

## بررسی تغییرات میزان کل ترکیبات فنولیک در چای سبز ایرانی دم‌آوری شده

<sup>1\*</sup> نصیری راد، رضا؛ <sup>2</sup> حداد خداپرست، محمدحسین؛ <sup>3</sup> الهامی راد، امیرحسین و <sup>4</sup> روفی‌گری

حقیقت، شیوا

<sup>1</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار  
<sup>2</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد  
<sup>4</sup> پژوهشکده چای شمال

چای سبز از برگهای گیاه کاملیا سیننزیس تهیه می شود. کاتچین های چای سبز به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی شناخته می شوند و دارای اثرات مفیدی در بدن می باشند. یکی از مراحل مهم در استخراج کاتچین ها و تهیه نوشیدنی چای سبز مرحله دم آوری آن است. هدف از انجام این مطالعه مشخص کردن اثر دمای دم آوری (۸۰، ۷۰، ۶۰) و زمان دم آوری (۱۵ و ۱۰، ۵ دقیقه) همچنین فصل برداشت برگ سبز بر میزان کل ترکیبات فنولیک چای سبز تهیه شده در مرکز تحقیقات چای لاهیجان می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار کل پلی فنول به روش فولین سیو کالتو فنول بر روی چای سبز دم آوری شده نشان داد که نمونه حاصل از برداشت در فصل تابستان و بهار ترکیبات پلی فنول بیشتری از نمونه حاصل از برداشت در فصل پاییز را دارا هستند همچنین عصاره چای سبز دم آوری شده در زمان ۱۵ دقیقه دارای بیشترین مقدار پلی فنول می باشد و اثر دمای دم آوری در میزان کل پلی فنول معنی دار نبود.

واژه‌های کلیدی: چای سبز، ترکیبات فنولیک، دم‌آوری

بسمه تعالی

## بررسی تغییرات میزان کل ترکیبات فنولیک در چای سبز ایرانی دم آوری شده

رضا نصیری راد<sup>۱\*</sup>، محمد حسین حداد خداپرست<sup>۲</sup>، امیر حسین الهامی راد<sup>۳</sup>، شیوا روفیگری حقیقت<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، <sup>۲</sup> عضو هیات علمی دانشگاه فردوسی مشهد، <sup>۳</sup> عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، <sup>۴</sup> عضو هیات علمی پژوهشگاه چای شمال

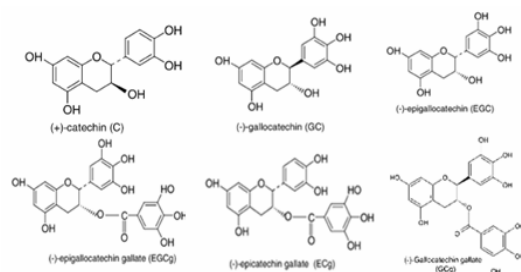
چکیده :

چای سبز از برگهای گیاه کاملیا سیننزیس تهیه می شود. کاتچین های چای سبز به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی شناخته می شوند و دارای اثرات مفیدی در بدن می باشند. یکی از مراحل مهم در استخراج کاتچین ها و تهیه نوشیدنی چای سبز مرحله دم آوری آن است. هدف از انجام این مطالعه مشخص کردن اثر دمای دم آوری (۶۰، ۷۰ و ۸۰°C) و زمان دم آوری (۱۵ و ۱۰ و ۵ دقیقه) همچنین فصل برداشت برگ سبز بر میزان کل ترکیبات فنولیک چای سبز تهیه شده در مرکز تحقیقات چای لاهیجان می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار کل پلی فنول به روش فولین سیو کالتو فنول بر روی چای سبز دم آوری شده نشان داد که نمونه حاصل از برداشت در فصل تابستان و بهار ترکیبات پلی فنول بیشتری از نمونه حاصل از برداشت در فصل پاییز را دارا هستند همچنین عصاره چای سبز دم آوری شده در زمان ۱۵ دقیقه دارای بیشترین مقدار پلی فنول می باشد و اثر دمای دم آوری در میزان کل پلی فنول معنی دار نبود.

