

# بررسی امکان تولید نوشابه چای سبز سرد از برگ چای سبز

علی نجفی<sup>۱</sup>، رضا شکرانی<sup>۲</sup>، محمد شاهدی<sup>۳</sup>، لیلا نوری<sup>۱</sup>

## چکیده

حدود ۸۰٪ کل چای مصرفی در کشورهای آمریکا و ایتالیا به صورت چای سرد می‌باشد. چای سبز به دلیل داشتن پلی‌فنل‌های غیراکسیدشده دارای خواص آنتی اکسیدانی قویتری نسبت به چای سیاه می‌باشد به همین دلیل خواص داروئی و تغذیه‌ای آن بیشتر از چای سیاه است. در این پژوهش با توجه به بازار تقاضا برای نوشابه‌های جدید، امکان تولید نوشابه چای سبز سرد به صورت فرموله شده مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تعیین ویژگی‌های کیفی نمونه برگ چای سبز، استخراج عصاره به روش غیرمداوم انجام شد. اثر هفت تیمار دما و نه تیمار زمان بر قابلیت استخراج عصاره چای از برگ چای سبز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در هر دو نوع نمونه استخراج عصاره در دماهای مختلف  $40^{\circ}\text{C}$  و  $5^{\circ}\text{C}$  در ۱۰ تا ۵ دقیقه اول سریع افزایش یافته، در طول مدت زمان  $10^{\circ}\text{C}$  تا  $30^{\circ}\text{C}$  دقیقه بتریج افزایش می‌باشد و بعد از  $30^{\circ}\text{C}$  دقیقه به آهستگی ادامه پیدا می‌کند. نتایج آزمایش نشان داد استخراج ترکیباتی که عامل اصلی تشکیل کرم چای و کدورت در عصاره هستند با افزایش دمای استخراج افزایش می‌پیدا می‌کند. نتایج آزمایش نشان داد  $60^{\circ}\text{C}$  یک افزایش ناگهانی در تشکیل کرم چای مشاهده می‌شود. میزان کرم و کدورت تشکیل شده در دمای بین  $50^{\circ}\text{C}$  تا  $60^{\circ}\text{C}$  در سطح احتمال ۹۹٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند، ولی در دماهای  $60^{\circ}\text{C}$  به بالا بین تیمارهای مختلف دمایی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بین کرم چای و کدورت در عصاره چای سبز همبستگی کاملاً معنی‌دار، مستقیم و بسیار قوی وجود دارد. ضریب رگرسیون خطی بین کرم چای و کدورت ( $P < 0.01$ ) ( $R^2 = 0.969$ ) بدست آمد. از عصاره تهیه شده، با استفاده از انسانس، نوشابه چای سبز با طعم‌های متفاوت ساخته شد. پذیرش نوشابه‌ها از طریق آزمون حسی به روش مقایسه چندتایی مورد بررسی قرار گرفت. پس از آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی نوشابه‌ها، تغییرات کدورت و پایداری آن در شرایط متعارف انبارداری به مدت ۲ ماه بررسی شد. نتایج آزمایش انبارداری نشان داد که در سطح احتمال ۹۹ درصد نوشابه چای سبز سرد تولید شده پایدار باقی می‌ماند.

**واژه‌های کلیدی:** چای سبز، نوشابه چای سبز سرد، پلی‌فنل، کرم چای، کدورت.

## مقدمه

نداشت، ولی بعداً بصورت دم کرده برای رفع خستگی مورد استفاده قرار گرفت. این گیاه در حدود صد سال پیش توسط مرحوم کاشف السلطنه چایکار وارد ایران شد.

چای محصول برگ‌های جوانه *Camelia sinensis* است و به فرمهای تخمیری (چای سیاه)، غیرتخمیری (چای سبز) و نیمه تخمیری (اولونگ<sup>۳</sup>) مصرف می‌شود. چای سیاه

بوته چای اولین بار هزاران سال پیش در چین در حالی پیدا شد که، بطور خودرو می‌روئید و استفاده‌ای برای انسان

۱- اعضاء هیات علمی گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.

پست الکترونیکی: najafiali2002@yahoo.com

۲- به ترتیب اعضاء هیات علمی استادیار و استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان.

منبع عالی مواد پلی‌فلنی هستند، ولی در چای سبز به دلیل غاظت بالاتر پلی‌فلن‌های غنی از هیدروکسیل، توانایی ضد اکسیدکنندگی ۵ برابر بیشتر است. پلی‌فلن‌های موجود در چای سبز نقش بازدارنده علیه بسیاری از مواد سرطانزا<sup>۱</sup> دارند، مهار مواد سرطانزا یکی از اساسی‌ترین استراتژی‌ها در کنترل سرطان است (۱۳).

چای سبز را بیشتر در چین و ژاپن تهیه و مصرف می‌کنند. در فرآوری چای سبز دو مرحله پلاس و تخمیر انجام نمی‌شوند. برای فرآوری چای سبز ابتدا برای غیرفعال کردن آنزیم‌های موجود در برگ آنها را بخارزنی می‌کنند. در مرحله بعد با مالش‌دادن برگ‌ها توأم با حرارت دادن، آن‌ها را خرد کرده، پیچانده و گلوله می‌کنند. در پایان برگ‌ها را تا رطوبت حدود ۳ تا ۴ درصد خشک می‌نمایند (۱۴).

