

مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir



مقاله علمی_پژوهشی

اثر مراحل پلاسیدن، مالش دهی، تخمیر و خشک کردن چای سیاه گیلانی بر محتوای فنولی و خواص آنتیاکسیدانی آن

رضا فرهمندفر^{۱*}، حدیث عظیمی نژاد^۲

۱- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- دانشجو دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده	تاریخ های مقاله :
<p>تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۳۱</p> <p>تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۰۲</p>	<p>چای سیاه گیلانی طی تخمیر برگ‌های تازه <i>Camelia sinensis var. assamica</i> حاصل می‌گردد. این پژوهش، با هدف بررسی اثر فرآیند تولید چای و روش دم کردن آنها با روش‌های ماکروویو و متداول بر محتوای فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتیاکسیدانی (آزمون مهار رادیکال‌های DPPH) و قدرت احیاکنندگی اتم آهن) صورت گرفت. نتایج نشان داد در اثر فرآیند تخمیر خواص آنتیاکسیدانی و محتوای فنولی چای تغییر کرد و همچنین روش دم کردن چای نیز بر این خصوصیات مؤثر بود. بالاترین محتوای فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتیاکسیدانی را مرحله مالش دهی تحت دم کردن با روش ماکروویو نشان داد. در حالی‌که، کمترین محتوای فنولی و فلاونوئیدی مربوط به مرحله پلاسیدن تحت دم کردن با روش ماکروویو و کمترین فعالیت آنتیاکسیدانی نیز مربوط به تیمار چای تحت روش دم کردن متداول بود. بنابراین روش ماکروویو با قابلیت استخراج بالا و کاهش زمان فرآیند می‌تواند در صنعت غذا جایگزین روش‌های معمول گردد.</p>	<p>کلمات کلیدی:</p> <p>آنتیاکسیدان، تخمیر، چای، فرآوری، گیلان.</p>
<p>DOI: 10.52547/fsct.18.03.01</p>	<p>* مسئول مکاتبات: r.farahmandfar@sanru.ac.ir</p>	

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه و آماده‌سازی نمونه

نمونه‌های مراحل مختلف چای شامل برگ سبز تازه، مراحل پلاسیدن، مالشدهی، تخمیر، خشک کردن و محصول نهایی بسته‌بندی شده، از کارخانه گلچای از استان گیلان تهیه شد.

۲-۲- دم کردن چای

در روش متداول، چای با نسبت ۱ به ۱۰ با آب مخلوط و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه دم کشید. دم کردن چای به روش ماکروویو با نسبت ۱ به ۱۰ نمونه به آب و قدرت ۶۰۰ وات ماکروویو و مدت زمان ۴ دقیقه صورت گرفت.

۳- اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک عصاره

برای این منظور ابتدا یک میلی‌گرم از عصاره را در حلال خود تهییه و ۵٪ میلی‌لیتر از هر نمونه را با ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد و ۵/۲ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ بار رقیق شده مخلوط شد و برای انجام واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در پایان، جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفوتومتر در nm ۷۶۰ خوانده و به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد [۹].

۴- اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فلاونوئیدی عصاره

ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهییه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلراید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ استات پتاویم یک مولار ۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره، تنها از مтанول خالص استفاده شد. سپس این مخلوط، ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و بالاصله در طول موج ۱۵۴ نانومتر قرائت شد. به منظور رسم منحنی استاندارد، از کوئرستین استفاده و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد [۱۰].

۵- بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

در فعالیت مهار رادیکال DPPH

برای این منظور ۰/۳ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف را با ۲/۷ میلی‌لیتر از محلول رادیکال DPPH مخلوط و کاهش رادیکال DPPH نمونه‌ها از طریق پایش جذب در nm ۵۱۷

۱- مقدمه

گیاه چای یک درختچه همیشه سبز کوچک از جنس *Camelia* و بومی گشور چین است که دارای برگ‌های براق *Camelia sinensis* سبز تیره و گل‌های سفید می‌باشد. چای به طور مختلف واریته *sinensis* برای تولید چای سبز و از واریته *assamica* برای تولید چای سیاه استفاده می‌شود [۱]. اجزای آنتی‌اکسیدانی به دلیل توانایی آنها در کاهش تخریب سلول‌ها و بافت‌های موجود در ارگانیسم از اهمیت بسیار بالایی در مواد غذایی برخوردار می‌باشند [۲ و ۳]. دمنوش‌های گیاهی (مخصوصاً چای) از منابع مهم آنتی‌اکسیدانی هستند [۴]. بسیاری از محققان خواص چای (بهویژه خواص مرتبط با سلامتی آنها) از جمله اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را، مورد بررسی قرار داده‌اند [۵]. یکی از مهم‌ترین اثرات مفید چای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال آزاد توسط اجزای پلی‌فنولی آن است [۶]. پلی‌فنول‌ها مهم‌ترین ترکیبات برگ‌های چای هستند [۵]. برگ‌های چای سبز تازه سرشار از فلاونول‌های مونومر، معروف به کاتچین می‌باشند [۷]. در اثر تخمیر برگ چای تازه، برخی از ترکیب‌های موجود در آن اکسید و یا تغییط شده و به مولکول‌های پلی‌فنولیک بزرگ‌تر (دایمر یا پلیمر) مانند تیافلاولین (۷۳ درصد) و تیاروییجن (۱۸-۱۲٪) تبدیل می‌شوند که این پلیمرها مسئول طعم تلخ و رنگ تیره چای هستند [۷]، بنابراین از زمانی که چای به صورت برگ سبز است تا زمانی که به محصول نهایی تبدیل می‌شود، تغییراتی در طی فرآیند تولید در ساختار فنولی آن ایجاد می‌گردد. همچنین امروزه روش‌های دیگری برای دم کردن چای نسبت به روش رایج و متداول وجود دارد که می‌تواند بر ترکیبات چای حاصله مؤثر باشد. روش ماکروویو از جمله این روش‌ها است که برای استخراج پلی‌ساقاریدها، پلی‌فنول‌ها (کاتچین و تیافلاولین) و کافئین استفاده می‌شود. این فرآیند یک روش دوستدار محیط زیست است [۸]؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی چای در طی مراحل مختلف تولید چای خشک و مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی چای با دو روش دم کردن معمول و ماکروویو (به عنوان روش جدیدی برای دم کردن چای) بود.

