

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej



Justyna Brzezicha-Cirocka

„Ocena bromatologiczna i chemometryczna wybranych gatunków herbat oraz ich naparów na podstawie ich składu mineralnego”

Praca doktorska z zakresu
nauk farmaceutycznych wykonana
w Katedrze i Zakładzie Bromatologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor pracy:
prof. dr hab. n. farm. Piotr Szefer

Promotor pomocniczy:
dr hab. n. farm. Małgorzata Grembecka

Gdańsk, 2017

„Niech żywność będzie lekarstwem...”

Hipokrates ok. 460-377 p.n.e.

Badania opracowane w niniejszej rozprawie doktorskiej zostały sfinansowane ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) przyznanych na podstawie decyzji nr MNiSW-DS-6002-4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r. na lata 2012-2017.



Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący

Podziękowania

*Składam serdeczne podziękowania
Panu Profesorowi Piotrowi Szeferowi za
opiekę naukową, cenne wskazówki,
życzliwość i zaufanie, którym obdarzył mnie
w trakcie realizacji pracy doktorskiej.*

*Dr hab. Małgorzacie Grembeckiej za miłe
przyjęcie, poświęcony czas i pomoc w
powstawaniu niniejszej rozprawy.*

*Pani Profesor Annie Lebedzińskiej za
współpracę naukową oraz życzliwe uwagi.*

*Współpracownikom za przyjazną i twórczą
atmosferę.*

*Moim rodzicom dziękuję za wychowanie,
zrozumienie, wsparcie i wiarę we mnie w
trudnych chwilach. Dziękuję im za to, że
zawsze mogę na nich liczyć i że są dla mnie
impulsem by dążyć do wyznaczonego celu.*

Wykaz skrótów:

CA	analiza skupień
CTC	(crush, tear, curl) maszyna używana w obróbce technologicznej herbaty
EFSA	Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności
FA	analiza czynnikowa
FAAS	atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w płomieniu
FT-NIRS	spektroskopia w bliskiej podczerwieni
GC-MS	spektrometria gazowa sprzężona z spektrometrią mas
¹ HNMR	magnetyczny rezonans jądrowy
HPLC	wysokosprawna chromatografia cieczowa
ICP-MS	spektrometria mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie
LDA	liniowa analiza dyskryminacyjna
PCA	analiza głównych składowych
PTWI	tymczasowe tolerowane tygodniowe pobranie
RDA	rekomendowane dzienne spożycie
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia

Spis treści

I.	<i>Wprowadzenie</i>	6
II.	<i>Cel badań</i>	11
III.	<i>Wyniki i dyskusja</i>	12
	1. Ocena zawartości wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w liściach herbaty dostępnych w sprzedaży na rynku krajowym.....	12
	2. Oszacowanie stopnia spożycia biopierwiastków oraz narażenia na metale toksyczne wskutek spożycia herbaty w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych... 20	
	3. Bromatologiczna ocena zawartości szczawianów i ich wpływu na zdrowie człowieka w wyniku konsumpcji wybranych rodzajów herbaty	29
	4. Analiza chemometryczna próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia geograficznego, konfekcji i typu.....	33
IV.	<i>Wnioski</i>	41
V.	<i>Literatura</i>	42
VI.	<i>Dorobek naukowy</i>	54
VII.	<i>Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy</i>	56
VIII.	<i>Załączniki</i>	57
	Załącznik I.....	58
	Załącznik II	70
	Załącznik III	84
	Załącznik IV	96
IX.	<i>Oświadczenia</i>	104
X.	<i>Streszczenie w języku polskim</i>	110
XI.	<i>Streszczenie w języku angielskim</i>	112

I. Wprowadzenie

Racjonalne żywienie jest jednym z najważniejszych elementów w prewencji chorób przewlekłych i cywilizacyjnych m.in. chorób układu sercowo-naczyniowego, nowotworowych oraz cukrzycy i osteoporozy (Jarosz i Pachocka 2010). Ich profilaktyka jak również leczenie powinno opierać się na prawidłowej kompozycji posiłków, zawierających odpowiednie proporcje składników odżywczych, które mają za zadanie służyć właściwemu funkcjonowaniu organizmu ludzkiego. Odpowiednio zbilansowana i urozmaicona dieta przyczynia się też do zmniejszenia ryzyka rozwoju powikłań (zakażenia układu oddechowego i moczowego) (Jarosz i Pachocka 2010).

W 2012 roku zostały ogłoszone przez Instytut Żywności i Żywienia znowelizowane normy żywienia dotyczące takich składników odżywczych jak węglowodany, białka, tłuszcze, ale także witaminy i składniki mineralne. Ponadto, w 2016 r. została przedstawiona nowa piramida zdrowego żywienia i aktywności fizycznej (Rys. 1), w której nastąpiła zmiana podstawy, tj. warzywa i owoce zamieniły się miejscami z produktami pełnoziarnistymi. Miało to na celu promowanie większego spożycia warzyw i owoców, które są cennym źródłem składników mineralnych, błonnika, witamin oraz związków polifenolowych, korzystnie wpływających na nasz organizm, zmniejszając zachorowalność oraz umieralność na nowotwory (Nowak i Klimowicz 2013). Po raz pierwszy w nowej piramidzie żywienia znalazła się herbata, która jest cennym źródłem polifenoli w diecie człowieka. Napar z liści herbacianych stanowi jeden z najbardziej popularnych napojów na świecie (Shen i Chen 2008), a jej średnie spożycie w Polsce sięga 2-3 filiżanek dziennie, podczas gdy 20% populacji spożywa ją od 4 do 5 razy na dzień (Wojciechowska-Mazurek i in. 2010).

Herbata obejmuje sześć podstawowych kategorii, wśród których wyróżnia się herbaty białe, żółte, zielone, oolong, czarne oraz Pu-erh (McKenzie i in. 2010; Desideri i in. 2011).

Spośród wymienionych tylko trzy rodzaje, tj. zielone, oolong oraz czarne są rozróżniane ze względu na stopień fermentacji liści (Mehra i Baker 2007; Mandiwana i in. 2011). Kolejne etapy procesu fermentacji są odpowiedzialne za uzyskanie odpowiedniego aromatu i barwy końcowego produktu (Herrador i Gonzalez 2001; Costa i in. 2002; Mandiwana i in. 2011). Skład chemiczny liści herbacianych jest bardzo złożony, gdyż zawierają one w suchej masie: 26% błonnika, 15-20% białka, 1-4% aminokwasów, 5-7% węglowodanów, 7% tłuszczów oraz 5% składników mineralnych (Chacko i in. 2010). Zawartość tych składników w naparach jest znacznie mniejsza, gdyż białka i tłuszcze występują w nich w śladowych ilościach, a aminokwasy i składniki mineralne na poziomie od 3,5 do 4,5% (Chacko i in. 2010).



Rys. 1. Piramida zdrowego żywienia i aktywności fizycznej (<http://www.izz.waw.pl/pl/strona-gowna/3-aktualnoci/aktualnoci/555-naukowcy-zmodyfikowali-zalecenia-dotyczace-zdrowego-zywienia>).

Pierwiastki, które wchodzą w skład liści herbacianych, pełnią w organizmie szereg ważnych funkcji (Gröber 2010):

- wapń (Ca), magnez (Mg), fosfor (P), krzem (Si) i fluor (F) są niezbędnymi składnikami budulcowymi kości, zębów czy włosów, kofaktorami reakcji enzymatycznych (np.: synteza glikogenu, glukozy, kwasów tłuszczowych), ale także biorą udział w utrzymaniu równowagi kwasowo-zasadowej (Jarosz i Pachocka 2010, Gröber 2014)
- kobalt (Co), miedź (Cu), żelazo (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), selen (Se) i cynk (Zn) są kluczowymi elementami takich ważnych enzymów jak dysmutaza ponadtlenkowa, oksydaza aminowa, katalaza, peroksydaza, fosfataza alkaliczna, przy czym są również niezbędne w przebiegu wielu procesów biochemicznych, tj. metabolizmie żelaza, procesach oksydacyjno-redukcyjnych, wytwarzaniu energii komórkowej, detoksykacji wolnych rodników oraz tworzeniu tkanki łącznej (Jarosz i Pachocka 2010, Gröber 2014; Kabata-Pendias i Szteke 2015)
- jod (J), wapń (Ca), chrom (Cr), magnez (Mg) i cynk (Zn) biorą udział w budowie i działaniu hormonów tarczycy, hormonów płciowych i hormonów wzrostu, a ponadto w budowie białek, glutationu i kwasów nukleinowych (Jarosz i Pachocka 2010, Gröber 2014; Kabata-Pendias i Szteke 2015)
- sód (Na) i potas (K) odpowiadają za regulację potencjału błonowego komórki, przewodnictwo impulsów w komórkach nerwowych i mięśni, prawidłowego funkcjonowania mięśnia sercowego oraz regulację ciśnienia krwi (Jarosz i Pachocka 2010, Gröber 2014)

Zawarte w liściach herbaty substancje biologicznie aktywne takie jak polifenole, taniny i szczawiany (Szymczycha-Madeja i in. 2012) mają tendencję do tworzenia związków kompleksowych z pierwiastkami. Chcąc ocenić stopień dostępności biopierwiastków z

herbaty, należy określić ich stopień ługowania oraz realizację dziennego zapotrzebowania. Jednakże zawartość tych składników w produkcie i oszacowanie ich pobrania w wyniku spożycia herbaty, nie jest wystarczające do określenia ich biodostępności. Należy również wziąć pod uwagę formę, w jakiej one występują, ich zdolność do tworzenia kompleksów oraz przechodzenia przez błony komórkowe (Jarosz i Pachocka 2010). Problem biodostępności danego składnika mineralnego może często występować na etapie wyodrębnienia go ze spożywanego produktu.

Szczawiany są substancjami antyodżywczymi, które mają znaczący wpływ na dostarczane do organizmu pierwiastki takie jak Fe, Cu, Zn i inne metale dwu- lub trójwartościowe. Herbata zawiera ich znaczące ilości (Sperkowska i Bazylak 2010 a i b), co może skutkować niekorzystnym wpływem na zdrowie człowieka. Zbyt duże spożycie tych substancji w diecie związane jest ze zwiększonym ryzykiem powstania zaostrzonej formy kamicy nerkowej oraz wielu innych infekcji układu moczowego (Curhan 2007). Z tego też względu istotną informacją, w szczególności dla osób wykazujących tendencję do tworzenia kamieni nerkowych, byłaby adnotacja na opakowaniu o zawartości szczawianów w danym rodzaju herbaty.

Rozwój rolnictwa, technologii i światowego handlu skutkuje zwiększeniem asortymentu produktów żywnościowych dostępnych na rynku. Obecnie stosowane różnorodne praktyki rolnicze i technologiczne niosą za sobą nie tylko wiele udogodnień, ale również zagrożeń związanych z bezpieczeństwem żywności (zanieczyszczenia żywności). W związku z postępującą mechanizacją przemysłu, liście herbaciane mogą kumulować metale ciężkie takie jak Pb, Cd czy Hg (Han i in. 2006; Qin i Chen 2007; Seenivasan i in. 2008 b; Salahinejad i Aflaki 2010; Chen i in. 2010; Sarma i in. 2016). Zawartość tych metali w herbacie wynika głównie z zanieczyszczenia środowiska upraw poprzez stosowanie rozmaitych zabiegów rolniczych, ale i także produkcyjnych (Han i in. 2006; Seenivasan i in.

2008 a i b; Shaltout i Abd-Elkader 2016). Ponadto usytuowanie tych plantacji często może budzić wiele zastrzeżeń, jak w przypadku prowincji Assam, która znajduje się w pobliżu miejsca wydobycia ropy naftowej (Sarma i in. 2016). Z tego też względu monitoring zanieczyszczeń staje się istotnym elementem w ocenie jakości zdrowotnej żywności.

Unia Europejska przywiązuje dużą wagę do obecności na rynku produktów o określonej jakości. Rozporządzenie UE zezwala na stosowanie następujących etykiet geograficznych do produktu żywnościowego: chronionej nazwy pochodzenia (PDO), chronionego oznaczenia geograficznego (PGI) (Rozporządzenie Rady (WE) nr 510/2006 z dnia 20 marca 2006 r.) i gwarantowanej tradycyjnej specjalności (GTS) (Rozporządzenie Rady (WE) nr 509/2006 z dnia 20 marca 2006 r.). Konsumenci są bardzo zainteresowani produktami o określonym pochodzeniu geograficznym, które jest często powiązane z ich autentycznością, a więc jakością zdrowotną. Połączenie metod analitycznych z zaawansowanymi technikami chemometrycznymi coraz częściej znajduje zastosowanie do oceny produkowanej żywności. Techniki te są stosowane do określenia profilu rozmieszczenia substancji organicznych lub składników mineralnych herbaty celem:

- zróżnicowania poszczególnych jej rodzajów jak herbata czarna, zielona i oolong (Fernández-Cáceres i in. 2001; Herrador i Gonzalez 2001; Fraser i in. 2013; Wu i in. 2014)
- określenia pochodzenia geograficznego produktu (Fernández-Cáceres i in. 2001; Fraser i in. 2013)
- potwierdzenia regionu uprawy – plantacji (Lin i in. 2013; Ye i in. 2012; Wang i in. 2014)
- wskazania typu oraz konfekcji (Fernandez i in. 2002)
- oceny organoleptycznej herbaty (Qin i in. 2013).

Jednakże istotnym zadaniem jest rozróżnienie herbaty tego samego rodzaju z pobliskich regionów upraw, ponieważ warunki glebowe jak i klimatyczne są dość zbliżone. Herbaty o znanym pochodzeniu geograficznym cieszą się dużym zainteresowaniem konsumentów, którzy dokonują wyboru produktu postrzeganego jako autentyczny i o wyższej jakości. Z tego względu istotnym przedsięwzięciem jest opracowanie metod umożliwiających rozpoznanie pochodzenia geograficznego herbaty, w celu ochrony przed zafałszowaniem tego produktu, co jest istotne zarówno dla konsumentów jak i producentów.

II. Cel badań

W związku z postępującym rozwojem rolnictwa jak i przemysłu spożywczego, asortyment dostępnych produktów żywnościowych jest coraz większy. Stosowane techniki rolnicze (nawozy, nowoczesne rozwiązania technologiczne) spowodowały, że coraz częściej pojawiają się zagrożenia związane z bezpieczeństwem i zachowaniem jakości oferowanej żywności. Herbata jest produktem, zawierającym niezbędne dla organizmu biopierwiastki, ale może być również zanieczyszczona metalami ciężkimi. Ze względu na swoją popularność, jej jakość zdrowotna powinna podlegać ciągłej ocenie. Wartość odżywcza jak również bezpieczeństwo zdrowotne herbaty jest ściśle powiązane z jej pochodzeniem geograficznym oraz stopniem obróbki technologicznej. W związku z tym, w ramach pracy doktorskiej zdefiniowano następujące cele badawcze:

1. Ocena zawartości wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w liściach herbaty dostępnych w sprzedaży na rynku krajowym.
2. Oszacowanie stopnia spożycia biopierwiastków oraz narażenia na metale toksyczne wskutek spożycia herbaty w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych.

3. Bromatologiczna ocena zawartości szczawianów i ich wpływu na zdrowie człowieka w wyniku konsumpcji wybranych rodzajów herbaty.
4. Analiza chemometryczna próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia geograficznego, konfekcji i typu.