چای به دو شکل داغ و سرد مصرف می‌شود. حدود ۸۰٪ کل چای مصرفی در کشورهای آمریکا و ایتالیا به صورت چای سرد می‌باشد که برای رفع عطش تشنگی و دانستن مزایای سلامتی از آن استفاده می‌کنند. چای سرد به دو صورت ساخته می‌شود: از چای فوری و نوشابه چای سرد آماده برای مصرف که به صورت قوطی شده می‌باشد. در فرآیند تولید نوشابه چای سرد آماده برای مصرف، که سال‌های اخیر در برخی از کشورها و بخصوص در آمریکا رواج یافته است فرآیند اصلی شامل استخراج عصاره چای و فرموله کردن عصاره چای با اسیدهای، طعم دهنده‌ها و شکر یا شیرین کننده‌های غیر مغذی است (۱۷).

در مطالعات بررسی چگونگی تولید چای سرد، توجه به موضوع ایجاد عطر و طعم مناسب با خصوصیات دریافتی مورد انتظار مصرف کنندگان مهم است، بنابراین در این پژوهش تولید نوشابه چای سبز آماده برای مصرف از برگ چای سبز که در طول انبارداری زلال و صاف باقی مانده و

عملده ترین شکل چای را تشکیل می‌دهد (۱).

چای سبز دارای ترکیبات شیمیائی نظیر: کافئین و پلی‌فلن‌ها، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی، آب و ... می‌باشد. در چای سیاه اکثر پلی‌فلن‌ها اکسیدشده و ترکیبات طعم و رنگ را بوجود می‌آورند (۱۶ و ۱۷).

پلی‌فلن‌ها یا فلاونونئیدهای<sup>۱</sup> چای سبز دارای انواع زیادی هستند که مهمترین آنها فلاوانول‌ها<sup>۲</sup>، فلاونول‌ها<sup>۳</sup> و فلاونول گلیکوزیدها<sup>۴</sup> از دسته کاتچین‌ها<sup>۵</sup> هستند. بیش از سه چهارم مواد پلی‌فلنی موجود در برگ چای فلاوانول‌ها هستند که ۶ نوع از این دسته مواد تحت عنوان کاتچین‌ها شناخته شده‌اند شامل: اپی‌گالوکاتچین‌گالات<sup>۶</sup>، اپی‌گالوکاتچین<sup>۷</sup>، اپی‌کاتچین‌گالات، اپی‌کاتچین، گالوکاتچین و کاتچین. کاتچین‌های چای عامل خصوصیات تلخی و گرسی چای سبز بوده و محلول در آب و بی‌رنگ هستند و معمولاً ۲۵ تا ۴۰ درصد مواد جامد محلول چای را تشکیل می‌دهند. فلاوانول‌ها در حین عمل آوری ساخت چای سیاه توسط آنزیم‌های اکسیدکننده، اکسید شده و به تئافلاوین‌ها<sup>۸</sup> و تئارویتین‌ها<sup>۹</sup> تبدیل می‌شوند (۷).

چای بدلیل داشتن ترکیبات مختلف، دارای اهمیت نوشابه‌ای با اثر تغذیه‌ای، داروئی و تحریک کنندگی بالائیست و مهمترین اثر آن، تأثیر بر روی سیستم اعصاب و در نتیجه رفع خستگی و ایجاد آرامش در بدن است (۳). پلی‌فلن‌ها دارای خاصیت ضد اکسیدکنندگی می‌باشند و پتانسیل اکسایش هر ترکیب پلی‌فلنی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل آن بستگی دارد. با وجودی که چای سبز و سیاه

1- Flavonoids

2- Flavanols

3- Flavonols

4- F.glycosides

5- Catechin

6- Epigallocatechin Gallate (EGCG)

7- Epigallocatechin (EGC)

8- Theaflavins

9- Thearubigins

رطوبت آنها به کمتر از ۷ درصد برسد از آون بادمای ۸۰-۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد (۲۳).

### روش‌های آزمایش نمونه چای سبز

**الف- اندازه‌گیری مقدار کافئین:** یک گرم چای را دقیقاً توزین کرده و به یک قیف جداکننده ۲۵۰ میلی لیتری انتقال داده و با ۵ میلی لیتر محلول آمونیوم ۴۰ درصد حجمی- حجمی به مدت ۲ دقیقه مخلوط گردید. سپس چهار مرتبه با مقادیر ۲۵ میلی لیتر کلروفرم استخراج انجام شد و به قیف جداکننده دیگری حاوی ۱۰ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم ۱ درصد وزنی-حجمی، منتقل گردید و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، حاوی ۱ گرم سولفات سدیم خشک، صاف شد. محلول در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری با کلروفرم به حجم رسید. جذب این محلول را در طول موج ۲۷۶/۵ نانومتر خوانده شد و مقدار کافئین از روی معادله خط منحنی استاندارد رابطه جذب و غلظت کافئین (که با استفاده از محلولهای استاندارد کافئین بدست آمده) محاسبه گردید (۹).

X = ۰/۰۰۳ + ۰/۰۴۷.Y

Y: غلظت کافئین بر حسب میلی گرم در لیتر.

X: جذب خوانده شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری

**ب- اندازه‌گیری مقدار پلی فتل‌ها:** ۱۰۰ میلی گرم از نمونه آسیاب شده با ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط شده و به مدت ۳ دقیقه با دستگاه ورتکس<sup>۲</sup> به شدت تکان داده شد سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۸۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول را جداسازی کرده دوباره ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به تفاله چای اضافه گردید و مراحل تکرار شد. در نهایت هر دو محلول با هم مخلوط شده و ۱ میلی لیتر از آن با ۵ میلی لیتر محلول فولین- سیوکالتون<sup>۳</sup> و ۴ میلی لیتر کربنات سدیم مخلوط گردید.

