

ارزیابی تاثیر دما و زمان دم آوری بر میزان کاتچین کل، اپی گالو کاتشین گالات و کافئین انواع مختلف چای سفید

فربیا هرمزی^{۱*}، امیر حسین الهامی راد^۲، اکرم شریفی^۳

^۱سازمان ملی استاندارد، اداره کل استاندارد استان سیستان و بلوچستان، اداره امور آزمایشگاهها، زاهدان، ایران
^۲گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران
^۳گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱

چکیده

چای سفید، حداقل فرآوری شده، از غنچه و ۱ تا ۲ برگ خیلی جوان بعد از غنچه گیاه چای، که تحت عمل اکسایش قرار نگرفته تولید می شود و منسوب به بالاترین محتوای ترکیبات فنلی است. کاتچین های چای، آنتی اکسیدان های قوی، ترکیبات فعال زیستی و دارای فواید سلامت بخش هستند. کافئین اثر سینرژیک بر اثرات مفید کاتچین ها دارد. در این پژوهش اثر دما و زمان دم آوری بر روی میزان کل کاتچین ها و کافئین چای سفید به روش HPLC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد بالاترین میزان غلظت کافئین، کل کاتچین ها و بویژه بالاترین غلظت اپی گالو کاتچین گالات (EGCG) در نمونه های دم آوری شده در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد در زمان ۵۰ دقیقه نسبت به سایر زمان ها و دماهای استخراج این ترکیبات در این پژوهش بود. اثر نوع چای سفید بر میزان استخراج کل کاتچین ها و کافئین در سطح یک درصد معنی دار و چای سفید سری لانکا نسبت به سایر انواع چای آزمون شده در این تحقیق دارای بالاترین مقدار استخراج بود.

واژه های کلیدی: چای سفید، دمای دم آوری، زمان دم آوری، کاتچین، کافئین، HPLC.

۱- مقدمه

چای سفید مانند سایر انواع چای از برگ سبز گیاه چای با نام علمی *Camellia sinensis*(L)O.Kuntze، متعلق به خانواده Theaceae تهیه می شود (۳۸ و ۵۴). برگ سبز چای همه آنزیم ها واسطه های متابولیکی و عناصر ساختاری که معمولا از طریق رشد و فتوسنتز در گیاه تجمع می یابند را در بردارد. برجسته ترین آنها مواد پلی فنلی می باشند که مجموعا در حدود ۳۰ درصد از وزن چای خشک را تشکیل می دهند. برگ های جوان چای (جوانه و دو برگ بالایی بوته) که چای سفید از آنها تولید می گردد نسبت به برگهای مسن تر دارای محتوای پلی فنلی بیشتری می باشند، در حدود ۹۰ درصد از ترکیبات فنلی موجود در چای را فلاونوئیدها تشکیل می دهند که شامل کاتشین های برگ های سبز چای و محصولات اکسیداسیون آنها می باشند. کل کاتچین هایی که معمولا به صورت طبیعی در برگ های چای موجود می باشند عبارتند از: اپی گالو کاتچین گالات^۱ (EGCG)، اپی گالو کاتچین^۲ (EGC)، کاتچین گالات^۳ (CG)، اپی کاتچین گالات^۴ (ECG)، اپی کاتچین^۵ (EC) و کاتچین^۶، که خاصیت آنتی اکسیدانی و سلامت بخش اپی گالو کاتشین گالات نسبت به سایر انواع کاتشین بیشتر است (۲ و ۵۷).

دلایل محبوبیت چای در سراسر جهان عطر منحصر به فرد و طعم مشخص آن است اما اخیرا، محبوبیت چای با توجه به مزایای بالقوه سلامت بخش آن در برابر بیماری های قلبی، عروقی، سرطان و همچنین اثرهای دارویی مانند اثر ضد فشار خون، افزایش یافته است (۴، ۷، ۶، ۱۷، ۴۰، ۵۶، ۵۷، ۵۸، ۶۰ و ۶۱).

اگرچه مزایای بهداشتی مصرف چای از آغاز تاریخ کشف و تولید آن بیشتر به چای سبز نسبت داده شده است، اما تحقیقات علمی روی نوشیدنی و ترکیبات چای سفید جدید و تنها قدمت آن کمتر از سه دهه است (۷). با توجه به اینکه اکثر بررسیها و تحقیقات اثرات ضد سرطان و اثرات دارویی ضد بیماری چای روی فواید بالقوه چای سبز، انجام شده است اما شناخت چای سفید و مزایای بالای آن نسبت به چای سبز به طور فزاینده ای در سال های اخیر باعث توجه همه محققین و پژوهشگران به این

چای نادر که از همان گیاه چای با حداقل پردازش نسبت به سایر انواع چای تولید می گردد، شده است (۲۳، ۲۹، ۳۱، ۴۷، ۴۸، ۵۰ و ۵۲). چای سفید حاوی چندین ترکیب فعال زیستی است که در مطالعات متعدد به یک طیف گسترده ای از خواص فیزیولوژیکی آن، از جمله محافظ قلب (۶، ۲۲، ۳۰، ۳۴ و ۵۵)، دارای اثر ضد افسردگی (۱۷ و ۲۴)، اثر ضد استرس (۱۶ و ۱۷)، آنتی اکسیدان طبیعی (۹، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۳۵)، اثر ضد فشار خون (۳۵ و ۳۶) ضد بیماری های عفونی و ضد میکروبی (۲۰ و ۳۷)، ضد سرطان و انتشار سرطان (۸، ۱۲، ۱۳، ۱۹، ۲۱، ۲۶، ۳۴، ۴۱ و ۵۳)، کاهش دهنده چربی خون^۷ (۶، ۲۷، ۳۵ و ۴۱)، کاهش دهنده کلسترول خون^۸ (۴۲)، ضد دیابت (۵ و ۴۲)، آنتی همولیتیک (۲۳) و همچنین بهبود پاسخ های سیستم ایمنی (۱۶، ۱۷، ۳۹ و ۴۳) و درمان سایر بیماری ها اشاره شده است.

به رغم داده های متعدد در مورد ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی و اثرات چای سفید بر بهبود سلامت انسان، و با وجود اثرات سودمندی که خواص شیمیایی، پلی فنولها و اثرات آنتی اکسیدانی آن بر سلامتی از طریق بسیاری از این مکانیزم های فیزیولوژیکی، دارد (۱۴، ۱۸ و ۴۲) اما به دلیل اینکه اطلاعات کمی در مورد آن، وجود دارد و هنوز مورد بحث است (۱۱) در سال های اخیر مقدار زیادی از توجه را دریافت کرده است و پژوهش ها و گرد آوردن اطلاعات علمی اخیر در مورد خواص و اثرات فیزیولوژیکی آن در حال انجام است (۳، ۷ و ۵۹).

اندرسون^۹ (۲۰۱۰) در تحقیقی مقایسه میزان غلظت پلی فنول، کاتشین ها و متیل زانتان^{۱۰} (کافئین و تیوفیلین) در چای سفید کیسه ای لیپتون با طعم زغال اخته و انار را مورد بررسی قرار داد و به طور خاص مقادیر کمی غلظت پلی فنول ها، کاتچین ها و غلظت کافئین در دم آوری در درجه حرارت ها و زمان های مختلف را تعیین کرد. نتایج نشان داد که با افزایش درجه حرارت و طولانی شدن زمان دم آوری، میزان غلظت پلی فنول ها و کاتشین ها بجز در بعضی موارد افزایش می یابد و مقدار و غلظت کافئین، بدلیل پایداری مولکولی بیشتر از کاتچین ها با افزایش درجه حرارت و طولانی شدن زمان دم آوری افزایش می یابد و

¹ Epigallo catechin gallate² Epigallo catechin³ Catechin gallat⁴ Epicatechin gallate⁵ Epicatechin⁶ Catechins⁷ Hypolipidemic⁸ Hypocholesterolemic⁹ Anderson¹⁰ Methylxanthine

فوق و کاهش هزینه و صرفه جویی در زمان سه نمونه (چای سفید تولید کشور چین=A، چای سفید تولید کشور تایوان=E) و چای سفید تولید کشور سری لانکا=G) برای سه دمای دم آوری ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد، در سه زمان ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه انتخاب و تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. تمام مواد شیمیایی مورد کاربرد در این پژوهش از شرکت های معتبر سیگما آلد ریچ و مرک آلمان با خلوص بالا تهیه شد.

برای بدست آوردن یک نمونه یکنواخت، چای خشک طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۲۷۲ (۱) چای های سفید خشک را به خوبی توسط آسیاب برقی ناسیونال (ساخت کشور ژاپن) سائیده و در ظرف درپوش دار و غیر قابل نفوذ به نور نگه داری شد سپس کلیه آزمایشها طبق استانداردهای ملی ایران در زمینه چای روی آن انجام شد.

۲-۱ روش استخراج عصاره چای

برای استخراج عصاره چای سفید از روش نوشته شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۸۹۸۶ با عنوان "چای سبز و سیاه- اندازه گیری مواد اختصاصی آن- قسمت دوم: تعیین مقدار کل کاتچین ها در چای سبز روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا" ۸۹۸۶ به شرح زیر انجام شد (۲).

ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه های چای را با ترازوی با نام تجاری AND ساخت کشور ژاپن با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین نموده و به ظروف شیشه ای درب دار حاوی حلال ۷۰ درصد متانولی (۷۰ متانول/ آب مقطر ۳۰ از شرکت مرک آلمان) طبق استاندارد اضافه شدند. ظروف حاوی نمونه ها در بن ماری ترموستات دار در ۳ دمای مختلف (۸۰-۷۰-۶۰) و ۳ زمان متفاوت (۱۰-۳۰-۵۰ دقیقه) دم آوری شدند. سعی شد در تمام مدت دم آوری با تکان دادن ظروف موجبات یکنواختی و استخراج بهتر عصاره از نمونه ها فراهم شود. نمونه ها پس از دم آوری تا رسیدن به دمای اتاق خنک شدند. سپس توسط سانتریفوژ دور بالا سیگما ساخت کشور آلمان سانتریفوژ شدند و عصاره چای ها درون مزور صاف و از تفاله جدا شدند و با حلال ۷۰ درصد متانولی طبق استاندارد ۲-۸۹۸۶ به حجم رسانده شدند.

بالاترین غلظت ترکیبات فوق در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد، در زمان ۲۴ ساعت بود (۷).

هیلال^۱ و همکاران (۲۰۰۷)، میزان ترکیبات اختصاصی چای سفید از جمله پلی فنول ها، کاتشینها و اسید گالیک را اندازه گیری و سپس با چای سبز و سیاه مقایسه کردند و نتایج نشان داد که میانگین کل پلی فنول ها، کل کاتچین ها و کافئین چای سفید بیشتر از چای سبز و میانگین کل پلی فنول ها، کل کاتچین ها در چای سبز از چای سیاه بیشتر می باشد (۳۳).

دیاس^۲ و همکاران (۲۰۱۳) تحقیقی در زمینه خواص آنتی اکسیدانی و اثرات سودمند چای سفید انجام دادند و نتایج این تحقیقات در زمینه اثرات سلامت بخش چای سفید در درمان بیماری ها را به علت وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلی و کاتشین ها که عمده ترین مقدار آن اپی گالوکاتشین گالات که به علت فرآیند کم پردازش این چای است بیان نمودند (۲۵).

در حال حاضر توجه زیادی به چای سفید می شود که ممکن است به دلیل فرآوری کم و کوتاه آن، غلظت آنتی اکسیدان و کاتچین های بیشتری نسبت به چای سیاه یا سبز داشته باشد (۴۵، ۴۸، ۴۹ و ۵۱) در این پژوهش ارزیابی تاثیر دما و زمان دم آوری بر میزان کاتچین کل، اپی گالوکاتشین گالات و کافئین انواع مختلف چای سفید انجام شد.

۲- مواد و روش ها

در این تحقیق، هفت نمونه چای سفید که شش نمونه آن تولیدی کشورهای مختلف از بازار زاهدان، چابهار و هم چنین یک نمونه از تولیدی شرکت چای رفاه لاهیجان تهیه گردید. چای های فوق ابتدا از لحاظ ویژگی های کمی، کیفی، فیزیکوشیمیایی و میکروبی طبق استانداردهای ملی ایران در زمینه چای آزمون شد و نتایج به دست آمده به دلیل عدم وجود استاندارد چای سفید در داخل و خارج از کشور، با استاندارد ملی ایران برای چای سبز به شماره ۱۰۷۶۸ (استاندارد بین المللی ایزو ۲۰۱۱-۱۱۲۳۷) بررسی و مقایسه شد (۳).

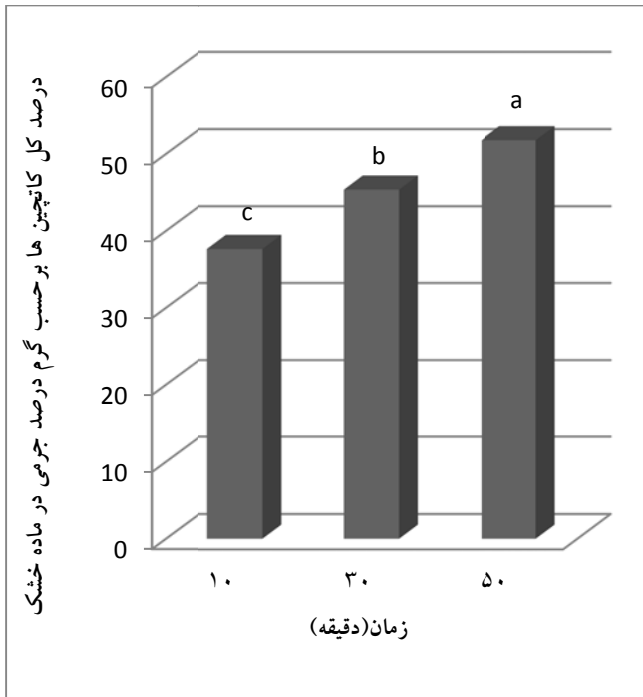
با توجه به نتایج آزمون، نمونه های مطابق با استاندارد و دارای بهترین شرایط، انتخاب و جهت تعیین مقدار کاتچین ها و کافئین طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۸۹۸۶ (۲) برای آزمون با روش HPLC در نظر گرفته شد که در نهایت جهت انجام پروژه

¹ Hilal

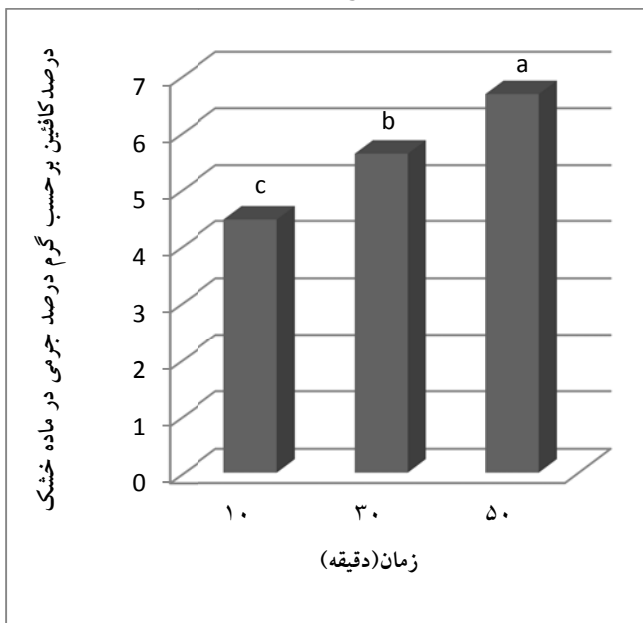
² Dias

زمان ۳۰ دقیقه نسبت به ۱۰ دقیقه دارای راندمان استخراج بیشتر میزان کل کاتچین ها بود.

اثر زمان بر میزان استخراج کافئین از عصاره چای سفید نیز کاملاً معنی دار ($p \leq 0/01$) بود استخراج در زمان ۵۰ دقیقه دارای بالاترین مقدار کافئین نسبت به زمان های ۳۰ و ۱۰ دقیقه بود و زمان ۱۰ دقیقه دارای کمترین مقدار کافئین در هر سه زمان در نمونه های چای سفید بود (شکل ۲)



شکل ۱- اثر زمان بر مقدار کل کاتچین های استخراج شده از عصاره انواع چای سفید



شکل ۲- اثر زمان بر مقدار کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

۲- اندازه گیری مقدار کل کاتچین های موجود در چای

دم آوری شده به روش HPLC

اندازه گیری مقدار کل کاتچین ها در عصاره چای آماده شده فوق برای انجام آزمون طبق روش شرح داده شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۸۹۸۶ با دستگاه HPLC (کنوار^۱ ساخت آلمان) و با استفاده از حلال های لازم با خلوص بالا و گرید HPLC تهیه شده از شرکت مرک آلمان، آماده سازی و همزمان با محلول های استاندارد کافئین (سیگما آلدریچ) و کاتچین (سیگما آلدریچ) در طول موج ۲۷۸ نانومتر با ستون اختصاصی phenomex luna 5Mm phenyl- Hexyle^{aa} آزمون و تعیین مقدار آنها طبق استاندارد ملی مربوط با سه تکرار انجام شد.

۲-۳ آنالیز آماری

این بررسی به منظور تعیین اثر دما و زمان دم آوری و همچنین اثر متقابل آنها بر میزان کاتچین ها، کافئین چای سفید در قالب طرح فاکتوریل در سه تکرار با سه فاکتور که فاکتور اول درجه حرارت استخراج در سه سطح ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتی گراد و فاکتور دوم زمان استخراج در سه سطح ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه و فاکتور سوم نوع چای سفید که سه نوع چای سفید بود انجام شد. آنالیز داده ها توسط نرم افزار SAS و میانگین داده ها با استفاده از روش دانکن و توکی انجام گرفت و نمودارها به وسیله ی نرم افزار Excel رسم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ اثر زمان بر مقدار کل کاتچین ها و کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

طبق شکل ۱ بررسی اثر زمان بر مقدار کل کاتچین های استخراج شده از عصاره انواع چای سفید در این پژوهش و شکل ۲ بررسی اثر زمان بر مقدار کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید، نتایج نشان داد، اثر زمان بر میزان استخراج کافئین و کل کاتچین های عصاره چای سفید در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود و افزایش زمان بر فرآیند استخراج کافئین و کل کاتچین های چای سفید نقش تعیین کننده ای داشت.

در شکل ۱، زمان استخراج ۵۰ دقیقه نشان دهنده بالاترین مقدار استخراج کل کاتچینها نسبت به زمان های ۱۰ و ۳۰ دقیقه بود و

^۱ KNAUER

۶۰ درجه سانتی گراد نیز ممکن است حرارت و راندمان کافی برای استخراج کامل کاتچین از چای سفید را نداشته باشد.

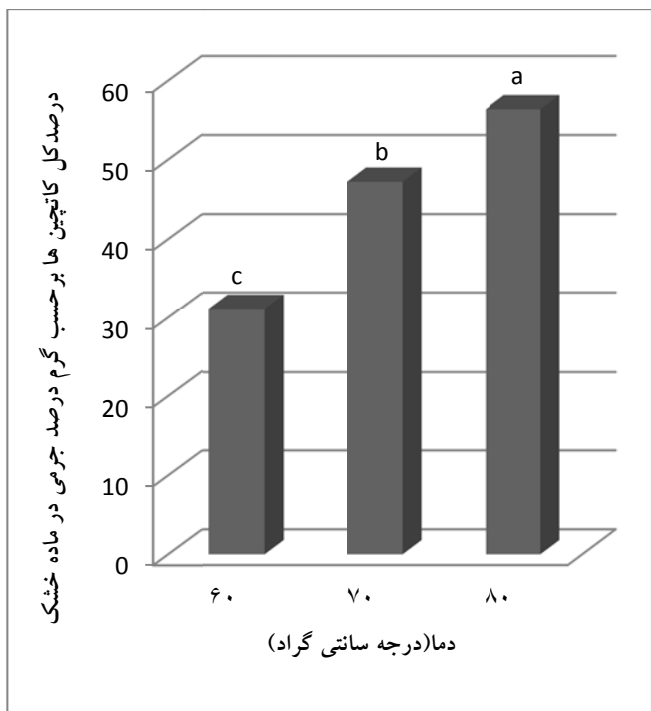
۲-۳ اثر دما بر مقدار کل کاتچین ها و کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

طبق شکل ۳ بررسی اثر دما بر مقدار کل کاتچین های استخراج شده از عصاره انواع چای سفید در این پژوهش، نتایج نشان داد که اثر دما بر میزان استخراج کل کاتچین ها از عصاره چای سفید در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود استخراج در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد دارای بالاترین مقدار کل کاتشینها و حاوی بیشترین میزان ۷۲/۲۳۰ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود و دمای ۶۰ درجه دارای کمترین مقدار کل کاتچین ها برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود.

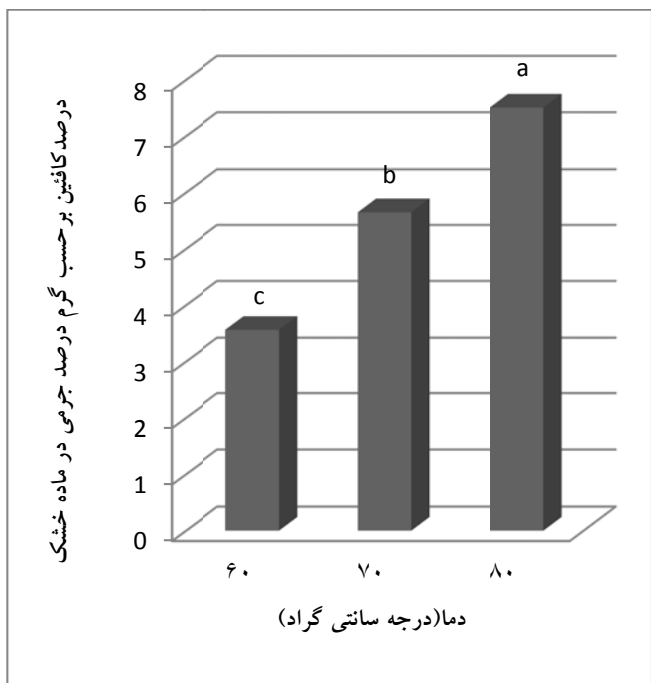
در بررسی اثر دما بر میزان استخراج کافئین از عصاره انواع چای سفید طبق شکل ۴ در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار ($p \leq 0.01$) بود استخراج در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد دارای بالاترین مقدار کافئین ۹/۳۴۵ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود و دمای ۶۰ درجه سانتی گراد دارای کمترین مقدار کافئین ۲/۵۹۴ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود.

به نظر می رسد تفاوت در وزن مولکولی کاتچین ها عامل اصلی در وابستگی آنها به زمان دم آوری باشد به نحوی که در ابتدای دم آوری کاتشین های با وزن مولکولی کم وارد فاز محلول می شوند و با گذشت زمان بیشتر کاتچین های با وزن مولکولی بیشتر استخراج می شوند. بازینت و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتایج مشابه ای را گزارش کردند (۱۰).

در شکل ۳ با بررسی اثر دما بر مقدار کل کاتچین های استخراج شده از عصاره چای سفید، مشاهده شد که اثر دما بر میزان استخراج کل کاتشین ها از عصاره چای سفید در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد دارای بالاترین مقدار کل کاتچینها بود اما کاتچین که کوچکترین مولکول این گروه است اما طبق شکل ۵ با بررسی اثر دما بر مقدار کاتچین استخراج شده از عصاره چای سفید، نتایج نشان داد که در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد، شاهد کاهش میزان کاتچین با مقدار عددی ۳/۹۸۰ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک نسبت به دمای ۷۰ درجه سانتی گراد با مقدار عددی ۵/۶۷۷ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بودیم البته دمای ۶۰ درجه سانتی گراد دارای کمترین مقدار استخراج کاتچین با مقدار عددی ۰/۴۸۲ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود (شکل ۵). که می توان طبق نتایج حاضر، مناسب ترین دما برای استخراج کاتچین را ۷۰ درجه سانتی گراد در نظر گرفت و دمای



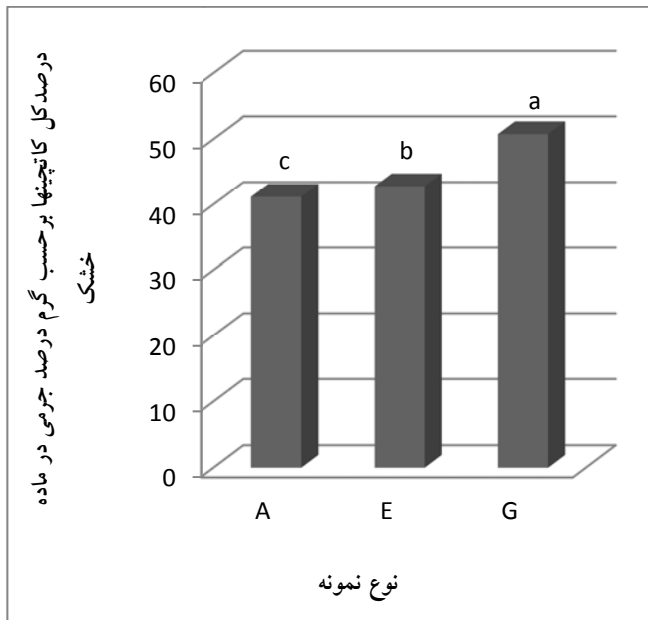
شکل ۳- اثر دما بر مقدار کل کاتچین های استخراج شده از عصاره انواع چای سفید



شکل ۴- اثر دما بر مقدار کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

کمترین مقدار کاتچین متعلق به چای سفید تولید کشور تایوان با مقدار عددی ۲/۶۸۵ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک بود . اثر نوع چای سفید بر میزان استخراج کافئین از عصاره چای نیز دارای نتایج کاملاً معنی دار ($p \leq 0.01$) بود . در طول فرآیند استخراج در سه دمای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتی گراد در کلیه زمان ها، میزان استخراج کافئین دارای ارتباط مستقیم با افزایش دما و روند افزایشی مانند سایر تحقیقات انجام شده روی چای بود که این امر ممکن است به دلیل ساختار مولکولی پایدار متیل زانتان کافئین باشد که باعث پایداری خوب آن شده است در ضمن کافئین دارای اثر سینرژیست بر اثرات مفید کاتچین ها برای کاهش وزن و اثرات سلامت بخشی آنها است (۷ و ۲۸).

طبق شکل ۸ با بررسی اثر نوع نمونه بر مقدار کافئین استخراج شده از عصاره چای سفید، نتایج نشان داد که انواع چای سفید در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد دارای بالاترین مقدار استخراج کافئین نسبت به سایر دماهای ۷۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد بودند و در زمان ۵۰ دقیقه نسبت به سایر زمان های دم آوری ۳۰ و ۱۰ دقیقه مقدار کافئین بالاتری استخراج شد. همچنین در بین سه نمونه، چای سفید تولید کشور سریلانکا دارای بالاترین میزان استخراج (۹/۳۴۵ گرم درصد گرم ماده خشک) و چای سفید تولید کشور چین (۲/۵۹۴ گرم درصد گرم ماده خشک) دارای کمترین میزان استخراج کافئین بود.

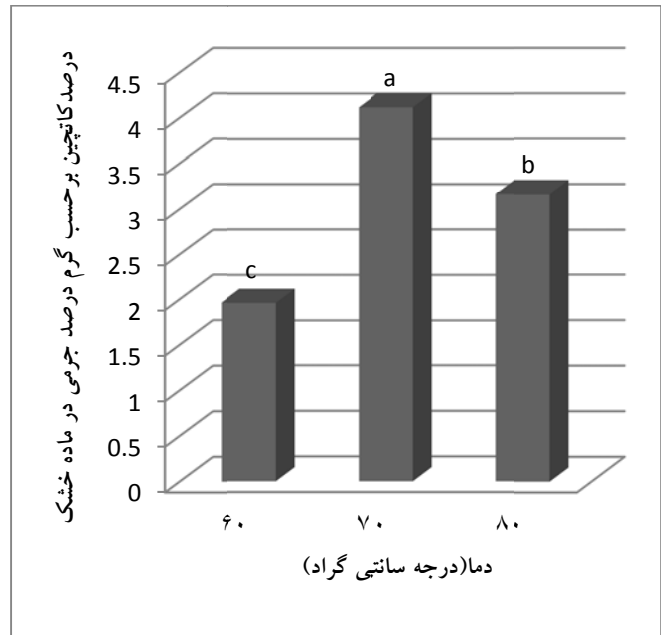


شکل ۶- اثر نوع نمونه بر مقدار توتال کاتچین های استخراج

شده از عصاره انواع چای سفید

چای سفید تولید کشور چین = A، چای سفید تولید کشور تایوان = E و چای

سفید تولید کشور سری لانکا = G



شکل ۵- اثر دما بر مقدار کاتچین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

۳-۳ مقایسه مقدار کاتچین کل و کافئین در عصاره(دم کرده) نمونه های مختلف چای سفید

نتایج بررسی اثر نوع نمونه بر مقدار توتال کاتچین های استخراج شده از عصاره انواع چای سفید در این تحقیق طبق شکل ۶ نیز در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود. استخراج نوع نمونه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد نسبت به سایر دماهای ۷۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد دارای بالاترین مقدار کل کاتچینها و هم چنین زمان ۵۰ دقیقه نسبت به سایر زمان های دم آوری ۳۰ و ۱۰ دقیقه دارای بالاترین مقدار استخراج کل کاتچینها از عصاره چای سفید بود که در سه نمونه چای سفید انتخاب شده در این تحقیق، بیشترین مقدار کل کاتچینها مربوط به چای سفید تولید کشور سریلانکا (۷۲/۲۳۰ گرم درصد گرم ماده خشک) و کمترین مقدار کل کاتچینها مربوط به چای سفید تولید کشور چین (۵۴/۲۹۳) گرم درصد گرم ماده خشک) بود .

نتایج همچنین نتایج شکل ۷ بررسی اثر نوع نمونه بر مقدار کاتچین استخراج شده از عصاره چای سفید نشان داد، میزان استخراج کاتچین از عصاره چای سفید که دارای مولکول کوچکتری نسبت به سایر کاتچین ها در این گروه می باشد (۲۱ و ۴۴) نیز در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود. در این تحقیق، بیشترین مقدار کاتچین متعلق به چای سفید تولید کشور سریلانکا با مقدار عددی ۳/۶۱۸ برحسب گرم درصد گرم ماده خشک و

۳-۴ اثر متقابل زمان و دما بر مقدار کل کاتچین ها و

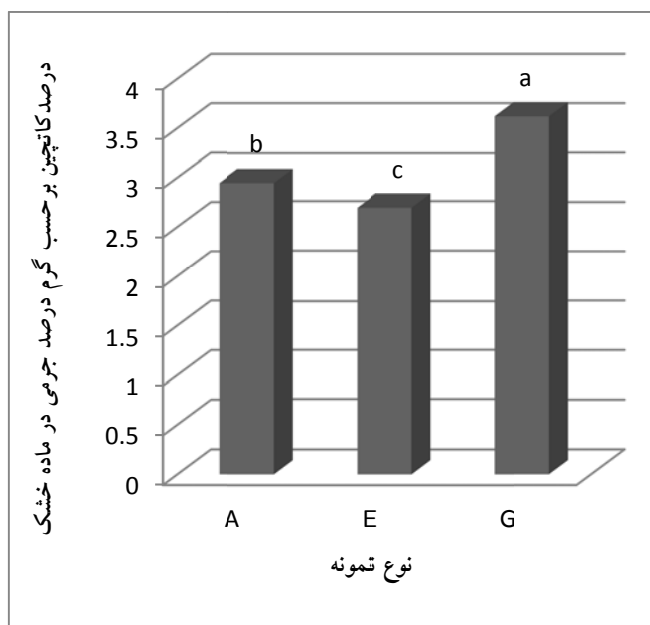
کافئین در عصاره نمونه های مختلف چای سفید

نتایج شکل ۹، بررسی اثر متقابل زمان و دما بر مقدار کل کاتچین ها در عصاره انواع چای سفید در این پژوهش در سطح ۱ درصد کاملا معنی دار بود ($p \leq 0.01$). همچنین بیشترین مقدار توتال کاتچینها در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد نسبت به سایر دماهای ۶۰ و ۷۰ درجه سانتی گراد در زمان ۵۰ دقیقه نسبت به سایر زمان های دم آوری (۱۰ و ۳۰ دقیقه) در این تحقیق دارای مقدار عددی ۷۲/۲۳۰ (برحسب گرم درصد گرم ماده خشک) برای نمونه چای سفید سریلانکا و کم ترین مقدار کل کاتچینها در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۱۰ دقیقه دارای مقدار عددی ۱۹/۱۶۵ (برحسب گرم درصد گرم ماده خشک) برای نمونه چای سفید چین بود.

هم چنین طبق شکل ۱۰، بررسی اثر متقابل زمان و دما بر میزان اپی گالوکاتشین گالات در عصاره چای سفید نتایج نشان داد دمای ۸۰ درجه سانتی گراد نسبت به سایر دماهای ۶۰ و ۷۰ درجه سانتی گراد در زمان ۵۰ دقیقه نسبت به سایر زمان های دم آوری (۱۰ و ۳۰ دقیقه) در این تحقیق، باعث استخراج بهتر و بیشتر گالات ها که دارای مولکولهای بزرگتر هستند مانند اپی گالوکاتچین گالات^۱ در این تحقیق با مقدار عددی ۲۹/۴۲۵ (گرم درصد گرم ماده خشک) بود.

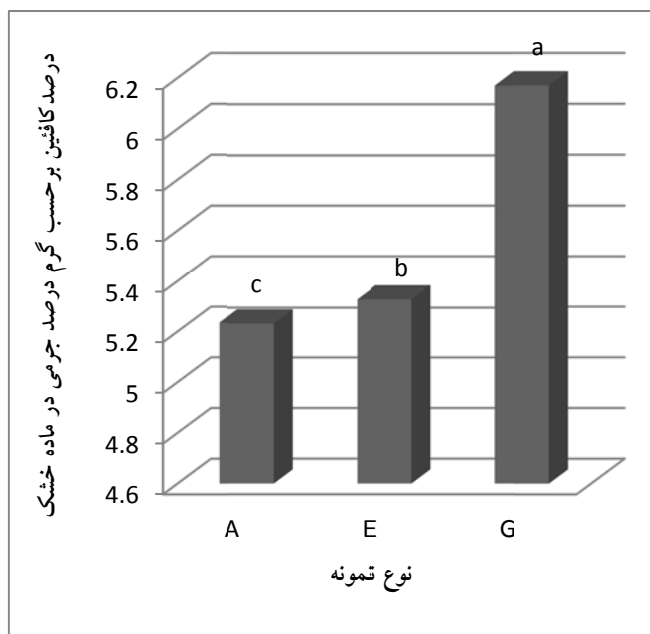
طبق شکل ۱۱، بررسی اثر متقابل زمان و دما بر میزان کافئین در عصاره چای سفید نتایج نشان داد که بالاترین مقدار استخراج کافئین در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و زمان ۵۰ دقیقه ۹/۳۴۶ (گرم درصد گرم ماده خشک) برای نمونه چای سفید سریلانکا و کم ترین مقدار استخراج کافئین در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۱۰ دقیقه ۲/۵۹۴ (گرم درصد گرم ماده خشک) در نمونه چای سفید چین بود.

میانگین کل کاتچین ها، EGCG و کافئین در طول این پژوهش هر دو دارای روند افزایشی از دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تا ۸۰ درجه سانتی گراد بودند و نیز در زمان های ۱۰ دقیقه تا ۵۰ دقیقه نیز میزان هر سه فاکتور فوق روند افزایشی نشان داد. نتایج این پژوهش مشابه نتایج حاصل از تحقیقات اندرسون (۲۰۱۱) که بر روی میزان استخراج کل کاتچین ها و کافئین چای



شکل ۷- اثر نوع نمونه بر مقدار کاتچین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

چای سفید تولید کشور چین = A، چای سفید تولید کشور تایوان = E و چای سفید تولید کشور سری لانکا = G



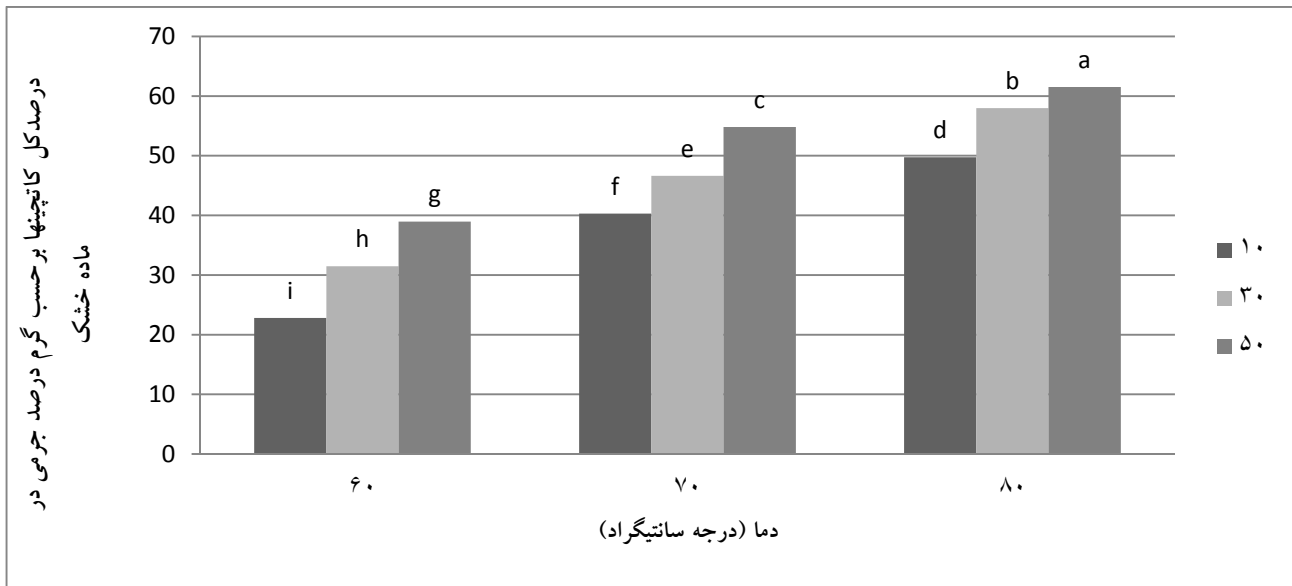
شکل ۸- اثر نوع نمونه بر مقدار کافئین استخراج شده از عصاره انواع چای سفید

چای سفید تولید کشور چین = A، چای سفید تولید کشور تایوان = E و چای سفید تولید کشور سری لانکا = G

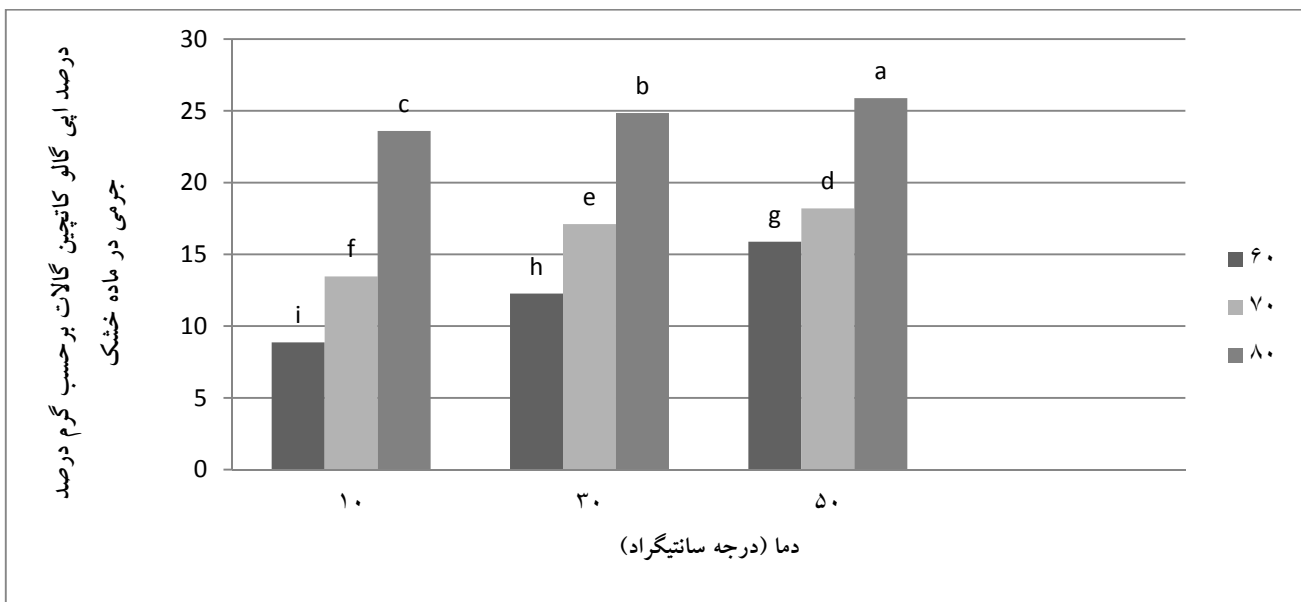
¹ EGCG

تقسیم بندی نمودند. بنابراین می توان زمان و دمای دم آوری را عامل مهم در استخراج و خروج ترکیبات فنولیک به فاز محلول دانست (۴۴).

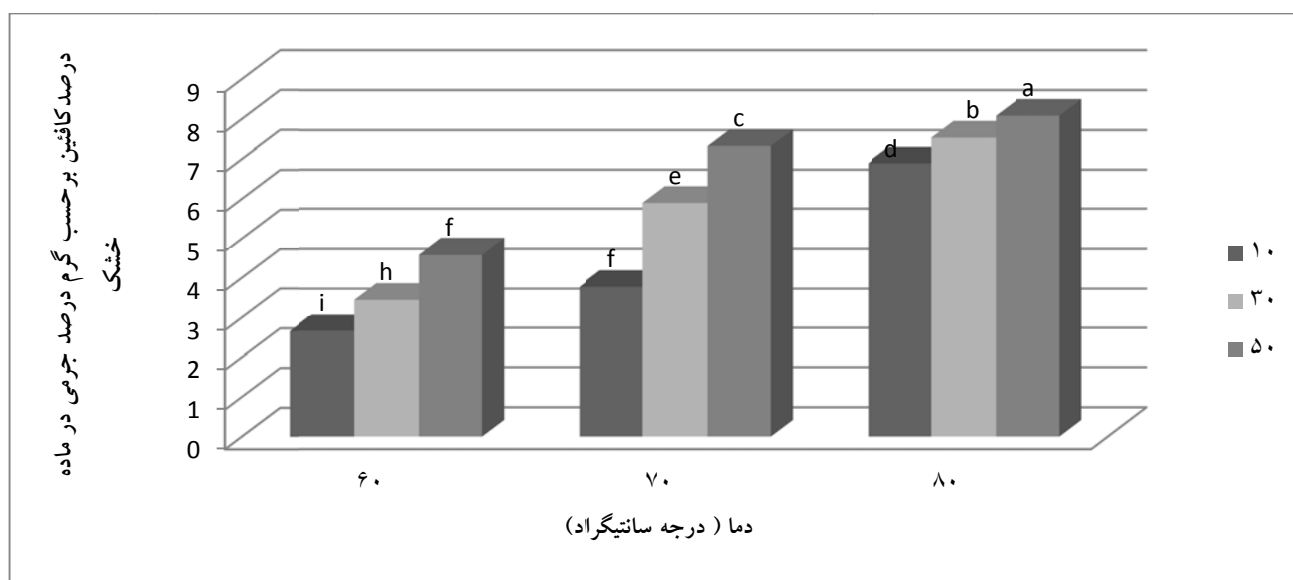
سفید کیسه ای طعم دار و گوایدا (۲۰۰۸) ارزیابی میزان کل کاتچین ها و کافئین چای سبز انجام دادند، بود (۷ و ۲۸).
 لابه و همکاران (۲۰۰۶) کاتشین های چای را به دو گروه وابسته به زمان (EC و EGC) و وابسته به دما و زمان (ECG و EGCG, C)



شکل ۹ - اثر متقابل زمان و دما بر مقدار کل کاتچین ها در عصاره انواع چای سفید



شکل ۱۰ - اثر متقابل زمان و دما بر میزان اپی گالوکاتشین گالات در عصاره انواع چای سفید



شکل ۱۱ - اثر متقابل زمان و دما بر میزان کافئین در عصاره انواع چای سفید

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق میزان غلظت کل کاتچین ها و کافئین انواع چای سفید به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با بررسی اثر دماها و زمان های تعیین شده برای دم آوری چای سفید، بر روی ترکیبات استخراج شده از عصاره آن تعیین مقدار شد و نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت که بالاترین میزان غلظت کل کاتچین ها ۷۲/۲۳۰ بر حسب گرم درصد گرم ماده خشک، بالاترین مقدار کافئین ۹/۳۴۵ بر حسب گرم درصد گرم ماده خشک در دماها و زمان های تعیین شده بود همچنین بالاترین میزان غلظت اپی گالو کاتشین گالات که مهمترین ترکیب گروه کاتچین ها و دارای اثرات فرا سودمند و بسیار مفید می باشد در نمونه های دم آوری شده در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ دقیقه، ۲۹/۴۳۵ بر حسب گرم درصد گرم ماده خشک نسبت به سایر زمان ها و دماهای استخراج این ترکیبات بود.

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که می توان با افزایش دانش و اطلاعات مردم برای افزایش مصرف این فرآورده به ویژه با دم آوری در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ دقیقه و حتی طبق نتایج سایر پژوهش های انجام شده در دماها و زمان های بالاتر، منبعی خوب و سرشار از آنتی اکسیدانهای طبیعی دریافت نمود و با مصرف روزانه ۲-۳ فنجان چای سفید سلامت خود، خانواده و جامعه را با این نوشیدنی قراسودمند فراهم نمود.

۵- منابع

- ۱- سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۱. روش تهیه نمونه نرم شده چای و اندازه گیری ماده خشک آن . استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۷۲ ، چاپ اول .
- ۲- سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶. چای سبز و سیاه - اندازه گیری مواد اختصاصی آن- قسمت دوم : تعیین مقدار کل کاتچین ها در چای سبز روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. استاندارد ملی ایران، شماره ۲-۸۹۸۶ ، چاپ اول .
- ۳- سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۷. چای سبز - ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۷۶۸ ، چاپ اول.
- 4- Sharangi , A.B. 2009 . Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review, *Food Research International* , 42 : 529-535.
- 5- Al-Attar , A.M. and Zari , T.A . 2010 . Influences of crude extract of tea leaves, *Camellia sinensis*, on streptozotocin diabetic male albino mice ,*Biological Sciences* , 17(4) : 295-301.
- 6- Anderson , M. Goodin , C. Zhang, Y. Kim , S.D. Estensen , R. S. and Wiedmann , T. 2008 . Effect of dietary green tea extract and aerosolized difluoromethylornithine during lung tumor progression in A/J strain mice,*Carcinogenesis*, vol .29 No.8 pp.1594-1600.
- 7- Anderson, S. 2011. Polyphenol and Caffeine Concentrations Found in Lipton White

- 19- Carvalho, M. Jerónimo, C. Valente, P. and Andrade, P.B. 2010. Green tea: A promising anticancer agent for renal cell carcinoma. *Food Chemistry*, 122 (1) : 49-54.
- 20- Cavet, M. Harrington, K. Vollmer, T. Ward, K.W. and Zhang, J.Z. 2011. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells. *Molecular Vision*, 17 : 533.
- 21- Christian, H. Coyle, B. Shelby, N. Morrisroe, M. B. and Chancellor, N.Y. 2008. Antioxidant effects of green tea and its polyphenols on bladder cells, *Life Sciences*, 83 : 12-18.
- 22- Cheng, T.O. 2000. Tea is good for the heart. *Archives of Internal Medicine*, 160(15) : 2397.
- 23- Costa, R.M. Magalhães, A.S. Pereira, J.A. and Andrade, P.B. 2009. Evaluation of free radical scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf : A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Food and Chemical Toxicology*, 47(4) : 860-865.
- 24- Diane, L. Jeffrey, M. and Blumberg, B. 2002. The Role of Tea in Human Health: An Update, Review, *American College of Nutrition*, Vol. 21, No. 1: 1-13.
- 25- Dias, T. Tomás, G. Teixeira, N. F. Alves, M. G. and Oliveira, P. F. 2013. White Tea (*Camellia Sinensis* (L.): Antioxidant Properties and Beneficial Health Effects, Review, *Food Science, Nutrition and Dietetics*, Vol. II : No.2.
- 26- Genkinger, J.M. Li, R. Spiegelman, D. Anderson, K.E. and Albanes, D. 2012. Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 21(2) : 305-318.
- 27- Gondoin, A. 2010. White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase in vitro, *Food Research International*, 43 : 1537-1544.
- 28- Gudala, S. 2008. Effect of extraction parameters on polyphenols of caffeinated and decaffeinated green tea. *Menomonie, WI: University of Wisconsin-Stout*, 1-98.
- 29- Feng, W. Hwang, H.S. Kryshtal, D. Yang, T. and Isela, T. 2012. Coordinated Regulation of Murine Cardiomyocyte Contractility by Nanomolar (-)-Epigallocatechin-3-Gallate, the Major Green Tea Catechin, *Molecular Tea with Blueberry and Pomegranate*, *Human Nutritional Sciences*.
- 8- Ann, M.B. and Zigang, D. 2009. Epigallocatechin 3-Gallate and Green Tea Catechins: United They Work, Divided They Fail, *Cancer Prev Res*, 2 : 514-517.
- 9- Bancirova, M. 2010. Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Research International*, 43 : 1379-1382.
- 10- Bazinet, B. Labbe, D. and Tremblay, A. 2007. Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure. *Separation and Purification Technology*, 56 : 53-56.
- 11- Belde, C. 2011. Comparison of Polyphenols and Fluoride content in Commercial Brands of Organic and Nonorganic Green Tea, *Food and Nutritional Sciences*.
- 12- Bhattacharya, U. Mukhopadhyay, S. and Giri, A.K. 2011. Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins. *Nutrition and Cancer* 63(7) : 1122-1132.
- 13- Buschman, J.L. 1998. Green Tea and Cancer in Humans: A Review of the Literature *Nutrition and Cancer*, 31: 151-159.
- 14- Cabrera, C. 2003. Determination of Tea Components with Antioxidant Activity, *Agric. Food Chem*, 51: 4427-4435.
- 15- Carloni, P. Tiano, L. Padella, L. Bacchetti, T. and Customu, C. 2012. Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Research International*.
- 16- Carmen, P. Wonga, L.P. Nguyena, S.K. Nohb, C. Tammy, M. and Braya, b. 2011. Induction of regulatory T cells by green tea polyphenol EGCG, *Immunology Letters*.
- 17- Carolyn, M. Matthew, s. 2010. Steep your genes in health : drink tea, *Bayl Univ Med Cent*, 23(2) :142-144.
- 18- Carter, O. Wang, R. Dashwood, M. A. Orner, G. A. and Fischer, K. 2007. Comparison of White Tea, Green Tea, Epigallocatechin-3-Gallate, and Caffeine as Inhibitors of PhIP-Induced Colonic Aberrant Crypts, *Nutrition and cancer*, 58(1) : 60-65.

- 41- Klempner , S. and Bublely, G. 2012 . Complementary and Alternative Medicines in Prostate Cancer: From Bench to Bedside? Division of Hematology and Oncology, Beth Israel Deaconess Medical Center , Harvard Medical School, Boston , Massachusetts, USA, The Oncologist, 17 : 830–837.
- 42- Kesavulu, M. Giri, R. Rao, B.K. and Apparao, C . 2008 . Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications.
- 43- Kimberly, A.G. and Joshua, D.L. 2010. Laboratory, Epidemiological, and Human Intervention Studies Show That Tea (*Camellia sinensis*) May Be Useful in the Prevention of Obesity, American Society for Nutrition, 140 : 446–453.
- 44- Labbe , D. Angelo ,T. and Bazinet, L. 2006. Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions, Separation and Purification Technology, 49 : 1–9.
- 45- Li Wang, A.1. and Li-Hong, G. 2012. Column-chromatographic extraction and separation of polyphenols, caffeine and theanine from green tea ,Food Chemistry, 131 : 1539–1545.
- 46- Mao, J.T. Nie , W.X. Tsu, I.H. and Jin , Y.S. 2010 . White Tea Extract Induces Apoptosis in Non–Small Cell Lung Cancer Cells : the Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ and 15-Lipoxygenases , Cancer Prev Res , 3(9) : 1132–40.
- 47- Parmar Na ,M. Mukesh,R . Vijay,K.2012.Camellia Sinensis (Green Tea): A Review,Global Journal of Pharmacology , 6 (2): 52-59.
- 48- Phung , O. Baker ,W.J. Matthews , L. and Lanosa , M. 2010 . Effect of green tea catechins with or without caffeine on anthropometric measures : a systematic review and meta-analysis1–3, American Society for Nutrition , 91 : 73–81.
- 49- Pastore , R. 2005. Green & White Tea Max:A Closer Look at the Benefits of Green and White Tea.White paper.
- 50- Rabia shabir, A. 2010 . extraction of green tea catechins for the preparation of functional drink:correlation with lifestyle-related disorders, National institute of food science & technology, Pharmacology November , vol. 82 No . 5 : 993-1000
- 30- Frank , J.W. George ,T.K. Lodge , J.M. and Rodriguez , M.P. 2008. Daily Consumption of an Aqueous Green Tea Extract Supplement Does Not Impair Liver Function or Alter Cardiovascular Disease Risk Biomarkers in Healthy Men,The Journal of Nutrition , First published . 3: 58-62.
- 31- Jung , K. 2008 .The Influence of the Preparation of Tea Extracts on their Antioxidant Capacity and Reactivity , Pestalozzistrasse , 5-8 :13187 Berlin, Germany
- 32- Haramizu , S. Ota , N. and Hase , T . 2011 .Catechins attenuate eccentric exercise-induced inflammation and loss of force production in muscle in senescence-accelerated mice,J. Appl Physiol ,111: 1654–1663.
- 33- Hilal, Y. and Engelhardt, U. 2007. Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea, Department of Food Chemistry, Braunschweig, Germany, Protection and Food Safety.
- 34- Hirun , S. and Roach , P.D. 2011. A study of stability of (-)- Epigallocatechin gallate (EGCG) from green tea in a frozen product, International Food Research 18(4) : 1261-1264.
- 35- Hodgson , A.B. Randell , R.K. and Jeukendrup , A.E . 2013 . The Effect of Green Tea Extract on Fat Oxidation at Rest and during Exercise : Evidence of Efficacy and Proposed Mechanisms, Adv Nutr March, 4 (2) : 129-140.
- 36- Hodgson, J.M. Burke, V. and Puddey , I.B. 2005. Acute effects of tea on fasting and postprandial vascular function and blood pressure in humans. Journal of Hypertension, 23(1) : 47-54.
- 37- Isaacs , C. Guang, Y. Wen , W. and Xu Hua , J. 2008 . Epigallocatechin Gallate Inactivates Clinical Isolates of Herpes Simplex Virus, Antimicrobial , Agents and chemotherapy, pp. 962–970.
- 38- ISO/TR 12591: 2013. White tea – Definition.
- 39- Kang , T. Hyup Lee , J. Kil Song , Ch. and Dong Han , H . 2007. Epigallocatechin-3-Gallate Enhances CD8+ T Cell–Mediated Antitumor Immunity Induced by DNA Vaccination, Cancer Res ,67: 802-811.
- 40- Khokhar , S.G. and Magnusdottir , M. 2001, Total Phenol, Catechin, and Caffeine Contents of Teas Commonly Consumed in the United Kingdom , North of England Food Centre .

- 51- Sharma, P. and Joshi , D. 2013. Herbal technology/medicinal chemistry, ISF College of Pharmacy, Moga, Punjab.
- 52- Sherry Chow, H. Iman , A. Hakim , D. R. Vining , J. A. and Crowell , M.E . 2007. Modulation of Human Glutathione S-Transferases by Polyphenon E Intervention, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* , 16 : 1662-1666.
- 53- Shimizu , M. Deguchi , A. Lim ,T. and Moriwaki , H. 2005 . Epigallocatechin gallate and polyphenon E inhibit growth and activation of the epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 signaling pathways in human colon cancer cells , *Clin Cancer Res* ,11 : 2735-46.
- 54- Standards of Tea for Ensuring Market Requirement . 2011.Tea Research Institute of Sri Lanka .pp 34.
- 55- Stangl , V.D. Reger , H . Stangl , K. Lorenz , M. 2007 . Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system, *Review, Cardiovascular Research* ,73 : 348-358.
- 56- Sujttha ,s. 2011 . Extraction of polyphenols from green tea and their external addition during fermentation on black tea quality , *Bio science Research* , Vol . 2(2) : 93-100.
- Tachibana, H. Koga, K. Fujimura, Y. and Yamada , K. 2004 . A receptor for green tea polyphenol EGCG , *Nat Struct Mol Biol* ,11 : 1-380 .
- 57- Mao, T.J. Xian Nie ,W. and Tsu , H. 2010 . White Tea Extract Induces Apoptosis in Non-Small Cell Lung Cancer Cells: the Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ and 15-Lipoxygenases, *American Association for Cancer Research* .
- 58- Venditti , E. 2010 . Hot vs. cold water steeping of different teas: Do they affect antioxidant activity? *Food Chemistry* , 119 : 1597-1604 .
- 59- Xinguo , S. 2007 . Polyphenolic Profile and Antioxidant Activities of Oolong Tea Infusion under Various Steeping Conditions , *Int. J. Mol. Sci.* , 8 : 1196-1205 .
- 60- Yashin , A. Yashin , Y. and Nemzer , B. 2011 . Determination of Antioxidant Activity in Tea Extracts , and Their Total Antioxidant Content , *American Journal of Bmedicinal Sciences* , ISSN: 1937-9080.