



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

رضا فرهمندفر^{۱*}، حدیث عظیمی نژاد^۲

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

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

۱- مقدمه

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه و آماده سازی نمونه

نمونه های مراحل مختلف چای شامل برگ سبز تازه، مراحل پلاسیدن، مالش دهی، تخمیر، خشک کردن و محصول نهایی بسته بندی 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 سانتی گراد 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.

۲-۳- اندازه گیری ترکیبات فنولیک عصاره

برای این منظور ابتدا یک میلی گرم از عصاره را در حلال خود تهیه و ۵/۰ میلی لیتر از هر نمونه را با ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد و ۵/۲ میلی لیتر 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 نمونه ها توسط اسپکتروفتومتر در ۷۶۰ nm خوانده و به صورت میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد [۹].

۲-۴- اندازه گیری محتوای ترکیبات فلاونوئیدی

عصاره

ابتدا ۵/۰ میلی لیتر از عصاره تهیه شده با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر)، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره، تنها از متانول خالص استفاده شد. سپس این مخلوط، ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. به منظور رسم منحنی استاندارد، از کوئرستین استفاده و نتایج برحسب میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد [۱۰].

۲-۵- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها

در فعالیت مهار رادیکال DPPH

برای این منظور ۰/۳ میلی لیتر از عصاره با غلظت های مختلف را با ۲/۷ میلی لیتر از محلول رادیکال DPPH مخلوط و کاهش رادیکال DPPH نمونه ها از طریق پایش جذب در ۵۱۷ nm

گیاه چای یک درختچه همیشه سبز کوچک از جنس *Camelia sinensis* و بومی کشور چین است که دارای برگ های براق سبز تیره و گل های سفید می باشد. *Camelia sinensis var. sinensis* و *Camelia sinensis var. assamica* دو گونه متداول برای تولید انواع چای می باشند. چای به طور روزانه در سراسر جهان مصرف می شود. عموماً از برگ های مختلف واریته *sinensis* برای تولید چای سبز و از واریته *assamica* برای تولید چای سیاه استفاده می شود [۱]. اجزای آنتی اکسیدانی به دلیل توانایی آنها در کاهش تخریب سلول ها و بافت های موجود در ارگانیزم از اهمیت بسیار بالایی در مواد غذایی برخوردار می باشند [۲ و ۳]. دمنوش های گیاهی (مخصوصاً چای) از منابع مهم آنتی اکسیدانی هستند [۴]. بسیاری از محققان خواص چای (به ویژه خواص مرتبط با سلامتی آنها) از جمله اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی را، مورد بررسی قرار داده اند [۵]. یکی از مهم ترین اثرات مفید چای، فعالیت آنتی اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال آزاد توسط اجزای پلی فنولی آن است [۶]. پلی فنول ها مهم ترین ترکیبات برگ های چای هستند [۵]. برگ های چای سبز تازه سرشار از فلاوانول های مونومر، معروف به کاتچین می باشند [۷]. در اثر تخمیر برگ چای تازه، برخی از ترکیب های موجود در آن اکسید و یا تغلیظ شده و به مولکول های پلی فنولیک بزرگ تر (دایمر یا پلیمر) مانند تئافلاوین (۶/۳ درصد) و تئاروبیجین (۱۲-۱۸٪) تبدیل می شوند 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 می شود، تغییراتی در طی فرآیند تولید در ساختار فنولی آن ایجاد می گردد. همچنین امروزه روش های دیگری برای دم کردن چای نسبت به روش رایج و متداول وجود دارد که می تواند بر ترکیبات چای حاصله مؤثر باشد. روش ماکروویو از جمله این روش ها است که برای استخراج پلی ساکاریدها، پلی فنول ها (کاتچین و تیافلاوین) و کافئین استفاده می شود. این فرآیند یک روش دوستدار محیط زیست است [۸]؛ بنابراین هدف از این مطالعه بررسی خواص آنتی اکسیدانی چای در طی مراحل مختلف تولید چای خشک و مقایسه خواص آنتی اکسیدانی چای با دو روش دم کردن معمول و ماکروویو (به عنوان روش جدیدی برای دم کردن چای) بود.