متناسب با ذائقه مصرف کننده ایرانی باشد بررسی و مورد مطالعه قرار گرفت. استفاده توأم از چای و اسانس میوه، مزء خوشایند و جذابی دارد. طی آزمایشهای انجام شده در این زمینه از اسانس میوه‌جاتی چون: لیمو، لیمو ترش، توت فرنگی، هلو، سیب، آلو و ... استفاده شده است.

مشکل اصلی در تولید چای سرد تشکیل کرم چای<sup>۱</sup> و کدورت در دم کرده چای می‌باشد. نوشابه چای هنگامی که سرد می‌شود، فلاونوئیدهای اکسید شده با کافئین و پروتئین‌ها کمپلکس داده و رسوب می‌کنند و باعث کدورت در چای می‌شوند. این رسوب کرم نامیده می‌شود (۱۴) و (۱۹). کرم چای در تولید نوشابه چای سرد آماده برای مصرف مطلوب نیست زیرا به نوشابه ظاهری ابری و کدر می‌دهد (کدورت چای). بنابر این کرم باید از نوشابه چای سرد جداسازی شده و یا از تشکیل آن در نوشابه جلوگیری گردد. به دلیل این مشکلات، در این تحقیق یافتن فرآیندهای مناسب برای کنترل و جلوگیری از تشکیل کرم چای در تولید نوشابه چای سرد مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

**برگ سبز تازه چای:** از ایستگاه تحقیقاتی شهید افتخاری فعالی شهرستان فومن در استان گیلان تهیه شد. نمونه‌های برگ سبز تازه چای از گونه هیبرید شده کاملیا سیننسیس و کاملیا آسامیکا بوده و مربوط به چین پاییزه بودند.

**آماده‌سازی و عمل آوری چای سبز:** ابتدا برای غیر فعال کردن آنزیم‌ها برگ سبز تازه چای از تونل بخار با دمای ۹۰-۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰-۵۰ ثانیه عبورداده شد. سپس برگ‌های بخار داده شده به وسیله خشک کن با بستر سیال در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ دقیقه خشک شد و برای تکمیل عمل خشک کردن تا زمانی که

( $\text{L}/\text{L}^3 \times 100$ ) رقیق گردید. اندازه گیری کرم و کدورت به روش‌های زیر انجام شد (۱۶).

**ب- روش اندازه گیری مقدار ماده خشک کرم چای:** عصاره آماده شده، به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا تشکیل کرم چای کامل شود. ۲۰ میلی لیتر از این عصاره (چای) به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سپس فاز شناور از روی لایه رسوب کرده، به آهستگی برداشته شد. مقدار ماده خشک فاز شناور به روش وزن سنجی اندازه گیری و درصد ماده خشک کرم چای محاسبه گردید (۱۶).

**ج- روش اندازه گیری کدورت در عصاره استخراج شده از چای:** کدورت سنجی نوشابه چای به روشنی که توسط پندرز و همکاران در سال ۱۹۹۸ شرح داده شده، انجام گرفت. میزان تغییر کدورت بعد از مدت زمان ۲۴ ساعت توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر با اندازه گیری میزان عبور نور در طول موج ۸۰۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱۸).

### روش ساخت نوشابه چای سرد در آزمایشگاه

**الف- استخراج عصاره چای سبز:** بعد از تعیین بهترین دما و زمان استخراج از نظر حداقل تشکیل کرم و کدورت، در هر مرحله ۱۰۰ گرم از نمونه برگ چای سبز، با یک لیتر آب بدون سختی به روش غیرمداوم، با کنترل دما و زمان، عصاره گیری شد. عصاره‌های تهیه شده تا سطح ۱۰ گرم در لیتر رقیق شده و برای ساخت نوشابه چای سرد بکار برده شد.

**ب- فرموله کردن نوشابه چای سرد:** برای ساخت نوشابه چای سبز، به ازای هر لیتر از عصاره چای، ۳ لیتر شربت شکر پاستوریزه و صاف شده با بریکس ۱۳، حاوی ۱/۲ گرم اسید سیتریک و ۰/۵ گرم صمغ عربی اضافه شد.

بعد از ۳۰ دقیقه جذب این محلول را در ۷۶۰ نانومتر خوانده و از روی معادله خط منحنی استاندارد رابطه جذب و غلظت تانیک اسید، مقدار کل پلی فنل‌ها محاسبه گردید (۲۱).

$$Y = -0.112 + 0.0412X$$

Y: غلظت پلی فنل تام بر حسب میلی گرم در لیتر.

X: جذب خوانده شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری

**ج- اندازه گیری مقدار رطوبت و خاکستر:** هر دو به روش وزن سنجی انجام شدند (۹).

**۴-۲ برسی اثر دما و زمان استخراج بر قابلیت استخراج عصاره چای سبز:** به منظور بررسی اثر دما و زمان استخراج بر قابلیت استخراج عصاره از چای خشک، نمونه های چای ۱۰ گرمی با آب مقطر (۱۰۰ میلی لیتر برای هر نمونه) در دماهای ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه سانتی گراد مخلوط شده و در زمانهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۰ و ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه استخراج انجام گرفت. مقدار ماده خشک عصاره به روش وزن سنجی محاسبه گردید (۹). شرایط استخراج نرمال از چای شامل دمای  ${}^{\circ}\text{C}$  ۱۰۰ به مدت ۵ دقیقه می‌باشد (۸).

