مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (38) العدد (5) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (38) No. (5) 2016

تحديد محتوى البوليفينولات الكلية في بعض أنواع الشاي الأسود المتوفرة في الأسواق السورية

الدكتور فاتن شومان [1]
أماني عمر نداف [2]

(تاريخ الإيداع 28 / 3 / 2016. قُبِل للنشر في 18 / 10 /2016)

□ ملخّص □

تكمن أهمية الشاي الأسود في الفوائد الصحية المرتبطة بمحتواه من البوليفينولات والتي تعتبر مضادات أكسدة، تم التحقق من خلال عمليات استخلاص أن كمية هذه المضادات تتعلق بمتغيرات مثل زمن النقع ودرجة الحرارة ونوع المذيب المستخدم في الاستخلاص وأن هذه المتغيرات تؤثر في تراكيز البوليفينولات المستخلصة من الشاي الأسود المدروس .

تمّ تحديد كمية البوليفينولات (كاتشين، إيبيكاتشين،إيبيغاللوكاتيشين، إيبيكاتشين غاليت، إيبيغالوكاتيشين غاليت) في أنواع مختلفة من الشاي الأسود (ليبتون ، الربيع ، ليالينا) المتوافرة في الأسواق السورية.أجريت الدراسة باستخدام نوعين من المذيبات الأول : ميتانول 70% حسب الطريقة المرجعية المعتمدة ISO14502-1 الثاني ماء الصنبور 100% و أزمنة استخلاص (أزمنة نقع) مختلفة (1، 3، 5 و 10 دقائق) وبدرجات حرارة استخلاص (60، 70، 80، 90 ، 100 درجة مئوية) .

تم تحديد المحتوى الكلي للبوليفينولات في أنواع الشاي المدروسة باستخدام كاشف الفينول (فولين سيكالتو) واعتماد حمض الغاليك كمركب عياري . تم رصد قيم المحتوى الكلي للبوليفينولات الموجودة في مستخلصات ميتانول 70% والماء 100%

الكلمات المفتاحية : الشاي الأسود ، الكاتشينات ، البوليفينولات ، الاستخلاص ، كاشف الفولن سيكالتو .

[1] أستاذ – كلية العلوم (قسم الكيمياء) –جامعة تشرين – اللاذقية – سورية
[2] طالبة دراسات عليا (ماجستير) كلية العلوم(قسم الكيمياء) – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (38) العدد (5) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (38) No. (5) 2016

Determination Total polyphenol Conten in different Black Teas commercially in Syria

Dr. Faten Shoman[1]
Amani Omar Nddaf[2]

(Received 28 / 3 / 2016. Accepted 18 / 10 /2016)

□ ABSTRACT □

Black tea which contains polyphenol is important for health benefits and it is considered as antioxidant contents .

The extraction parameters, time and temperature and kind of solvent extraction, can Influence the polyphenol concentrations of Black tea, and were investigated in this study.

The purpose of the study was to quantify the polyphenols (catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate)

in different kinds of teas (Lipton , Alrabee , Layalina) which are available in Syria market.The study was conducted using two types of solvents methanol 70% the adoption of the reference method adopted ISO14502-1 and water 100% , at different extraction times (1, 3, 5, and 10 minutes) and extraction temperatures (60°C , 70 °C , 80°C, 90°C, 100°C). the total polyphenols content was determined using the phenol reagent (Folin Ciocalteu reagent) adoption gallic acid as standard compound

the overall content values of polyphenols have been monitoring in extracts methanol 70% and water 100% .

Key words: Black Tea , Catechins ,polyphenol, Extraction ,Folin ciocalteu reagent

[1] **Prof .Faculty of Sciences (Department of Chemistry) -Tishreen University-Lattakia-Syria**
[2] **pstgraduate student-prof. Faculty of Sciences (Department of Chemistry) -Tishreen University-Lattakia-Syria**

مقدمة :

يعد الشاى مصدرا هاما للعديد من مضادات الاكسدة مثل الفلافونول والبوليفينولات والكاتشين والمواد الفعالة مثل الكافيين والتانينات والفيتامينات مثل (B2, C ، E) والاملاح المعدنية مثل المنغنيز والزنك والمغنزيوم والفوسفور والسلينيوم والاحماض الأمينية والزيوت العطرية [1].تعود الأهمية الطبية للشاي إلى احتوائه على البوليفينولات Polyphenols التي تشتمل على المركبات التالية : كاتشين catechin C ، ابيكاتشين Epicatechin EC ، ابيكاتشين جاليت Epicatechin gallate ECG ، ابيجالو كاتشين Epigallocatechin EGC، ابيجالو كاتشين جاليت Epigallocatechingallate EGCG [2]. ولهذه المركبات التي تسمى كاتشينات Catechins مفعول مضاد للأكسدة Antioxidant [3]