با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و اثر مهارکنندگی به‌صورت درصد بیان و از معادله زیر محاسبه گردید [۱۰]:

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

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

۲-۶- ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی به روش قدرت احیاکنندگی

۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (با pH ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول پتاسیم فری‌سیانید ۱ درصد مخلوط و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرو استیک‌اسید به نمونه‌ها اضافه گردید تا واکنش متوقف شد. سپس نمونه‌ها را به مدت ۸ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ rpm قرار گرفت و پس از اتمام این مرحله، ۵ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و ۱ میلی‌لیتر محلول فریک کلراید ۰/۱ درصد اضافه شد و سپس جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید [۱۱].

۲-۷- آنالیز آماری

در این تحقیق کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار در طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و داده‌های به دست با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت. لازم به ذکر است که آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار 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 استخراج‌شده از برگ چای را در طی مراحل مختلف فرآیند چای با استفاده از روش‌های دم کردن معمولی تحت شرایط دمایی ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه و روش ماکروویو با قدرت ۶۰۰ وات و زمان ۴ دقیقه با نسبت ۱ به ۱۰ چای به آب نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد تأثیر تیمارهای مختلف و مراحل فرآیند

چای بر مقدار ترکیبات فنولی نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$) به طوری که بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به تیمار مرحله مالش‌دهی 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 به‌طور معنی‌داری بالاتر از روش معمول دم کردن بدست آمد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد به‌طور معنی‌داری با روش معمول دم کردن، محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی چای نسبت به برگ سبز چای در طی فرآیند تهیه چای کاهش می‌یابد، اما با استفاده از روش ماکروویو محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی نسبت به برگ سبز اولیه افزایش می‌یابد ($p < 0.05$).

در مورد ترکیبات فلاونوئیدی نیز (شکل ۲) نتایج آنالیز واریانس نشان داد تأثیر تیمارهای مختلف و مراحل فرآیند چای نسبت به یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($p < 0.05$). بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به تیمار مرحله مالش‌دهی 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 به‌طور معنی‌داری 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 به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما با استفاده از روش ماکروویو محتوای ترکیبات فنولی محصول نهایی نسبت به برگ سبز اولیه افزایش یافت ($p < 0.05$).

پلی‌فنول‌های رژیم غذایی نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌ها مانند آلزایمر، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و چاقی دارند و فعالیت چشمگیری را به‌عنوان یک ماده ضد سرطان نشان می‌دهند؛ و چای یکی از این منابع ترکیبات فنولی است [۱۲]. ترکیب فیتوشیمیایی برگ‌های چای تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله مناطق زیر کشت، شرایط آب و هوایی، گونه‌ها، شرایط فرآوری و تکنیک‌های دم کردن قرار می‌گیرد [۱۲، ۱۳ و ۱۴].

چای سیاه از طریق پلاسیدن و سپس مالش‌دهی و در نهایت در طی مراحل تخمیر از برگ سبز چای حاصل می‌شود [۱۵]. برگ چای تازه به‌طور عمده شامل فلاوان-۳-اولز، فلاونول-O-

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

تخمیر در طول تولید برگ چای سیاه قدم مهمی است که بیشترین تغییر در ترکیب و محتوای فلاونوئید را نشان می‌دهد [۱۲]. در فرآیند تخمیر به‌طور عمده اکسیداسیون آنزیمی پلی‌فنول‌ها توسط پلی‌فنول‌اکسیداز روی می‌دهد. رنگ سبز اولیه برگ‌ها به دلیل اکسیداسیون آنها به قهوه‌ای روشن و پرنسب تبدیل می‌شود و این نشان‌دهنده تشکیل تئافلاوین‌های الیگومری و تئاروبیجین‌های پلیمری است [۱۷ و ۱۸]. مهم‌ترین تغییرات در طی تخمیر در محتوای کاتچین‌ها رخ می‌دهد و منجر به از دست دادن میزان زیادی کاتچین می‌شود [۱۲ و ۱۸].

لی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در طی تخمیر چای محتوای فنولی و فلاونوئیدی کاهش می‌یابد که هم‌راستا با نتایج مطالعه ما بود چراکه تخمیر باعث تخریب ترکیب پلی‌فنول‌های چای با آنزیم‌های طبیعی در برگ‌های چای (پلی‌فنول‌اکسیداز و پراکسیداز) می‌شود [۱۲]. کیم و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی در طی تخمیر کاهش می‌یابد [۲۰]. مزوکو و همکاران (۱۹۹۸) میزان ترکیبات فنولی چای را ۸۰۱/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر چای گزارش کردند. آنها همچنین به بررسی اثر قهوه‌ای شدن آنزیمی در کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی پرداختند و گزارش کردند تأثیر اکسیداسیون آنزیمی کاتچین باعث کاهش قابل‌توجهی در خواص آنها می‌شود [۲۱]. آخرین مرحله در تولید چای، خشک کردن برگ‌های چای برای متوقف کردن تخمیر و رسیدن به رطوبت مطلوب برای سرکوب رشد میکروارگانیسم است. پس از آن، چای طبقه‌بندی و در انتها، بسته‌بندی می‌شود [۱۷ و ۲۱]. محققین بیان کردند در محصول نهایی پس از خشک شدن، میزان ترکیبات فنولی نسبت به فرآیند تخمیر دوباره افزایش یافت؛ و در مورد فلاونول و ترکیبات فنولی چای سیاه تفاوت معنی‌داری بین برگ تازه و محصول نهایی مشاهده کردند [۱۲ و ۱۸] که هم‌راستا با نتایج

گلیکوزیده، گلیکوزیل فلاون، پروآنتوسیانیدین، اسیدهای فنولیک و مشتقات آنها هستند [۱۶ و ۱۷].

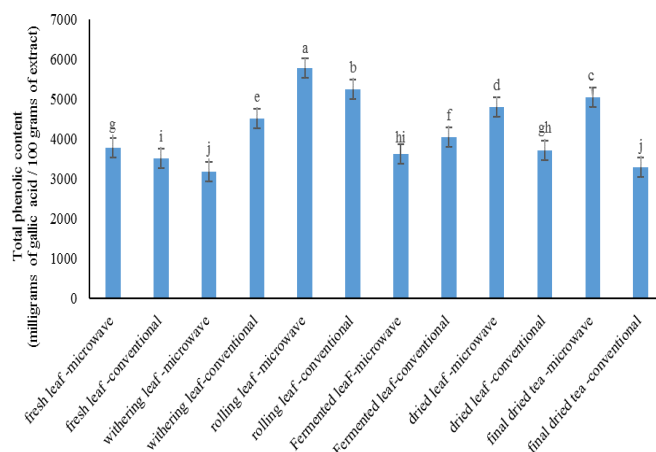


Fig 1 The amount of phenolic compounds in tea derived from conventional and microwave brewing methods (similar letters indicate no significant difference).

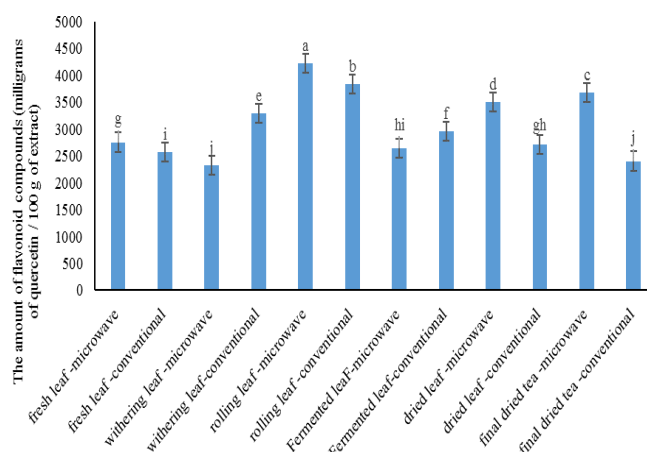


Fig 2 The amount of flavonoid compounds in tea derived from the conventional brewing method and microwave (similar letters indicate no significant difference).

مرحله پلاسیدن منجر به ایجاد عطر و اکسیداسیون جزئی به دلیل تخریب دیواره‌های سلولی ناشی از دست دادن رطوبت می‌شود [۱۷]. لی و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که در حین پلاسیدن محتوای فنولی و فلاونوئیدی تغییر کرده و اندکی نسبت به برگ سبز افزایش می‌یابد [۱۲] که هم‌راستا 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 مالش‌دهی هدف از این فرآیند، خرد کردن برگ‌های چای به‌منظور آزاد شدن روغن‌های چای و فعال کردن دسترسی آنزیم‌ها به پلی‌فنول‌ها است که این امر برای فرآیند اکسیداسیون ضروری است و منجر به سرعت بخشیدن

کارایی 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].

۳-۲- 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 ۲۵۰۰ ppm در بعضی از تیمارها افزایش غلظت اثر پراکسیدانی داشت و بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۲۰۰۰ ppm 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 ۵۰۰ ppm 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 سبز، 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 به‌عنوان 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]. اسپینگو و فآوری (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 بلافاصله 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 می باشد [۲۹].

فرآیند تولید تغییرات زیادی در مشخصات ترکیبات فنولی و همچنین در ظرفیت آنتی اکسیدانی محصولات چای نهایی ایجاد می کند [۱۷]. در مورد محصول نهایی چای که تحت روش دم کردن ماکروویو بود با توجه به محتوای فنولی فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار خوبی نشان داد. این امر بیان کننده آن است که اثر آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی کل نه تنها به محتوا و ترکیب فنول ها، بلکه به محتوای آنتی اکسیدان های دیگر مواد گیاهی بستگی دارد [۲۷]. همچنین تانن در قالب تئاروبیجین ها وجود دارد و خواص آنتی اکسیدانی قوی تانن به تعداد زیادی از گروه های هیدروکسیل فنولی و درجه بالایی از هیدروکسیلاسیون حلقه آروماتیک وابسته است. در مورد تانن گزارش شده که به ۱۵-۳۰ بار در مهار رادیکال پروکسیل از فنول ساده بیشتر و مؤثرتر عمل می کند و تانن های قابل هیدرولیز با داشتن گروه های galloyl اثرات آنتی اکسیدانی قوی تری نسبت به فلاونوئیدها به نمایش گذاشتند [۳۰] که نتایج نشان دهنده این است که عوامل متعددی می تواند بر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره چای مؤثر باشد.

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

کارداگ و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حاصل از روش دم کردن با ماکروویو در مهار رادیکال DPPH بیشتر از روش متداول است [۱۵] و مقادیر IC_{50} برای فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های چای سیاه با مطالعات پیشین قابل مقایسه و پایین ترین IC_{50} مربوط به تیماری با بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی [۳۲] و مشابه با محتوای فنولی کل بود. پلی فنول هایی مانند تئافلاوین و تئاروبیجین و همچنین کاتچین ها، عمدتاً مسئول فعالیت های آنتی اکسیدانی چای هستند [۱۵]. نخیلی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند فعالیت

شکل ۳ مقدار IC_{50} برای عصاره های استخراج شده از روش های متداول و ماکروویو در مراحل مختلف فرآیند چای را نشان می دهد. IC_{50} نشان دهنده 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 ۱۰۹۷/۴۶ میلی گرم بر میلی لیتر، بهترین تیمار برای مهار رادیکال آزاد DPPH و کمترین قدرت مهارکنندگی در غلظت ۲۴۶۲/۱۶ ppm مربوط به تیمار چای نهایی تحت دم کشیدن متداول بود ($p < 0.05$).

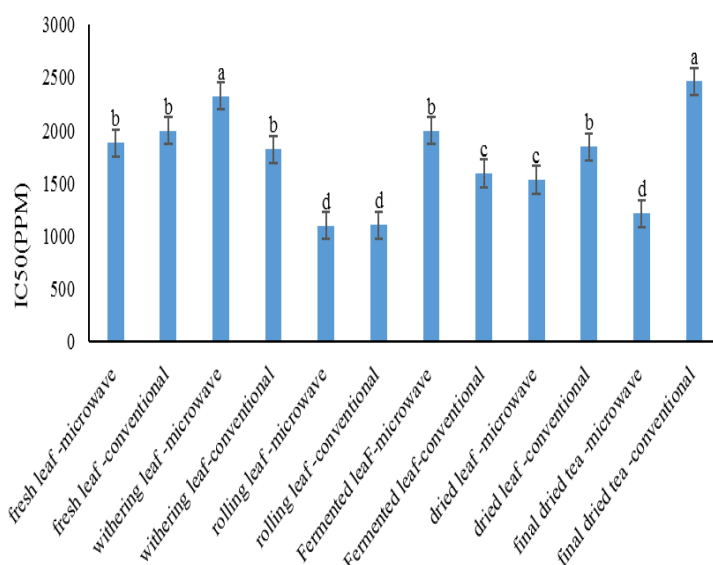


Fig 3 IC_{50} Tea extracts from conventional and microwave brewing in the DPPH free radical scavenging test (similar letters reveal a significant difference).

ترکیبات فنولیک متعلق به گروه بسیار مهم آنتی اکسیدان های گیاهی هستند. ترکیبات فنولی یک تا سه گروه هیدروکسیل را در حلقه آروماتیک و موقعیت های مختلف جایگزین می کنند. 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 آنتی اکسیدانی نیز افزایش می یابد [۲۸]. با توجه به ارتباط و همبستگی بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی در این تحقیق به خوبی مشخص شد که کاهش در خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها معمولاً با کاهش محتوای فنولی عصاره همراه است. ارتباط مستقیمی بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای برقرار می باشد 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 در نتیجه 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 به‌طور معنی‌داری محصول نهایی قدرت احیاکنندگی بالایی را نشان داد ($p < 0.05$).

آنتی‌اکسیدانی 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 در نتیجه، 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 ^{de}	1.90±0.08 ^{de}	2.50±0.11 ^{de}	2.35±0.10 ^{de}
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 ^c	1.33±0.05 ^c	1.60±0.06 ^c	2.10±0.07 ^c	1.97±0.07 ^c

غشای سلولی باشد که باعث ترشح آنزیمی و جداسازی ترکیبات فنولی باند شده می‌شود و در نتیجه 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 در نتیجه حداکثر خاصیت آنتی‌اکسیدانی ضروری است. همچنین نتایج نشان داد که برای تهیه چای در خانه، می‌توان از ماکروویو به‌جای روش دم کردن

نتایج بیانگر آن بود که ترکیبات موجود در عصاره به‌خصوص در غلظت‌های بالا، دهنده خوب الکترون یا هیدروژن هستند و می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌های رادیکالی را پایان دهند. این نتایج با نتایج گو 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. در نتیجه، 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، نشان‌دهنده 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] Rezaei-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 پلی فنول‌ها و فلاونوئیدها و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی در بیشتر مراحل بخصوص جای 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

نویسندگان 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 ۱۷-۱۳۹۹-۰۲ 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 Dessi, 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] Muñoz-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] Wanasundara, 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



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

ARTICLE 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 *Corresponding Author E-Mail: r.farahmandfar@sanru.ac.ir	Gilan's black tea is obtained via the fermentation of the fresh leaves of <i>Camelia sinensis</i> var. <i>assamica</i>. 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.