III. Wyniki i dyskusja

1. Ocena zawartości wybranych biopierwiastków i metali toksycznych w liściach herbaty dostępnych w sprzedaży na rynku krajowym

Głównym źródłem biopierwiastków i metali toksycznych dla herbaty (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) jest gleba (Fung i in. 2009; Salahinejad i Aflaki 2010; Chen i in. 2010). Zakres, w jakim korzenie rośliny absorbują poszczególne pierwiastki, zależy od ich zawartości w podłożu oraz formy fizykochemicznej (specjacji) (Shen i Chen 2008; Seenivasan i in. 2008 a i b; Chen i in. 2010). Ponadto, zawarte w ziemi substancje organiczne mogą wykazywać tendencję do wiązania niektórych jonów pierwiastków w związki kompleksowe o ograniczonej dostępności dla rośliny (Salahinejad i Aflaki 2010; Chen i in. 2010).

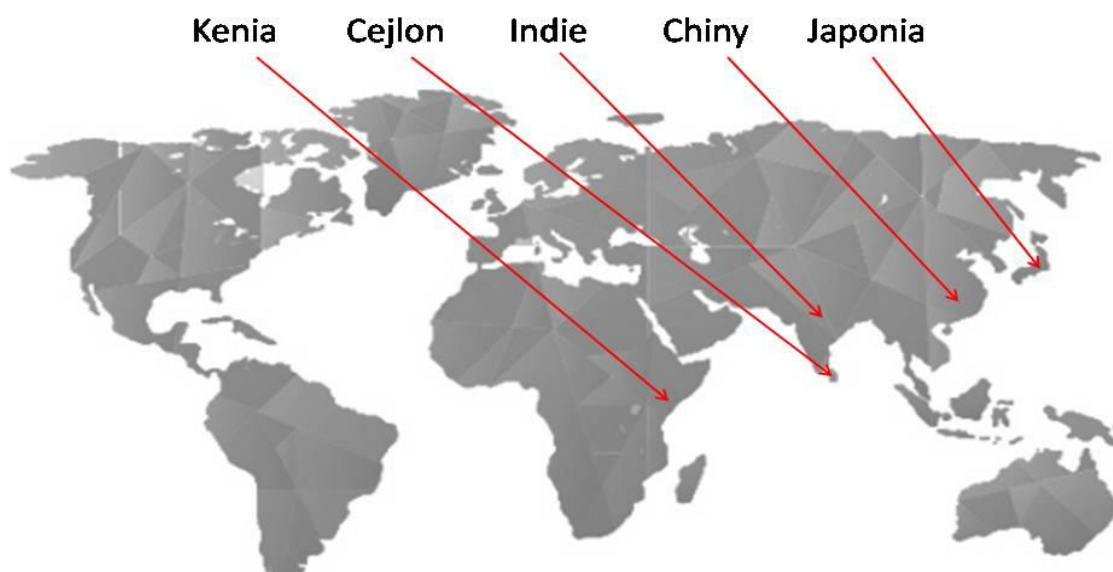
Wpływ na biodostępność pierwiastków ma również charakterystyka gleby plantacji. Przykładowo, na glebach zakwaszonych w wyniku stosowania różnych nawozów zawierających N, niektóre pierwiastki (Al i Pb) są lepiej absorbowane przez roślinę (Fung i in. 2009; Chen i in. 2010), z kolei w obecności P nieorganicznego, następuje zwiększenie absorpcji Al, Cu, Cd i Pb z form trudnodostępnych dla systemu korzeniowego rośliny (Seenivasan i in. 2008 a i b; Fung i in. 2009). Zarówno w przypadku Al i Cu jednym z

głównych czynników determinujących ich dostępność w liściach herbaty jest pH gleby (Dong i in. 1999; Jin i in. 2008).

Poszczególne rodzaje herbaty zawierają zróżnicowane poziomy pierwiastków (Fung i in. 2009; Chen i in. 2009). Dysproporcje te mogą wynikać ze specyficznych metod produkcji herbaty, jej rodzaju, ilości i wieku liści, sezonu zbioru, procesów agrotechnicznych oraz sposobów dojrzewania i przechowywania (Mehra i Baker 2007; Qin i Chen 2007; Han i in. 2007; Moghaddam i in. 2008; Shen i Chen 2008). Dodatkowo, stężenia poszczególnych pierwiastków różnią się w zależności od części badanej rośliny, w której występują (korzenie, gałęzie, dojrzałe lub młode liście).

Celem badań było oznaczenie zawartości wybranych makro- i mikropierwiastków w liściach herbaty zielonej, czarnej, Pu-erh oraz owocowej. Materiał badawczy stanowiły 4 grupy analizowanych produktów spożywczych:

- a) 41 rodzajów herbaty zielonej, w tym 17 oryginalnych pochodzących z Chin, Indii, Japonii (Rys. 2) oraz 24 mieszanki handlowe (Załącznik 1, Tabela 1)
- b) 118 rodzajów herbaty czarnej, w tym 43 oryginalne pochodzące z Chin, Indii, Cejlonu, Kenii (Rys. 2) oraz 75 mieszanek handlowych (Załącznik 2, Tabela 1)
- c) 17 rodzajów herbaty ciemnej (Pu-erh) w formie sypkiej/liściastej oraz w torebkach (Załącznik 3, Tabela 1)
- d) 15 rodzajów herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców (Załącznik 3, Tabela 1)

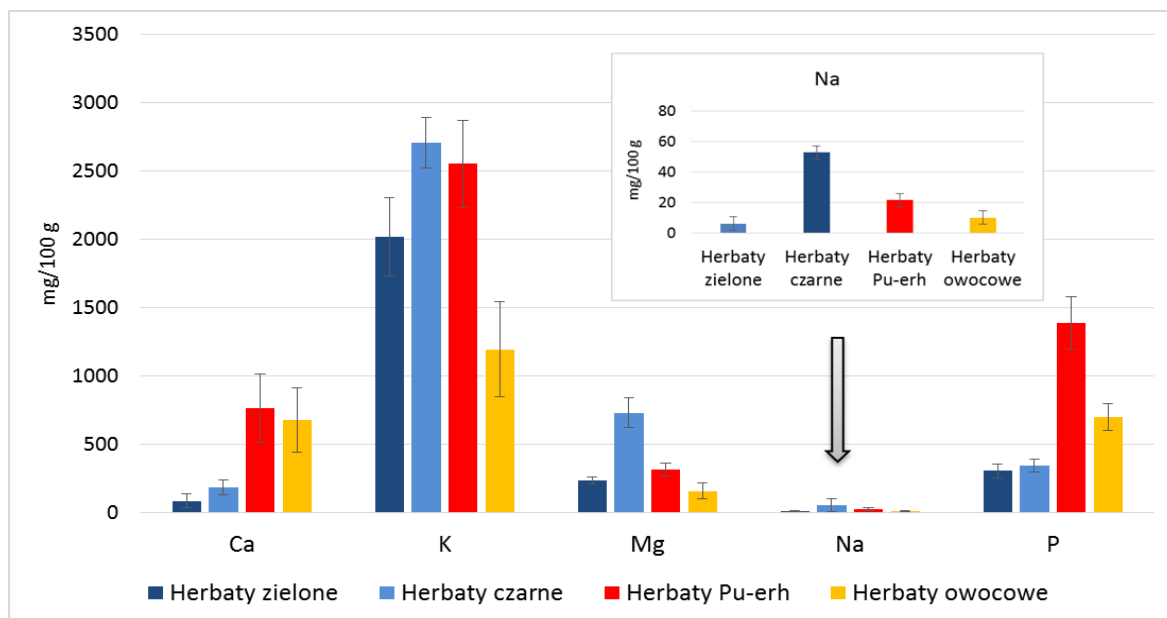


Rys. 2. Mapa pochodzenia próbek herbaty (zmodyfikowano, źródło: <https://pl-static.z-dn.net/files/d13/1e617f0f0aba93b878939fcd3958c344.png>).

Badany materiał poddano homogenizacji oraz mineralizacji na sucho, a następnie analizie metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (FAAS), a w przypadku P metodą spektrometrii UV-Vis (Załączniki 1-3). Każda próbka składała się z trzech podpróbek analitycznych, które zostały poddane analizom. Walidację zastosowanych procedur przeprowadzono stosując certyfikowane materiały odniesienia: Tea (NCS ZC73014), Oriental Basma Tobacco Leaves (INCT-OBTL-5) i Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6). Parametry walidacyjne uzyskane w badaniach były następujące:

- a) herbata zielona – odzysk 86-103% oraz precyzja 0,11-11,1% (Załącznik 1, Tabela 2)
- b) herbata czarna – odzysk 87-113% oraz precyzja 0,02-10,3% (Załącznik 2, Tabela 3)
- c) herbata Pu-erh i owocowa – odzysk 86-113% oraz precyzja 0,02-10,3% (Załącznik 3, Tabela 3)

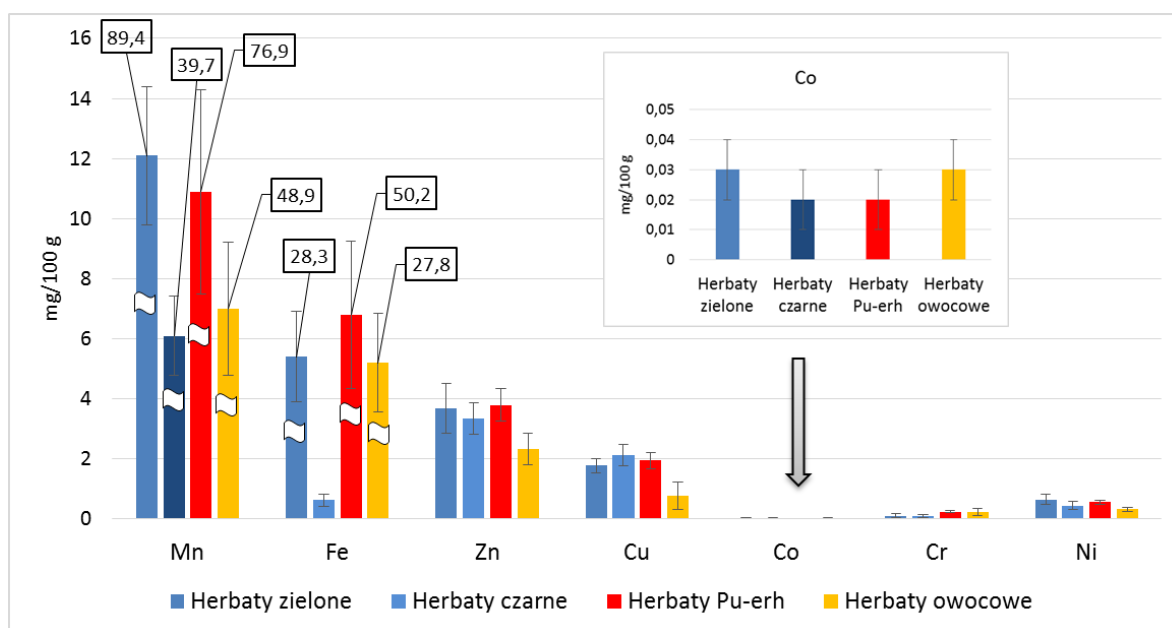
W toku analizy wykazano zróżnicowanie składu mineralnego badanych próbek herbaty zielonej, czarnej, Pu-erh oraz owocowej (Rys. 3-5). Herbata Pu-erh charakteryzowała się najwyższymi stężeniami Ca (657-872 mg/100 g) i P (1356-1421 mg/100 g) (Załącznik 3, Tabela 5). W herbacie czarnej najwyższe poziomy wśród makropierwiastków stwierdzono dla K (2349-2981 mg/100 g), Mg (518-822 mg/100 g) oraz Na (21,8-89,3 mg/100 g) (Załącznik 2, Tabela 4). Herbata zielona (Załącznik 1, Tabela 3) zawierała znaczne ilości K (1859-2215 mg/100 g), a herbata owocowa K (1113-1275 mg/100 g), Ca (632-727 mg/100 g) oraz P (519-881 mg/100 g) (Załącznik 3, Tabela 5).



Rys. 3. Zawartości makropierwiastków w wybranych rodzajach herbaty.

Najwyższymi poziomami wśród mikropierwiastków charakteryzowały się Mn, Fe, Zn i Cu (Rys. 4). Najwięcej Mn oznaczono w herbacie zielonej (39,0-126 mg/100 g), a najmniej w herbacie czarnej (27,7-56,3 mg/100 g) (Załącznik 1, Tabela 4). Ponadto stwierdzono znaczne ilości Fe, Zn i Cr w herbatach Pu-erh, co może m.in. oznaczać, że do jej produkcji zastosowano starsze liście (Fung i in. 2009; Chen i in. 2010). Spośród wszystkich

analizowanych produktów najwyższymi poziomami Ni charakteryzowała się herbata zielona (Załącznik 1, Tabela 3).

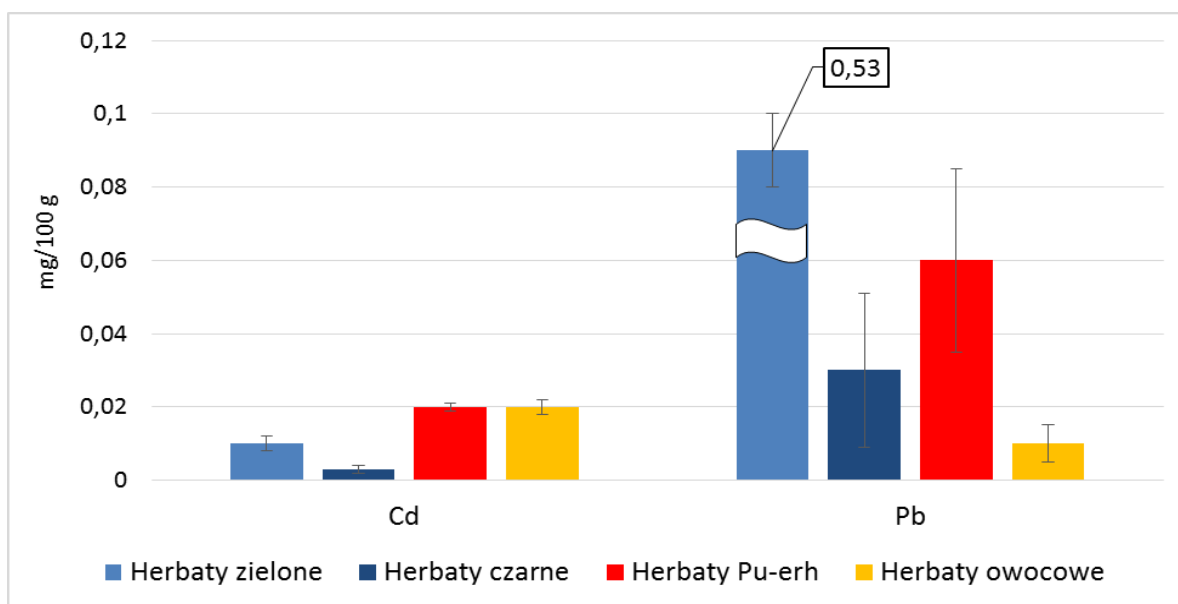


Rys. 4. Zawartości mikroelementów w wybranych rodzajach herbaty.