يحتوي الشاي الأسود بالإضافة للكاتشينات المذكورة على مركبات أخرى تلك التي تمنح الشاي الأسود العفوصة (المرارة) والطعم القابض وهي مركبات الثيافلافين (TFs) TheaFlavins و تلك التي تعطيه اللون الأحمر الغامق وهي مركبات الثياروبيجين (TRs) Thearubigins التي تعتبر نواتج أكسدة الكاتشينات . وقد أكدت العديد من الأبحاث التي اهتمت بدراسة التأثيرات الصحية للمركبات البوليفينولية الموجودة في الشاي بأن هذه المركبات لها تأثير وقائي ضد المواد الكيميائية السامة والمسرطنة وتقلل من أمراض القلب ومن الالتهابات المزمنة ومن مخاطر أنواع مختلفة للسرطان مثل سرطان المعدة والرئتين ومضاد للطفرات ومضاد للبكتيريا والفطور مضاد للحساسية ويقلل من أمراض الجهاز العصبي [4 – 10]. يعتبر الشاي من المواد النباتية التي يمكن اعتمادها كمضادات أكسدة طبيعية يتم إضافتها إلى الأطعمة من أجل منع مكونات هذه الأطعمة مثل الدهون والسكريات والبروتينات من التعفن والتأكسد [11] و تستخدم مضادات الأكسدة الطبيعية كبديل لمضادات الاكسدة الصنعية التي شاع استخدامها على نطاق واسع حول العالم في الصناعات الغذائية وأظهرت جميع الأبحاث تأثيراتها السمية الشديدة والمسرطنة لصحة الإنسان [12] ومنها :

بوتيلاتيدهيدروكسي أنيسول (BHA) Butylatedhydroxyanisole ، بوتيلاتيد هيدروكسيل تولوين (BHT) Butylated hydroxyl toluene ، بروبيل غالات (PG) Propyl Gallate ، رباعي بوتيل هيدروكينون(TBHQ) Tert butyl hydroqinon [13–14] .

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث:

تكمن أهمية البحث في الحصول على مضادات أكسدة ذات منشأ طبيعي . يمكن عزلها والحصول عليها من أجل الصناعات الدوائية ، أو يمكن الحصول عليها مباشرة في جسمنا من خلال تناولنا لمشروب الشاي الغني بهذه المواد .

إن الطرق المذكورة في الدراسة المرجعية جميعها تستخدم مذيبات عضوية في عملية الاستخلاص يمكن أن تحقق إستخلاصاً وتقديراً جيداً للبوليفينولات في الشاي ولكنها لاتعكس تماماً كمية البوليفينولات التي يمكن أن يستهلكها الإنسان من خلال تناوله لمشروب الشاي .

وبالتالي فإن الاستخلاص بإستخدام الماء قد يكون واقعياً أكثر. إن أهمية البحث تتعلق بتقدير كمية البوليفينولات (كمية مضادات الأكسدة) المستهلكة بشرياً من خلال تناول مشروب الشاي الأسود .

أهداف البحث:

1-تقدير البوليفينولات الكلية في أنواع من الشاي الأسود المتوفرة في الأسواق السورية .

2- دراسة تأثير المذيب المستخدم في عملية الاستخلاص على كمية البوليفينولات المستخلصة من الشاي الأسود.

3- دراسة تأثير درجة الحرارة أثناء عملية الاستخلاص على كمية البوليفينولات المستخلصة .

4- دراسة تأثير زمن التخمير أو النقع على كمية البوليفينولات المستخلصة .

طرائق البحث ومواده

المواد الكيميائية والأجهزة المستخدمة :

ميتانول(% 9,99، ACROS USA) ، ماء ثنائي التقطير ، كربونات الصوديوم ، حمض الغاليك M=188.119 ، كاشف الفينول (FC) FolinCiocalteu (SChaLlau –Spain) ، جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer (T60 UV- vis)، حمام مائي (GFL) ، رجاج كهربائي (Cyclo Mixer).

طريقة العمل:

جمع العينات: تم جمع عينات الشاي الأسود (الربيع ، ليالينا ، ليبتون) بشكليه الناعم والخشن والمحفوظ ضمن عبوات مقاومة للرطوبة من الأسواق وحفظت في مكان جاف بعيداً عن الضوء عند درجة حرارة الغرفة .

تحضير العينات :

أخذت كمية محددة من الشاي ووضعت في فرن التجفيف عند الدرجة 100-103°C لمدة ساعة أو أكثر للتخلص من الرطوبة ثم تركت في درجة حرارة الغرفة [14] .

الاستخلاص :

تم اعتماد طريقة ISO-14502-1 [16] لاستخلاص البوليفينولات من الشاي الأسود بشكليه الناعم والخشن للأنواع الثلاثة (الربيع ، ليالينا ، ليبتون) باستخدام مذيب عضوي و ماءالصنبور % 100 دون أية إضافة للطريقة المقترحة .