چای بر مقدار ترکیبات فنولی نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0.05$). به طوری که بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به تیمار مرحله مالش دهنده چای با روش ماکروویو و کمترین میزان مربوط به تیمار مرحله پلاسیدن چای با روش ماکروویو و محصول نهایی فرآیند چای با روش معمول دم کردن بود ($p < 0.05$). همچنین میزان محتوای فنولی محصول نهایی چای با روش دم کردن با ماکروویو به طور معنی داری بالاتر از روش معمول دم کردن بودست آمد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد به طور معنی داری با روش معمول دم کردن، محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی چای نسبت به برگ سبز چای در طی فرآیند تهیه چای کاهش می یابد، اما با استفاده از روش ماکروویو محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی نسبت به برگ سبز افزایش می یابد ($p < 0.05$). در مورد ترکیبات فلاونوئیدی نیز (شکل ۲) نتایج آنالیز واریانس نشان داد تأثیر تیمارهای مختلف و مراحل فرآیند چای نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$). بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به تیمار مرحله مالش دهنده چای با روش ماکروویو و کمترین میزان مربوط به تیمار مرحله پلاسیدن چای با روش ماکروویو و محصول نهایی فرآیند چای با روش معمول دم کردن بود ($p < 0.05$) و میزان محتوای فلاونوئیدی محصول نهایی چای با روش دم کردن با ماکروویو از روش معمول دم کردن به طور معنی داری بالاتر بود ($p < 0.05$). محتوای ترکیبات فلاونوئیدی محصول نهایی چای نسبت به برگ سبز چای در طی فرآیند تهیه چای با روش معمول دم کردن به طور معنی داری کاهش یافت، اما با استفاده از روش ماکروویو محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی نسبت به برگ سبز افزایش یافت ($p < 0.05$).

پلی فنول های رژیم غذایی نقش مهمی در پیشگیری از بیماری ها مانند آلزایمر، بیماری های قلبی عروقی، دیابت و چاقی دارند و فعالیت چشمگیری را به عنوان یک ماده ضد سرطان نشان می دهند؛ و چای یکی از این منابع ترکیبات فنولی است [۱۲]. ترکیب فیتوشیمیایی برگ های چای تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله مناطق زیر کشت، شرایط آب و هوایی، گونه ها، شرایط فرآوری و تکنیک های دم کردن قرار می گیرد [۱۳، ۱۴ و ۱۵].

چای سیاه از طریق پلاسیدن و سپس مالش دهنده و درنهایت در طی مراحل تخمیر از برگ سبز چای حاصل می شود [۱۵]. برگ چای تازه به طور عمده شامل فلاوان-۳-اولز، فلاونول-O-

با استفاده از اسپکترو فتو متر اندازه گیری شد و اثر مهار کنندگی به صورت درصد بیان و از معادله زیر محاسبه گردید [۱۰]:

$$I\% = \frac{(A_{blank} - A_{sample})}{A_{blank}} \times 100 \quad (1)$$

که $I\%$ درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_{blank} جذب کنترل و A_{sample} جذب نوری غلظت عصاره است.

۶-۲- ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی به روش

قدرت احیا کنندگی

۲/۵ میلی لیتر از عصاره با غلظت های مختلف با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفاته 0.2 مولار (با $pH 6/6$) و ۲/۵ میلی لیتر محلول پتاسیم فری سیانید 1 درصد مخلوط و در دمای 50 درجه سانتی گراد به مدت 20 دقیقه نگهداری شد. سپس $2/5$ میلی لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید به نمونه ها اضافه گردید تا واکنش متوقف شد. سپس نمونه ها را به مدت 8 دقیقه در سانترافیوژ با دور $8000 rpm$ قرار گرفت و پس از اتمام این مرحله، 5 میلی لیتر از مایع رویی با 5 میلی لیتر آب مقطر مخلوط و 1 میلی لیتر محلول فریک کلراید $0/1$ درصد اضافه شد و سپس جذب در طول موج 700 نانومتر قرائت گردید [۱۱].

۷-۲- آنالیز آماری

در این تحقیق کلیه آزمایش ها در سه تکرار در طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و داده های به دست با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن در سطح 5 درصد انجام گرفت. لازم به ذکر است که آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تأثیر فرآیند تولید و روش دم کردن چای بر محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

شکل ۱ میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ چای را در طی مراحل مختلف فرآیند چای با استفاده از روش های دم کردن معمولی تحت شرایط دمایی 100 درجه سانتی گراد و زمان 20 دقیقه و روش ماکروویو با قدرت 600 وات و زمان 4 دقیقه با نسبت 1 به 10 چای به آب نشان می دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد تأثیر تیمارهای مختلف و مراحل فرآیند

فرآیند اکسیداسیون می شود [۱۷ و ۱۸]. لی و همکاران (۲۰۱۹) افزایش محتوای تنافلاوین را در طی فرآیند مالش دهی گزارش کردند [۱۲]. نتایج مطالعه ما بالاترین محتوای فنولی و فلاونوئیدی را در این مرحله نشان داد، چراکه در بسیاری از موارد فنول تام عمدهاً نمادی از فنول آزاد است (در خیلی از مواقع فنول باند شده قابل جداسازی نیست) این در حالی است که مالش دهی باعث کمک به شکسته شدن ترکیبات فنولی باند شده می گردد و همین امر منجر به افزایش کل فنول و به تعیین فلاونوئید خواهد شد [۱۹].