Krzew herbaciany ma zdolność do akumulacji wielu pierwiastków śladowych jak również toksycznych m.in. Al, F, Pb i Ce (Han i in. 2006; Qin i Chen 2007; Mehra i Baker 2007; Fung i in. 2009; Chen i in. 2010). Duży wpływ na zawartość tych pierwiastków w herbacie ma zanieczyszczenie środowiska upraw rośliny powstałe w wyniku emisji zanieczyszczeń przemysłowych (Han i in. 2006; Nookabkaew i in. 2006; Salahinejad i Aflaki 2010). Może ono być również związane ze stosowaniem różnych praktyk rolniczych, takich jak środki ochrony roślin, które mogą zawierać Cd, Cu, Pb i Zn (Li i in. 2007; Qin i Chen 2007; Shen i Chen 2008). Pierwiastki te mogą być transportowane z gleby do korzeni rośliny, a później do liści, co przyczynia się do ich zwiększonej zawartości (Qin i Chen 2007; Jin i in. 2008). Podwyższone stężenie Al, Cu, Cr, Pb i Zn może być również wynikiem przedostawania się ich do liści herbacianych na etapie produkcji (Jin i in. 2008; Mandiwana i in. 2011). Jest to prawdopodobnie związane z wykorzystaniem sprzętu (CTC), który jest w

całości wykonany z stali nierdzewnej lub mosiądzu (tj. rolki, walce i maszyny pakujące) (Jin i in. 2008; Ashraf i Mian 2008; Seenivasan i in. 2008 a i b; Salahinejad i Aflaki 2010). Liście herbaty pozostające w kontakcie z metalowymi powierzchniami urządzenia, wykorzystywanymi do skręcania liści i usuwania z nich wody, mogą absorbować i wiązać zanieczyszczenia metaliczne, przez co dochodzi do ich zanieczyszczenia przez Cu, Cr i Pb (Jin i in. 2008). W badaniach własnych stwierdzono, że herbata Pu-erh oraz herbaty owocowe charakteryzowały się dwukrotnie wyższą zawartością Cr (Załącznik 3, Tabela 5) w porównaniu z pozostałymi rodzajami tego produktu (Załącznik 1, Tabela 3 i Załącznik 2, Tabela 4), co może być spowodowane użyciem maszyn CTC, których stalowe elementy mogły zawierać śladowe ilości Cr. Urządzenia te są stosowane w celu oszczędności ekonomicznych jak i czasowych, co przekłada się na gorszą jakość zdrowotną spożywanej herbaty (Seenivasan i in. 2008 a i b). W analizowanych rodzajach herbaty zawartości metali toksycznych nie przekraczały 1 mg/100 g (Rys. 5). Najwyższym stężeniem Pb (0,10-0,84 mg/100 g) charakteryzowała się herbata zielona (Załącznik 1, Tabela 3). Z kolei herbaty Pu-erh oraz owocowe zawierały najwyższe poziomy Cd (0,02 mg/100 g).

Duży wpływ na zróżnicowanie poziomów niektórych pierwiastków ma pochodzenie geograficzne herbaty, co zostało stwierdzone m.in. dla produktów pochodzących z Chin, Indii, Japonii oraz Sri Lanki (Fernández-Cáceres i in. 2001; Moreda-Piñeiro i in. 2003; Kumar i in. 2005; Mehra i Baker 2007; Li i in. 2007; Qin i Chen 2007; Moghaddam i in. 2008; Mossion i in. 2008).



Rys. 5. Zawartości metali toksycznych w wybranych rodzajach herbaty.

Jednocześnie w badaniach własnych potwierdzono zróżnicowanie składu pierwiastkowego próbek pochodzących z Chin, Indii, Japonii, Cejlonu oraz Kenii. W herbacie zielonej najwyższe zawartości makropierwiastków takich jak K i P odnotowano dla próbek pochodzących z Indii, a Ca i Mg dla mieszanek handlowych (Załącznik 1, Tabela 3). W przypadku herbaty czarnej najwyższe zawartości Ca i Na oznaczono w produktach o nieokreślonym pochodzeniu (264 i 89,3 mg/100 g, odpowiednio), K (2981 mg/100 g) w herbacie cejlońskiej, a P (408 mg/100 g) w herbatach chińskich (Załącznik 2, Tabela 4).

Z kolei wśród badanych mikropierwiastków zielona herbata japońska charakteryzowała się najwyższą zawartością Mn (126 mg/100 g), Co (0,005 mg/100 g) oraz Cr (0,16 mg/100 g). Największe ilości Fe oraz Ni oznaczono w chińskich herbatach zielonych, a w mieszankach - Zn i Cu (Załącznik 1, Tabela 3). Natomiast herbaty czarne z Chin zawierały najwyższe poziomy Fe, Zn i Co (Załącznik 2, Tabela 4), podczas gdy produkty z Indii - Cu (2,39 mg/100 g) oraz Ni (0,58 mg/100 g).

Zróźnicowanie geograficzne zaobserwowano również w przypadku poziomów metali toksycznych. Japońskie herbaty zielone odznaczały się wyższą zawartością Pb (0,84 mg/100 g), a próbki chińskie i mieszanki herbaciane - Cd (0,01 mg/100 g). Spośród analizowanych herbat czarnych największe stężenia Pb i Cd oznaczono w tych pochodzących z Chin (Załącznik 2, Tabela 4).

Badania własne pozwoliły również potwierdzić wpływ zarówno rodzaju konfekcji herbaty Pu-erh jak i typu próbek herbaty owocowej na ich skład pierwiastkowy. Wykazano zróźnicowanie w poziomach Ca, K, Mg oraz P w zależności od konfekcji. Przykładowo, większe zawartości Ca, K, Mg oraz P odnotowano dla herbaty Pu-erh o formie liściastej w porównaniu z torebkową (Załącznik 3, Tabela 5). Podobne zależności wykazano również dla Fe i Cr, gdyż herbaty Pu-erh w torebkach zawierały ich dwukrotnie więcej w porównaniu z formą sypką/liściastą (Załącznik 3, Tabela 5). Jednocześnie najwyższe poziomy Mn (77,2 mg/100 g) oraz Zn (3,84 mg/100 g) odnotowano dla herbaty liściastej Pu-erh. Ponadto, zawartość Pb (0,09 mg/100 g) w herbatach Pu-erh w formie torebek była ponad dwukrotnie wyższa od oznaczonej w herbacie liściastej. Kadm występuje na tym samym poziomie w herbatach Pu-erh zarówno w formie liściastej jak i torebek (Załącznik 3, Tabela 5).

Herbata owocowa charakteryzowała się wyższymi poziomami Ca, Mg i Na w porównaniu z tą zawierającą liście herbaty czarnej z dodatkiem owoców. W przypadku takich mikropierwiastków jak Mn, Zn, Cu, Co oraz Ni, ich wyższe poziomy oznaczono w herbacie czarnej z dodatkiem owoców (Załącznik 3, Tabela 5). Nie wykazano zróźnicowania w poziomie Pb (0,01 mg/100 g) jak i Cd (0,02 mg/100 g) w zależności od typu herbaty owocowej.

Podsumowując, analizowane herbaty charakteryzowały się zróźnicowaną zawartością biopierwiastków i metali ciężkich, co związane jest z pochodzeniem geograficznym tej rośliny tzn. rejonem uprawy i warunkami klimatycznymi, jak również z porą zbioru liści, ich

wiekami, a także zastosowanymi praktykami rolniczymi. Liście herbaty charakteryzowały się najwyższymi zawartościami K (wśród makropierwiastków) oraz Mn (wśród mikropierwiastków), a szczególnie bogatym źródłem tego mikroelementu były herbaty zielone pochodzące z Japonii. Zróżnicowanie poziomów metali ciężkich w badanych produktach, mogło być spowodowane zanieczyszczeniem środowiska upraw jak również obróbką technologiczną. Najmniejszym zanieczyszczeniem Pb charakteryzowały się herbaty czarne pochodzące z Kenii, a także owocowe oraz czarne z dodatkiem owoców. Z kolei najmniejsze zawartości Cd oznaczono w indyjskich herbatach zielonych.

2. Oszacowanie stopnia spożycia biopierwiastków oraz narażenia na metale toksyczne wskutek spożycia herbaty w świetle obowiązujących rekomendacji żywieniowych

Herbata jest drugim napojem zaraz po wodzie najczęściej spożywanym na świecie (Shen i Chen 2008), dlatego tak istotna jest ocena stopnia ekstrakcji poszczególnych składników mineralnych do naparu, jak i późniejsza ocena ich biodostępności dla organizmu. Regularne spożywanie tego napoju może znacząco przyczynić się do realizacji zalecanego dziennego zapotrzebowania (RDA) na ważne dla zdrowia ludzkiego składniki mineralne. Jednakże liście herbaty mogą również zawierać metale toksyczne (np.: Al, Cd i Pb), co skutkuje zwiększeniem ryzyka zatrucia tymi pierwiastkami, zwłaszcza w aspekcie ich tendencji do kumulowania się w organizmie człowieka (Gallaher i in. 2006; Malik i in. 2008; Chen i in. 2010).

W badaniach oznaczono zawartość makro- i mikropierwiastków w naparach herbaty zielonej, czarnej, Pu-erh i owocowej. Analizy dokonano w 4 grupach produktów herbaty:

- a) 41 rodzajach herbaty zielonej, w tym 17 oryginalnych pochodzących z Chin, Indii, Japonii oraz 24 mieszankach handlowych (Załącznik 1, Tabela 1)

- b) 118 rodzajach herbaty czarnej, w tym 43 oryginalnych pochodzących z Chin, Indii, Cejlonu, Kenii oraz 75 mieszankach handlowych (Załącznik 2, Tabela 1)
- c) 17 rodzajach herbaty ciemnej (Pu-erh) w formie sypkiej/liściastej oraz w torebkach (Załącznik 3, Tabela 1)
- d) 15 rodzajach herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców (Załącznik 3, Tabela 1)

Łącznie przebadano 191 produktów, co stanowiło około 1300 próbek analitycznych.

Czynnikami wpływającymi na stopień ługowania składników mineralnych z liści herbacianych do naparu są:

1. forma specyacyjna pierwiastków (Salahinejad i Aflaki 2010);
2. rodzaj połączenia z matrycą organiczną (Salahinejad i Aflaki 2010);
3. typ wiązania koordynacyjnego między metalami a flawonolami, katechinami, taninami i polifenolami (Tascioglu i Kok 1998); taniny są uznane za substancje szczególnie aktywnie wiążące takie pierwiastki jak Al, Cr, Cu i Fe (Costa i in. 2002);
4. właściwości fizykochemiczne wody zastosowanej do zaparzenia liści herbacianych.

Rodzaj użytej wody do sporządzenia naparu, jej temperatura, pH i czas zaparzenia mogą mieć wpływ na wydajność procesu ekstrakcji (Danrong i in. 2009; Mandiwana i in. 2011). Do przygotowania naparów herbacianych zwykle wykorzystuje się wodę zagotowaną, do temperatury wyższej niż 60° C, co ma wpływ na zmniejszanie szybkości transferu Cu i Fe z liści do naparu, z powodu słabej rozpuszczalności w tych warunkach ich kompleksów polifenolowych (Tascioglu i Kok 1998). Obniżenie pH wody ma wpływ na zwiększenie stopnia ekstrakcji składników mineralnych z liści, w odniesieniu do ich bardziej rozpuszczalnych form kationowych (np.: Al przy pH<5) (Mossion i in. 2008). Dodatkowo, zawartość metali w naparze zwykle wzrasta wraz z wydłużeniem czasu zaparzenia, jednakże

rozpuszczalność makropierwiastków oraz pierwiastków śladowych (np. Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, P, Pb, Rb, S, Sr, Ti i Zn) jest największa w okresie pierwszych 5 minut licząc od sporządzenia naparu (Mehra i Baker 2007; Moghaddam i in. 2008; Ipeaiyeda i Dawodu 2011; Mandiwana i in. 2011).

Uwzględniając wartość wskazywanego w literaturze parametru czasu, w badaniach własnych zastosowano 5 minutowy czas zaparzania. Z otrzymanego materiału badawczego wyodrębniono próbki reprezentatywne w ilości 2 g każda, które następnie potraktowano 200 mL wody zagotowanej do temperatury powyżej 60° C. Liście zaparzano w okresie 5 minutowym, a następnie otrzymany napar sączo przez sącdek bibułowy do tygli kwarcowych i odparowywano na wrzącej łaźni wodnej. Suchą pozostałość poddano mineralizacji na sucho, a następnie analizowano w trzech powtórzeniach.

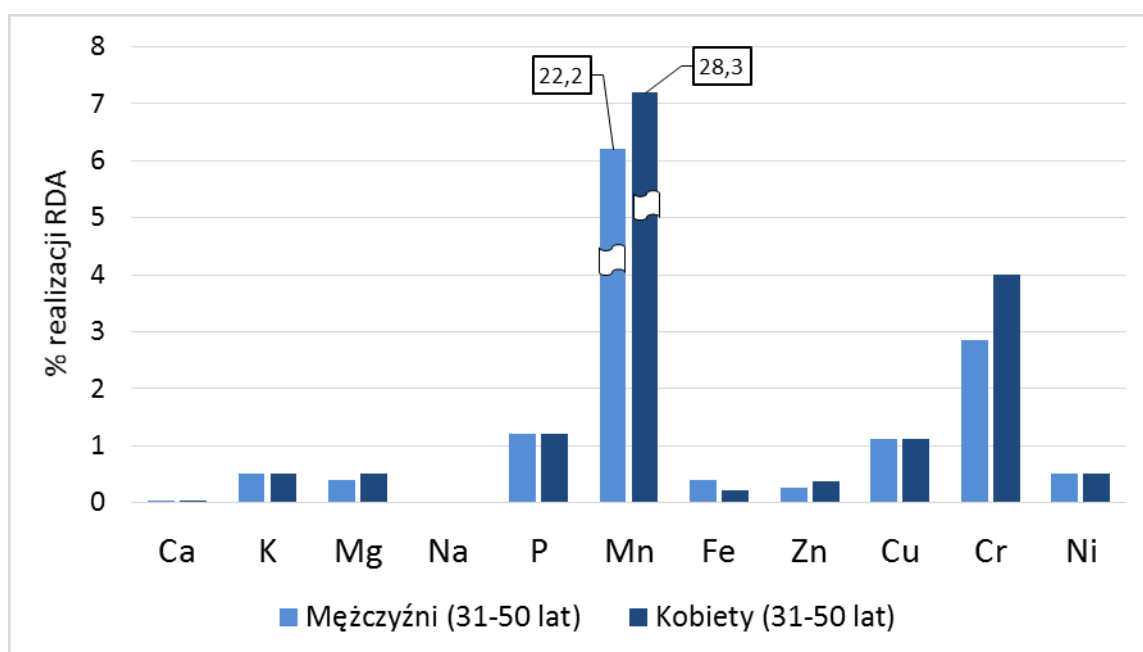
Biorąc pod uwagę stopień ekstrakcji różnych pierwiastków można je podzielić na trzy grupy (Malik i in. 2008; Salahinejad i Aflaki 2010): wysoce ekstrahowane (>55%) jak Co, Cs, K, Na, Ni, Rb i Tl; umiarkowanie ekstrahowane (20-55%) jak Al, B, Cu, Cr, Mg, Mn, Zn i P; słabo ekstrahowane (<20%) jak Ba, Ca, Fe, Mo, Sn, Sr, V, Y czy Zr. Niektóre metale jak Ag, As, Be, Bi, Cd czy Pb zaliczane są do słabo ekstrahowanych ze względu na ich niskie stężenia często znajdujące się poniżej granicy oznaczalności (Shen i Chen 2008). W badaniach własnych odnotowano podobny podział pierwiastków pod względem stopnia ich łągowania do naparów herbaty zielonej jak również owocowej (Załącznik 1, Tabela 3 oraz Załącznik 3, Tabela 5). Natomiast w herbacie fermentowanej (czarnej), podział ten nieznacznie się różnił. Większość analizowanych pierwiastków była umiarkowanie ekstrahowana (K, Mg, Na, P, Mn, Fe, Zn, Co, Cr i Pb), z kolei wysokim stopniem łągowania charakteryzował się Ni, którego procent ekstrakcji wynosił 56,2-75,8% (Załącznik 2, Tabela 4). Natomiast próbki herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców odznaczały się wysokim stopniem łągowania K (Załącznik 3, Tabela 5).

