine gesundheitsfördernde Wirkung im Sinne einer „antioxidativen Therapie“ entfalten. Dabei ist der Gehalt an Antioxidantien in grünem Tee vergleichsweise höher als in schwarzem Tee. Im Unterschied zu den Grünteessorten, die bereits bei 70–80 °C ein hohes Antioxidantien-Niveau erreichen, steigt die reduktive Kapazität bei den Schwarztees mit der Aufgusstemperatur an. Sowohl beim grünen als auch beim schwarzen Tee schnitten die Proben in Teebeuteln besser ab als die losen Blatttees. Grund hierfür ist der Zerteilungsgrad der Trockensubstanz. Das Teematerial im Beutel ist nahezu pulvrig fein und bietet somit dem Extraktionsmittel Wasser eine deutlich größere Oberfläche. Durch Verdoppelung der Brühzeit von drei auf sechs Minuten, die zur Extraktion der schwerer löslichen höhermolekularen Polyphenole führt, lässt sich jedoch der Antioxidantien-Gehalt in allen losen Tees steigern.

**Literatur:**

- [1] G. Wolf, Ch. Rey in „Vom Lebendigen in Lebensmitteln“, Hrsg. M. Hoffmann, DEUKALION Verlag, Holm, 1997
- [2] K. Höner, R. Cervellati, „Visualisierung des Effektes von Radikalfängern mit Hilfe eines oszillierenden Systems“, Chemkon, 7. Jahrg. 2000, S. 141f.
- [3] H.M. Kalkar, „Mesomeric concepts in biology“ in Currents in biochemical research, New York, 1946
- [4] H. Heinrich, Ch. Rey in „Vom Lebendigen in Lebensmitteln“, Hrsg. M. Hoffmann, DEUKALION Verlag, Holm, 1997
- [5] G. Metz, Phytamine, Teetrinken ist Königsdisziplin, Eschborn, GOVI-Verlag, Blaubereun, 2000, <http://www.offizin.de/pza/2000-31/pharm4.htm>, Stand 06.01.02
- [6] S. Speidel, C. Stobe, „Grüner Tee – Der Gehalt an antioxidativen Wirkstoffen in grünem Tee in Abhängigkeit von seiner Aufgusstemperatur“, PdN-ChiS 4/52. Jg. 2003, S. 2
- [7] G.-C. Yen und H.Y. Chen, Antioxidant activity of various tee extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food Chem. 43, S. 27–32 (1995) und G-C. Yen, H.Y. Chen und H.-H. Peng, Antioxidant and prooxidant effects of various tea extracts, J. Agric. Food Chem. 45, S. 30–35 (1997)
- [8] H.R. Christen, Grundlagen der allgemeinen und anorganischen Chemie, Verlag Sauerländer/ Diesterweg-Salle, Aarau/ Frankfurt, 1973, S. 467
- [9] Androic, D. Scherr, „Zur enzymatischen Bestimmung von Glucose und Wasserstoffperoxid“, PdN-Ch., 3/49, Jahrg. 2000, S. 41f.
- [10] D. Scherr, „Die enzymatische Katalyse, hochwirksam und sehr sensitiv!“, Chemkon, 7. Jahrg. 2000, Nr. 3, S. 127ff.
- [11] J. Zittlau, Grüner Tee, Südwest Verlag, 1998
- [12] Praxis-Depesche (Schnellinformation für den niedergelassenen Arzt), Heft 5/2004, S. 14