تخمیر در طول تولید برگ چای سیاه قدم مهمی است که بیشترین تغییر در ترکیب و محتوای فلاونوئید را نشان می دهد [۱۲]. در فرآیند تخمیر به طور عمده اکسیداسیون آنزیمی پلی فنولها توسط پلی اکسیداز روی می دهد. رنگ سبز اولیه برگها به دلیل اکسیداسیون آنها به قهوه ای روشن و پررنگ تبدیل می شود و این نشان دهنده تشکیل تنافلاوین های الیگومری و تئارویوجین های پلیمری است [۱۷ و ۱۸]. مهم ترین تغییرات در طی تخمیر در محتوای کاتچین ها رخ می دهد و منجر به از دست دادن میزان زیادی کاتچین می شود [۱۲ و ۱۸].

لی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در طی تخمیر چای محتوای فنولی و فلاونوئیدی کاهش می یابد که هم راستا با نتایج مطالعه ما بود چراکه تخمیر باعث تخریب ترکیب پلی فنول های چای با آنزیم های طبیعی در برگ های چای (پلی فنول اکسیداز و پراسیداز) می شود [۱۲]. کیم و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی در طی تخمیر کاهش می یابد [۲۰]. منزوکو و همکاران (۱۹۹۸) میزان ترکیبات فنولی چای را ۸۰/۱۶ میلی گرم بر لیتر چای گزارش کردند. آنها همچنین به بررسی اثر قهوه ای شدن آنزیمی در کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی پرداختند و گزارش کردند تأثیر اکسیداسیون آنزیمی کاتچین باعث کاهش قابل توجهی در خواص آنها می شود [۲۱]. آخرین مرحله در تولید چای، خشک کردن برگ های چای برای متوقف کردن تخمیر و رسیدن به رطوبت مطلوب برای سرکوب رشد میکروگانیسم است. پس از آن، چای طبقه بندی و در انتهای، بسته بندی می شود [۱۷ و ۲۱]. محققین بیان کردند در محصول نهایی پس از خشک شدن، میزان ترکیبات فنولی نسبت به فرآیند تخمیر دو باره افزایش یافت؛ و در مورد فلاونول و ترکیبات فنولی چای سیاه تفاوت معنی داری بین برگ تازه و محصول نهایی مشاهده کردند [۱۲ و ۱۸] که هم راستا با نتایج

گلیکوزیله، گلیکوزیل فلاون، پرو آنسو سیانیدین، اسیدهای فنولیک و مشتقه آنها هستند [۱۶ و ۱۷].

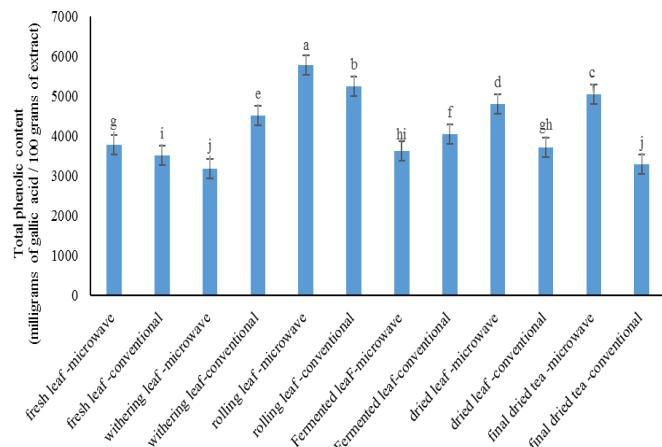


Fig 1 The amount of phenolic compounds in tea derived from conventional and microwave brewing methods (similar letters indicate no significant difference).

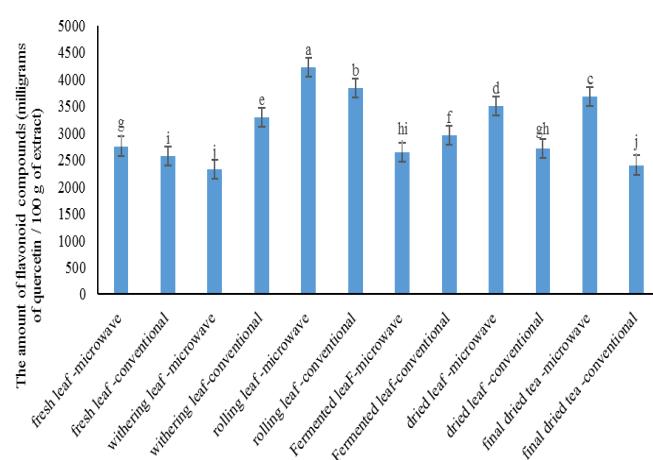


Fig 2 The amount of flavonoid compounds in tea derived from the conventional brewing method and microwave (similar letters indicate no significant difference).