کلمات کلیدی: چای سبز، ترکیبات فنولیک، دم آوری

۱- مقدمه

چای بعد از آب پرطرفدارترین نوشیدنی در جهان می باشد. در گذشته مطالعات وسیعی در رابطه با چای و ترکیبات فلاوونوئید آن انجام گرفته است. فلاوونوئیدها حاصل از متابولسیم ثانویه گیاهان می باشند که به طور گسترده ای در قلمرو گیاهان یافت می شوند. فلاوونوئیدها را می توان بر اساس ساختار و موقعیت حلقه هتروسیکلیک اکسیژن به شش گروه فلاوون ها، فلاوانون ها، ایزوفلاوون ها، فلاوونول ها، فلاوانول ها و آنتوسیانین ها تقسیم بندی نمود. مهمترین فلاوونوئید موجود در چای فلاوونول یا به طور دقیق تر کاتچین ها می باشند [۷]. کاتچین ها آنتی اکسیدانند و دارای اثرات مفیدی در بدن می باشند [۳]. (+) کاتچین (C)، (-) اپی کاتچین (EC)، (-) اپی - گالوکاتچین (EGC)، (-) اپی کاتچین - گالات (ECG)، (-) اپی گالوکاتچین گالات (EGCG) و (-) گالوکاتچین گالات (GCG) شش کاتچین موجود در چای هستند (شکل ۱-۱) که ویژگی های زیستی چای مانند خاصیت آنتی اکسیدانی [۱،۳]، ضد میکروبی [۳، ۵]، ضد سرطانی [۱۲،۳] و ضد جهش زایی [۳] را مربوط به آنها می دانند.



شکل ۱-۱- فرمول ساختاری کاتچین ها

کاتچین ها بیش از ۳۰٪ ماده خشک چای را شامل می شوند [۳]. استخراج کاتچین ها از چای و ورود آن به فاز محلول مستلزم دم آوری چای می باشد. نحوه دم آوری چای در کشور های مختلف، متفاوت است [۲] اما روش دم آوری مناسب تلقی می شود که بوسیله آن بیشترین ترکیبات مفید موجود در چای (کاتچین ها) استخراج شود [۷] همچنین عصاره حاصل بالاترین رتبه از لحاظ مقبولیت مصرف کننده را دارا باشد [۱۱]. در این تحقیق سعی شده است دما و زمان مناسب دم آوری چای سبز ایرانی تهیه شده در فصول مختلف سال به نحوی تعیین گردد که عصاره حاصل از دم آوری از لحاظ مقدار کل پلی فنول ها دارای بهترین شرایط باشد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- ماده اولیه

برگ سبز چای مورد استفاده در این تحقیق در طی فصل زراعی ۱۳۸۶ از ایستگاه تحقیقاتی چای شهید اسلامی وابسته به مرکز تحقیقات چای واقع در شهرستان لاهیجان تهیه شد. در این تحقیق از رقم هیبرید چینی بومی منطقه استفاده شد. برداشت برگ سبز به صورت دستی و در طی سه فصل رشد، در فصل بهار در خرداد ماه، در فصل تابستان در مرداد ماه و در فصل پاییز در مهر ماه به صورت استاندارد یعنی یک غنچه و دو برگ انجام گرفت. برگهای سبز چای پس از برداشت در کوتاه ترین زمان (کم تر از ۲ ساعت) به آزمایشگاه چایسازی کارخانه تحقیقاتی کاشف منتقل شد. غیر فعال سازی آنزیم های موجود در برگهای چای به روش آنزیم بری با بخار انجام گرفت. سپس برگ های مالش داده شده به منظور کاهش رطوبت به مدت ۲۰ دقیقه در آن با دمای ۱۱۰°C قرار داده شدند. برای رسیدن به رطوبت نهایی (حدود ۴ درصد) و همچنین کیفیت بهتر عمل مالش و خشک کردن تا ۲ بار تکرار شد.