### آزمایش‌های عصاره استخراج شده از چای سبز

**الف- روش بررسی اثر دمای استخراج بر کرم و کدورت چای:** به منظور بررسی اثر دمای استخراج بر کرم و کدورت چای، بعد از تعیین زمان استخراج بهینه در هر دما که راندمان استخراج مشابهی با دمای  ${}^{\circ}\text{C}$  ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه دارد، نمونه های ۱۰ گرمی از چای با  $100\text{ mL}$  آب مقطر در دماهای ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه سانتی گراد مخلوط شد. عصاره‌های بدست آمده دارای غلظت ماده خشک مشابهی بودند. تفاله چای بوسیله صاف کردن با استفاده از کاغذ صافی و اتمن شماره ۵۴۱ جداسازی شد. برای حذف اثر غلظت‌های مختلف ماده خشک عصاره بر کرم و کدورت، غلظت ماده خشک عصاره نهایی تا سطح

جدول ۱: مقایسه ویژگی‌های برگ چای سبز با چای سیاه استاندارد

| استاندارد | چای سیاه | برگ چای سبز | نوع آزمایش        | میانگین |
|-----------|----------|-------------|-------------------|---------|
| *         |          |             | پلی فل تام (۰/۱۰) | ۱۴/۳۴   |
| کمینه ۲   |          |             | کافئین (g/۱۰۰g)   | ۲/۶۲    |
| ۴-۸       |          |             | خاکستر (g/۱۰۰g)   | ۴/۲۱    |
| ۳-۷       |          |             | رطوبت (g/۱۰۰g)    | ۵/۸۳    |

\* استاندارد در ایران تعیین شده است.

**نتایج آزمایش اثر دما و زمان استخراج بر قابلیت استخراج عصاره چای سبز:** آزمایشات در سطح ۹۹ درصد اطمینان، نشان دادند که روند استخراج ماده خشک محلول برگ چای سبز در ۵ تا ۱۰ دقیقه اول، استخراج مواد به سرعت صورت گرفته و از زمان ۱۰ تا ۳۰ دقیقه به تدریج افزایش یافته و از ۳۰ دقیقه به بعد به آهستگی ادامه پیدا می‌کند. آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن که در جدول ۲ ارائه شده نیز صحت مطالب فوق را تأیید می‌کند.

جدول ۲: مقایسه میانگین راندمان استخراج ماده خشک محلول از برگ چای سبز در زمان‌های مختلف در  $40-100^{\circ}\text{C}$

| زمان بر حسب دقیقه (تیمار) | راندمان استخراج $\frac{\text{g}}{\text{Kg}}$ |
|---------------------------|--|
| ۱۶۸/۵۶ <sup>d</sup>       | ۵  |
| ۱۸۴/۶۰ <sup>cd</sup>      | ۱۰   |
| ۱۹۶/۵۳ <sup>bc</sup>      | ۱۵   |
| ۲۰۵/۹۴ <sup>abc</sup>     | ۲۰   |
| ۲۱۳/۱۵ <sup>ab</sup>      | ۲۵   |
| ۲۱۷/۷۷ <sup>ab</sup>      | ۳۰   |
| ۲۲۱/۷۲ <sup>a</sup>       | ۶۰   |
| ۲۲۳/۷۹ <sup>a</sup>       | ۹۰   |
| ۲۲۵/۳۲ <sup>a</sup>       | ۱۲۰  |

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف بالا نویس مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

سپس از هر یک از اسانس‌های لیمو، پرتقال و آبلالو به عنوان مواد طعم‌دهنده استفاده شد. در هر مرحله از نظر طعم و بو آزمایش حسی شد. برای انتخاب نمونه نهایی آزمایش‌های چشایی و بویایی انجام گرفت و از بین آنها نمونه‌های مورد نظر انتخاب شد. سپس آزمایشات فیزیکی و شیمیایی بر روی نمونه انتخاب شده انجام گرفت (۴).

**آزمون حسی:** به منظور مقایسه و انتخاب بهترین عطر و طعم فرموله شده نوشابه‌های چای سرد تهیه شده از چای سبز از روش مقایسه چندتایی<sup>۱</sup> استفاده شد (۵). تعداد آزمایش‌گرها در هر مرحله ۳۰ نفر بود.

**طرح آماری:** در این تحقیق تمام آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایشات فاکتوریل با ۳ تکرار انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SAS و روش‌های آزمون مقایسه میانگین (دانکن و T تست) و رگرسیون خطی استفاده شد (۱۰).

## نتایج و بحث

**ویژگی‌های نمونه برگ چای سبز:** برگ چای سبز مطابق روش عنوان شده در بند ۲-۲ آماده‌سازی شد و برای تعیین ویژگی‌ها، آزمایش شده و با ویژگی‌های چای استاندارد مقایسه شد (جدول ۱).

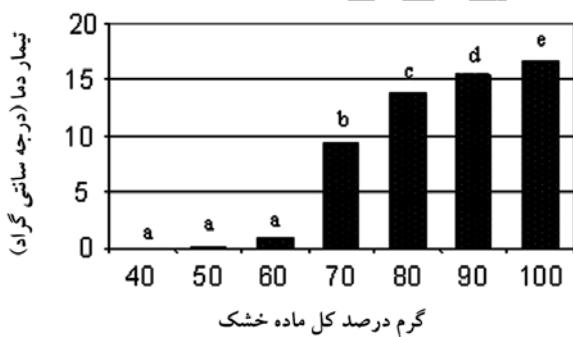
به طوری که در جدول مشاهده می‌شود ویژگی‌های برگ چای سبز در محدوده استاندارد چای قرار دارند. مقدار پلی فل تام بسته به گونه چای از ۱۱ تا ۳۰ درصد وزن خشک چای است و در مورد گونه‌های هیرید شده این محدوده بین ۱۱ تا ۱۵ درصد می‌باشد (۲۰). نمونه برگ چای سبز بکار گرفته شده از گونه هیرید شده بوده و مقدار پلی فل تام در آن‌ها در این محدوده قرار دارد.