مرحله پلاسیدن منجر به ایجاد عطر و اکسیداسیون جزئی به دلیل تخریب دیواره های سلولی ناشی از دست دادن رطوبت می شود [۱۷]. لی و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که در حین پلاسیدن محتوای فنولی و فلاونوئیدی تغییر کرده و اندکی نسبت به برگ سبز افزایش می یابد [۱۲] که هم راستا با نتایج دم کردن به روش معمول در مطالعه ما بود، اما در روش ماکروویو محتوای فنولی و فلاونوئیدی کمترین میزان را نشان دادند [۱۲]. در مرحله مالش دهی هدف از این فرآیند، خرد کردن برگ های چای به منظور آزاد شدن روغن های چای و فعال کردن دسترسی آنزیم ها به پلی فنول ها است که این امر برای فرآیند اکسیداسیون ضروری است و منجر به سرعت بخشیدن

کارآیی بالاتر روش ماکروویو در مقابل روش معمول نشان‌دهنده تجزیه اجزای سلولی و اثر ماکروویو بر آزاد شدن کارآمدتر پلی‌فنول‌ها از ماتریس گیاهی است [۲۵] و نیز کاهش تخریب حرارتی ترکیبات (ناشی از دوره گرمایش کوتاه‌تر روش ماکروویو نسبت به روش معمول) می‌گردد، لذا ماکروویو منجر به افزایش محتوای فنولی و فلاونوئیدی می‌شود [۲۶].

۲-۳-میزان توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی فنول‌های حاصل از عصاره‌های به دست آمده از روش‌های مختلف استخراج متداول و ماکروویو و در مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج آنالیز واریانس اثر غلظت فنول عصاره‌ها را بر مهار رادیکال‌های آزاد نشان می‌دهد که با افزایش غلظت در همه عصاره‌ها، به‌طور معنی‌داری میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد افزایش یافت اما در غلظت ppm ۲۵۰۰ در بعضی از تیمارها افزایش غلظت اثر پراکسیدانی داشت و بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ppm ۲۰۰۰ مربوط به فنول حاصل از عصاره مرحله مالش‌دهی چای تحت ماکروویو با درصد مهارکنندگی برابر با ۹۲/۹۱ بود ($p < 0.05$). پایین‌ترین درصد مهارکنندگی در تمامی غلظت‌ها به تیمار عصاره چای نهایی با روش دم کردن معمول در غلظت ppm ۵۰۰ با مهارکنندگی ۹/۷۱ درصد اختصاص یافت ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که فرآیند تهیه چای باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش معمول دم کردن می‌گردد، اما در روش ماکروویو به‌طور معنی‌داری محصول نهایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داد ($p < 0.05$).

ما بود. دل ریو و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای روی فرآوری چای سیاه، حدود ۳۰ درصد کاهش در کل فلاونول‌ها و ترکیبات فنولی را گزارش کردند [۲۲].

تسویاکی و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند استفاده از تکنیک ماکروویو باعث کاهش قابل توجهی در زمان استخراج ترکیبات فنولی و منجر به افزایش بازده استخراج ترکیبات فنولی و تنوع آنها در زمان کوتاهی می‌گردد که مشابه نتایج ما در برگ سیز، مرحله مالش‌دهی و در محصول نهایی چای بود [۸].

کارداگ و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند چای حاصل از روش ماکروویو مقادیر بالاتری از ترکیبات فنولی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی دارد و با توجه به زمان فرآیند کوتاه‌تر دم کردن چای سیاه با استفاده از انرژی ماکروویو، این فرآیند در ویژگی‌های کیفی قابل قبول چای مؤثر است و نتیجه گرفتند که فناوری ماکروویو می‌تواند به عنوان یک فرآیند جایگزین برای چای مورد استفاده قرار گیرد [۱۵].

پن و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارش کردند که روش ماکروویو در مقایسه با عصاره چای فراصوت و استخراج معمول با حرارت به ترتیب درصد بیشتری از پلی‌فنول‌ها و کافئین در عصاره‌ها را دارد. ماکروویو می‌تواند بالاترین قابلیت استخراج را داشته باشد و منجر به کاهش زمان استخراج گردد [۲۳]. اسپیننگو و فاوری (۲۰۰۹) نیز برای تهیه چای در خانه، نتایج ما را تأیید و بیان کردند که در مقایسه با آماده‌سازی سنتی، استفاده از ماکروویو می‌تواند میزان فنول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای را که باید بالا فاصله مصرف شود، افزایش دهد [۲۴].

Table 1 Percentage of inhibition of DPPH free radicals in tea extract derived from the methods of conventional and microwave brewing (similar letters reveal no significant difference.)

sample	500 ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm	2500 ppm
fresh leaf -microwave	11.84±0.58 ^{de}	28.70±1.29 ^{de}	38.13±1.68 ^{de}	55.03±2.43 ^{de}	54.13±2.39 ^{de}
fresh leaf -conventional	11.12±0.93 ^{de}	27.10±2.06 ^{de}	36.05±2.68 ^{de}	52.00±3.88 ^{de}	51.16±3.81 ^{de}
withering leaf -microwave	10.07±0.73 ^{de}	24.76±1.62 ^{de}	33.00±2.11 ^{de}	47.59±3.05 ^{de}	46.84±2.99 ^{de}
withering leaf-conventional	12.26±0.53 ^{cd}	29.65±1.18 ^{cd}	39.36±1.54 ^{cd}	56.81±2.22 ^{cd}	55.87±2.18 ^{cd}
rolling leaf -microwave	20.86±1.109 ^a	48.82±2.47 ^a	64.3±3.21 ^a	92.91±4.65 ^a	91.25±4.56 ^a
rolling leaf -conventional	20.77±2.077 ^a	48.62±4.63 ^a	64.04±6.02 ^a	92.55±8.72 ^a	90.90±8.55 ^a
Fermented leaf-microwave	11.06±0.108 ^{de}	26.96±0.24 ^{de}	35.86±0.31 ^{de}	51.74±0.45 ^{de}	50.90±0.44 ^{de}
Fermented leaf-conventional	14.18±0.19 ^{bc}	33.93±0.43 ^{bc}	44.93±0.56 ^{bc}	64.87±0.80 ^{bc}	63.77±0.79 ^{bc}
dried leaf -microwave	14.8±0.45 ^b	35.30±1.01 ^b	46.72±1.31 ^b	67.46±1.90 ^b	66.31±1.87 ^b
dried leaf -conventional	12.08±0.17 ^{cd}	29.25±0.39 ^{cd}	38.84±0.51 ^{cd}	56.05±0.73 ^{cd}	55.13±0.72 ^{cd}
final dried tea -microwave	19.01±2.97 ^a	44.70±6.62 ^a	58.94±8.61 ^a	85.16±12.48 ^a	83.65±12.23 ^a
final dried tea -conventional	9.71±0.396 ^e	23.95±0.88 ^e	31.96±1.15 ^e	46.08±1.66 ^e	45.36±1.63 ^e