### ۲-۲- روش کار

اندازه گیری مقدار کل پلی فنول ها به روش رنگ سنجی با استفاده از معرف فولین سیوکالتو فنول<sup>۱</sup> بر طبق روش ISO/FDIS 14502-1 انجام گرفت. بر طبق این روش ۰/۲ گرم از نمونه های چای با ۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از دم آوری در بن ماری در دما ها و زمان های مختلف، نمونه ها صاف شد و تا رقت ۰/۰۱ با آب مقطر رقیق شدند. در ادامه ۱ میلی لیتر از نمونه های رقیق شده با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو فنول ۰/۱٪ (کسر حجمی) مخلوط و حداقل به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد. در ادامه ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵٪ (غلظت وزنی) به لوله های حاوی نمونه ها اضافه شد و مخلوط کردن انجام گرفت. برای نمونه شاهد به جای نمونه از ۱ میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. در نهایت لوله ها درب گذاری شده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند پس از آن نمونه ها در داخل سل ریخته شده

<sup>۱</sup> Folin- ciocalteu phenol reagent.

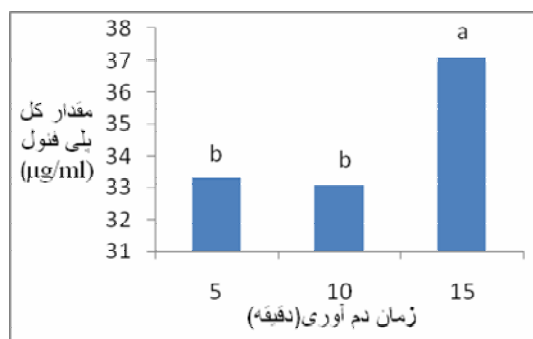
و جذب همزمان آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد [۴]. برای رسم منحنی استاندارد از محلول استاندارد اسید گالیک انهدروس استفاده شد.

### ۳-۲- طرح آماری

طرح آماری مورد استفاده در این بررسی، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بود. فاکتورهای مورد بررسی عبارتند از زمان برداشت برگ سبز چای در سه سطح (بهار، تابستان و پاییز)، دما در سه سطح ( $70^{\circ}\text{C}$ ،  $60^{\circ}\text{C}$ ) و زمان دم آوری در سه سطح (۱۵ و ۱۰ و ۵ دقیقه). تجزیه واریانس طرح با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 انجام و کلیه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح اختلاف معنی دار شده در آزمون تجزیه واریانس انجام شد. کلیه نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel رسم گردید.

### ۳-۱- نتایج و بحث

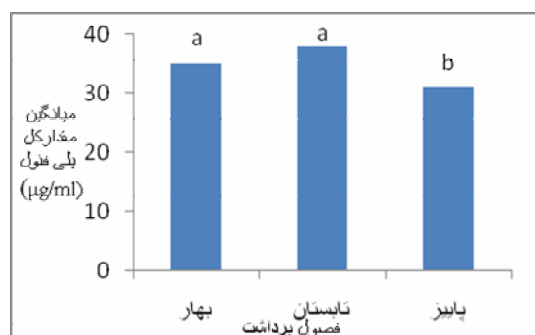
بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس می توان بیان کرد که اثر زمان دم آوری در سطح احتمال ۵ درصد و همچنین اثر فصول مختلف برداشت در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. از آنجایی که ترکیب پلی فنول های چای اهمیت ویژه ای در خواص مربوط به سلامتی دم کرده چای سبز دارد می توان این گونه نتیجه گیری نمود که میزان این ترکیب در چای سبز تهیه شده از برگ های حاصل از برداشت در فصول مختلف سال متفاوت است همچنین مدت زمان دم آوری چای نیز در میزان حضور این ترکیبات در دم کرده چای موثر است اما در این بین دمای دم آوری بر مقدار کل پلی فنول های عصاره اثر معناداری نداشت. همانطور که در شکل ۳-۱ مشاهده می شود عصاره حاصل از دم آوری در مدت ۱۵ دقیقه با میانگین  $37/1$  بیشترین مقدار کل پلی فنول را داراست و به طور معناداری بیشتر از مدت زمان دم آوری ۵ دقیقه با میانگین  $33/296$  و مدت زمان دم آوری در ۱۰ دقیقه با میانگین  $33/07$  می باشد.