1- Multiple Comparison

نتایج داده‌ها در جدول ۳ نشان می‌دهد که افزایش دما از ۴۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد تفاوت معنی‌داری بر تشکیل کرم چای سبز نداشته و مقدار آن از ۶۰ درجه سانتی گراد به بالا در تیمارهای مختلف دما با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

بر اساس داده‌های جدول ۳، کدورت چای سبز بین تیمارهای دمایی ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی گراد تفاوت معنی‌داری نداشته، در حالی که بین تیمارهای مختلف دما از ۵۰ درجه سانتی گراد به بالا اختلاف معنی‌داری وجود دارد. افزایش کرم چای سبز به صورت درصد کل ماده خشک عصاره چای سبز در دماهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است.

رابطه میان دو متغیر مقدار کرم چای و کدورت حاصل از آن به وسیله رگرسیون خطی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتیجه بدست آمده بین دو متغیر همبستگی بالا ( $r = 0.985$ )، مثبت و کاملاً معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد اطمینان وجود دارد. ضریب تبیین رگرسیون  $R^2 = 0.969$  می‌باشد که نشان می‌دهد ۹۶/۹ درصد از تغییرات واریانس متغیر وابسته (کدورت) توسط متغیر مستقل (کرم) تبیین می‌گردد.



شکل ۱: مقدار کرم تشکیل شده بر حسب درصد کل ماده خشک عصاره چای سبز

با توجه به نتایج حاصله وزن خشک کرم چای و کدورت ایجاد شده در عصاره چای سبز با افزایش دمای استخراج افزایش پیدا می‌کند. تحقیقات لیانگ و همکاران

راندمان استخراج بهینه از برگ چای سبز در شرایط استخراج با دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و زمان ۵ دقیقه، ۲۲/۷ درصد تعیین شد. برای رسیدن به این راندمان استخراج در دماهای دیگر، باید زمان استخراج افزایش یابد. این زمان برای دماهای ۹۰، ۸۰، ۷۰، ۶۰، ۵۰ و ۴۰ درجه سانتی گراد با راندمان استخراج مشابه در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و زمان ۵ دقیقه، به ترتیب حدود ۱۰، ۱۷، ۳۲، ۹۰ و ۱۳۰ دقیقه تعیین شد.

نتایج آزمایش کرم و کدورت عصاره چای سبز: به منظور تعیین شرایط بهینه استخراج ماده خشک محلول از برگ چای سبز بدون کرم و کدورت، از تیمارهای مختلف دما (با توجه به زمان‌های تعیین شده برای هر دما در قسمت ۲-۳) استفاده شد. شرایط بهینه استخراج زمانی است که مقدار کرم و کدورت تشکیل شده در عصاره کمترین باشد. میزان کرم و کدورت تشکیل شده در عصاره چای سبز از طریق آزمون آنالیز واریانس مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله، بین تیمارهای مختلف دما از نظر مقدار تشکیل کرم و کدورت در سطح ۹۹ درصد اطمینان، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. مقدار کرم و کدورت تشکیل شده در دماهای مختلف از طریق آزمون دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله در جدول ۳ آورده شده است:

جدول ۳: مقایسه میانگین مقدار کرم و کدورت تشکیل شده در عصاره چای سبز

| دما بر حسب سانتی گراد (تیمار) | مقدار کرم (g/L)    | کدورت              |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|
| ۴۰                            | ۰/۰۰ <sup>a</sup>  | ۲/۱۷ <sup>a</sup>  |
| ۵۰                            | ۰/۰۰۸ <sup>a</sup> | ۲/۹۲ <sup>a</sup>  |
| ۶۰                            | ۰/۰۳ <sup>a</sup>  | ۴/۶۸ <sup>b</sup>  |
| ۷۰                            | ۰/۳۱ <sup>b</sup>  | ۱۴/۲۰ <sup>c</sup> |
| ۸۰                            | ۰/۴۵ <sup>c</sup>  | ۱۵/۷۰ <sup>d</sup> |
| ۹۰                            | ۰/۵۱ <sup>d</sup>  | ۲۰/۲۹ <sup>e</sup> |
| ۱۰۰                           | ۰/۵۵ <sup>e</sup>  | ۲۲/۸۲ <sup>f</sup> |

برای ساخت نوشابه چای سرد مصرف شد. نوشابه‌های تولید شده، در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه پاستوریزه شده و در بطری‌های شیشه‌ای ۳۰۰ mL بسته‌بندی شدند. در نهایت نوشابه‌های تولیدی مورد آزمون حسی قرار گرفتند.

**نتایج آزمون حسی (عطر و طعم) نوشابه چای سبز سرد:** برای مقایسه نوشابه‌های چای سبز سرد با سه نوع انسس میوه و یک نمونه بدون انسس، نوشابه‌ها توسط ۳۰ آزمایشگر مورد آزمون حسی قرار گرفتند. بررسی نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که عطر و طعم نوشابه‌های چای سبز سرد با یکدیگر در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری دارند. نتایج آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن در جدول ۵ آورده شده است. مقایسه میانگین رتبه‌های سنجش عطر و طعم نوشابه‌های چای سبز گویای اینست که نوشابه‌های چای سبز سرد با طعم پرتقال R و با طعم لیمو P تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی نوشابه چای سبز با طعم پرتقال به دلیل میانگین رتبه پایین‌تر به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد.