عواملی که در میزان تغییرات مهار رادیکال آزاد نقش دارد، بر میزان ترکیبات و تغییرات فنول کل نیز اثرگذار می‌باشد [۲۹]. فرآیند تولید تغییرات زیادی در مشخصات ترکیبات فنولی و همچنین در ظرفیت آنتیاکسیدانی محصولات چای نهایی ایجاد می‌کند [۱۷]. در مورد محصول نهایی چای که تحت روش دم کردن ماکروویو بود با توجه به محتوای فنولی فعالیت آنتیاکسیدانی بسیار خوبی نشان داد. این امر بیان کننده آن است که اثر آنتیاکسیدانی نه تنها به طور عمده بستگی به تعداد و موقعیت گروه هیدروکسیل و هویت اسیدهای اصلی دارد؛ اما همچنین بسیاری از عوامل دیگر بر آنها مؤثر هستند. ظرفیت آنتیاکسیدانی کل نه تنها به محتوا و ترکیب فنول‌ها، بلکه به محتوای آنتیاکسیدان‌های دیگر مواد گیاهی بستگی دارد [۲۷]، همچنین تانن در قالب تمارویجین‌ها وجود دارد و خواص آنتیاکسیدانی قوی تانن به تعداد زیادی از گروه‌های هیدروکسیل فنولی و درجه بالایی از هیدروکسیلایسیون حلقه آروماتیک وابسته است. در مورد تانن گزارش شده که به ۱۵-۳۰ بار در مهار رادیکال پروکسیل از فنول ساده بیشتر و مؤثر تر عمل می‌کند و تانن‌های قابل هیدرولیز با داشتن گروه‌های galloyl اثرات آنتیاکسیدانی قوی‌تری نسبت به فلاونوئیدها به نمایش گذاشتند [۳۰] که نتایج نشان‌دهنده این است که عوامل متعددی می‌تواند بر خاصیت آنتیاکسیدانی عصاره چای مؤثر باشد.

اثر پراکسیدانی خود ترکیب عصاره نیز نشان می‌دهد وقتی غلظت از حدی بالاتر می‌رود (۲۵۰۰ ppm)، در محیط به خاطر اینکه رادیکال آزادی وجود ندارد که هیدروژن به محیط بدهد، با یکدیگر واکنش می‌دهند و منجر به دهنگی الکترون آزاد و اکسیژن فنولی در محیط و در کل نقش پراکسیدانی می‌شود [۳۱].

کارداگ و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره حاصل از روش دم کردن با ماکروویو در مهار رادیکال DPPH بیشتر از روش متدائل است [۱۵] و مقادیر IC_{50} برای فعالیت آنتیاکسیدانی نمونه‌های چای سیاه با مطالعات پیشین قابل مقایسه و پایین‌ترین IC_{50} مربوط به تیماری با بالاترین فعالیت آنتیاکسیدانی [۳۲] و مشابه با محتوای فنولی کل بود. پلی‌فنول‌هایی مانند تافلاؤین و تمارویجین و همچنین کاتچین‌ها، عمدتاً مسئول فعالیت‌های آنتیاکسیدانی چای هستند [۱۵]. نخلی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند فعالیت

شکل ۳ IC_{50} برای عصاره‌های استخراج شده از روش‌های متدائل و ماکروویو در مراحل مختلف فرآیند چای را نشان می‌دهد. IC_{50} نشان‌دهنده غلظتی است که عصاره قادر به مهار ۵۰٪ رادیکال آزاد DPPH است؛ که در این تحقیق، عصاره حاصل از تیمار مالش دهی تحت دم کشیدن ماکروویو با غلظت $1097/46$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بهترین تیمار برای مهار رادیکال آزاد DPPH و کمترین قدرت مهارکنندگی در غلظت $2462/16$ ppm مربوط به تیمار چای نهایی تحت دم کشیدن متدائل بود ($p < 0.5/0$).

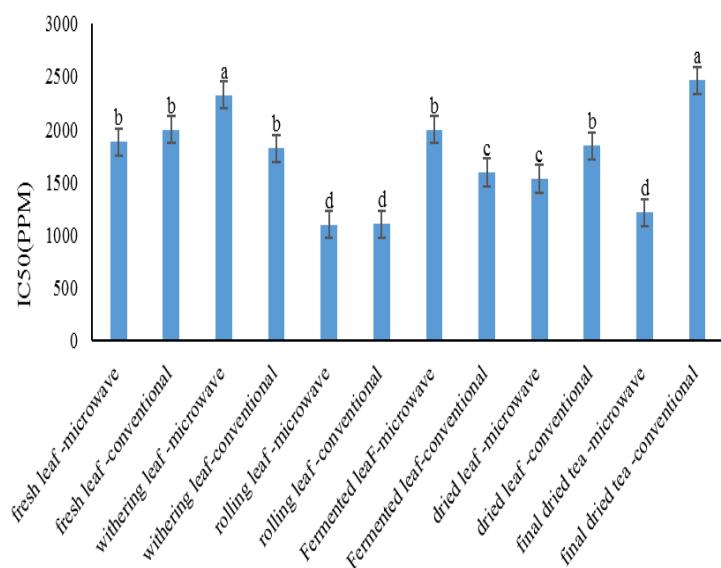


Fig 3 IC_{50} Tea extracts from conventional and microwave brewing in the DPPH free radical scavenging test (similar letters reveal a significant difference).