W badaniach własnych zaobserwowano zróżnicowanie pod względem efektywności ekstrakcji analizowanych pierwiastków ze względu na pochodzenie próbek herbaty zielonej oraz czarnej. Analiza ANOVA Kruskalla-Wallis'a pozwoliła wykazać statystycznie istotne różnice w odniesieniu do stopnia ługowania takich pierwiastków jak Mn i Cr związanych z odmiennym pochodzeniem geograficznym herbaty zielonej (Chiny, Indie, Japonia). Stwierdzono również duże zróżnicowanie w poziomie ekstrakcji Mn między takimi regionami geograficznymi jak Chiny i Indie. Chrom w największym stopniu był ługowany w próbkach herbaty pochodzącej z Indii, co może sugerować jego słabe wiązanie z matrycą organiczną. Analiza próbek herbaty czarnej wskazała również istotne statystycznie różnice w procencie ekstrakcji pierwiastków takich jak: Mg, Na, Cd oraz Ni. Magnez oraz Na są pierwiastkami głównie pochodzącymi z gleby (Kabata-Pendias i Szteke 2015). Na podstawie otrzymanych wyników analizy można przypuszczać, że na stopień ekstrakcji ma wpływ specjacja pierwiastków pobieranych z gleby przez roślinę, ich stopień wiązania z matrycą organiczną oraz parametry fizykochemiczne podłoża.

Wykazano również występowanie istotnych statystycznie różnic w stopniu ekstrakcji P, Cu i Cr ($p < 0,05$) w herbatach Pu-erh o odmiennej konfekcji pochodzących z jednego regionu uprawy (prowincji Yunnan). Największą zmiennością stopnia przechodzenia P oraz Cr z liści do naparu zaobserwowano dla formy liściastej. Stwierdzono również istotne zróżnicowanie w efektywności ługowania Mn w różnych typach herbaty tj. herbaty owocowej oraz czarnej z dodatkiem owoców. Najwyższy stopień ekstrakcji tego pierwiastka odnotowano dla herbaty owocowej.

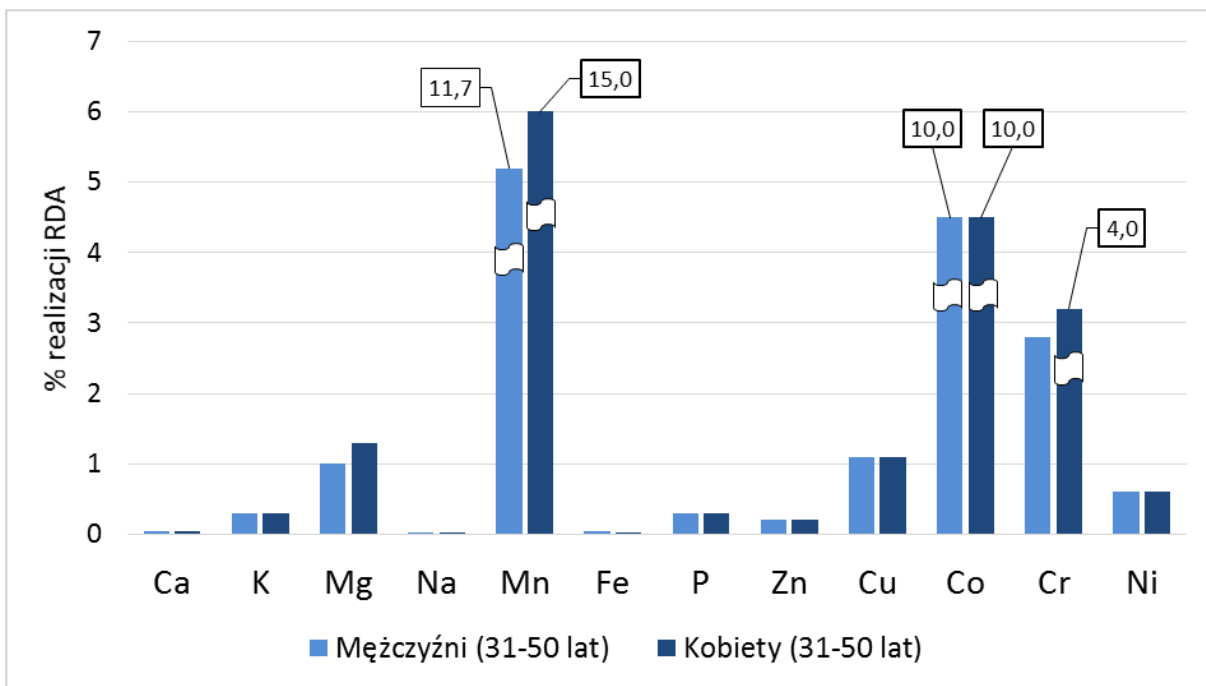
Uzyskane dane pomiarowe dotyczące stopnia ługowania pierwiastków z liści do naparu posłużyły również do określenia stopnia realizacji dziennego zapotrzebowania na analizowane składniki mineralne, który oceniono dla objętości 200 mL naparu herbacianego (1 szklanki). Najwyższy procent realizacji dziennego zapotrzebowania uzyskano dla Mn

(10,4-28,3% RDA) dla wszystkich analizowanych rodzajów herbaty (Rys. 6-9). Jednakże napój ten nie jest wartościowym źródłem innych niezbędnych pierwiastków jak: Ca, K, P, Na, Mg, Cu, Mg, K lub Zn, co jest zgodne z wynikami badań przeprowadzonych przez Gallaher i in. (2006). Najwyższy procent realizacji RDA wśród makropierwiastków odnotowano dla P (1,21%) w herbacie zielonej (Załącznik 1, Tabela 5) oraz Mg (1,00-1,30%) w herbacie czarnej (Załącznik 2, Tabela 7).

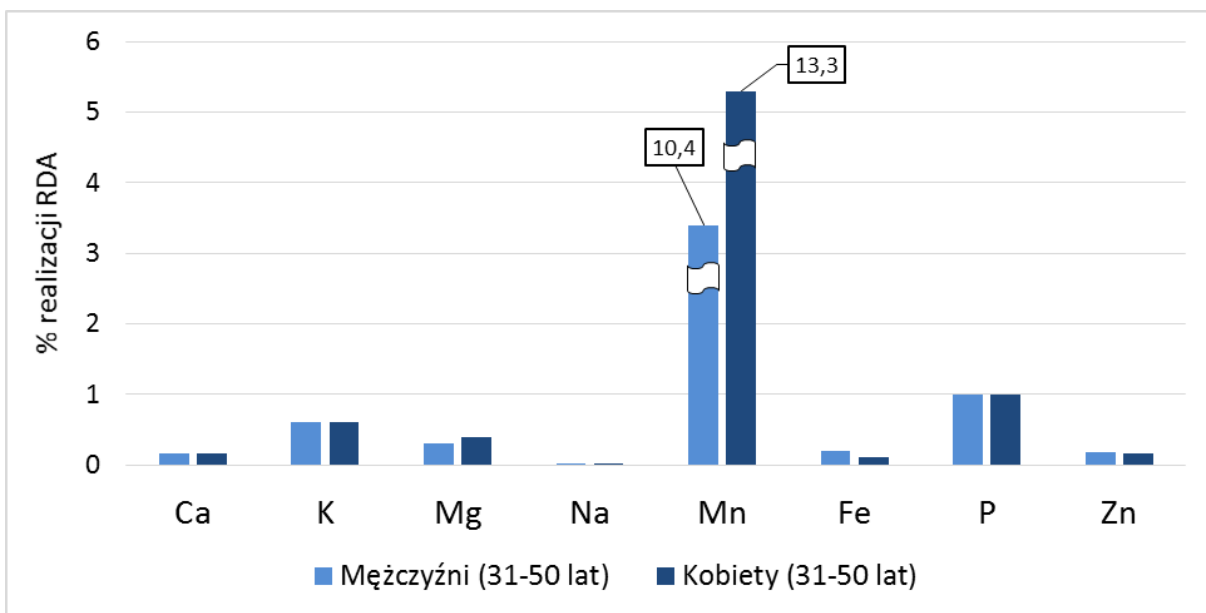


Rys. 6. Procent realizacji dziennego zapotrzebowania na analizowane składniki poprzez spożycie 200 mL herbaty zielonej.

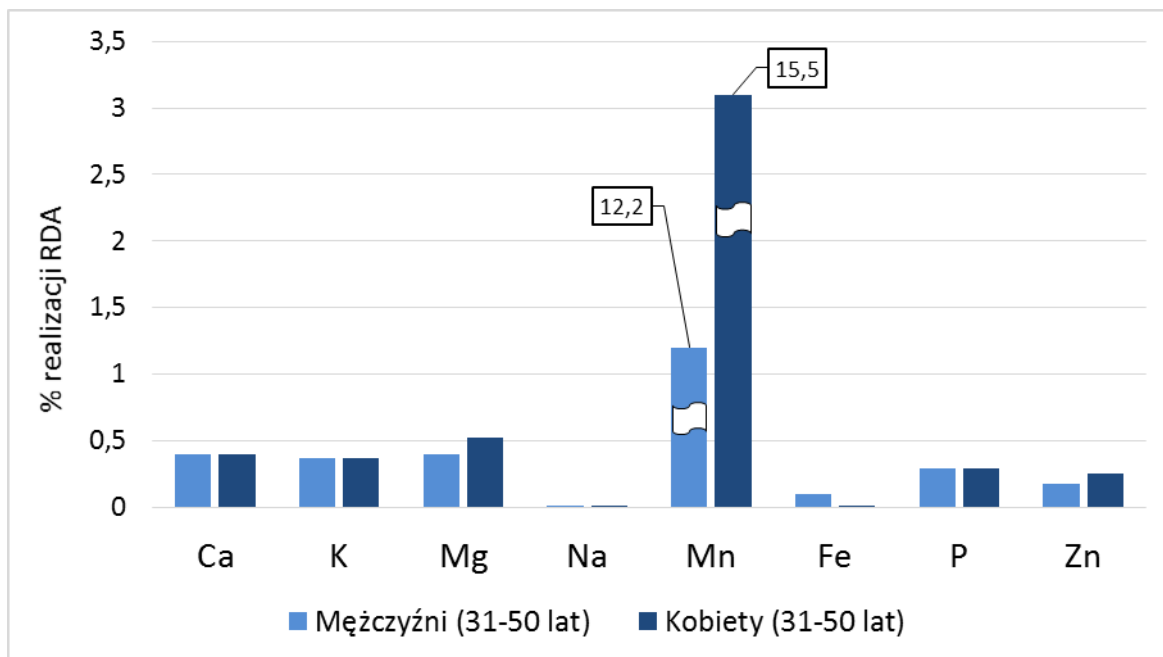
Pozostałe wartości uzyskane dla makropierwiastków mieściły się w zakresie 0,002-0,51% RDA dla herbaty zielonej (Rys. 6), 0,02-1,3% RDA dla herbaty czarnej (Rys. 7), 0,01-1,00% RDA dla herbaty Pu-erh (Rys. 8) oraz 0,007-0,52% RDA dla herbaty owocowej (Rys. 9).



Rys. 7. Procent realizacji dziennego zapotrzebowania na analizowane biopierwiastki poprzez spożycie 200 mL herbaty czarnej.



Rys. 8. Procent realizacji dziennego zapotrzebowania na analizowane biopierwiastki poprzez spożycie 200 mL herbaty Pu-erh.



Rys. 9. Procent realizacji dziennego zapotrzebowania na analizowane biopierwiastki poprzez spożycie 200 mL herbaty owocowej.

Wśród analizowanych mikropierwiastków najwyższy procent realizacji normy oszacowano dla Mn (22,2-28,3% RDA) w herbacie zielonej oraz Co (10,0% RDA) w herbacie czarnej. Dla pozostałych mikropierwiastków rekomendowane dawki były realizowane w zakresie od 0,22 do 4,00% dla herbaty zielonej, od 0,03 do 4,00% dla herbaty czarnej, od 0,10 do 0,20% dla herbaty Pu-erh oraz od 0,05 do 0,25% dla herbaty owocowej.

Oceniając stopień realizacji dziennego zapotrzebowania należy uwzględnić biodostępność poszczególnych biopierwiastków, czyli frakcję doustnie podanej dawki, która dociera do krwioobiegu (Oomen i in. 2003). Powell i in. (1998) wykazali, że biodostępność Mn wynosi ok. 40% w odniesieniu do 1 L naparu herbacianego. Biorąc pod uwagę powyższe dane, procent realizacji dziennego zapotrzebowania na Mn w wyniku spożycia 200 mL naparu wyniósł: 8,90-11,3% dla herbaty zielonej, 4,70-6,00% dla herbaty czarnej, 4,16-5,32% dla herbaty Pu-erh oraz 4,90-6,20% dla herbaty owocowej. Ponadto, Kabata-Pendias i Szteke (2015) podają, iż biodostępność Co wynosi 50%, co sugeruje, że w wyniku spożycia 200 mL

(1 szklanka) naparu herbaty czarnej dziennie, procent realizacji RDA dla Co wyniósł 5% (Załącznik 2, Tabela 7).

Ilościowe oznaczenie pierwiastków jest istotne w związku z koniecznością zarówno prowadzenia kontroli jakości jak i oszacowania ryzyka zatrucia i ewentualnych skutków wynikających z długotrwałego narażenia na działanie toksycznych składników zawartych w naparze herbacianym (Salahinejad i Aflaki 2010; Chen i in. 2010; Karak i Bhagat 2010). W badaniach własnych oszacowano stopień ekstrakcji metali ciężkich w herbatach zielonych, mieszczących się w zakresie od 9,41 do 43,8% dla Cd i od 12,6 do 39,3% dla Pb. Najwyższe wartości stopnia ługowania zarówno dla Cd jak i Pb, stwierdzono w próbkach pochodzących z Indii (Załącznik 1, Tabela 3). Natomiast dla herbaty czarnej największą efektywność ekstrakcji Pb uzyskano dla produktów pochodzących z Kenii (45,4%), z kolei dla Cd oszacowanie stopnia ługowania było niemożliwe ze względu na jego zawartość w naparze nie przekraczającą progu granicy oznaczalności metody ($Cd < 0,003$ mg/100 g). W przypadku herbaty Pu-erh procent ługowania Pb był dwukrotnie wyższy w próbkach w formie torebek w porównaniu z formą liściastą (Załącznik 3, Tabela 5). Nie zaobserwowano znaczących różnic w stopniach ekstrakcji Pb dla herbaty owocowej i czarnej z dodatkiem owoców (43,1 i 43,8%), wykazując również nieistotne zróżnicowanie dla Cd (Załącznik 3, Tabela 5).

Kadm jest pierwiastkiem wykazującym działanie rakotwórcze, a wytyczne tymczasowego dopuszczalnego tygodniowego pobrania (PTWI) Cd wynoszą 0,007 mg na kg masy ciała (0,42 mg Cd na osobę/tydzień dla osoby ważącej 70 kg) (WHO 2011). Zarówno Cd jak i Pb są metalami, które mogą powodować trwałe uszkodzenie kluczowych enzymów, nerek i układu krążenia oraz nerwowego (Santos i in. 2013). Absorpcja Pb następuje w tkankach miękkich, a w szczególności w wątrobie, nerkach i kościach, gdzie ulega nagromadzeniu (Kabata-Pendias i Szetke 2015). Wytyczne dotyczące PTWI dla Pb wynosiły 25 µg/kg masy ciała, ale zostały one wycofane w 73. Raporcie Eksperckiego Komitetu

FAO/WHO do spraw dodatków do żywności (WHO 2011). W świetle licznych doniesień naukowych stwierdzono, że nie można ustalić nowej dawki PTWI dla Pb (EFSA 2010; WHO 2010). Z tego też względu dla celów porównawczych, na podstawie wycofanego PTWI ustalonego w 73. Raporcie FAO/WHO (2011), został oszacowany stopień narażenia na Pb w odniesieniu do spożycia 200 mL naparu, który wyniósł 0,11% dla herbaty zielonej, a 0,01% dla czarnej. W przypadku pozostałych herbat (Pu-erh oraz owocowych) wartość procentowa realizacji PTWI dla Cd i Pb nie została oszacowana ze względu na ich zawartość w naparze poniżej granicy oznaczalności metody ($Cd < 0,003$ i $Pb < 0,004$ mg/100 g). W przypadku herbaty Pu-erh oraz owocowej dodatkowo oceniono poziom realizacji TDI (tolerowane dzienne pobranie) na Ni, ze względu na jego średnią zawartość w naparach wynoszącą 0,004 mg/100 g. Według EFSA (2015) zalecane jest by dawka TDI dla Ni nie przekroczyła 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dla osoby ważącej 70 kg. Zawartość Ni w analizowanych naparach herbaty Pu-erh oraz owocowej nie przekraczała tej granicznej wartości (Załącznik 3).