جدول ۵: مقایسه میانگین رتبه‌های سنجش عطر و طعم در ۴ نوع نوشابه چای سبز سرد

| میانگین رتبه‌ها    | نوع نوشابه | رتبه بدست آمده     |
|--------------------|------------|--------------------|
| R (با طعم پرتقال)  |            | ۱/۹۳۳ <sup>a</sup> |
| P (با طعم لیموترش) |            | ۱/۹۶۷ <sup>a</sup> |
| F (با طعم آبالو)   |            | ۲/۴۳۳ <sup>a</sup> |
| H (بدون انسس)      |            | ۳/۶۶۷ <sup>b</sup> |

میانگین‌هایی که در هر سوتون با حروف مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

**نتایج آزمایش نوشابه‌های چای سبز سرد:** به علت عدم تولید نوشابه چای سرد در ایران، استاندارد برای آن تعریف نشده است به همین دلیل ویژگی‌های نوشابه چای سرد تولید شده با ویژگی‌های نوشابه گازدار طعم دار بی‌رنگ مقایسه

(۲۰۰۲) نیز صحبت نتایج بدست آمده را تایید می‌کند. آنها همچنین نشان دادند که ترکیبات کرم چای سبز را کافئین، گالوکاتچین و اپی‌گالوکاتچین تشکیل می‌دهند (۱۵). دمای استخراج ۴۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد بر تشکیل کرم چای و دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی گراد در ایجاد کدورت تاثیر معنی‌داری نداشتند ولی دماهای بالاتر بر تشکیل آنها اثر مثبت دارد به همین دلیل دمای بین ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد برای استخراج عصاره از چای سبز در تولید نوشابه چای سبز تعیین شد.

**فرمولاسیون:** بطور کلی در ساخت نوشابه‌های چای سرد، علاوه بر عصاره‌های استخراج شده از چای، آب، مواد شیرین کننده، مواد طعم دهنده و اسیدهای خوراکی نیز استفاده می‌شود (۱۲). با توجه به نتایج آزمایش‌های مقدماتی از میان طعم میوه‌ها، از انسس‌های لیموترش، پرتقال و آبالو برای تهیه نوشابه چای سرد استفاده شد. ۳ نوع انسس فوق، مطابق جدول ۴ در ترکیب یک لیتر نوشابه نهایی بکار گرفته شد و یک نمونه شاهد، بدون مواد طعم دهنده تهیه شد.

جدول ۴: ترکیبات مصرفی در فرمول نهایی یک لیتر نوشابه چای سرد با هر یک از طعم‌دهنده‌ها

| مواد مصرفی     | مقدار مصرف (گرم)          |
|----------------|---------------------------|
| عصاره چای سبز* | ۳۳۰                       |
| شکر            | ۹۰                        |
| اسید سیتریک    | ۰/۳                       |
| اسید آسکوربیک  | ۰/۲۵                      |
| صمغ عربی       | ۰/۱۵                      |
| بنزووات سدیم   | ۰/۱                       |
| آب نوشابه سازی | باقی مانده تا حجم یک لیتر |

\* ماده خشک محلول عصاره (۱/۳<sup>۸</sup>) بود

مواد و ترکیبات مصرفی در فرمولاسیون نوشابه چای سبز سرد با توجه به استانداردهای نوشابه‌های غیرالکلی تعیین و

مزه و رنگ نیز باید رعایت شود<sup>(۶)</sup>.

در گزارشی که توسط IFIC (۱۹۹۸) در مورد مقدار کافئین در انواع غذاها و نوشابه‌ها منتشر شده است میزان کافئین را در نوشابه‌های چای سرد بین ۴۰-۲۲۰ میلی گرم در لیتر عنوان کرده است<sup>(۱۱)</sup>. بر اساس نتایج حاصله در جدول ۶ مقدار کافئین در نوشابه‌های چای سرد تولید شده در محدوده فوق قرار دارد. نتایج بدست آمده همچنین با نتایج واتاناب و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت دارد. آنها در ۸ نمونه نوشابه چای سیاه و سبز سرد که کافئین را اندازه گیری کردند مقدار آن را بین ۱۵۰-۱۰۰ میلی گرم در هر لیتر گزارش کردند<sup>(۲۲)</sup>.

### نتایج آزمایش سنجش تغییرات کدورت نوشابه چای در طول انبارداری

چون معمولاً نوشابه‌ها تا توزیع بین فروشنده‌ها و مصرف کنندگان ممکن است در شرایط معمولی انبارداری نگهداری شود از این نظر آزمایش‌های انبارداری به مدت دو ماه روی نوشابه تهیه شده انجام شد.

کدورت نوشابه‌های چای سبز سرد به روش اسپکتروفوتومتری، اندازه گیری شد. تغییرات کدورت نوشابه‌های چای تولیدی در زمان‌های مختلف انبارداری (روز اول، پنجم، دهم، بیستم، سی ام و شصتم به مدت دو ماه) در شرایط نور غیرمستقیم و حرارت محیط مورد بررسی قرار گرفت.