ترکیبات فنولیک متعلق به گروه بسیار مهم آنتیاکسیدان‌های گیاهی هستند. ترکیبات فنولی یک تا سه گروه هیدروکسیل را در حلقه آروماتیک و موقعیت‌های مختلف جایگزین می‌کنند. یک گروه اسید کربوکسیلیک همچنین ممکن است به عنوان جایگزین اصلی موجود باشد یا به حلقه آروماتیک دیگری متصل شود [۲۷]. سلیمان و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند با افزایش میزان ترکیبات فنولی قدرت آنتیاکسیدانی نیز افزایش می‌یابد [۲۸]. با توجه به ارتباط و همبستگی بین محتوای فنولی و فعالیت آنتیاکسیدانی در این تحقیق به خوبی مشخص شد که کاهش در خاصیت آنتیاکسیدانی عصاره‌ها عموماً با کاهش محتوای فنولی و فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره چای برقرار می‌باشد و بیانگر این مطلب است که شرایط و

واکنش بیانگر قدرت احیاکنندگی بالای نمونه‌ها است و نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌ها، قدرت احیاکنندگی آهن III عصاره‌ها و درنتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها افزایش یافت و بالاترین جذب در غلظت ۲۰۰۰ ppm مربوط به عصاره مرحله مالش‌دهی تحت ماکروویو بود ($p < 0.05$)؛ و پایین‌ترین در تمامی غلظت‌ها مربوط به تیمار عصاره چای نهایی با روش دم کردن متداول در غلظت ۵۰۰ ppm بدست آمد ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که فرآیند تهیه چای باعث کاهش قدرت احیاکنندگی در روش معمول دم کردن می‌گردد، اما در روش ماکروویو به طور معنی‌داری محصول نهایی قدرت احیاکنندگی بالایی را نشان داد ($p < 0.05$).

آنچه اکسیدانی عصاره‌های چای تحت ماکروویو در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، بسیار بالا است که به دلیل محتوای بالا فلاونول‌ها و epigallo catechin3-O-gallate می‌باشد [۲۶] و این نتایج مشابه با نتایج ما بود.

۳-۳- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون قدرت احیاکنندگی اتم آهن III

نتایج آنالیز واریانس در جدول ۲ نشان می‌دهد، که اثر غلظت بر قدرت احیاکنندگی آهن III عصاره‌های چای و درنتیجه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها معنی‌دار است؛ اما غلظت ۲۵۰۰ ppm نسبت به غلظت ۲۰۰۰ ppm، کاهش در قدرت احیاکنندگی را نشان داد. افزایش در جذب مخلوط

Table 2 The reducing power of tea extract from the method of conventional brewing and microwave (similar letters reveal a significant difference)

sample	500 ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm	2500 ppm
fresh leaf -microwave	0.79±0.04 ^{de}	1.59±0.07 ^{dc}	1.90±0.08 ^{dc}	2.50±0.11 ^{dc}	2.35±0.10 ^{dc}
fresh leaf -conventional	0.74±0.06 ^{de}	1.51±0.11 ^{de}	1.80±0.13 ^{de}	2.36±0.18 ^{de}	2.22±0.17 ^{de}
withering leaf -microwave	0.67±0.05 ^{de}	1.38±0.09 ^{de}	1.65±0.11 ^{de}	2.16±0.14 ^{de}	2.04±0.13 ^{de}
withering leaf-conventional	0.82±0.03 ^{cd}	1.65±0.07 ^{cd}	1.97±0.08 ^{cd}	2.58±0.10 ^{cd}	2.43±0.09 ^{cd}
rolling leaf -microwave	1.39±0.07 ^a	2.71±0.14 ^a	3.21±0.16 ^a	4.22±0.21 ^a	3.97±0.20 ^a
rolling leaf -conventional	1.38±0.14 ^a	2.70±0.26 ^a	3.20±0.30 ^a	4.21±0.40 ^a	3.95±0.37 ^a
Fermented leaf-microwave	0.74±0.00 ^{de}	1.50±0.01 ^{de}	1.79±0.02 ^{de}	2.35±0.02 ^{de}	2.21±0.02 ^{de}
Fermented leaf-conventional	0.95±0.01 ^{bc}	1.88±0.02 ^{bc}	2.25±0.03 ^{bc}	2.95±0.04 ^{bc}	2.77±0.03 ^{bc}
dried leaf -microwave	0.99±0.03 ^b	1.96±0.06 ^b	2.34±0.07 ^b	3.07±0.09 ^b	2.88±0.08 ^b
dried leaf -conventional	0.81±0.01 ^{cd}	1.62±0.02 ^{cd}	1.94±0.03 ^{cd}	2.55±0.03 ^{cd}	2.40±0.03 ^{cd}
final dried tea -microwave	1.27±0.20 ^a	2.48±0.37 ^a	2.95±0.43 ^a	3.87±0.56 ^a	3.64±0.53 ^a
final dried tea -conventional	0.65±0.03 ^e	1.33±0.05 ^e	1.60±0.06 ^e	2.10±0.07 ^e	1.97±0.07 ^e

