

# محتوای فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی (روش FRAP) نش نوع چای ایرانی

جعفر محمدزاده میلانی<sup>1\*</sup>، گیسو ملکی<sup>2</sup> و المیرا بامیار<sup>3</sup>

<sup>1</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

<sup>2</sup> دانشجوی دکتری تخصصی رشته علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

<sup>3</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

تاریخ پذیرش: 1393/2/5

تاریخ دریافت: 1392/5/8

## چکیده

در این بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی کل در شش نوع چای ایرانی کله مورچه ای، سبز، تله پفکی، چکش سبز، پا شکسته و قرمز در زمانهای مختلف دم کشیدن مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور چای ها تحت زمان های مختلف دم کشیدن (از 2 تا 10 دقیقه) قرار گرفتند. فعالیت آنتی اکسیدانی توسط روش FRAP و محتوای فنولیک کل به کمک معرف فولین سیکالتو و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک غلظت کل ترکیبات فنولیک مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که از لحظه شروع فرآیند دم کشیدن میزان استخراج ترکیبات فنولی چای افزایش یافت بطوریکه تا دقیقه هفتم روند افزایش دارای شیب نسبتاً زیاد بود اما از دقیقه هفتم به بعد ترکیبات فنولی با سرعت کمتری از چای خارج شدند. میزان محتوای فنولیک انواع مختلف چای سیاه بیشتر از چای قرمز اما کمتر از چای سبز بود. به طوریکه چای سبز و سپس کله مورچه ای بیشترین میزان ترکیبات فنولی (6/076 و 5/629 میلی مول بر میلی گرم) و چای قرمز کمترین ترکیب فنولی را داشتند (2/234 میلی مول بر میلی گرم). بیشترین تاثیر زمان دم کشیدن در انواع چای سیاه مشاهده شد. نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که چای سبز و تله پفکی به ترتیب بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا بودند.

**واژه های کلیدی:** چای، فعالیت آنتی اکسیدانی، فولین سیکالتو، محتوای فنولی، FRAP

## 1- مقدمه

چای واژه‌ای است چینی که در چین و شمال هندوستان به کار می‌رود و تقریباً با همان تلفظ وارد زبان فارسی شده‌است. پیشینه مصرف چای در ایران به سده هفدهم میلادی می‌رسد. استان‌های گیلان و مازندران مناطق سرسبزی هستند که بیشترین سطح زیر کشت چای را در ایران دارا هستند. سطح زیر کشت چای در ایران حدود 32 هزار هکتار در دو استان گیلان (90%) و مازندران (10%) است.

مواد متشکله برگ چای عبارتند از مواد سلولزی، مواد صمغی، دکسترین، پکتین، چربی، نشاسته، قند، اسید گالیک، اسید اگزالیک، کوئرستین، پروتئین، مواد معدنی، تانن، کافئین یا تئین، ترکیبات معطر و دیاستازها. برگهای سبز چای حاوی 10 تا 30% (بر مبنای وزن خشک) ترکیبات پلی فنولیکی شامل کاتکینها، فلاونونها، فلاوانونها، اسیدهای فنولیکی و گلیکوزیدها هستند (10). پلی فنول های چای آنتی اکسیدانهای طبیعی بوده، مسئول خصوصیات ضد سرطانی، ضد جهش زاوی و محافظتی چای در مقابل بیماریهای قلبی عروقی می باشند (12، 15، 16). آنها همچنین نسبت به  $\alpha$ -توکوفرول از فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تری برخوردار بوده و ویژگی های ایمنی آنها بهتر از آنتی اکسیدان های سنتزی می باشد (2). فعالیت آنتی اکسیدانی قوی عصاره های چای عمدتاً برگرفته از حضور کاتکین، اپی کاتکین، اپی گالوکاتکین، اپی گالوکاتکین گالات و اپی کاتکین گالات است (11). کاتکینها ترکیبات طعمی غیر فرار چای سبز به شمار می آیند و 8 تا 15% از وزن برگ خشک چای را به خود اختصاص می دهند (3، 9). تحقیقات لیبرت و همکاران (6) در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی عصاره چای های مختلف نشان داد که در تمام موارد فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی کل با افزایش زمان جوشاندن افزایش می یابد. سو و همکاران (13) مشخصات فنولیک کل و فعالیت آنتی اکسیدان چای اولانگ را تحت شرایط مختلف بررسی نمودند. با توجه به نتایج حاصله بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در دقیقه 3 مشاهده شد. لین و همکاران (7) با بررسی اثر روش های مختلف جوشاندن بر خواص آنتی اکسیدانی چای سبز مشاهده نمودند که عصاره حاصل از آب داغ دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره حاصل از آب سرد دارد.