Badania dotyczące stopnia przechodzenia biopierwiastków i metali ciężkich z liści do naparu są szczególnie ważnym elementem oszacowania poziomu realizacji dziennego zapotrzebowania na składniki mineralne oraz narażenia na metale toksyczne. W badaniach własnych wykazano, iż najwyższym procentem realizacji dziennego zapotrzebowania charakteryzował się Mn, szczególnie w herbacie zielonej; może ona zatem stanowić cenne źródło tego pierwiastka w diecie człowieka. Stwierdzono również, że nie występuje zagrożenie zatruciem metalami toksycznymi w wyniku spożycia analizowanych próbek herbaty.

Ponadto, ocena biodostępności składników mineralnych jest szczególnie ważna dla konsumentów, którzy zmagają się z różnymi jednostkami chorobowymi, często pośrednio związanymi ze spożywaniem herbaty. Pierwiastki, które mają tendencję do tworzenia związków kompleksowych lub soli z zawartymi w naparze substancjami organicznymi są

niedostępne dla organizmu lub mogą tworzyć związki o negatywnym oddziaływaniu na zdrowie człowieka.

3. Bromatologiczna ocena zawartości szczawianów i ich wpływu na zdrowie człowieka w wyniku konsumpcji wybranych rodzajów herbaty

Herbata posiada silne właściwości antyoksydacyjne, które pozytywnie wpływają na organizm człowieka (McKenzie i in. 2010), ale także zawiera substancje, które mogą zaburzać pracę ludzkiego systemu wydalniczego. Do takich związków zalicza się szczawiany, które są solami kwasu szczawowego, występującego w wielu organizmach zwierzęcych, roślinnych oraz grzybach (Caliskan 2000). Szczawiany tworzą sole z kationami takimi jak Ca, Mg, Fe, Zn, Na i K, które to różnią się znacznie pod względem rozpuszczalności. Przykładowo, szczawiany Na i K są łatwo rozpuszczalne, natomiast Mg, Ca, Zn, Fe i innych kationów tworzą praktycznie nierozpuszczalne związki (Penniston 2014, Johanson 2010).

W warunkach fizjologicznych szczawiany wydalone są z organizmu za pomocą nerek (Sikora i in. 2008). Ich nadmiar w organizmie może wywołać kamice nerkową, wskutek gromadzenia się w drogach moczowych nierozpuszczalnych złogów szczawianowych. W wyniku zwiększonej podaży szczawianów dochodzi do upośledzenia ich wydalania i wytworzenia nierozpuszczalnych soli głównie szczawianu wapnia (Sikora i in. 2008). Kamienie nerkowe mogą występować w różnej formie np.: fosforanów wapnia, szczawianów wapnia, kwasu moczowego, fosforanu magnezowo-amonowego lub cystyny (Zahorska-Markiewicz i Małecka-Tendera 2009). Jednakże największy procent kamieni nerkowych jest zbudowany w 75% ze szczawianów wapnia (Liebman i Costa 2000). Badania naukowe potwierdzają, iż częstość występowania kamicy nerkowej związana jest z wieloma czynnikami, na które składają się między innymi: rodzaj diety, stan środowiska oraz

uwarunkowania genetyczne (Curhan 2007). Z tego też względu proporcje stężeń makropierwiastków takich jak Ca i Mg w produktach żywnościowych są szczególnie istotne zważywszy na ich silną tendencję do wiązania się ze szczawianami. Konsekwencją powinowactwa Ca do szczawianów jest tworzenie się kamieni nerkowych, natomiast z uwagi na fakt, że Mg wiąże się z kwasem szczawiowym w jelitach, zostaje zahamowany przy jego udziale proces powstawania kamieni nerkowych (Eisner i in. 2012). Dai i in. (2013) wykazali, że stosunek stężeń Ca do Mg powinien wynosić powyżej 1,7, ponieważ Ca jest w takiej sytuacji lepiej przyswajany przez organizm, przez co nie zachodzi proces wiązania go w postaci szczawianu wapnia.

W produktach roślinnych szczawiany są syntetyzowane na drodze biosyntezy, której substratami mogą być kwas askorbinowy, tryptofan, seryna, etanolamina i hydroksyprolina (Sperkowska i Bazylak 2010 a). Szczawiany znajdujące się w większości roślin naczyniowych są wykorzystywane przede wszystkim do regulacji pH i stężenia Ca wewnątrz komórki, a w przypadku roślin produkujących kryształy do odstraszenia przed owadami (Penniston 2014). Zawartość szczawianów w różnych rodzajach herbaty jest zróżnicowana, a wpływ na ich poziom w herbacie mogą mieć:

- czas zbioru liści, np.: te zebrane jesienią będą miały wyższą zawartość szczawianów, ponieważ są w pełni dojrzałe w stosunku do młodych, których zbiór odbywał się wiosną (Honow i in. 2010);
- stosowanie nawozów zawierających sole amonowe, które mogą zmniejszać ilość szczawianów w roślinie (Morita i in. 2004);
- przechowywanie gotowego produktu (Jaworska 2005);
- wiek rośliny, pora roku, klimat oraz rodzaj gleby (Caliskan 2000).

Poszczególne części rośliny zawierają zróżnicowaną ilość szczawianów, np.: młodsze części zawierają ich znacznie mniej niż starsze, a głównym miejscem ich koncentracji są liście (Caliskan 2000). Herbaty czarne i oolong charakteryzują się wyższymi poziomami szczawianów niż herbaty zielone, gdyż są produkowane ze starszych liści (Wong i in. 1998; Han i in. 2006).

Celem badań była analiza produktów roślinnych, jakimi są herbaty pod kątem zawartości szczawianów, jak również Ca i Mg.

Materiał badawczy stanowiły 3 grupy analizowanych produktów:

- a) 10 rodzajów herbaty zielonej
- b) 10 rodzajów herbaty czarnej
- c) 10 rodzajów herbaty Pu-erh

Łącznie przebadano 30 produktów, co stanowiło około 270 próbek analitycznych. Pełna charakterystyka analizowanego materiału została przedstawiona w Załączniku 4, Tabela 1. Badany materiał oznaczono metodą manganometryczną (szczawiany) oraz metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej FAAS (Mg oraz Ca) (Załącznik 4). Walidację metod przeprowadzono stosując certyfikowane materiały odniesienia: Tea (NCS ZC73014) oraz Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6). Odzysk analizowanych składników mineralnych mieścił się w zakresie 86-96%, a precyzja 1,60- 4,40% dla Tea (NCS ZC73014). Z kolei dla Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6) odzysk wyniósł 107-109%, a precyzja 2,30-6,00%.

Zawartość szczawianów w herbatach zielonych była znacznie niższa (80 mg/200 mL), niż w Pu-erh (224 mg/200 mL) czy czarnych (156 mg/200 mL). Zbliżone wyniki uzyskali Sperkowska i Bazylak (2010 b) również potwierdzając, że herbaty czarne zawierają znaczną ilość tych związków (67-251 mg/200 mL). Jednocześnie najwyższe poziomy Ca i Mg

oznaczono w herbacie czarnej (3,54 mg Ca/200 mL oraz 4,39 mg Mg/200 mL), podczas gdy herbata zielona charakteryzowała się najniższą zawartością Ca (0,31 mg/200 mL). Malik i in. (2008) uzyskali wyższe wyniki dla Ca w herbatach zielonych. Zawartość Ca oraz Mg w herbatach Pu-erh (Załącznik 4, Tabela 2) była porównywalna do tych uzyskanych przez Malinowską i in. (2003) (1,80 mg Ca/200 mL oraz 1,24 mg Mg/200 mL). Najwyższym procentem ługowania charakteryzował się Mg, szczególnie w herbatach zielonych (37%) oraz czarnych (34%). Z kolei dla Ca najwyższy stopień ekstrakcji odnotowano dla herbaty zielonej (14%) oraz Pu-erh (15%), co jest zgodne z badaniami Dambiec i in. (2013).

Minimalną dawką toksyczną szczawianów jest 4-5 g/dzień (Noonan i Savage 1999). Według zaleceń American Dietetic Association osoby o zwiększonym ryzyku powstawania kamicy nerkowej, nie powinny spożywać dziennie więcej niż 40-50 mg szczawianów (Marcason 2006). Dodatkowo zalecane jest zmniejszenie nadmiernego spożycia białka, ograniczenie spożywania cukrów prostych oraz podaży sodu w diecie (Marcason 2006). Biodostępność tych substancji w naparze herbacianym jest oceniana na poziomie 1-9% (Liebman i Murphy 2007). W badaniach własnych zawartość szczawianów w 600 mL (3 szklanki) naparu sporządzonego z herbaty czarnej oraz Pu-erh, po uwzględnieniu biodostępności na poziomie 9%, wyniosła 42 i 60 mg/600 mL, odpowiednio. Najniższym poziomem szczawianów biodostępnych dla organizmu charakteryzowała się herbata zielona (22 mg/600 mL).

Ponadto oszacowano iloraz stężeń Ca do Mg w naparach herbaty, który powinien być wyższy niż 1,7 (Dai i in. 2013) i stwierdzono, że nie przekraczał on zalecanej wartości. Ze względu na nieprawidłową proporcję ilościową Ca do Mg w naparach herbacianych, istotne jest zwrócenie uwagi na zwiększenie pobrania Mg wraz z dietą. Jednocześnie oszacowano stopień realizacji RDA dla Ca oraz Mg. Najwyższym procentem realizacji RDA odznaczał się

Mg (1,04-1,37% dla herbaty czarnej), natomiast najniższym Ca (0,03% w herbacie zielonej oraz 0,15% w herbacie Pu-erh).

Stosowanie odpowiedniej diety o kontrolowanej zawartości szczawianów jest jednym z głównych elementów prewencji w kamicy nerkowej. Ograniczenie dostępności szczawianów wraz z herbatą, ale i także dokonanie odpowiedniego wyboru jej rodzaju o zmniejszonej ich zawartości może przyczynić się do obniżenia ryzyka występowania kamieni nerkowych (Savage i in. 2003). Zalecanym produktem dla osób mieszczących się w grupie dużego ryzyka jest herbata zielona. Biodostępność tych związków może być również ograniczona poprzez dodatek mleka do naparu herbacianego. Ponadto stosując dietę zapewniającą odpowiednią podaż Mg można doprowadzić do spadku hiperoksalurii w populacji osób z kamicią nerkową. Ze względu na fakt, iż Mg wykazuje podobne działanie do Ca, to może być on wiązany z kwasem szczawiowym, przez co proces powstawania kamieni nerkowych będzie zahamowany (Sułowicz i in. 1997). Z tego też względu istotne staje się stosowanie preparatów zawierających Mg podczas leczenia kamicy nerkowej (Szczurek i in. 1999). Jednocześnie wykazano, że stężenie Ca w odniesieniu do Mg nie jest na tyle duże w analizowanych herbatach, aby przyczynić się do zahamowania powstawania kamieni szczawianowo-wapniowych.

4. Analiza chemometryczna próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia geograficznego, konfekcji i typu.

Przez wiele lat konsumenci posiadali wiedzę dotyczącą pochodzenia żywności uprawianej na własny użytek lub zakupionej od lokalnego dostawcy. Na przestrzeni ostatnich 20 lat gama produktów importowanych na nasz rynek znacznie się zwiększyła, przy jednoczesnym braku dostatecznej wiedzy konsumenta odnośnie charakterystyki

wyprodukowanego produktu. Zmusiło to organy kontrolujące jakość żywności do ustanowienia szeregu przepisów i regulacji prawnych, a tym samym systemów identyfikacji, umożliwiających ocenę jakości, bezpieczeństwa i pochodzenia żywności. Unia Europejska (UE) określiła przepisy (Rozporządzenie Rady (WE) nr 509/2006 z dnia 20 marca 2006 r. oraz Rozporządzenie Rady (WE) nr 510/2006 z dnia 20 marca 2006 r.), według których należy podać konkretne pochodzenie i proces technologiczny produktu w celu ochrony producentów i konsumentów przed nieuczciwymi działaniami zagrażającymi jakości wysoko cenionych towarów. Oznakowania wyrobów można podzielić na dwie kategorie: odnoszące się do pochodzenia geograficznego i do konkretnego procesu technologicznego. Te dotyczące pochodzenia geograficznego mają na celu identyfikację produktu jako wywodzącego się z danego terytorium, co jest tożsame z określoną jakością, renomą lub znakiem firmowym produktu.

Obecnie stosowane współczesne metody analityczne są użytecznym narzędziem, mającym znaczący wpływ na zwiększenie skuteczności kontroli jakości nie tylko produktów żywnościowych, ale także farmaceutyków (Kumar i in. 2014). Składniki chemiczne herbaty są oznaczane wieloma metodami np.: za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) (Fernandez i in. 2002, Fraser i in. 2013, Wang i in. 2014, Wu i in. 2014), spektrometrii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas GC-MS (Ye i in. 2012, Lin i in. 2013, Qin i in. 2013), magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR (Lee i in. 2010), spektroskopii w bliskiej podczerwieni FT-NIRS (Ren i in. 2013), atomowej spektrometrii absorpcyjnej AAS (Salahinejad i Aflaki 2010, Ipeaiyeda i Dawodu 2011, Zhong i in. 2016) oraz spektrometrii mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie ICP-MS (Pilgrim i in. 2010, Chen i in. 2014, Chen i in. 2015). Zarówno AAS jak i ICP-MS są powszechnie stosowanymi metodami, dostarczającymi danych dotyczących składu pierwiastkowego oraz pozwalającymi na identyfikację nie tylko

pochodzenia geograficznego (Szefer 2007, Grembecka i Szefer 2013, Ma i in. 2016), ale także typu i konfekcji herbaty.

Najlepszym sposobem uzyskania poprawnej i dogłębnej interpretacji uzyskanych oryginalnych danych pomiarowych jest ich przetworzenie chemometryczne przy pomocy wielowariancyjnych technik komputerowych. Poprawna interpretacja chemometryczna zaobserwowanych tendencji czy zależności funkcyjnych umożliwia zrozumienie złożonej problematyki związanej z różnymi aspektami żywności i żywienia (Szefer 2016). Metody chemometryczne mogą być przede wszystkim wykorzystywane do eksploracji danych analitycznych i opracowania modeli. Wielowymiarowa analiza chemometryczna obejmuje analizę zbiorów, składających się z wielu zmiennych, w zależności od liczby mierzonych próbek. Nowoczesne techniki chemometryczne to przydatne narzędzia badawcze, które w połączeniu z powszechnie stosowanymi metodami analitycznymi są pomocne w ocenie autentyczności produktów żywnościowych. Jest wiele doniesień literaturowych, które prezentują wykorzystanie tych technik, a spośród nich często stosowanymi są analiza głównych składowych (PCA), analiza czynnikowa (FA), analiza skupień (CA) czy też liniowa analiza dyskryminacyjna (LDA) (Szefer 2007).