غشای سلولی باشد که باعث ترشح آنزیمی و جداسازی ترکیبات فنولی باند شده می‌شود و درنتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر می‌رود [۳۶]. همچنین این نتایج داده‌های حاصل از آزمون DPPH را تا حدود زیادی تأیید می‌کند.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان مشاهده کرد در فرآیند تولید چای محتوای ترکیبات فنولی نسبت به برگ سبز اولیه پس از تخمیر کاهش می‌یابد؛ که علت این امر را می‌توان به کاهش کاتچین‌ها و فلاونول‌های چای سیاه نسبت داد. بنابراین، بررسی دقیق شرایط فرآیند برای ایجاد حداقل تلفات کاتچین‌ها و فلاونول‌ها و درنتیجه حداقل خاصیت آنتی‌اکسیدانی ضروری است. همچنین نتایج نشان داد که برای تهیه چای در خانه، می‌توان از ماکروویو به جای روش دم کردن

نتایج بیانگر آن بود که ترکیبات موجود در عصاره به خصوص در غلظت‌های بالا، دهنده خوب الکترون یا هیدروژن هستند و می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را پایان دهند. این نتایج با نتایج گوو و همکاران (۲۰۰۳) [۳۳] مطابقت داشت، آنها بیان کردند با افزایش غلظت عصاره‌ها (به دلیل افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره) قدرت احیاکنندگی بیشتر می‌شود. درنتیجه، عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن، واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال آزاد را شکسته و اکسایش چربی را به تأخیر بیندازد [۳۴]. قدرت احیاکنندگی بالاتر، نشان دهنده توانایی بیشتر در پایان دادن به واکنش‌های مخرب زنجیره‌ای رادیکالی است [۳۵]. افزایش مقدار قدرت احیاکنندگی مشاهده شده در نمونه چای در مرحله مالش‌دهی و نمونه نهایی چای تحت ماکروویو نسبت به چای حاصل نمونه نهایی تحت روش دم کردن متداول، می‌تواند نتیجه تخریب

- chemoprevention of melanoma. *International Journal of Cancer*, 114(4), pp.513-521.
- [6] Frei, B. and Higdon, J.V., 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *The Journal of nutrition*, 133(10), pp.3275S-3284S.
- [7] Wheeler, D.S. and Wheeler, W.J., 2004. The medicinal chemistry of tea. *Drug development research*, 61(2), pp.45-65.
- [8] Tsubaki, S., Sakamoto, M. and Azuma, J.I., 2010. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from tea residues under autohydrolytic conditions. *Food Chemistry*, 123(4), pp.1255-1258.
- [9] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. and Parenti, A., 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71(4), pp.553-562.
- [10] Farahmandfar, R., Asnaashari, M. and Bakhshandeh, T., 2019. Influence of ultrasound-assist and classical extractions on total phenolic, tannin, flavonoids, tocopherol and antioxidant characteristics of *Teucrium polium* aerial parts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), pp.1357-1363.
- [11] Farahmandfar, R., Tirgarian, B., Dehghan, B. and Nemati, A., 2020. Comparison of different drying methods on bitter orange (*Citrus aurantium* L.) peel waste: changes in physical (density and color) and essential oil (yield, composition, antioxidant and antibacterial) properties of powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), pp.862-875.
- [12] Lee, M.K., Kim, H.W., Lee, S.H., Kim, Y.J., Asamenew, G., Choi, J., Lee, J.W., Jung, H.A., Yoo, S.M. and Kim, J.B., 2019. Characterization of catechins, theaflavins, and flavonols by leaf processing step in green and black teas (*Camellia sinensis*) using UPLC-DAD-QToF/MS. *European Food Research and Technology*, 245(5), pp.997-1010.
- [13] Nagao, T., Hase, T. and Tokimitsu, I., 2007. A green tea extract high in catechins reduces body fat and cardiovascular risks in humans. *Obesity*, 15(6), pp.1473-1483.
- [14] Rezai-Zadeh, K., Arendash, G.W., Hou, H., Fernandez, F., Jensen, M., Runfeldt, M., Shytle, R.D. and Tan, J., 2008. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces β -amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice. *Brain research*, 1214, pp.177-187.
- [15] KArAdAğ, A., Avci, N., KAsApoğlu, K.N. and Özçelik, B., 2016. Effect of microwave technology on some quality parameters and

معمولی استفاده کرد، چراکه روش ماکروویو در مقایسه با استخراج معمول با حرارت به ترتیب درصد بیشتری از پلیفنول‌ها و فلاونوئیدها و در نتیجه فعالیت آنتیاکسیدانی بالایی در بیشتر مراحل بخصوص چای نهایی نشان داد؛ بنابراین روش ماکروویو می‌تواند بالاترین قابلیت استخراج را داشته و منجر به کاهش زمان استخراج گردد لذا از این تکنولوژی می‌توان در صنایع غذایی و دارویی بهجای روش‌های معمول بهره‌مند شد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به دلیل پشتیبانی مالی از این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با شماره طرح ۰۲-۱۳۹۹-۱۷ تشکر و قدردانی به عمل آورند.