داده‌های حاصله با استفاده از روش آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصله F محاسبه شده در آزمایش‌های سنجش کدورت از F جدول (۳/۱۱) کوچکتر بوده، لذا در سطح ۹۵ درصد اطمینان، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف زمانی از نظر کدورت در طول انبارداری در نوشابه‌های مزبور وجود ندارد. بنابراین نوشابه چای سبز تولید شده در طول انبارداری

شد. نتایج میانگین سه تکرار آزمایش نوشابه چای سبز سرد و محدوده استاندارد ویژگی‌های نوشابه‌های گازدار طعم دار بی‌رنگ (۲) در جدول ۶ ارائه شده است:

جدول ۶: نتایج آزمایش نوشابه چای سبز و ویژگی‌های استاندارد نوشابه‌های گازدار طعم دار بی‌رنگ

| نوع آزمایش                     | نوشابه گازدار طعم دار<br>سبز (میانگین)<br>بی‌رنگ (۲) | نوشابه چای<br>بی‌رنگ (۲) |
|--------------------------------|--|--------------------------|
| چگالی در ۲۰°C                  | ۱/۰۳۲  | ۱/۰۰۵±۰/۰۰۵              |
| ماده خشک محلول (بریکس در ۲۰°C) | ۱۰/۰۱  | حداقل ۱۰                 |
| pH                             | ۳/۸۵   | ۳±۰/۲                    |
| اسیدیته کل (g/۱۰۰ml)           | ۰/۱۰۱۸   | ۰/۱۰/۱۵                  |
| خاکستر کل (g/۱۰۰ml)            | ۰/۰۶۷  | حداکثر ۰/۰۵              |
| کافئین (mg/l)                  | ۱۰/۵۶  | .                        |
| قند کل (g/۱۰۰ml)               | ۹/۵۰   | حداقل ۱۰                 |
| ماده خشک (g/۱۰۰ml)             | ۱۰/۰۵  | حداکثر ۱۰/۵              |
| بنزوئیک اسید (mg/kg)           | ۱۰۰  | حداکثر ۱۵۰               |

به طوری که در جدول ۶ مشاهده می‌شود ویژگی‌های نوشابه چای سرد تولیدی در محدوده استاندارد ویژگی‌های نوشابه‌های گازدار طعم دار بی‌رنگ قرار دارند.

کمتر بودن pH نوشابه‌های چای سرد نسبت به محدوده استاندارد می‌تواند به دلیل مصرف کمتر اسید سیتریک باشد. دلیل کمتر مصرف کردن اسید سیتریک رسیدن به طعم مناسب و برقراری اصل سینرژی در نوشابه‌های چای سرد می‌باشد. اصل سینرژی از ارکان مهم طعم‌سازی می‌باشد. کلوز در سال ۱۹۹۲ فعالیت دو یا چند عامل متوازن برای حصول یک اثر کلی و بزرگتر در صنعت عطر و طعم، تطبیق و هماهنگی انسان‌های ترکیبی با یکدیگر برای حصول طعمی واحد، به گونه‌ای که مصرف کننده نتواند هیچ یک از اجزاء مصرفی را به تنهائی حس کند را اصل سینرژی می‌داند. این اصل نه تنها در بین انسان‌ها بلکه بین نوع بافت،

استخراج ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت زمان ۱۳۰ دقیقه شرایط بهینه استخراج را نشان می دهد.

نتایج و آزمون حسی نشان می دهد که نمونه های نوشابه چای سبز سرد تولید شده از نظر مصرف کنندگان قابل قبول بوده و در نتیجه می توانند به عنوان نوشابه های جدید مورد توجه قشرهای مختلف جامعه قرار بگیرند. در این میان نوشابه چای سبز سرد با طعم پرتقال از نظر افراد پاسخ دهنده به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد.

بررسی نتایج آزمون تغییرات کدورت در نوشابه چای سبز سرد با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری نشان می دهد که در شرایط متعارف انبارداری طی مدت ۶۰ روز، کدورت در نوشابه چای سبز سرد تغییر معنی داری پیدا نمی کند. بنابراین نوشابه های تولیدی از نظر کدورت در طی مدت زمان ۶۰ روز انبارداری پایدار باقی می مانند.

طی مدت زمان ۲ ماه انبارداری پایدار باقی می ماند.

### نتیجه گیری کلی

با توجه به جمع بندی نتایج بدست آمده، روند استخراج عصاره از برگ چای سبز با افزایش دما و زمان استخراج افزایش می یابد. تشکیل کرم چای و کدورت در عصاره های چای سبز با افزایش دمای استخراج افزایش یافته و ترکیباتی که عامل اصلی تشکیل کرم چای و کدورت هستند در دمای بین ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد شروع به زیاد شدن در عصاره می کنند و افزایش ناگهانی در تشکیل کرم چای مشاهده می شود.

بررسی نتایج آزمایش عصاره های استخراج شده از نمونه برگ چای سبز نشان می دهد هنگامی که در تیمارهای دمایی ۵۰ درجه سانتی گراد و کمتر از آن استخراج انجام می گیرد کرم چای و کدورت تشکیل نمی شود. بر همین اساس دمای

### منابع

- ۱- خدادادی، ر، ۱۳۶۹، چای، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۳ و ۹.
- ۲- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۷، ویژگی های نوشابه های غیر الکلی گازدار. شماره استاندارد ملی ایرن ۱۲۵۰.
- ۳- موثقی، م.ر، ۱۳۷۸، "شكل گیری، ساختار و فعالیت سازمان چای کشور"، اولین همایش بین المللی چای، انتشارات ماهنامه خورنوش، صص ۱۸۰-۱۸۶.
- 4- Blenford, D., 1997, "Soft Drink Formulation", Food Ingredients and Analysis International, 19(19):25-28.
- 5- Carpenter, R.P., Lyon, D.H and Hasdell, T.A., 2000, Guidelines for Sensory Analysis in Food Product Development and Quality Control, Second Edition, An Aspen Publication, PP: 83-84.
- 6- Clowes, M., 1992, "Flavor, Taste and Texture Synergy", Food Technology International Europe, Sterling Publications, London. PP: 139-141.
- 7- Fernandez, P.I. and Paplos, F., 2002, "Multi – Element Analysis of Tea Beverage by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry", Food Chemistry.,79(3): 483-89.
- 8- Food and Agricultural Organization, [on-line]. [www.FAO.org/page/collections?subset=agriculture](http://www.FAO.org/page/collections?subset=agriculture) [11 Dec 2002].