W badaniach własnych zastosowano metodę analityczną FAAS wraz z technikami chemometrycznymi takimi jak analiza czynnikowa (FA) oraz analiza skupień (CA), w celu zróżnicowania próbek herbaty, pod względem ich geograficznego pochodzenia, konfekcji oraz typu. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunkach 10a-10f, 11a i 11b oraz 12a i 12b. Zastosowana technika FA pozwoliła na zróżnicowanie próbek herbaty zielonej (Rys. 10a i 10b) oraz czarnej względem krajów uprawy (Rys. 10c i 10d) oraz plantacji w przypadku tej drugiej (Rys. 10e i 10f).

Analiza czynnikowa próbek herbaty zielonej została przeprowadzona w oparciu o wyselekcjonowane pierwiastki o największym współczynniku czynnikowego oddziaływania. Deskryptorami charakteryzującymi poszczególne regiony uprawy były w większości mikropierwiastki, ale również makropierwiastki takie jak K i P, co może sugerować, że są to zarówno pierwiastki pochodzenia glebowego, jak i zanieczyszczenia przenikające do liści herbaty zielonej na etapie produkcji (Rys. 10a i 10b). Herbaty chińskie, w przeciwieństwie do pochodzących z innych regionów, charakteryzowały się wysokimi poziomami P, Mn, Cu oraz Cd. Natomiast pierwiastkami odpowiadającymi za zróżnicowanie próbek pochodzących z Japonii oraz Indii były K, Fe oraz Co.

Analiza czynnikowa pozwoliła określić pochodzenie geograficzne herbaty zielonej, a tym samym potwierdzić jej autentyczność, co ma duże znaczenia zarówno dla konsumenta jak i producenta. Zbliżone wyniki uzyskano dla herbaty czarnej określając jej pochodzenie zarówno w obrębie krajów, jak i również plantacji (Rys. 10c-10f).

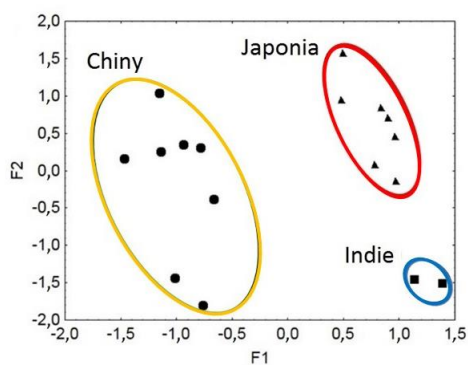
Podobnie jak w przypadku herbaty zielonej, próbki herbaty czarnej zostały zróżnicowane w oparciu o Na, P, Fe, Zn, Mn, Ni i Cu. Nikiel oraz Cu okazały się efektywnymi deskryptorami umożliwiającymi identyfikację herbaty indyjskiej (Rys. 10c i 10d). Sód z kolei określał próbki pochodzenia cejlońskiego. Wyższa zawartość tego makropierwiastka w liściach *Camellia sinensis* pochodzącej z Cejlonu może być wytłumaczona położeniem wyspy z jej specyficznym klimatem, kształtowanym przez otaczający ją Ocean Indyjski. Próbki herbaty chińskiej zostały wyodrębnione przez P, Fe i Zn, natomiast Mn odpowiadał herbatom pochodzącym z Kenii. Próbki pochodzące z plantacji Assam oraz Darjeeling zróżnicowano w oparciu o metale pochodzenia glebowego jak i przemysłowego (Rys. 10e i 10f). Pierwiastki takie jak Cr, Cu oraz Mn pozwoliły na zgrupowanie się próbek pochodzących z plantacji Assam, podczas gdy próbki herbaty z plantacji Darjeeling były identyfikowane przez P, Fe i Zn.

Zarówno próbki herbat chińskich zielonych jak i czarnych charakteryzowały się wysokimi poziomami P. Występowanie tego pierwiastka w obu odmiennych pod względem technologicznym rodzajach produktów może wskazywać na stosowanie w tym regionie nawozów bogatych w P (Maupenzi i in. 2011). Podobnych zależności nie odnotowano jednak w przypadku próbek herbaty zielonej oraz czarnej pochodzących z Indii. W wyniku dalszej analizy FA zaobserwowano występowanie Fe jako deskryptora próbek herbaty czarnej pochodzących z plantacji indyjskiej Darjeeling, tak jak w przypadku próbek indyjskiej herbaty zielonej. Rozróżnienie próbek produktu pochodzącego z jednego regionu jest wciąż złożonym problemem ze względu na zbliżone warunki uprawy *Camellia sinensis*, co znacząco utrudnia uzyskanie jasnego obrazu rozmieszczenia obiektów w układzie współrzędnych F1/F2.

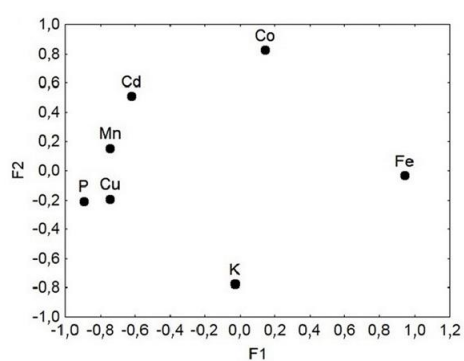
Zastosowanie techniki analizy FA oraz CA pozwoliło również zróżnicować próbki herbaty pochodzące z tego samego regionu uprawy, w odniesieniu do ich stopnia przetworzenia technologicznego. Analizie poddano dane analityczne dotyczące składu pierwiastkowego herbaty Pu-erh pochodzącej z jednej prowincji, tj. Yunnan (Chiny), a różniące się konfekcją.

Deskryptorami próbek herbaty Pu-erh były takie pierwiastki jak: P, Zn, Ni, K, Cu, Mg, Mn, Pb, Na i Fe (Rys. 11a i 11b). Najwyższymi poziomami Fe oraz Cr charakteryzowały się herbaty Pu-erh - torebki. Obecność tych pierwiastków może być wynikiem zanieczyszczenia liści herbacianych w procesie obróbki technologicznej w wyniku zastosowanych do ich produkcji maszyn (CTC) zawierających części wykonane ze stali nierdzewnej (Seenivasan i in. 2008 a i b).

Herbaty zielone

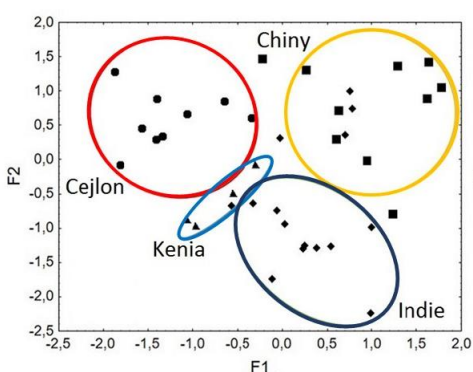


10a

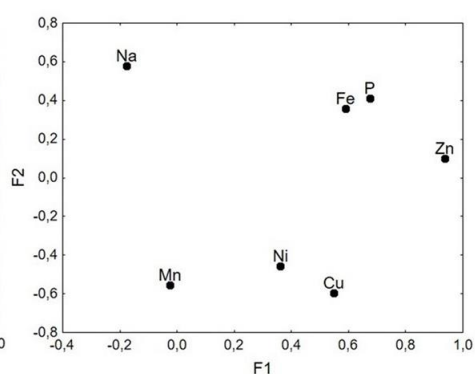


10b

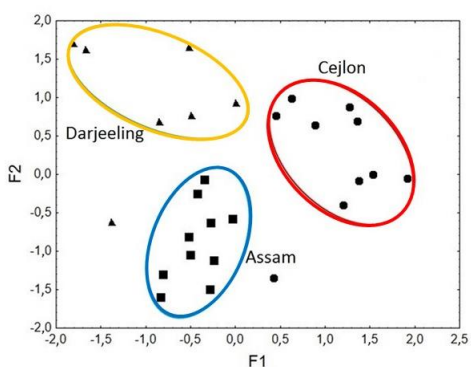
Herbaty czarne



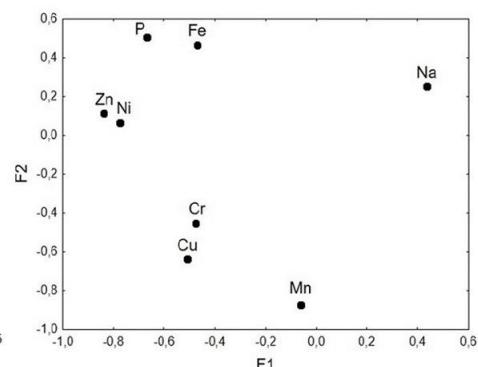
10c



10d



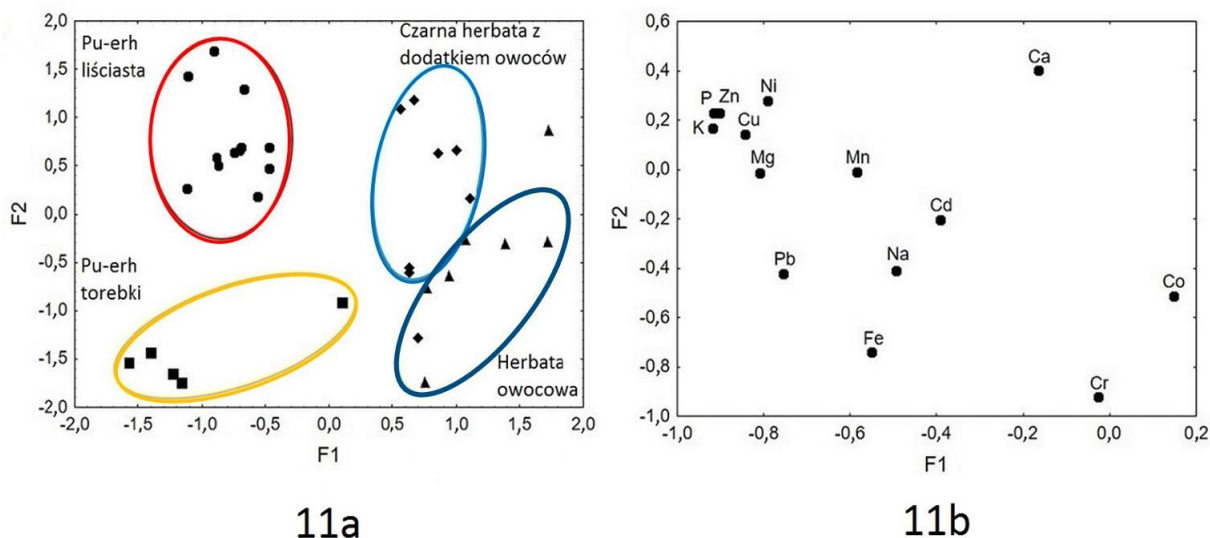
10e



10f

Rys. 10. Rozmieszczenie punktów w układzie współrzędnych czynnikowych F1-F2 odpowiadających poszczególnym próbkom herbaty zielonej oraz czarnej pochodzącym z różnych regionów geograficznych (a, c, e) oraz odpowiadających im ładunków czynnikowych dla poszczególnych pierwiastków (b, d, f).

Konfekcja i typ herbaty

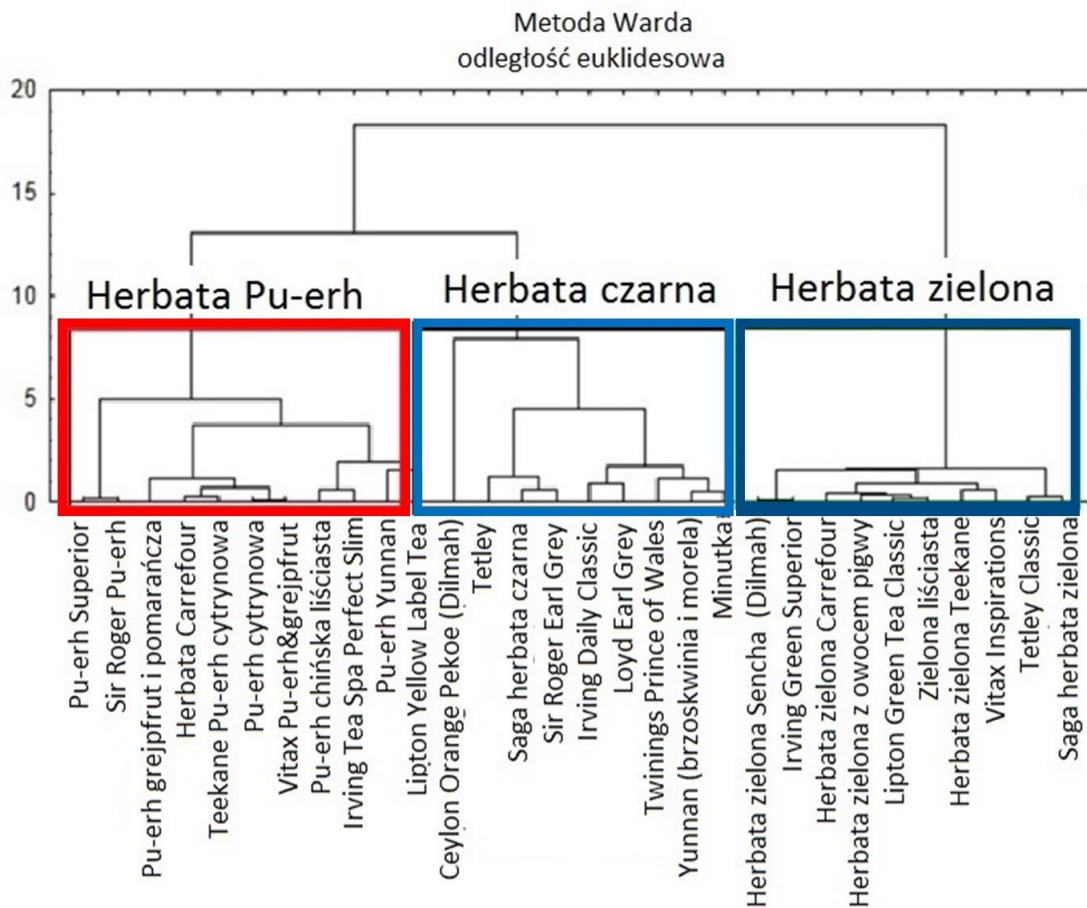


Rys. 11. Rozmieszczenie punktów w układzie współrzędnych czynnikowych F1-F2 odpowiadających poszczególnym próbkom herbaty Pu-erh liściastej/torebkowej oraz owocowej/czarnej herbaty z dodatkiem owoców (a) oraz odpowiadających im ładunków czynnikowych dla poszczególnych pierwiastków (b).

Przeprowadzono także klasyfikację herbaty owocowej celem potwierdzenia jej typu, zadeklarowanego na opakowaniu przez producenta. W wyniku zastosowanej techniki FA oraz CA rozróznilo herbaty owocowe od czarnych z dodatkiem owoców w oparciu o poziomy takich pierwiastków jak Cd, Ca, Cr oraz Co. Na Rys. 11a można zaobserwować dwa obiekty (próbki) odbiegające od pozostałych charakteryzujących dany typ herbaty, co wskazuje na istnienie niezgodności między deklaracją producenta, a uzyskanymi w niniejszej pracy danymi pomiarowymi. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że techniki FA i CA są wysoce przydatnym narzędziem badawczym w ocenie autentyczności analizowanych gatunków herbaty.

Stosowanie technik chemometrycznych w połączeniu z odpowiednimi metodami analitycznymi pozwala również ocenić produkt w świetle jego jakości zdrowotnej. Technika CA została wykorzystana, celem rozróznilenia próbek herbaty ze względu na ich stopień

fermentacji. Klasyfikacji badanego produktu dokonano wykorzystując dane dotyczące składu mineralnego (Ca i Mg) jak i zawartości substancji organicznych (szczawianów) (Rys. 12). Przeprowadzona analiza pozwoliła wyodrębnić grupy obiektów odpowiadających herbatom zielonym, czarnym oraz Pu-erh, pod kątem zawartości w nich Ca, Mg oraz szczawianów, które mają bezpośredni wpływ na jakość zdrowotną produktu. W związku z tym, w przypadku osób ze zwiększonym ryzykiem rozwoju kamicy nerkowej, wskazane jest picie herbaty o najmniejszym stopniu przetworzenia. Ocena jakości zdrowotnej produktu jest kolejnym przykładem trafnego zastosowania metod wielowariancyjnych, jako użytecznych narzędzi informatycznych w opracowaniu analitycznych danych pomiarowych.