هدف از این پژوهش، مطالعه قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی انواع مختلف چای از جمله: چای سبز، چای سیاه و چای قرمز و تاثیر زمان دم کشیدن بر این دو ویژگی می باشد. چای کله مورچه ای، پاشکسته، چکش سبز و تله پفکی به عنوان چای سیاه مورد بررسی قرار گرفتند زیرا این انواع چای از دیگر موارد بیشتر مورد استفاده هستند. قابل ذکر است که منظور از چای قرمز چای حاصل از برگ گیاه هیبیسکوس بوده که در سراسر دنیا به نام چای قرمز یا چای هیبیسکوس<sup>1</sup> مرسوم می باشد.

## 2- مواد و روش ها

## 2-1- مواد اولیه

برگ های چای آماده از بازار خریداری شدند. معرف های فولین سیکالتو، TPTZ، کربنات سدیم و اسید گالیک از شرکت مرک آلمان و کلرید آهن شش آبه از سیگما-آلد ریج انگلستان تهیه شدند.

## 2-2- محتوای فنولی

برای تعیین محتوای فنولی 1/3 گرم برگ چای وارد 100 میلی لیتر آب مقطر جوشیده (زمان جوشیدن 60 ثانیه) شد. به فاصله هر دو دقیقه یکبار نمونه گیری را انجام داده تا به ده دقیقه رسید (2، 4، 6، 8 و 10 دقیقه). پس از خنک شدن نمونه ها، 0/1 میلی لیتر چای با دو میلی لیتر محلول کربنات سدیم (75 گرم بر لیتر) و 2/5 میلی لیتر معرف فولین سیکالتو 10 بار رقیق شد، مخلوط شده و اجازه داده شد تا برای دو ساعت بماند. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/VISIBLE مدل T80+ میزان جذب نمونه ها در طول موج 765 nm خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک غلظت کل ترکیبات فنولی سنجیده شد (6).

## 2-3- استخراج آنتی اکسیدان ها

یک گرم از برگ چای با استفاده از هاون کوبیده و به قطعات کوچک تقسیم شد سپس 9 میلی لیتر محلول بافر 0/1 مولار (6/7 pH=) به نمونه های چای اضافه شد. سپس مخلوط با استفاده از کاغذ واتمن شماره 40 فیلتر شده و سپس با سرعت 1500 دور در

<sup>1</sup> Hibiscus tea

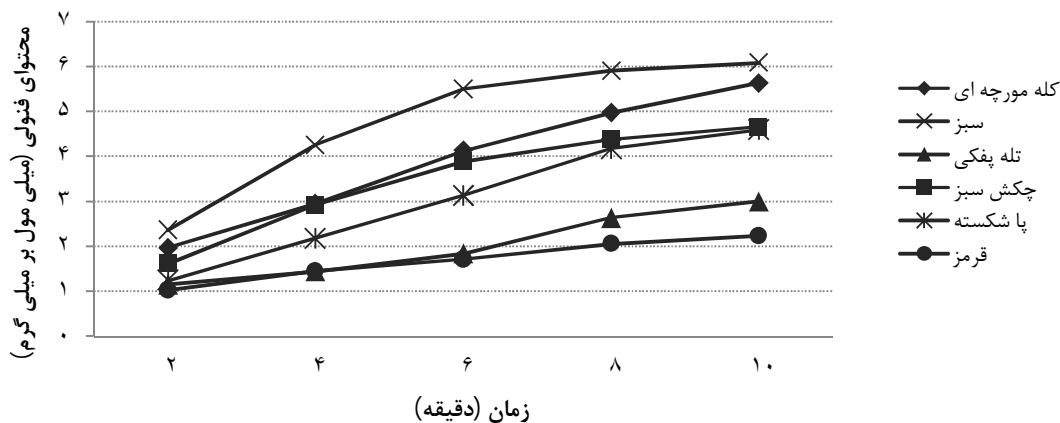
SAS 9.1 صورت گرفت. پس از تجزیه و تحلیل داده ها مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5% انجام شد. در این تحقیق کلیه تیمارها در سه تکرار اعمال گردیدند.