شکل ۳-۱- مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز دم آوری شده در زمان های مختلف

در این بین مدت زمان دم آوری در مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه اختلاف معنی داری وجود ندارد. به نظر می رسد عمده استخراج کاتچین ها بعد از گذشت مدت زمان دم آوری ۱۰ دقیقه انجام می گیرد و میزان کاتچین استخراج شده در زمان های دم آوری کم تر از ۱۰ دقیقه چندان تفاوتی با هم نمی کنند. به طور دقیق تر در مدت زمان کم تر از ۵ دقیقه عمده کاتچین هایی مانند اپی کاتچین و اپی گالو- کاتچین و مقداری از کاتچین های دیگر استخراج می شوند و در مدت زمان دم آوری تا ۱۰ دقیقه کاتچین های بیشتری استخراج نمی شوند و حتی مقدار اندکی از این ترکیبات در اثر دمای دم آوری ناپود می شوند که این فرضیه را می توان در کاهش اندک مقدار کل پلی فنول ها در زمان دم آوری ۱۰ دقیقه نسبت به زمان دم آوری در مدت زمان ۵ دقیقه مشاهده کرد اما در زمان های دم آوری بیشتر کاتچین هایی مانند اپی کاتچین گالات و اپی گالو کاتچین گالات نیز

به ترکیبات استخراج شده در مرحله قبل اضافه می شوند (خصوصاً ترکیب EGCG که در بین کاتچین های چای بیشترین مقدار را داراست) و افزایش قابل ملاحظه ای در مقدار کل کاتچین های مشاهده می شود [۸]. پرایس و اسپیتزر (۱۹۹۴) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که سرعت خروج فلاوانول های بدون گالات بیشتر از فلاوانول های با گروه گالات می باشد [۹]. به نظر می رسد تفاوت در وزن مولکولی کاتچین ها عامل اصلی در وابستگی آنها به زمان دم آوری باشد. به نحوی که در ابتدای دم آوری کاتچین های با وزن مولکولی کم وارد فاز محلول می شوند و با گذشت زمان بیشتر کاتچین های با وزن مولکولی بیشتر استخراج می شوند. بازینت و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتایج مشابه ای را گزارش کردند [۲].



شکل ۳-۲- مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز تهیه شده در فصول مختلف برداشت

نتایج حاصل از مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز تهیه شده در فصول مختلف برداشت (شکل ۳-۲) نشان می دهد که عصاره حاصل از چای سبز برداشت شده در فصل تابستان با دارا بودن میانگین ۳۷/۶۹۶ بیشترین مقدار پلی فنول را داراست. مقدار پلی فنول موجود در عصاره چای حاصل از برداشت در فصل بهار نیز با میانگین پلی فنول ۳۵ به طور معنا داری بیشتر از میانگین مقدار کل پلی فنول حاصل از برداشت در فصل پاییز با میانگین ۳۰/۷۷۹ می باشد اما با مقدار پلی فنول عصاره حاصل از برداشت در فصل تابستان اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. به نظر می رسد دمای هوا و همچنین میزان دریافت نور خورشید عامل مهمی در ایجاد اختلاف معنی دار در مقدار کل پلی فنول عصاره حاصل از برداشت چای در فصل تابستان و بهار با مقدار آن در برداشت چای در فصل پاییز باشد. تولید کاتچین ها در گیاه چای با شدت نور افزایش و با سایه کاهش می یابد. این پدیده به فعالیت فنیل آلانین- آمونیا لیاز که آنزیم کلیدی در بیوسنتز حلقه B کاتچین می باشد بستگی دارد. وقتی که گیاه در پوشش قرار میگیرد (دور از نور) این آنزیم به شدت کاهش می یابد. بیوسنتز کاتچین ها همچنین با افزایش دما افزایش می یابد [۳]. کوماموتو و سوندا (۱۹۹۸) اعلام کردند که میزان کاتچین ها در برگ چای ثابت نیست و از فصلی به فصل دیگر فرق می کند و بوته چایی که در معرض نور بیشتری قرار گیرند کاتچین های بیشتری در برگ های آن ساخته می شود [۵]. قوی ترین آنتی اکسیدان طبیعی را فلاوانوئیدها تشکیل می دهند، که آنها نیز در اثر فتوسنتز بوجود می آیند [۳]. بنابراین می توان نتیجه گیری نمود که میزان نور خورشید که یک عامل مهم در میزان فتوسنتز است می تواند تاثیر بسزایی در تولید کاتچین های چای داشته باشد. اگر چه نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می دهد که دمای دم آوری بر مقدار کل پلی فنول چای سبز دم آوری شده تاثیری ندارد اما دما می تواند عامل مهمی در استخراج این ترکیب از نمونه چای به فاز محلول باشد و صحت آن نیز در میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز حاصل از دم آوری در دماهای مختلف که با افزایش دما روند افزایشی را نشان می دهد به اثبات می رسد. در این بین عصاره حاصل از دم آوری در دمای ۸۰ °C افزایش مقدار کل پلی فنول مشخصی را نشان می دهد اما این اختلاف معنی دار نیست. احتمالاً اثر دما در مقادیر بیش از ۷۰ °C می تواند در استخراج بیشتر کاتچین ها خصوصاً EGCG موثر باشد.