Rys. 12. Dendrogram analizowanych próbek herbaty zielonej, czarnej oraz Pu-erh.

Potwierdzenie autentyczności produktu jest szczególnie istotne w kontekście zapewnienia właściwej jakości żywności jak i bezpieczeństwa zdrowotnego konsumentów, a także trafnego rozpoznania potencjalnych zagrożeń toksykologicznych i ekotoksykologicznych.

IV. Wnioski

1. Na podstawie analizy 1300 próbek herbaty określono zawartość analizowanych makro- i mikroelementów w badanych gatunkach herbaty.
2. Stwierdzono znaczne zróżnicowanie składu mineralnego jak również w zawartości szczawianów w analizowanych herbatach zielonych, czarnych, Pu-erh oraz owocowych.
3. Badane herbaty charakteryzowały się najwyższymi poziomami K spośród oznaczanych makroelementów, jak również wyróżniały się pod względem zawartości Mn, przez co mogą stanowić jego dobre źródło.
4. Produktami o najmniejszym stopniu zanieczyszczenia Pb były czarne herbaty pochodzące z Kenii, owocowe oraz czarne herbaty z dodatkiem owoców. Natomiast najmniejsze zawartości Cd odnotowano w indyjskich herbatach zielonych. Stwierdzono, że spożywanie badanych herbat nie stanowi zagrożenia dla zdrowia człowieka w świetle oszacowanego tolerowanego tygodniowego pobrania (PTWI).
5. Na podstawie oceny zawartości szczawianów w poszczególnych rodzajach herbaty, wykazano, że osoby o podwyższonym ryzyku wystąpienia kamicy nerkowej powinny spożywać herbatę zieloną z dodatkiem mleka.
6. Dzięki znaczącej liczebności analizowanych próbek, możliwe było przetworzenie chemometryczne danych analitycznych przy użyciu FA i CA.

7. Zastosowanie wielowariancyjnych technik chemometrycznych pozwoliło na ocenę próbek herbaty pod kątem ich pochodzenia, konfekcji, deklaracji producenta (typu), a także jakości zdrowotnej spożywanego produktu, co jest istotne w zachowaniu dobrego stanu zdrowia człowieka.

V. *Literatura*

1. Ashraf W., Mian A.M. (2008). Levels of selected heavy metals in black tea varieties consumed in Saudi Arabia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 81:101–104.
2. Caliskan M. (2000). The metabolism of oxalic acid. *Turkish Journal of Zoology* 24:103–106.
3. Chacko S.M., Thambi P.T., Kuttan R., Nishigaki I. (2010). Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine* 5:1–9.
4. Chen S., Zhu S., He Y., Lu D. (2014). Speciation of chromium and its distribution in tea leaves and tea infusion using titanium dioxide nanotubes packed microcolumn coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry* 150:254–259.
5. Chen S., Zhu S., Lu D. (2015). Solidified floating organic drop microextraction for speciation of selenium and its distribution in selenium-rich tea leaves and tea infusion by electrothermal vapourisation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry* 169:156–161.
6. Chen Y., Xu Y., Yu M., Chen X., Shi J. (2010). Lead contamination in different varieties of tea plant (*Camellia sinensis* L.) and factors affecting lead bioavailability. *Journal of Science of Food and Agriculture* 90:1501–1507.

7. Chen Y., Yu M., Xu J., Chen X., Shi J. (2009). Differentiation of eight tea (*Camellia sinensis*) cultivars in China by elemental fingerprint of their leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89:2350–2355.
8. Costa L.M., Gouveia S.T., Nobrega J.A. (2002). Comparison of heating extraction procedures for Al, Ca, Mg and Mn in tea samples. *Analytical Sciences* 18:313–318.
9. Curhan G.C. (2007). Epidemiology of stone disease. *Urologic Clinics of North America* 34:287–293.
10. Dai Q., Shu X-O., Deng X., Xiang Y-B., Li H., Yang G., Shrubsole M.J., Ji B., Cai H., Chow W-H., Gao Y-T., Zheng W. (2013). Modifying effect of calcium/magnesium intake ratio and mortality: a population-based cohort study. *BMJ Open* 3:1–14.
11. Dambiec M., Polechońska L., Klink A. (2013). Levels of essentials and non-essential elements in black teas commercialized in Poland and their transfer to tea infusion. *Journal of Food Composition and Analysis* 31:62–66.
12. Danrong Z., Yuqiong C., Dejiang N. (2009). Effect of water quality on the nutritional components and antioxidant activity of green tea extracts. *Food Chemistry* 113:110–114.
13. Desideri D., Meli M.A., Roselli C., Feduzi L.R. (2011). Alpha and gamma spectrometry for determination of natural and artificial radionuclides in tea, herbal tea and camomile marketed in Italy. *Microchemical Journal* 98:170–175.
14. Dong D., Xie Z., Du Y., Liu C. (1999). Influence of soil pH on aluminum availability in the soil and aluminum in tea leaves. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30:873–883.
15. EFSA. (2010). Scientific opinion on lead in food. *EFSA Journal*, 8, 1570. URL <http://www.efsa.europa.eu/fr/search/doc/1570.pdf>. Data dostępności: 10.09.2016 r.

16. EFSA. (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. European Food Safety Authority. URL <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/4002.pdf>. Data dostępności: 2.01.2015 r.
17. Eisner B.H., Sheth S., Dretler S.P., Herrick B., Pais V.M. (2012). High dietary magnesium intake decreases hyperoxaluria in patients with nephrolithiasis. *Urology* 80:780–783.
18. Fernandez P.L., Pablos F., Martin M.J., Gonzalez A.G. (2002). Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Food Chemistry* 76:483–489.
19. Fernández-Cáceres P.L., Martín M.J., Pablos F., González A.G. (2001). Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) varieties and their geographical origin according to their metal content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:4775–4779.
20. Fraser K., Lane G.A, Otter D.E., Hemar Y., Quek S.Y., Harrison S.J., Rasmussen S. (2013). Analysis of metabolic markers of tea origin by UHPLC and high resolution mass spectrometry. *Food Research International* 53:827–835.
21. Fung K.F., Carr H.P., Poon B.H.T., Wong M.H. (2009). A comparison of aluminum levels in tea products from Hong Kong markets and in varieties of tea plants from Hong Kong and India. *Chemosphere* 75:955–962.
22. Gallaher R.N., Gallaher K., Marshall A.J., Marshall A.C. (2006). Mineral analysis of ten types of commercially available tea. *Journal of Food Composition and Analysis* 19:53–57.

23. Grembecka M., Szefer P. (2013). Comparative assessment of essential and heavy metals in fruits from different geographical origins. *Environmental Monitoring and Assessment* 185:9139–9160.
24. Gröber U. (2010). Minerale i pierwiastki śladowe. Piwowar A. (Red.), *Mikroskładniki odżywcze. Tuning metaboliczny – profilaktyka – leczenie*, MedPharm Polska, Wrocław, 151–212.
25. Han W., Zhao F., Shi Y., Ma L., Ruan J. (2006). Scale and causes of lead contamination in Chinese tea. *Environmental Pollution* 139:125–132.
26. Han W.-Y., Shi Y.-Z., Ma L.-F., Ruan J.-Y., Zhao F.-J. (2007). Effect of liming and seasonal variation on lead concentration of tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Chemosphere* 66:84–90.
27. Herrador M.A., Gonzalez A.G. (2001). Pattern recognition procedures for differentiation of green, black and oolong teas according to their metal content from inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Talanta* 53:1249–1257.
28. Honow R., Reinhold Gu K.-L., Hesse A., Siener R. (2010). Oxalate content of green tea of different origin, quality, preparation and time of harvest. *Journal of Urology and Research* 38:377–381.
29. Ipeaiyeda A.R., Dawodu M. (2011). Leaching of manganese, iron, copper and zinc from tea (*Camellia sinensis*) in tea mugs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 10:2240–2247.
30. Jarosz M., Pachocka L. (2010). Rola dietetyka w prewencji i leczeniu chorób. Kompetencje i umiejętności dietetyka w Europie. Jarosz M. (Red.), *Praktyczny podręcznik dietetyki*, Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa, 11–13.
31. Jaworska G. (2005). Nitrates, nitrites, and oxalates in products of spinach and New Zealand spinach. *Food Chemistry* 89:395–401.

32. Jin C.W., Du S.T., Zhang K., Lin, X.Y. (2008). Factors determining copper concentration in tea leaves produced at Yuyao County, China. *Food and Chemical Toxicology* 46:2054–2061.
33. Johanson S. (2010). The bioavailability of soluble oxalates in stir-fried silver beet leaves. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Food Science, Uppsala, URL: http://stud.epsilon.slu.se/1745/1/johansson_s_100920.pdf, 7–11 .
34. Kabata-Pendias A., Szteke B. (2015). Trace elements in abiotic and biotic environments. CRC Press, Boca Raton.
35. Karak T., Bhagat R.M. (2010). Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: a review. *Food Research International* 43:2234–2252.
36. Kumar A., Nair A.G.C., Reddy A.V.R., Garg A.N. (2005). Availability of essential elements in Indian and US tea brands. *Food Chemistry* 89:441–448.
37. Kumar N., Bansal A., Sarma G.S., Rawal R.K. (2014). Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. *Talanta* 123:186–199.
38. Lee J.E., Lee B.J., Chung J.O., Hwang J.A., Lee S.J., Lee C.H., Hong, Y.-S. (2010). Geographical and climatic dependencies of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites: A ¹H NMR-based metabolomics study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:10582–10589.
39. Li T., Yu L., Li M., Li W. (2007). Comparative studies on the qualities of green teas in Karst and non-Karst areas of Yichang, Hubei Province, PR China. *Food Chemistry* 103:71–74.
40. Liebman M., Costa G. (2000). Effects of calcium and magnesium on urinary oxalate excretion after oxalate loads. *Journal of Urology* 163:1565–1569.
41. Liebman M., Murphy S. (2007). Low oxalate bioavailability from black tea. *Nutrition Research* 27:273–278.

42. Lin J., Zhang P., Pan Z.Q, Xu H.R., Luo Y.P., Wang X.C. (2013). Discrimination of oolong tea (*Camellia sinensis*) varieties based on feature extraction and selection from aromatic profiles analysed by HS-SPME/GC-MS. *Food Chemistry*, 141:259–265.
43. Ma G., Zhang Y., Zhang J., Wang G., Chen L., Zhang M., Liu T., Liu X., Lu C. (2016). Determining the geographical origin of Chinese green tea by linear discriminant analysis of trace metals and rare earth elements: Taking *Dongting Biluochun* as an example. *Food Control* 59:714–720.
44. Malik J., Szakova J., Drabek O., Balik J., Kokoska L. (2008). Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions. *Food Chemistry* 111:520–525.
45. Malinowska E., Gulewicz J., Kośmider M., Szefer P. (2003). The content of chemical elements in the Oolong teas and evaluation of minerals leaching into infusions. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 36:395–399.
46. Mandiwana K.L., Panichev N., Pancheva S. (2011). Determination of chromium (VI) in black, green and herbal teas. *Food Chemistry* 129:1839–1843.
47. Marcason W. (2006). Where can I find information on the oxalate content of foods? *Journal of the American Dietetic Association* 106:627–628.
48. Maupenzi J.P., Li L., Ge J., Varenyam A., Habiyaremye G., Theoneste N., Emmanuel K. (2011). Assessment of soil degradation and chemical compositions in Rwandan tea-growing areas. *Geoscience Frontiers* 2:599–607.
49. McKenzie J.S., Jurado J.M., Pablos F. (2010). Characterisation of tea leaves according to their total mineral content by means of probabilistic neural networks. *Food Chemistry* 123:859–864.
50. Mehra A., Baker C.L. (2007). Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry* 100:1456–1463.

51. Moghaddam M.A., Mahvi A.H., Asgari A.R., Yonesian M., Jahed G.H., Nazmara S.H. (2008). Determination of aluminum and zinc in Iranian consumed tea. *Environmental Monitoring and Assessment* 144:23–30.
52. Moreda-Piñeiro A., Fisher A., Hill S.J. (2003). The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. *Journal of Food Composition and Analysis* 16:195–211.
53. Morita A., Suzuki R., Yokota H. (2004). Effect of ammonium application on the oxalate content of tea plants (*Camellia sinensis* L.). *Soil Science & Plant Nutrition* 50:763–769.
54. Mossion A., Potin-Gautier M., Delerue S., Hécho I., Behra, P. (2008). Effect of water composition on aluminium, calcium and organic carbon extraction in tea infusions. *Food Chemistry* 106:1467–1475.
55. Nookabkaew S., Rangkadilok N., Satayavivad J. (2006). Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54:6939–6944.
56. Noonan S.C., Savage G.P. (1999). Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 8:64–74.
57. Nowak A., Klimowicz A. (2013). Zdrowotne oddziaływanie polifenoli zielonej herbaty (*Camellia sinensis* L.). *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych*. 62:87–93.
58. Oomen A.G., Rompelberg C.J.M., Bruil M.A., Dobbe C.J.G., Pereboom D.P.K.H., Sips A.J.A.M. (2003). Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44:281–287.

59. Penniston K.L. (2014). Dietary oxalate and calcium oxalate stones: a theoretical or real concern? Pearle M.S., Nakada S.Y. (Eds.), *Practical Controversies in Medical Management of Stone Disease*, Springer, New York, 8–12.
60. Pilgrim T.S., Watling R.J., Grice K. (2010). Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples. *Food Chemistry* 118:921–926.
61. Powell J.J., Burden T.J., Thompson R.P.H. (1998). In vitro mineral availability from digested tea: a rich dietary source of manganese. *Analyst* 123:1721–1724..
62. Qin F., Chen W. (2007). Lead and copper levels in tea samples marketed in Beijing, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79:247–250.
63. Qin Z.H., Pang X.L., Chen D., Cheng H., Hu X.S., Wu J.H. (2013). Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: correlation with sensory properties and classification according to grade level. *Food Research International* 53:864–874.
64. Ren G., Wang S., Ning J., Xu R., Wang Y., Xing Z., Wan, X., Zhang Z. (2013). Quantitative analysis and geographical traceability of black tea using fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS). *Food Research International* 53:822–826.
65. Rozporządzenie Rady (WE) nr 509/2006 z dnia 20 marca 2006 r. w sprawie produktów rolnych i środków spożywczych będących gwarantowanymi tradycyjnymi specjalnościami. *Dziennik Legislacji*, 93 (2006) 1–11.
66. Rozporządzenie Rady (WE) nr 510/2006 z dnia 20 marca 2006 roku w sprawie ochrony oznaczeń geograficznych i nazw pochodzenia produktów rolnych i środków spożywczych. *Dziennik Legislacji*, 93 (2006), 12–25.