۶- منابع

- [1] Zhang, L., Wang, D., Chen, W., Tan, X. and Wang, P., 2012. Impact of fermentation degree on the antioxidant activity of pu erh tea in vitro. *Journal of Food Biochemistry*, 36(3), pp.262-267.
- [2] Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A. and Ganguly, D.K., 2001. Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] root extract. *Phytotherapy research*, 15(2), pp.174-176.
- [3] Jin, D., Hakamata, H., Takahashi, K., Kotani, A. and Kusu, F., 2004. Determination of quercetin in human plasma after ingestion of commercial canned green tea by semi-micro HPLC with electrochemical detection. *Biomedical chromatography*, 18(9), pp.662-666.
- [4] Marongiu, B., Porcedda, S., Piras, A., Rosa, A., Deiana, M. and Dessì, M.A., 2004. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* subsp. *inodora*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(10), pp.789-792.
- [5] Nihal, M., Ahmad, N., Mukhtar, H. and Wood, G.S., 2005. Anti-proliferative and proapoptotic effects of (–) epigallocatechin-3-gallate on human melanoma: Possible implications for the

- green tea polyphenols. *Phytochemical Analysis*, 20(5), pp.408-415.
- [27] Yanishlieva, N.V., Marinova, E. and Pokorný, J., 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of lipid science and Technology*, 108(9), pp.776-793.
- [28] Soleimani, H., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdi Badi, H., 2011. An investigation on the antioxidant activities of *Hyssopus officinalis* L. and *Echinacea purpurea* L. plant extracts in oil model system. *Journal of Medicinal Plants*, 1(37), pp.61-72.
- [29] Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A., 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), pp.551-562.
- [30] Chan, E.W., Soh, E.Y., Tie, P.P. and Law, Y.P., 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy research*, 3(4), p.266.
- [31] Muñiz-Márquez, D.B., Martínez-Ávila, G.C., Wong-Paz, J.E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R. and Aguilar, C.N., 2013. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(5), pp.1149-1154.
- [32] Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P., 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), pp.27-36.
- [33] Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. and Jiang, Y., 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12), pp.1719-1726.
- [34] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J., 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), pp.344-352.
- [35] Wanasinghe, P.K.J.P.D. and Shahidi, F., 2005. Antioxidants: science, technology, and applications. *Bailey's industrial oil and fat products*.
- [36] Justine, V.T., Mustafa, M., Kankara, S.S. and Go, R., 2019. Effect of Drying Methods and Extraction Solvents on Phenolic Antioxidants and Antioxidant Activity of *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser (Loranthaceae) Leaf Extracts. *Sains Malaysiana*, 48(7), pp.1383-1393.
- sensory attributes of black tea. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), pp.397-405.
- [16] Wu, C., Xu, H., Héritier, J. and Andlauer, W., 2012. Determination of catechins and flavonol glycosides in Chinese tea varieties. *Food Chemistry*, 132(1), pp.144-149.
- [17] Kosińska, A. and Andlauer, W., 2014. Antioxidant capacity of tea: effect of processing and storage. In *Processing and impact on antioxidants in beverages* (pp. 109-120). Academic Press.
- [18] Ho, K.K., Haufe, T.C., Ferruzzi, M.G. and Neilson, A.P., 2018. Production and polyphenolic composition of tea. *Nutrition Today*, 53(6), pp.268-278.
- [19] Kotásková, E., Sumczynski, D., Mlček, J. and Valášek, P., 2016. Determination of free and bound phenolics using HPLC-DAD, antioxidant activity and in vitro digestibility of *Eragrostis tef*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 46, pp.15-21.
- [20] Kim, M.J., John, K.M., Choi, J.N., Lee, S., Kim, A.J., Kim, Y.M. and Lee, C.H., 2013. Changes in secondary metabolites of green tea during fermentation by *Aspergillus oryzae* and its effect on antioxidant potential. *Food research international*, 53(2), pp.670-677.
- [21] Manzocco, L., Anese, M. and Nicoli, M.C., 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *LWT-Food Science and Technology*, 31(7-8), pp.694-698.
- [22] Del Rio, D., Stewart, A.J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M.E., Brighenti, F. and Crozier, A., 2004. HPLC-MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(10), pp.2807-2815.
- [23] 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: Process Intensification*, 42(2), pp.129-133.
- [24] Spigno, G. and De Faveri, D.M., 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study. *Journal of Food Engineering*, 93(2), pp.210-217.
- [25] Gulati, A., Rawat, R., Singh, B. and Ravindranath, S.D., 2003. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), pp.4764-4768.
- [26] Nkhili, E., Tomao, V., El Hajji, H., El Boustani, E.S., Chemat, F. and Dangles, O., 2009. Microwave assisted water extraction of

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir



Scientific Research

Effect of withering, rolling, fermentation and drying steps of Gilan's black tea on its phenolic content and antioxidant properties

Farahmandfar, R. ^{1*}, Aziminezhad, H. ²

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran
2. PhD student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran

ARTICIE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 21 August 2020
Accepted 22 December 2020

Keywords:

Antioxidant,
Fermentation,
Tea,
Processing,
Gilan.

DOI: [10.52547/fsct.18.03.01](https://doi.org/10.52547/fsct.18.03.01)

*Corresponding Author E-Mail:
r.farahmandfar@sanru.ac.ir

Gilan's black tea is obtained via the fermentation of the fresh leaves of *Camellia sinensis* var. *assamica*. In this study, the effect of tea production process and brewing methods, microwave and conventional methods were studied on their phenolic and flavonoid content and antioxidant activity (DPPH radical scavenging assay, iron atom reducing power). The results showed that due to the fermentation process, the antioxidant properties and phenolic content of tea were changed and also the tea brewing method was effective on these properties and the highest phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity were determined in the rolling step on the microwave brewing method. While the lowest phenolic and flavonoid contents were observed in the withering step on microwave brewing method and the lowest antioxidant activity was related to the tea treatment under conventional brewing. Therefore, the microwave method with high extraction capability and reduced the processing time can be an alternative to the conventional methods in the food industry.