در مجموع می توان بیان کرد که بیشترین مقدار کاتچین ها در عصاره حاصل از دم آوری نمونه حاصل از برداشت در فصل تابستان و دم آوری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۰ C° وجود دارد.

## Reference

- 1- Banon,S.,Diaz,P., Rodriguez,M., Garrido,M.D., Price,A.(2007).*Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties*. Meat Science.
- 2- Bazinet,B.,Labbe,D.,Tremblay,A.(2007). *Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure*. Separation and Purification Technology, 56 : 53–56.
- 3- Hara, Y. (2001).*Green tea health benefits and applications*. Marcel Dekker Inc, New York.
- 4- ISO/FDIS 14502-1. (2004). *Determination of substances characteristic of green and black tea*. Part 1
- 5- Kumamoto, M ., Sonda, T.( 1998)*Evaluation of the antioxidative activity of tea by an oxygen electrode method*, Biosci. Biotechnol. Biochem. 62: 175–177.
- 6- Kumudavally,K.V. ,Phanindrakumar, H.S. ,Tabassum,A. ,Radhakrishna,K. ,Bawa,A.S. (2007) *Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25+2oC)*. Food Chemistry.
- 7- Labbe,D., Tremblay,A., Bazinet,L.(2006). *Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions*.Separation and Purification Technology, 49:1-9.
- 8- Laurent,B., Labb,D.,Tremblay,A.(2007). *Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure*. Separation and Purification Technology 56: 53–56
- 9- Price, W.E., Spitzer ,J.C (1994). *The kinetics of extraction of individual flavanols and caffeine from a Japanese green tea (Sen Cha Uji Tsuyu) as a function of temperature*. Food Chem. 50: 19–23
- 10- Sharma, V., Gulati,A., Ravindranath,S.D. (2005). *Extractability of tea catechins as a function of manufacture procedure and temperature of infusion*. Food Chemistry 93: 141–148.
- 11- tea institute of Chinese academy of agricultural sciences.(1983).*Experiment hand book of tea tree physiology and tea leaves biochemistry*.Press of Chinese agriculture,Beijing ,China.
- 12- Yusuf,N., Irby,C .,Katiyar,S.K., Elmets,C.A.(2007). *Photoprotective effects of green tea polyphenols*. Photodermatol Photoimmunol Photomed 23: 48–56.

## Study of total polyphenole content variance in Iranian green tea brew

### Abstract

Green Tea provides from the leaves of camellia sinensis. The Green tea catechins are well known as natural antioxidants and have beneficial effect on the body. One of the most important processes in extraction of catechins and providing green tea beverage is brewing process. The object of this study is to investigate the effect of brewing temperature(60,70 and 80°C) and duration (5,10 and 15 min)also the effect of season of plucking on green tea that was provided in the Tea Research foundation of lahijan. results of total phenolic content on green tea brew proved that plucking in summer and spring seasons sample have much total phenolic content rather than plucking in autumn season sample also extract of brewing green tea at 15 minuets duration has highest total phenolic content and the brewing temperature not significant effected on total phenolic content.

Keywords: Green tea; phenolic compound; brewing

آدرس : استان گیلان، شهرستان لاهیجان، خیابان امام خمینی، کوی کاروانسرایر، کوچه قدیمی، کوچه طیران پلاک ۳۰، کد پستی

[rezanasiryrad@yahoo.com](mailto:rezanasiryrad@yahoo.com)Email:

شماره تلفن: ۰۹۱۱۱۴۳۴۲۵۷ - رضا نصیری راد