67. Salahinejad M., Aflaki F. (2010). Toxic and essential mineral elements content of black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran. *Biological Trace Elements and Research* 134:109–117.
68. Santos L. F. P., Trigueiro I. N. S., Lemos V. A., Furtunato D. M. N., Cardoso R. C. V. (2013). Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. *Food Control* 33:193–199.
69. Sarma H., Islam N.F., Borgohain P., Sarma A., Prasad M.N.V. (2016). Localization of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in surface soil of Asia's oldest oil and gas drilling site in Assam, north-east India: Implications for the bio-economy. *Emerging Contaminants* 2:119–127.
70. Savage G.P., Charrier M.J.S., Vanhanen L. (2003). Bioavailability of soluble oxalate from tea and the effect of consuming milk with the tea. *European Journal of Clinical Nutrition* 57:415–419.
71. Seenivasan S., Manikandan N., Muraleedharan N.N. (2008 a). Chromium contamination in black tea and its transfer into tea brew. *Food Chemistry* 106:1066–1069.
72. Seenivasan, S., Manikandan, N., Muraleedharan, N.N., Selvasundaram, R. (2008 b). Heavy metal content of black teas from south India. *Food Control* 19:746–749.
73. Shaltout A.A., Abd-Elkader O.H. (2016). Levels of trace elements in black teas commercialized in Saudi Arabia using inductively coupled plasma mass spectrometry. *Biological Trace Elements and Research* 174:477–483.
74. Shen F., Chen H. (2008). Element composition of tea leaves and tea infusions and its impact on health. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 80:300–304.

75. Sikora P., Bieniaś B., Wawrzyszczuk M., Zajączkowska M. (2008). Dobowe wydalanie kwasu szczawowego w moczu u dzieci zdrowych i z kamicą układu moczowego. *Polski Merkurusz Lekarski* 24:76–79.
76. Sperkowska B., Bazylak G. (2010 a). Wpływ warunków ekstrakcji na zawartość rozpuszczalnych szczawianów w wodnych naparach herbat zielonych i herbatek ziołowych. *Nauka Technologia Jakość* 4:107–121.
77. Sperkowska B., Bazylak G. (2010 b). Evaluation of oxalate content in brews of black teas and coffees available in Poland. *Nauka Przyroda Technologia* 4:1–13.
78. Sułowicz W., Kucharska E., Kmiecik J., Ochmański W. (1997). Etiology and pathogenesis of urolithiasis. *Przegląd Lekarski* 54:173–179.
79. Szczurek E., Słodowska-Hajduk Z., Thor P. (1999). The level of inhibitors of crystallization (magnesium) in urine urolithiasis patients. *Urologia Polska* 52:4–7.
80. Szefer P. (2007). Chemometric techniques in analytical evaluation of food quality. P. Szefer & J. O. Nriagu (Eds.), *Mineral components in foods*. CRC Press - Taylor & Francis Group, Boca Raton, 70–111.
81. Szefer P. (2016). Zastosowanie danych analitycznych w ocenie chemometrycznej jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego oraz zagrożeń toksykologicznych produktów żywnościowych. *Gazeta AMG* 26:23–28.
82. Szymczycha-Madeja A., Welna M., Pohl P. (2012). Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods. *Trends in Analytical Chemistry* 35:169–171.
83. Tascoglu S, Kok E. (1998). Temperature dependence of copper, iron, nickel and chromium transfers into various black and green tea infusions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76:200–208.

84. Wang L., Wei K., Cheng H., He W., Li X., Gong W. (2014). Geographical tracing of Xihu Longjing tea using high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 146:98–103.
85. WHO. (2010). Seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. URL http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_960_eng.pdf. Data dostępności: 30.01.2015 r.
86. WHO. (2011). Lead in drinking-water, background document for preparation of WHO guidelines for drinking-water quality. Geneva: World Health Organization. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/lead.pdf. Data dostępności: 30.01.2015 r.
87. Wojciechowska-Mazurek M., Starska K., Mania M., Rebeniak M., Karłowski K. (2010). Pierwiastki szkodliwe dla zdrowia w herbacie – ocena zagrożenia dla zdrowia. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 43:233–239.
88. Wong M.H., Hang Z.Q., Wong J.W.C., Land C.Y. (1998). Trace metal contents (Al, Cu and Zn) of tea: tea and soil from two tea plantations, and tea products from different provinces of China. *Environmental Geochemistry and Health* 20:87–94.
89. Wu Q.-J., Dong Q.-H., Sun W.-J., Huang Y., Wang Q.-Q., Zhou W.-L. (2014). Discrimination of chinese teas with different fermentation degrees by stepwise linear discriminant analysis (S-LDA) of the chemical compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69:9336–9344.
90. Ye N.S., Zhang L.Q., Gu X.X (2012). Discrimination of green teas from different geographical origins by using HS-SPME/GC-MS and pattern recognition methods. *Food Analytical Methods* 5:856–860.
91. Zahorska-Markiewicz B., Małecka-Tendera E. (2009). *Patofizjologia kliniczna – Podręcznik dla studentów medycyny*, Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 30–32.

92. Zhong W.-S., Ren T., Zhao L.-J. (2016). Determination of Pb (lead), Cd (cadmium), Cr (chromium), Cu (copper), and Ni (nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis* 24:46–55.

VI. Dorobek naukowy

1. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Tomasz Ciesielski, Trond Peder Flaten, Piotr Szefer (2017). Evaluation of macro- and microelement levels in black tea in view of its geographical origin. *Biological Trace Element Research* 176: 429–441.

Impact factor: 1,798; Punktacja ministerstwa: 15,000.

2. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Analytical assessment of bio- and toxic elements distribution in Pu-erh and fruit teas in view of chemometric approach. *Biological Trace Element Research* 174:240–250.

Impact factor: 1,798; Punktacja ministerstwa: 15,000.

3. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Herbata jako źródło manganu w codziennej diecie człowieka. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 49:234-237.

Punktacja ministerstwa: 6,000.

4. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Mędyk, Jerzy Falandysz, Piotr Szefer (2016). Bio- and toxic elements in edible wild mushrooms from two regions of potentially different environmental conditions in eastern Poland. *Environmental Science and Pollution Research* 23:2151 –21522.

Impact factor: 2,760; Punktacja ministerstwa: 30,000.

5. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Monitoring of essential and heavy metals in green tea from different geographical origins. *Environmental Monitoring and Assessment* 188:1–11.

Impact factor: 1,633; Punktacja ministerstwa: 25,000.

6. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Oxalate, magnesium and calcium content in selected kinds of tea: impact on human health. *European Food Research and Technology* 242:383–389.

Impact factor: 1,433; Punktacja ministerstwa: 25,000.

7. Anna Lebedzińska, Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Misztal-Szkudlińska, Emilia Owerczuk, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). Ocena zawartości witaminy B₂ i

żelaza w produktach bezglutenowych przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci. *Problemy Higieny i Epidemiologii* 97:143–145.

Punktacja ministerstwa: 9,000.

8. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Michał Jezusek, Piotr Szefer (2015). Ocena zawartości wybranych mikropierwiastków w herbatach owocowych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 48:274–277.

Punktacja ministerstwa: 6,000.

9. Justyna Brzezicha-Cirocka, Anna Lebedzińska, Agnieszka Kuchta, Jakub Czaja, Magdalena Kamińska, Piotr Szefer (2015). Ocena zawartości żelaza, cynku, miedzi i manganu w substytutach mleka stosowanych w żywieniu wegan. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 48:270–273.

Punktacja ministerstwa: 6,000.

10. Justyna Brzezicha, Monika Tkacz, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2014). Ocena zawartości szczawianów w różnych rodzajach herbat. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 47:325–329.

Punktacja ministerstwa: 5,000.

11. *Małgorzata Mędyk, Małgorzata Grembecka, Justyna Brzezicha-Cirocka**, Jerzy Falandysz (2017). Bio- and toxic elements in mushrooms from the city of Umeå and outskirts, Sweden. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. Accepted.

Impact factor: 1,247; Punktacja ministerstwa: 20,000.

Łączna punktacja Impact factor: 10,669

Łączna punktacja ministerstwa: 162

Łączna liczba streszczeń zjazdowych: 14

* Pismo autorstwa Redaktora Naczelnego czasopisma dotyczące akceptacji pracy załączono na kolejnej stronie.

** Autor korespondujący

VII. Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy

1. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). [Monitoring of essential and heavy metals in green tea from different geographical origins](#). *Environmental Monitoring and Assessment* 188:1–11.
Impact factor: 1,633; Punktacja ministerstwa: 25,000.
2. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Tomasz Ciesielski, Trond Peder Flaten, Piotr Szefer (2017). [Evaluation of macro- and microelement levels in black tea in view of its geographical origin](#). *Biological Trace Element Research* 176:429–441.
Impact factor: 1,798; Punktacja ministerstwa: 15,000.
3. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). [Analytical assessment of bio- and toxic elements distribution in Pu-erh and fruit teas in view of chemometric approach](#). *Biological Trace Element Research* 174:240–250.
Impact factor: 1,798; Punktacja ministerstwa: 15,000.
4. Justyna Brzezicha-Cirocka, Małgorzata Grembecka, Piotr Szefer (2016). [Oxalate, magnesium and calcium content in selected kinds of tea: impact on human health](#). *European Food Research and Technology* 242:383–389.
Impact factor: 1,433; Punktacja ministerstwa: 25,000.

Łączna punktacja Impact factor prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej: 6,662;

Łączna punktacja ministerstwa prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej: 80.

X. Streszczenie w języku polskim

Herbata, która jest drugim pod względem popularności napojem spożywanym na świecie, jest szczególnie ceniona ze względu na swoje niezwykle właściwości. Wśród wielu ważnych substancji wchodzących w skład herbaty, istotną rolę odgrywają makro- i mikropierwiastki. Zarówno ich nadmiar jak i niedobór nie jest pożądanym. Z tego też względu prawidłowo zbilansowana dieta powinna uwzględniać nie tylko ich zawartości w pokarmach stałych, ale i płynnych takich jak herbata. Statystyczny Polak spożywa 2-3 filiżanki dziennie tego napoju, dlatego też przedmiotem badań było oznaczenie 14 pierwiastków w liściach oraz naparach herbacianych, ocena realizacji dziennego zapotrzebowania na poszczególne biopierwiastki, ocena stopnia narażenia na metale toksyczne wskutek spożycia herbaty zielonej, czarnej, Pu-erh i owocowej. W badanych herbatach oznaczono również zawartość substancji antyodżywczych, jakimi są szczawiany pod kątem wyboru rodzaju herbaty dla osób z grupy ryzyka rozwoju kamicy nerkowej. Dodatkowo, wykorzystując wielowariancyjne techniki statystyczne, oceniono badane herbaty pod kątem ich pochodzenia geograficznego, konfekcji oraz typu.

Oznaczenia 14 pierwiastków (Ca, K, Na, Mg, P, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cr, Co, Pb i Cd) dokonano w zakupionych na terenie Trójmiasta 191 różnych rodzajach herbaty. Łącznie przebadano około 1300 próbek analitycznych. Analizy poszczególnych pierwiastków w liściach herbacianych oraz ich naparach dokonano stosując metodę spektrometrii absorpcji atomowej ze spalaniem w płomieniu oraz spektrometrii UV-Vis po uprzedniej mineralizacji na sucho. Walidacji zastosowanych procedur dokonano poprzez wykorzystanie certyfikowanych materiałów odniesienia jak: Tea (NCS ZC73014), Oriental Basma Tobacco Leaves (INCT-OBTL-5) i Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6). Zarówno dokładność (86-113%) jak i precyzja (0,02-10,3%) były wysoce zadowalające.

Zawartość wybranych makro- i mikropierwiastków była zróżnicowana w analizowanych herbatach zielonych, czarnych, Pu-erh oraz owocowych. Najwyższe poziomy w liściach herbacianych oznaczono dla K, a wśród mikropierwiastków dla Mn. Ponadto stwierdzono, że na zawartość oznaczanych pierwiastków miał wpływ typ herbaty, jej konfekcja oraz pochodzenie geograficzne. Dane dotyczące zawartości biopierwiastków w naparach wykorzystano do oceny realizacji dziennego zapotrzebowania (RDA) w świetle ogólnodostępnych norm. Herbata jest bogatym źródłem Mn, jednakże biorąc pod uwagę jego biodostępność, tylko 40% spożytego pierwiastka jest absorbowane przez organizm. Konsumpcja herbaty dostarcza również metali, które w większości wynikają z zanieczyszczenia jej liści. Oszacowanie stopnia narażenia na metale toksyczne takie jak Pb oraz Cd pozwoliło stwierdzić, iż nie ma zagrożenia związanego z zatruciem tymi metalami w wyniku spożycia tego napoju.

Herbata oprócz swoich dobroczynnych właściwości, zawiera również substancje, które mogą przyczyniać się do powstawania jednostek chorobowych związanych z nadmiernym jej spożyciem. Wśród tych substancji wyróżnia się szczawiany, które mogą wpływać na zwiększenie ryzyka występowania kamicy nerkowej, której jedną z głównych przyczyn jest zbyt duża podaż tych związków w diecie. Zaobserwowano, że zawartość szczawianów jest najmniejsza w herbatach zielonych, co przemawia za wyborem tego rodzaju produktu przez osoby będące w grupie ryzyka rozwoju kamicy nerkowej.

Baza danych analitycznych w połączeniu z nowoczesnymi technikami chemometrycznymi pozwoliła na określenie pochodzenia geograficznego herbat zielonych, oraz czarnych. Dodatkowo herbaty czarne zostały zróżnicowane w obrębie pobliskich rejonów upraw. Herbaty Pu-erh i owocowe zostały sklasyfikowane pod kątem konfekcji i typu. Zastosowane techniki chemometryczne takie jak FA i CA są skutecznymi narzędziami w ocenie pochodzenia geograficznego, konfekcji oraz typu herbaty.

XI. Streszczenie w języku angielskim

Tea is the second most popular beverage consumed around the world, it is particularly appreciated mainly due to its unusual properties. Among many important substances in tea, their main role is played by macro- and microelements. Their excess and deficiency is not desirable. Therefore properly balanced diet should consider not only their content in solid food, but also in beverages such as tea. The statistical Polish man drinks 2-3 cups a day, so the subject of the research was to determine 14 elements in the tea leaves and their infusions. There were also assessed the recommended realization of the daily intake for individual micronutrients and exposure to toxic metals as a result of green, black, Pu-erh and fruit tea consumption. There was also determined the content of anti-nutritional substances - oxalates in order to point out which type of tea would be better for people with a risk of developing kidney stones. In addition, multivariate techniques were applied to assess geographical origin, confection and type.

Fourteen elements (Ca, K, Na, Mg, P, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cr, Co, Pb and Cd) were determined in 191 different brands of tea which were purchased in shops from Tricity. In total of 1300 analytical samples were prepared. Elements were analyzed by flame atomic absorption spectrometry and spectrophotometric method after previous dry mineralization. The certified reference materials such as Tea (NCS ZC73014), Oriental Basmata Tobacco Leaves (INCT-OBTL-5) and Polish Virginia Tobacco Leaves (INCT-PVTL-6) were used in validation process. Both the accuracy (86-113%) and precision (0,02-10,3%) were highly satisfactory.

The contents of some macro- and microelements were varied in the analyzed green, black, Pu-erh and fruit teas. The analyzed products characterized with the highest levels of K (among macroelements) and Mn (among microelements). In addition, it was found that the

analyzed elements concentrations depend on the type of tea, its confection and geographical origin. There was also assessed the realization of the daily intake (RDA) in view of available for bioelements. Tea is a rich source of Mn, however, its bioavailability (40%) should be also taken into account. Consumption of tea also provides metals, which can be result of the tea leaves contamination. It was concluded, based on PTWI assessment, that there is no health risk associated with Pb and Cd poisoning through tea consumption.

Besides beneficial properties, tea also contains substances that may contribute to the formation of diseases which are related to their consumption. Among these substances are oxalates, which may increase the risk of kidney stones, resulting from excessive supply of these compounds with diet. It was observed that the oxalate content was the lowest in green teas, which suggested choosing this type of tea by people with risk of developing kidney stones.

The obtained database combined with modern chemometric techniques allowed on to evaluation of the of green and black teas geographical origin. It was possible to differentiate black tea samples within neighboring plantations. Pu-erh and fruit tea were classified in terms of confection and type of tea. It was concluded that chemometric techniques such as FA and CA constitute effective tools of geographical origin, confection and the type of tea assessment.