### 3- نتایج و بحث

#### 3-1- محتوای فنولی

نتایج مربوط به مقایسه محتوای فنولی در انواع مختلف چای در شکل 1 نشان داده شده است. با توجه به داده های بدست آمده مشاهده می شود که از لحظه شروع فرآیند دم کشیدن با گذشت زمان میزان استخراج ترکیبات فنولی از چای افزایش می یابد بطوریکه تا دقیقه هفتم روند افزایش دارای شیب نسبتاً ثابت است اما از دقیقه هفتم به بعد ترکیبات فنولی با سرعت کمتری از چای خارج می شوند.

میزان محتوای فنولیکی چای سبز بیشتر از انواع دیگر چای می باشد ولی بیشترین تأثیر دم کشیدن بر چای کله مورچه ای مشاهده شد. بیشترین میزان ترکیبات فنولی در این میان مربوط به چای سبز و کمترین میزان مربوط به چای قرمز بود. از لحاظ میزان ترکیبات فنولیکی اختلاف معنی داری بین انواع مختلف چای مشاهده شد.



شکل 1- تاثیر زمان دم کردن در محتوای فنولی انواع مختلف چای

دقیقه و به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ (Hermel Z200A) شد (14).

#### 4-2- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی از روش FRAP استفاده شد. بدین منظور ابتدا محلول FRAP به شرح زیر تهیه گردید. 25 میلی لیتر بافر استات (pH=3/6) و 2/5 میلی لیتر محلول FRAP (10 میلی مول بر لیتر TPTZ در 40 میلی مول بر لیتر اسید کلریدریک) و 2/5 میلی لیتر محلول کلرید آهن شش آبه ( $FeCl_3 \times 6H_2O$ ) با هم مخلوط شده و به عنوان محلول فعال FRAP آماده شد لازم به ذکر است که این محلول باید همیشه تازه باشد (12). سپس 50 میلی لیتر نمونه چای تهیه شده همراه با 1/5 میلی لیتر محلول FRAP مخلوط شده و بلافاصله میزان جذب محلول ها در طول موج 593 نانومتر قرائت شدند (14).

#### 5-2- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با روش آنالیز واریانس (ANOVA) و طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار

## 3-2- فعالیت آنتی اکسیدانی

با توجه به نتایج حاصل از جذب سنجی مشخص شد که بین تمام انواع چای مورد آزمایش از لحاظ فعالیت آنتی اکسیدانی (به روش FRAP) اختلاف معنی داری وجود دارد. در بین 6 رقم چای، بیشترین میزان آنتی اکسیدان مربوط به چای چکش سبز و کمترین مقدار مربوط به چای تله پفکی بود (شکل 2).

در ارتباط با زمان های دم کردن اختلاف معنی داری بین زمانهای مختلف مشاهده شد. بطوریکه با افزایش زمان دم کردن میزان محتوای فنولیکی افزایش یافت. بطور کلی با افزایش زمان دم کشیدن چای اختلاف بین انواع چای از لحاظ ترکیبات فنولیکی محسوس تر بود.