- 9- Helrich, K., 1990, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, Published by Association of Official Analysis Chemists, Inc, Virginia.
- 10- Hall, B. Institute, 1996, SAS User Guide: Statistics, SAS Institute Inc, Cary.NC.
- 11- International Food Information Council Foundation., 1998, "Review: Caffeine and Health Clarifying the Controversies", [on-line]. <http://www.ificinfo.Health.org> [23 Dec 2002].
- 12- Kriksey, B.J., 1998, "Color and Shelf Stable Beverage Composition Containing Tea Extract", U.S. Patent, No.5 780 086.
- 13- LakenBrink, C., 2001, "Tea and Antioxidant Properties", Internet Website: www.Teahealthe.co.uk/th/facts/3.html.
- 14- Liang, Y. and Xu, Y., 2003, "Effect of Extraction Temperature on Cream and Extractability of Black Tea". International Journal of Food Science and Technology, 30: 37-45.
- 15- Liang, Y., Hu, J. and Zhang, L., 2002, "Comparative Study of Cream in Infusions of Black Tea and Green Tea (*Camellia Sinensis* (L) O. Kuntze)", International Journal of Food Science and Technology, 37: 627-634.
- 16- Nagalashmi, S., Ramaswamy, M.S. and Nadarajan, C.P., 1984, "The Role of Added Carbohydrates in Tea cream Stabilization", Food Chemistry, 13(1): 69-77.
- 17- Othmer, K., 1987, Encyclopedia of Chemical Technology, Third Edition, Wiley Inter Science Publication, 4: 711-730.
- 18- Penders, M.H., Scollard, D.J., Needham, D. and Pelan, E.G., 1998, "Some Molecular and Colloidal Aspects of Tea Cream Formation", Food Hydrocolloids, 12(4): 443-50.
- 19- Powell, C.H. Clifford, M.N. and Opie, S.C., 1992, "Tea Cream Formation: The Contribution of Black Tea Phenolic Pigments Determined by HPLC", Journal of the Science of Food and Agricultural, 63(1): 77-86.
- 20- Ranken, M.D. Kill, R.C. and Baker, C.G.J., 1997, Food Industries Manual. 24<sup>th</sup> Edition Published in Collaboration with the Leather head Food Research Association. PP: 56
- 21- Schwarz, K. and Bertelsen, G., 2001, "Investigation of Plant Extract for the Protection of Processed Foods against Lipid Oxidation. Comparison of Antioxidant Assays Based on Radical Scavenging, Lipid Oxidation and Analysis of the Principal Antioxidant Compounds", European Food Research Technology, 212: 319-328.
- 22- Watanabe, T. and Mishiyama, R., 1998, "Simultaneous Analysis of Individual Catechin, Caffeine and Ascorbic Acid in Commercial Canned Green and Black Tea by Micellar Electro Kinetic Chromatography", Analytical science, 14: 435-438.
- 23- Wilson, K.C. and Clifford, M.N., 1992, Tea Cultivation to Consumption, First edition, Chapman and Hall., London, UK, PP: 35-224.

# Study of Productivity and Stability of Iced Green Tea Beverage from Green Tea Leave

A. Najafi<sup>1</sup>, R. Shokrani<sup>2</sup>, M. Shahedi<sup>2</sup> and L. Noori<sup>1</sup>

## Abstract

Iced tea is a world popular beverage, for example about 80% of people in Italy and United States, consume iced tea as a thirsty-quenching beverage. However, it is also believed that iced tea contains health benefit components. Process of iced tea involved tea solid extraction and then mixing with edible acids, flavors, sugar or non-nutritional sweeteners. In this research, regarding to the demand market for new beverage, the possibility of production iced tea beverage using green tea leave was investigated and was extracted under predetermined conditions. The effects of extraction temperature and time on the extractability were examined. The results of extraction at various temperatures in sample demonstrated that the extracted solid yield increased steeply during the first 5-10 min of extraction, but gradually in next 10-30 min and after 30 min the extraction continued slowly. Tea cream and haze extract was also determined using gravimetry and spectrophotometric methods, respectively. The extraction components, which cause tea cream and haze formation in extract increased with increasing of temperature. A sharp increase was observed when extraction temperature increased from 50 to 60°C. There was no significant difference ( $p<0.01$ ) between treatment regarding tea cream and haze formation between temperatures 40 and 50°C, but above 50°C was different significantly. Haze was significantly correlated to the tea cream in each extract. The linear regression coefficient for green tea leave extract was  $R^2=0.969(p<0.01)$ . Iced tea beverage was flavored with different essential oil and then that acceptability was evaluated by sensory panel analyzed with multiple comparison method. A standard physical and chemical experiment, haze changes for beverage during storing was monitored for 2 months. The results indicated that produced iced tea beverage ( $p<0.01$ ) was stable.

**Key words:** green tea, green tea beverage, polyphenole, tea cream, haze.

1- Islamic Azad University of Damghan, Department of Food science. E-mail: [Najafiali2002@yahoo.com](mailto:Najafiali2002@yahoo.com).

2- Department of Food science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology.