



## بررسی تاثیر افزودنی‌های دم کردنی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه

عاطفه عموزاده<sup>\*</sup>، جعفر محمدزاده میلانی<sup>۱</sup> و علی معتمدزادگان<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۳۰

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

\* مسئول مکاتبه: Email: Ati.A1365@gmail.com

### چکیده

چای سیاه مهمترین نوشیدنی دنیاست که ممکن است به تنهایی و یا با افزودنی‌های مختلف مصرف شود. هدف: این مطالعه به بررسی اثر افزودن غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۲ گرم) برخی از افزودنی‌های دم کردنی (میخک، دارچین، هل، زعفران و زنجبیل) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه می‌پردازد. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی با روش فرپ، ترکیبات فنلی کل با روش فولین-سیوکالتو و ترکیبات فلاونوئیدی کل با روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم، برای عصاره آبی تازه تهیه شده چای و افزودنی‌ها اندازه‌گیری شد. در اثر افزودن غلظت‌های مختلف این افزودنی‌ها به چای سیاه، بیشترین میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (۹۰۶۷/۳۶ میکرومول بر لیتر فرپ) در اثر افزودن غلظت دو گرم میخک به چای و بیشترین میزان محتوای ترکیبات پلی فنلی کل به ترتیب، در اثر افزودن غلظت نیم گرم میخک (۱۸۹۴/۶۶ میلی گرم گالیک اسید بر لیتر عصاره) و نیم گرم زنجبیل (۱۸۴۴/۶۶ میلی گرم بر لیتر) اضافه شده به چای سیاه حاصل گردید. همچنین بیشترین میزان محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل به ترتیب در اثر افزودن غلظت‌های دو گرم زعفران (۷۲۸/۹۳ میلی گرم کوئرستین بر لیتر) و نیم گرم میخک (۶۷۸/۱۶ میلی گرم بر لیتر) به چای سیاه بدست آمد. چای به دلیل حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در آن منبع مناسبی برای تامین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن می‌باشد و اضافه نمودن افزودنی‌های بکاربرده شده در این تحقیق، موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه گردید، که در مجموع تاثیر افزودن میخک بارزتر از سایر افزودنی‌ها بود.

واژگان کلیدی: چای سیاه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها

### مقدمه

اتیلوژی بیماری‌های مختلف گزارش شده است (والکو و همکاران ۲۰۰۷ و شارما و همکاران ۲۰۰۸). رادیکال‌های آزاد اغلب محصولات مراحل مختلف فعالیت‌های زیستی -

رادیکال‌های آزاد اثرات مضر بر روی سلول‌ها دارند، همچنین خطرات ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد در

پتیت ۲۰۱۰ و ریان و سوترلند ۲۰۱۱) و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تری نسبت به آنتی اکسیدان های سنتزی BHT, BHA و  $\alpha$ -توکوفرول می باشد (لینر و همکاران ۲۰۰۰). دوروتا و همکاران (۲۰۰۴)، اثر آسکوربیک اسید را بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی چای سیاه و سبز بررسی کردند. فرهوش و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ضایعات چای سیاه، نشان دادند که حتی برگ های کهنه چای نیز دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی بوده است. کومز و همکارانش (۲۰۱۰)، اثر نحوه‌ی آماده سازی چای سبز را بر ظرفیت زیست فعال آن بررسی کردند، همچنین ریان و سوترلند (۲۰۱۱)، اثر انواع مختلف شیر سویا را بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل چای سیاه بررسی کردند، نتایج نشان داد افزودن شیر سویا اثر معنی داری بر کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل چای نداشت. لوزاج و همکاران (۲۰۰۵)، یک مطالعه‌ی پژوهشی بر روی خواص آنتی اکسیدانی چای سیاه انجام دادند، آن‌ها نشان دادند که پلی فنل‌ها از قبیل تتاوفلاوین‌ها و تئاروبیجین‌ها و همچنین کاتچین‌ها عناصر اصلی برگ‌های چای هستند که سرشار از خواص و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی اند. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی چای سیاه توسط توانایی آن‌ها در باز دارندگی رادیکال‌های آزاد، شلات کردن یون‌های فلزی نشان داده می‌شود. از آنجایی که چای اغلب به همراه برخی از افزودنی‌ها مصرف می‌شود این تحقیق نیز برای نخستین بار سعی در بررسی اثر افزودن غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۲ گرم) برخی از افزودنی‌های دم کردنی (میخک، دارچین، هل، زعفران و زنجبیل) بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی چای سیاه دارد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد

TPTZ، کلرید آهن ۶، سولفات آهن هفت آب، استیک اسید گلاسیال، گالیک اسید و معرف فولین-سیوکالتو از

درونی هستند که روند ایجاد آن‌ها می‌تواند توسط عواملی مانند تشعشع، بیوتیک‌ها و دود، تحریک شود (بالول ۱۹۸۹). آنتی اکسیدان‌ها ارگانوسم‌ها را در مقابل خطرات ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند و وجود آنتی اکسیدان‌ها جهت جلوگیری از تخریب سلول امری حیاتی است تا از ایجاد اختلال در روند فعالیت سلول‌ها، جلوگیری کند (پاکوئی و همکاران ۲۰۰۰). چای دومین نوشیدنی پر مصرف در جهان پس از آب است (چن و همکاران ۲۰۰۹). مصرف منظم چای با بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی در داخل بدن همراه است که ممکن است به کاهش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب، بروز سکتة مغزی و انواع خاصی از سرطان کمک کند (پریور و همکاران ۲۰۰۰ و کیریس و همکاران ۲۰۰۲ و بنون و همکاران ۲۰۰۷). نام علمی چای *Camellia sinensis* می‌باشد که یک گیاه برگی چندساله است. تمام انواع چای که عمدتاً به سه شکل چای سبز تخمیر نشده، چای اولانگ نیمه تخمیر شده، و چای سیاه به طور کامل تخمیر شده<sup>۲</sup>، از همین گیاهان تولید می‌شوند (چن و همکاران ۲۰۰۳). چای سبز قسمت عمده آن کاتچین‌ها می‌باشد، درحالی‌که چای سیاه از تتاوفلاوین‌ها و تئاروبیجین‌ها، که مسؤل عطر، طعم و رنگ خاص چای می‌باشند به صورت عمده تشکیل شده است، که ناشی از تخمیر (به عنوان مثال فرایند اکسیداسیون آنزیمی) در طول فرایند تولید چای است (گراهام ۱۹۹۲ و وان و همکاران ۲۰۰۳). چای حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی فراوانی همچون پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، کاتچین‌ها، اسیدهای فنلیک همچون گالیک اسید، تتاوفلاوین‌ها، تئاروبیجین‌ها، ویتامین‌های آنتی اکسیدانی از جمله آسکوربیک اسید، توکوفرول و بتاکاروتن می‌باشند، که می‌تواند به دلیل حضور این ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی به طور بالقوه خواص سلامت زای فراوانی داشته باشد (موسوی و استکی ۱۳۸۹ و کوشود ۲۰۰۰ و ونگ و همکاران ۲۰۰۱ و چنگ و همکاران ۲۰۰۶ و ریان و

<sup>2</sup>. Fully fermented black tea

<sup>1</sup>. Oolong tea

داده شد و پس از آن جذب نمونه‌ها در ۵۹۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (T80+UV/VIS) در مقابل شاهد (۱/۵ میلی لیتر محلول FRAP و ۵۰ میکرولیتر آب مقطر) خوانده شد. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی با استفاده از نمونه‌های استاندارد (FeSO<sub>4</sub>) و بر اساس معادله خط منحنی استاندارد (۱۹۹۹)  $R^2 = 0.7996 + 0.0009x = Y$  (برای نمونه‌ها محاسبه شد و به صورت میکرو مول در لیتر گزارش شد.

#### تعیین مقدار ترکیبات فنلی کل

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از معرف فولین-سیو کالتو استفاده شد (مکدونالد و همکاران ۲۰۰۱). مطابق این روش ۰/۵ میلی لیتر از نمونه‌ها با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو (که با آب مقطر، ۱۰ برابر رقیق شده بود) و ۴ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۱ مولار به خوبی مخلوط شد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنلی با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد (۱۹۹۷)  $R^2 = 0.9997$  و  $Y = 0.0005x + 0.001$  بر مبنای گالیک اسید محاسبه شد و نتایج به صورت میلی گرم گالیک اسید در هر لیتر عصاره آبی (کاتالینیک و همکاران ۲۰۰۶) بیان گردید.

#### تعیین مقدار ترکیبات فلاونویدی کل

مقدار ترکیبات فلاونویدی با استفاده از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد (چانگ و همکاران ۲۰۰۲). مطابق این روش به ۰/۵ میلی لیتر از نمونه تازه تهیه شده، ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر محلول ۱ درصد کلرید آلومینیوم، ۰/۱ میلی لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فلاونویدی با استفاده از

شرکت مرک، همچنین کوئرستین از شرکت سیگما تهیه شد. سایر ترکیبات و حلال‌ها نیز با درجه خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک خریداری شدند.

#### تهیه عصاره‌های آبی

برای تهیه عصاره آبی چای و افزودنی، مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ گرم افزودنی‌های میخک، دارچین، هل، زعفران و زنجبیل به طور جداگانه، توزین و به ۲ گرم چای خشک سیاه اضافه شدند. برند تجاری چای، در تحقیق حاضر همانند برخی از مقالات مرتبط *Twining Earl Grey* بوده است. سپس ۱۰۰ میلی لیتر آب جوش (۹۰ °C) به آنها اضافه شد و به مدت دو دقیقه در همان دما روی بن ماری نگه داشته شد. پس از یک دقیقه نمونه‌های حاوی چای و غلظت‌های مختلف هر یک از این افزودنی‌ها از روی فیلتر کاغذی واتمن عبور داده شدند و سایر مراحل هر یک از آزمایشات بلافاصله بر روی نمونه‌های تازه تهیه شده انجام پذیرفت، لازم به ذکر است که برای هر یک از آزمون‌ها، یک نمونه عصاره آبی تازه چای بدون افزودنی نیز تهیه شد و ملاک مقایسه قرار گرفت. هر یک از آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شده و میانگین گزارش شد.

#### اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، به روش FRAP

در این تحقیق توانایی عصاره‌های آبی چای و افزودنی‌ها برای کاهش یون‌های آهن با استفاده از روش توسعه یافته‌ی *FRAP* که توسط بنزی و استرین (۱۹۹۶) شرح داده شده، تعیین شد. برای انجام این آزمون ابتدا نمونه عصاره آبی تازه چای و افزودنی‌ها تهیه شد و از فیلتر کاغذی واتمن گذرانده شد. بر اساس این روش، ۱/۵ میلی لیتر از محلول تازه تهیه شده *FRAP* به نسبت ۱۰:۱:۱ از بافر استات، کلرید آهن و معرف *TPTZ* درون لوله‌های آزمایش ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری ۳۷°C قرار داده شد. ۵۰ میکرو لیتر از نمونه به لوله مربوطه اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷°C قرار

### محتوای فنل کل

با توجه به نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی میزان ترکیبات فنلی کل در چای سیاه حاوی غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۲) گرم) افزودنی‌ها، بین تیمارهای مختلف نسبت به نمونه چای تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشته است. مقادیر آن در غلظت نیم گرم افزودنی‌ها در محدوده ۱۲۸۲/۰-۱۸۹۴/۰ میلی گرم گالیک اسید بر لیتر عصاره و در غلظت یک گرم افزودنی-ها در محدوده ۱۳۴۰/۶۶-۱۷۷۸/۰ میلی گرم بر لیتر بوده است. همچنین مقادیر فنل کل در اثر افزودن غلظت دو گرم افزودنی‌ها در محدوده ۱۲۲۸/۶۶-۱۷۳۴/۰ میلی گرم گالیک اسید بر لیتر بوده است. با توجه به اینکه میزان فنل کل در چای سیاه عاری از افزودنی ۱۱۳۰/۶۶ میلی گرم بر لیتر بوده، تمامی افزودنی‌های بکار برده شده در این تحقیق موجب افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در چای شدند. در غلظت نیم گرم بیشترین اثر افزایشی را به ترتیب میخک و زنجبیل، همچنین در غلظت یک و دو گرم نیز در اثر افزودن میخک حاصل گردید (جدول ۱).

### محتوای فلاونوئید کل

محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل با روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم به صورت میلی گرم کوئرستین در هر لیتر عصاره اندازه گیری شد. فلاونوئیدها ترکیبات بیواکتیو در چای هستند. فلاونولها (کوئرستین) فراوان ترین گروه آن در تمام انواع چای بوده اند. در بررسی بر روی ترکیبات فلاونوئیدی کل، بین تیمارهای مختلف حاوی غلظت‌های مختلف افزودنی‌ها و نمونه شاهد تفاوت آماری معناداری مشاهده شد. میزان فلاونوئید کل در غلظت نیم گرم افزودنی‌ها در محدوده ۲۷۸/۳۶-۶۷۸/۱۶ میلی گرم بر لیتر و در غلظت یک گرم افزودنی‌های اضافه شده به چای نیز در محدوده ۳۴۶/۵۰-۶۳۵/۹۶ میلی گرم کوئرستین بر لیتر بوده است. همچنین مقادیر فلاونوئید کل در غلظت دو گرم افزودنی‌ها در چای در محدوده ۳۲۷/۸۳-۷۲۸/۹۳ میلی گرم بر لیتر بوده است. با توجه به اینکه میزان فلاونوئید کل در نمونه شاهد

معادله خط رسم شده بر اساس منحنی استاندارد ( $R^2 = ۰/۹۹۹۷$  و  $Y = ۰/۰۰۱۸x + ۰/۰۴۰۲$ ) محاسبه شد. نتایج به صورت میلی گرم کوئرستین بر لیتر گزارش شد.

### روش آنالیز آماری

در این تحقیق اثر افزودنی‌های مختلف با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، میزان فنل و فلاونوئید کل چای سیاه در مقایسه با تیمار شاهد (چای سیاه بدون افزودنی)، با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در سطح احتمال ( $P < ۰/۰۵$ ) مورد بررسی قرار گرفتند. تیمارها در سه تکرار بررسی شده و نتایج بدست آمده با استفاده از روش‌های آنالیز واریانس یک طرفه (One - Way - ANOVA)، در سطح احتمال ( $P < ۰/۰۵$ ) مورد بررسی قرار گرفتند و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ( $P < ۰/۰۵$ ) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

### نتایج و بحث

#### ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

نتایج نشان داد اضافه نمودن افزودنی‌های بکار برده شده اثر افزایشی بر میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی چای سیاه داشته است بطوریکه مقادیر آن در غلظت نیم گرم افزودنی‌ها، در محدوده ۳۲۱۵/۵۳-۸۸۰۸/۰۰ میکرومول بر لیتر و در غلظت یک گرم افزودنی‌ها در محدوده ۳۹۶۷/۳۶-۹۴۰۴/۳۳ میکرومول بر لیتر بوده است. همچنین این مقدار در غلظت دو گرم افزودنی‌ها در محدوده ۳۹۵۲/۵۶-۹۰۶۷/۳۶ میکرومول بر لیتر بوده است. با توجه به اینکه میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی برای نمونه چای بدون افزودنی ۳۷۱۱/۶۶ میکرومول بر لیتر بوده است، بیشترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی در هر سه غلظت در اثر افزودن میخک به چای حاصل گردید و افزودنی هل تاثیر کمتری داشته است (جدول ۱).

(چای عاری از افزودنی) ۲۷۷/۴۶ میلی گرم بر لیتر بوده، در غلظت دو گرم نیز در اثر افزودن زعفران و میخک به بیشترین اثر افزایشی در غلظت نیم گرم در اثر افزودن میخک و زعفران، در غلظت یک گرم مربوط به زعفران و

در غلظت دو گرم نیز در اثر افزودن زعفران و میخک به چای بدست آمد، کمترین اثر افزایشی در این آزمون نیز مربوط به غلظت‌های مختلف هل بوده است (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین ترکیبات آنتی اکسیدانی کل، فنلی و فلاونوئیدی در تیمارهای مختلف افزودنی های چای سیاه

آزمون	افزودنی	شاهد (چای)	۰/۵ گرم	۱ گرم	۲ گرم
ترکیبات آنتی اکسیدانی کل (میکرومول فرپ بر لیتر عصاره)	چای زنجبیل	۳۷۱۱/۶۶±۱۳۰/۴۱ <sup>c</sup>	۵۲۸۵/۹۰±۳۶۶/۷۱ <sup>ab</sup>	۵۹۴۸/۸۰±۲۰۵/۶۶ <sup>a</sup>	۴۷۴۸/۸۳±۷۳۱/۳۷ <sup>b</sup>
	چای میخک	۳۷۱۱/۶۶±۱۳۰/۴۱ <sup>b</sup>	۸۸۰۸/۰۰±۲۵۶/۳۴ <sup>a</sup>	۹۴۰۴/۳۳±۱۴۹/۵۱ <sup>a</sup>	۹۰۶۷/۳۶±۷۰۷/۶۸ <sup>a</sup>
	چای زعفران	۳۷۱۱/۶۶±۱۳۰/۴۱ <sup>c</sup>	۵۴۳۴/۰۳±۷۱۴/۴۲ <sup>b</sup>	۶۰۳۴/۰۳±۲۷/۶۰ <sup>ab</sup>	۶۸۲۶/۶۰±۵۴/۸۶ <sup>a</sup>
	چای هل	۳۷۱۱/۶۶±۱۳۰/۴۱ <sup>a</sup>	۳۲۱۵/۵۳±۷۲۳/۲۷ <sup>a</sup>	۳۹۶۷/۳۶±۲۷۸/۰۴ <sup>a</sup>	۳۹۵۲/۵۶±۳۳۶/۳۵ <sup>a</sup>
	چای دارچین	۳۷۱۱/۶۶±۱۳۰/۴۱ <sup>b</sup>	۶۳۱۱/۹۰±۱۲۶۳/۷۶ <sup>a</sup>	۶۷۲۶/۳۳±۲۵۰/۵۷ <sup>a</sup>	۷۱۴۸/۶۶±۷۳۹/۶۶ <sup>a</sup>
ترکیبات فنلی کل (میلی گرم گالیک اسید بر لیتر عصاره)	چای زنجبیل	۱۱۳۰/۶۶±۲۰/۸۱ <sup>b</sup>	۱۸۴۴/۶۶±۳/۰۵ <sup>a</sup>	۱۳۵۴/۶۶±۱۱/۰۱ <sup>b</sup>	۱۲۲۸/۶۶±۴/۱۶ <sup>c</sup>
	چای میخک	۱۱۳۰/۶۶±۲۰/۸۱ <sup>d</sup>	۱۸۹۴/۰۰±۷/۲۱ <sup>a</sup>	۱۷۷۸/۰۰±۸/۷۱ <sup>b</sup>	۱۷۳۴/۰۰±۶/۰۰ <sup>c</sup>
	چای زعفران	۱۱۳۰/۶۶±۲۰/۸۱ <sup>c</sup>	۱۵۵۷/۳۳±۹۴/۱۵ <sup>a</sup>	۱۳۵۳/۳۳±۱۴/۰۵ <sup>b</sup>	۱۲۹۲/۰۰±۱۱/۹۲ <sup>ab</sup>
	چای هل	۱۱۳۰/۶۶±۲۰/۸۱ <sup>d</sup>	۱۵۱۸/۶۶±۶/۴۲ <sup>a</sup>	۱۴۴۴/۰۰±۵/۲۹ <sup>b</sup>	۱۳۱۱/۶۶±۳/۵۱ <sup>c</sup>
	چای دارچین	۱۱۳۰/۶۶±۲۰/۸۱ <sup>d</sup>	۱۲۸۲/۰۰±۹/۱۶ <sup>c</sup>	۱۳۴۰/۶۶±۷/۰۲ <sup>b</sup>	۱۴۷۹/۳۳±۹/۰۱ <sup>a</sup>
ترکیبات فلاونوئیدی کل (میلی گرم کوئرستین بر لیتر عصاره)	چای زنجبیل	۲۷۷/۳۲±۴۶/۹۴ <sup>b</sup>	۳۴۹/۰۶±۲۷/۲۵ <sup>ab</sup>	۳۴۶/۵۰±۶۴/۰۵ <sup>ab</sup>	۴۰۸/۷۳±۲۲/۶۷ <sup>a</sup>
	چای میخک	۲۷۷/۳۲±۴۶/۹۴ <sup>c</sup>	۶۷۸/۱۶±۲۲/۲۰ <sup>a</sup>	۵۵۶/۵۰±۶۹/۶۳ <sup>b</sup>	۶۲۷/۲۶±۱/۱۵ <sup>ab</sup>
	چای زعفران	۲۷۷/۳۲±۴۶/۹۴ <sup>d</sup>	۵۸۳/۳۳±۱۴/۹۷ <sup>c</sup>	۶۳۵/۹۶±۲۷/۵۰ <sup>b</sup>	۷۲۸/۹۳±۱۲/۱۳ <sup>a</sup>
	چای هل	۲۷۷/۳۲±۴۶/۹۴ <sup>b</sup>	۲۷۸/۳۶±۴۰/۴۲ <sup>b</sup>	۳۹۱/۵۶±۳۵/۱۹ <sup>a</sup>	۳۲۷/۸۳±۱۰/۸۸ <sup>b</sup>
	چای دارچین	۲۷۷/۳۲±۴۶/۹۴ <sup>c</sup>	۴۴۱/۲۵±۵۰/۱۲ <sup>b</sup>	۵۸۶/۶۳±۳۸/۸۵ <sup>a</sup>	۳۸۷/۶۳±۴۲/۵۲ <sup>b</sup>

\*اعداد ( انحراف معیار ± میانگین ) دارای حروف مشترک در هر ردیف از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (P < ۰/۰۵).

امروزه وجود ارتباط معکوس بین مصرف منابع آنتی-اکسیدانی طبیعی و مرگ و میر ناشی از برخی بیماری-های مربوط به سن را تا حدودی می توان به حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به ویژه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، فراوان ترین گروه آنتی اکسیدان های فعال آبدوست، نسبت داد (حسین و همکاران ۲۰۱۰). ترکیبات فنلی به عنوان متابولیت های ثانویه گیاهان تاثیر قابل توجهی را بر روی خصوصیات مختلف غذاها دارند، از جمله اینکه آنها به عنوان مهار کننده های بسیار موثر رادیکال های آزاد بوده و فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را از خود نشان می دهند (ولنگو و همکاران ۱۹۹۸). خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی به طور مستقیم به ساختار آن ها که از یک یا تعداد بیشتری حلقه های آروماتیک و گروه های هیدروکسیل تشکیل شده است و قادر به مهار نمودن رادیکال های آزاد می باشند برمی گردد (ایوانس و همکاران ۱۹۹۶ و بوریس و میشل ۲۰۰۲). نتایج تحقیق نشان داد که چای بصورت بالقوه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و افزودن غلظت های مختلف افزودنی های بکار برده شده موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی چای سیاه شده است.

آنتی اکسیدان های طبیعی شامل فلاونوئیدها، اسیدهای فنلیک، کارتنوئیدها و توکوفرول می باشند (ازسوی و همکاران ۲۰۰۹). در بررسی انجام شده توسط دودنی و همکاران (۲۰۰۹) بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی سی گونه گیاهی، بلوط، میخک و دارچین به دلیل داشتن آنتی اکسیدان های طبیعی مذکور دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری بودند. میخک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و ترکیبات فنلی زیادی می باشد (کیم و همکاران ۲۰۰۳ و چندرا و همکاران ۲۰۰۴ و شان و همکاران ۲۰۰۵). از جمله ترکیبات فنلی موجود در میخک می توان به اوژنول، اسیدهای فنلی مانند اسید گالیک، کافنیک اسید و کلروژنیک اسیدها اشاره کرد (شان و همکاران ۲۰۰۵ و راستوگی و همکاران ۲۰۰۸). همچنین کورک و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی های خود بر روی فعالیت

آنتی‌اکسیدانی بیست و شش عصاره آبی گیاهان مختلف اذعان داشتند، عصاره آبی گیاه میخک، دارچین و پونه کوهی داری بیشترین و عصاره آبی گیاه خشخاش کمترین قدرت مهار رادیکال های آزاد را داشتند. زنجبیل حاوی ترکیبی به نام جینجیبر و ترکیبات وابسته به آن می باشد که مهم ترین جزء تشکیل دهنده ی آن و مسئول ایجاد طعم و مزه زنجبیل نیز می باشد و از رشد سلول های سرطانی مخصوصا روده ی بزرگ جلوگیری می کند (مور و همکاران ۲۰۰۱). گیاه زنجبیل حاوی مقدار زیادی از آنتی اکسیدان ها از جمله بتاکاروتن، آسکوربیک اسید، ترپنوئیدها، آکالوئیدها، ویتامین ها و فلاونوئیدهایی مانند فلاوون گلیکوزیدها، روتین و... می باشد (استویانووا و همکاران ۲۰۰۷). زعفران دارای انواع زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی، گلیکوزیدی و آنتوسیانین ها ، بتا کاروتن، لیکوپن، ویتامین E، اسید آسکوربیک و مقادیر بالای آلفاتوکوفرول می باشد، که موجب افزایش قدرت کاهندگی یون  $Fe^{3+}$  و تبدیل آن به  $Fe^{2+}$  در تعیین ظرفیت تام آنتی اکسیدانی می شوند، می باشد (گیل و همکاران ۲۰۰۲، جفر و همکاران ۲۰۱۰). همچنین زعفران، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی به دلیل حضور ترکیبات فنلی کروسین و سافرانال می باشد (چیمی و همکاران ۱۹۹۱). دارچین دارای ترکیبات موثره سینام آلدهید ، اوژنول سافرول، ترکیبات ترپنی و کومارین می باشد، دارچین همچنین دارای ترکیبات فنلی فلاوان-۳-اول ها همچون، کاتچین، اپی کاتچین، پروسیانیدین و اسیدهای فنلی می باشد (پکر و همکاران، ۱۹۹۹ و شان و همکاران ۲۰۰۵ و پنج و همکاران ۲۰۰۸) فعالیت آنتی اکسیدانی دارچین به حضور ترکیبات فنلی در آن نسبت داده شده است (جایاپاراکاشا و همکاران ۲۰۰۷). از آنجایی که تا کنون اثر چنین افزودنی هایی بر چای در تحقیق دیگری مورد بررسی قرار نگرفته است امکان مقایسه یا مطابقت دادن موردی وجود ندارد، اما میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در تحقیق حاضر با مطالعه انجام شده توسط ریان و سوترلند (۲۰۱۱)، که اثر

توجه به مقایسه میانگین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل برای هر یک از افزودنی‌های اضافه شده به چای در این تحقیق، بیشترین میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در اثر افزودن میخک به چای، همچنین بیشترین میزان ترکیبات فنلی کل در اثر افزودن میخک، زنجبیل به چای و بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل هم در اثر افزودن زعفران و میخک بدست آمد. اضافه نمودن این افزودنی‌ها، می‌تواند اثر مثبتی را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه بگذارد، در این بین افزودنی میخک بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه، به دلیل افزایش هر سه فاکتور اندازه‌گیری شده داشته است.

#### سپاسگزاری

از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی به‌ویژه دکتر مهدی پورامیر و نیز جناب آقای مهندس محمدرضا ذاکری مهر به دلیل کمک شان در انجام آنالیز آماری داده‌ها کمال سپاسگزاری را دارم.

افزودن غلظت‌های مختلف شیر سویا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه بوده است، میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در آن (۷۷۶۴ میکرومول بر لیتر) در شرایطی که مقدار چای بیشتر از  $\frac{1}{2}$  برابر مقدار چای بکار برده شده در این تحقیق بوده است و مدت زمان دم آوری ۴ دقیقه، همچنین با میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (۷۸۲۶-۶۸۴۵ میکرو مول بر لیتر) اندازه‌گیری شده در بررسی ریان و پتیت (۲۰۱۰) نسبتاً مطابقت می‌نماید.

#### نتیجه‌گیری

این تحقیق سعی در بررسی اثر افزودن غلظت‌های مختلف برخی از افزودنی‌های دم کردنی (میخک، دارچین، هل، زعفران و زنجبیل)، بر میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنلی کل و محتوای فلاونوئیدی کل چای سیاه داشته است. نتایج نشان داد، غلظت‌های مختلف این افزودنی‌ها بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای تاثیر گذاشته، بطوریکه سطوح مختلفی از ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل بدست آمد. با

#### منابع مورد استفاده

- موسوی ف، استکی م، ۱۳۸۹، انواع چای و اثرات جادویی آنها. چاپ اول، اصفهان، انتشارات نصح. ۷۱-۴۸،۴۲.
- Banon S, Diaz P, Rodriguez M, Garrido MD and Price A, 2007. Ascorbate, green tea and grape seedextracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. Food Chemistry 73: 73-84.
- Benzine IF and Strain JJ, 1996. The Ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant Power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry 239(1):70-76.
- Bolwell GP, Plant Polyphenols: Vegetable tannins revisited (1989), By E. Haslam. Chemistry and Pharmacology of Natural Products (J. D. Phillipson, D. C. Ayres and H. Baxter, Eds). Cambridge University Press. BioEssays 12(9): p. 453-453.
- Bors, W, Michel C, 2002. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. Ann. N.Y. Acad. Sci, 957: 57-69.
- Chan EWC, Lim YY and Chew Y L, 2007. Antioxidant activity of Camellia sinensis leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food chemistry 102(4): 1214-1222.
- Chandra S and Gonzalez de Mejia E, 2004. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of Ardisia compressa in comparison to mate and green (Camellia sinensis) teas. Journal of Agricultural and Food chemistry 52(11):3583-3589.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM and Chern JC, 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal Food Drug Analytica 10: 178-182.

- Chen H, Zhishuang Qu, Lingling Fu, Peng Dong and Xin Z, 2009. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea. *Journal of Food Science* 74(6): C469-C474.
- Chen Z and Suo Y, 2003. Stability of Tea Theaflavins and Catechins. *Food Chemistry* 83: 189- 195.
- Chimi H, Cillard J, Cillard P and Rahmani M, 1991. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society* 68(5): 307-312.
- Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Woillez M and Merillon JM, 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(5): 1768-1774.
- El-Ghorab AH, Nauman M, Anjum FM, Hussain S and Naddeem M, 2010. A Comparative Study on Chemical Composition and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) and Cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:8231-8237.
- Farhoosh R, Golmovahhed GA and Khodaparast MH, 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chemistry* 100(1): 231-236.
- Gil MI and Kaber AA, 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4976-4982.
- Graham HN, 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Preventive Medicine* 21(3): 334-350.
- Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS and Jagan Mohan Rao L, 2007. Antioxidant, antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extract. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 330-336.
- Karimi E, Oskoueian E, Hendra R and Jaafar Hawa ZE, 2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. Stigma Phenolic and Flavonoid Compounds and Its Antioxidant Activity. *Molecules journal* 15: 6244- 6256.
- Katalinić V, Milos M, Modun D, Music I and Boban M, 2004. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry* 86(4): 593-600.
- Kim HY and Kim K, 2003. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:1586-1591.
- Komes D, Horzic D, Belscak A, Ganic KK and Vulic I, 2010. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food research international* 43(1): 167-176.
- Kris-Etherton PM, Hacker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE and Etherton TD, 2002. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine* 113(9B): 71-88.
- Leenen R, Roodenburg AJ, Tijburg LB and Wiseman SA, 2000. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *European Journal of Clinical Nutrition* 54(1): 87-92.
- Majchrzak D, Mitter S and Elmadfa I, 2004. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green teas. *Food chemistry* 88(3): 447-451.
- McDonald S, Prenzler PD, Antolovich M, Robards K and Stadtman ER, 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73: 73-84.
- Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J, Dominguez H, Nunez MJ and Parajo JC, 2001. Natural antioxidants from residual sources-a review. *Food Chemistry* 72: 145-171.
- Ozsoy N, Candoken E and Akev K, 2009. Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in *Aloe vera*. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2(2): 99-106.
- Packer L, Rimbach G and Virgili F, 1999. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, Pycnogenol. *Free Radical Biology Medicine* 27: 704-724.
- Paquay JB, Haenen GR, Stender G, Wiseman SA, Tijburg LB and Bats A, 2000. Protection against nitric oxide toxicity by tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5768-5772.



- Peng X, Cheng KW, Ma J, Chen B, Ho CT, Lo C, Chen F and Wang M, 2008. Cinnamon bark proanthocyanidins as reactive carbonyl scavengers to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 1907-1911.
- Prior RL and Cao G, 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. *Hort Science* 35:588-592.
- Rastogi S, Pandey MM and Rawat AK, 2008. High-performance thinlayer chromatography densitometric method for the simultaneous determination of three phenolic acids in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Perry. *Journal of AOAC International* 91: 1169-1173.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G, 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. *Free Radical Biol. Med* 20: 933-956.
- Ryan L and Petit S, 2010. Addition of whole, semi-skimmed and skimmed bovine milk tea theaflavins and thearubigin on lipid peroxidation of rat liver. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39: 44-84.
- Ryan L and Sutherland S, 2011. Comparison of the effects of different types of soya milk on the total antioxidant capacity of black tea infusions. *Food Research International* 44(9): 3115-3117.
- Shan A, Yizhong Z, C, Sun M and Corke H, 2005. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:7749-7759.
- Shan B, Cai YZ, Sun M and Corke H, 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 7749-7759.
- Sharma V, Vijay Kumar H and Jagan Mohan Rao L, 2008. Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International* 41(2): p. 124-129.
- Stoilova L, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S, 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry* 102: 764-770.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M and Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int Journal Biochemistry Cell Biological* 39(1): 44-84.
- Wan, XC, Huang JZ and Shen SR, 2003. *Tea biochemistry*, 3 rd ed, 9-20, 180-94. Beijing: china Agriculture Press. With permission.
- Wang H and Helliwell K, 2001. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green teainfusions by high-performance liquid chromatography. *Food Research International* 34(2): 223-227.
- Xuczaj W and Skrzydlewska E, 2005. Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine* Volume 40: Issue 6, Pages 910-918.

## Investigating the effect of brewing additives on the antioxidant activity of black tea

A Amoozadeh<sup>1\*</sup>, J Mohammadzadeh Millany<sup>2</sup> and A Moetamedzadegan<sup>2</sup>

Received: June 28, 2014

Accepted: December 21, 2015

<sup>1</sup> MSc Graduated Student, Department of Food Science, College of Agriculture and Food Science, Islamic Azad University, Science and Research Ayatollah Amoli, Amol, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University, Sari, Iran

\*Corresponding author: Email: Ati.A1365@gmail.com

### Abstract

Black tea is the most important beverage, which is consumed alone or with different additives. The present study tries to investigate the effect of different concentrations (0.5, 1, and 2 g) of some brewing additives (clove, cinnamon, coriander, saffron, and ginger) on the antioxidant activity of black tea. Total antioxidant capacity, total phenols, and flavonoid compounds were measured respectively, by FRAP, folin ciocalteu, and aluminum chloride colorimetric methods, for fresh tea extracts and with different additives. As the result of addition of different concentrations of these additives to black tea, maximum total antioxidant capacity (9067.36  $\mu\text{mol/L}$  FRAP ) was observed by adding 2 g of clove to tea and the maximum polyphenols compounds was gained by adding 0.5gr clove (1894.66 mg Galic acid/L) and 0.5 ginger (1844/66 mg/L) to black tea, respectively. In addition, the maximum total flavonoid compounds content was gained by adding 2 grams saffron (728.93 mg quercetin/L) and 0.5 grams clove (678.16mg/ L) to black tea, correspondingly. Tea is a proper source of natural antioxidants supply for body, on behalf of its phenolic and flavonoid compounds, and adding the additives used in this research resulted in an increase in antioxidant activities of black tea. Totally, the effect of adding clove on the antioxidant properties of black tea was more effective than other additives.

**Keywords:** Black tea, Antioxidant activity, Phenolic compounds, Flavoniods