شکل 2- میزان فعالیت آنتی اکسیدان (FRAP) در انواع مختلف چای

ظرفیت آنتی اکسیدانی با محتوای فنولیکی در ارتباط مستقیم می باشند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که چای سبز بالاترین میزان محتوای فنولیک را دارا می باشد و همچنین در تمام انواع چای بین محتوای فنولیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی ارتباط مستقیم وجود دارد.

## 3-3- سپاس گزاری

بدینوسیله از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به خاطر فراهم کردن امکانات لازم برای این تحقیق تشکر و قدر دانی می گردد.

## 4- منابع

1. Anesini, C., Ferraro, G.E. and Filip R. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9225–9229.
2. Chen, W.J. and Wan, S.Q. 1994. Research progress on polyphenols of tea. *Natural*

تحقیقات مانزوکو و همکاران (8) نشان داد که خواص آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز، سیاه و سفید به دلیل شکستن غیره منتظره واکنش زنجیره ای<sup>1</sup> تولید رادیکال آزاد افزایش می یابد. ایریس و همکاران (4) قدرت آنتی اکسیدانی 25 نوع چای را از طریق FRAP اندازه گیری کردند. نتایج نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی قدرت آنتی اکسیدانی با محتوای فنولیکی در ارتباط می باشد. جایاسکرا و همکاران (5) تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیک کل را در چای تازه و تخمیر شده سریلانکا بررسی نمودند. آنها دریافتند که بین قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی در چای تازه و تخمیر شده اختلاف معنی داری وجود دارد. آنسینی و همکاران (1) محتوای پلی فنولیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی چای های تجاری در دسترس (سیاه و سبز) در آرژانتین را بررسی کردند. نتایج نشان داد که محتوای فنولیکی در چای سبز بالاتر از چای سیاه بود. همچنین مشاهده کردند که

<sup>1</sup> Chain reaction

15. Tijburg, L.B.M., Mattern, T., Folts, J.D., Weisgerber, U.M. and Katan, M.B. 1997. Tea flavanoids and cardiovascular diseases: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 771-785.
16. Wiseman, S.A., Balentine, D.A. and Frei, B. 1997. Antioxidants in tea. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 705-718.
3. Goto, T., Yoshida, Y., Amano, I. and Horie, H. 1996. Chemical composition of commercially available Japanese green tea. *Food Ingredients Journal*, 170: 46-51.
4. Iris, F., Benzie, F. and Szeto, Y.T. 1999. Total Antioxidant Capacity of Teas by the Ferric Reducing/ Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 633-636.
5. Jayasekera, S., Molan, A.L., Garg, M. and Moughan, P.J. 2011. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Srilankan tea. *Food Chemistry*, 125: 536-541.
6. Liebert, M., Licht, U. and Böhm, V. 1999. Antioxidant properties and total phenolics content of green and black tea under different brewing conditions. *Lebensm Unters Forsch A*, 208: 217-220.
7. Lin, Sh., Liu, E. and Mau, J.L. 2008. Effect of different brewing methods on antioxidant properties of steaming green tea. *LWT*, 41: 1616-1623.
8. Manzocco, L. Anese, M. and Nicoli, M.C. 1998. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. *Lebensm.-Wiss.*, 31: 694-698.
9. Nwaha, V., Nakajima, M., Tong, J., and Ichikawa, S. 1999. Solubility study of green tea extracts in pure solvents and edible oils. *Journal of Food Engineering*, 40: 161-165.
10. Pan, X., Niu, G. and Liu, H. 2003. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chemical Engineering and Processing*, 42: 129-133.
11. Salah, N. Miller, N.J., Parganga, G., Tifburg, L., Bolwell, G.P. and Ice-Evan C. 1995. Polyphenolic flavonols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322: 339-346.
12. Shahidi, F. and Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103.
13. Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Duan, X. and Chen, F. 2007. Polyphenolic Profile and Antioxidant Activities of Oolong Tea Infusion under Various Steeping Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 1196-1205.
14. Szöllösi, R. and Varga, I.S. 2002. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology*, 46: 125-127.