1-الاستخلاص بمذيب عضوي:

للشاي الناعم : بحسب الطريقة المرجعية تم أخذ (0,500 gr ±0,001) من الشاي الناعم لأحد الأصناف الثلاثة ووضعت في بيشر ، أضيف لها 25ml من الماء الساخن عند الدرجة 60°C مزجت بشكل جيد ، وتركت لتبرد إلى درجة حرارة الغرفة ثم أضيف إليها 5ml من الأسيتونتريل ومزجت جيدا ومددت بإضافة 25ml من الماء البارد وبذلك تمّ الحصول على مستخلص الشاي الناعم وهذه الطريقة تطبق لكافة أصناف الشاي الناعم (الربيع ، ليالينا ، ليبتون) عند درجات حرارة (60، 70، 80، 90، 100 درجة مئوية) وعند أزمنة نقع (1، 3، 5 و 10 دقائق) .

للشاي الخشن : بحسب الطريقة المرجعية تم أخذ (0,01 ± 0,200gr) من الشاي الخشن(الربيع ، ليالينا ، ليبتون) ووضعت في أنبوب الاستخلاص ضمن حمام مائي عند الدرجة 70 مئوية ، أضيف لها 5ml من مذيب الاستخلاص ميتانول 70%، مزجت باستخدام الرجاج الكهربائي لمدة عشر دقائق وتمّ الترشيح باستخدام ورق الترشيح سيللوزي (wattman 0.33mm) وتكررت عملية الاستخلاص مرتين للعينة نفسها ثم جمعت الرشاحات التي تم

الحصول عليها في أنبوب سعة 10 مل وأكمل الحجم إلى 10ml بالميتانول (100%) البارد وهوالمستخلص الكحولي المطلوب. تمّ تطبيق هذه الطريقة على كافة أنواع الشاي الخشن (الربيع ، ليالينا ، ليبتون) وذلك عند درجات الحرارة (60، 70،80 ، 90، 100درجة مئوية) وعند أزمنة نقع (1، 3، 5 و10 دقائق) .

2-الاستخلاص بماء الصنبور 100% :

الشاي الناعم : بحسب الطريق المقترحة أ خذ (0,500 gr ± 0,001) من الشاي الناعم لأحد أنواع الشاي المدروسة وضعت في بيشر أضيف لها 25 ml من ماء الصنبور الساخن عند الدرجة 60 مئوية وتركت لتبرد إلى درجة حرارة الغرفة ثم يضاف 25ml من الماء المقطر البارد و تكررت طريقة الاستخلاص بالماء على جميع العينات عند درجات الحرارة والأزمنة المذكورة أعلاه وبذلك نحصل على المستخلص المائي للشاي الناعم للأنواع الثلاثة من الشاي الأسود .

للشاي الخشن :بحسب الطريقة المقترحة أخذ (0,001 ±0,200 gr) من الشاي الخشن ووضع في أنبوب الاستخلاص ضمن حمام مائي وأضيف لها 5ml من الماء المقطر الساخن عند الدرجة 70 مئوية ومزجت بشكل جيد لمدة عشر دقائق تكررت عملية الاستخلاص مرتين ومّدد المستخلص الناتج إلى حجم 10ml باستخدام الماء البارد و طبقت الطريقة نفسها على جميع أنواع الشاي وعند درجات الحرارة والأزمنة المعتمدة سابقاً ، وبذلك تمّ الحصول على المستخلص المائي للشاي الخشن .

حفظت كافة المستخلصات الكحولية والمائية بعد إغلاقها بعيدا عن الضوء والحرارة.

كاشف الفينول :

كاشف الفينول FolinCiocalteu reagent (FC) هو مزيج من حمض فوسفوتنغستيك $H_3PW_{12}O_{40}$ وحمض فوسفومولبيديك $H_3PM_{O12}O_{40}$. يقوم الكاشف بأكسدة الفينولات في وسط قلوي ليعطي معقدا" باللون الأزرق هو مزيج لأكاسيد التنغستين W_8O_{23} والمولبيدنيوم Mo_8O_{23} كما أن كثافة اللون الأزرق تعكس كمية المركبات البولي فينولية ويمتلك اللون الأزرق امتصاصية عند طول الموجة 765nm [8,4, 17] .

تحديد محتوى البولي فينولات الكلية في العينات المدروسة:

تمّ تحديد محتوى البولي فينولات الكلية في مستخلصات الشاي الكحولية و المائية باستخدام كاشف الفينول (FC) ، ويتم اعتماد حمض الغاليك كمحلول عياري من خلال رسم المنحني العياري لحمض الغاليك بعد تحضير سلسلة من المحاليل العيارية بتراكيز محددة . أخذ 1ml من المستخلص المائي أو الكحولي لأحد أنواع الشاي (الربيع ، ليالينا ، ليبتون) بشكليه الناعم والخشن ومدّد إلى 100ml بالماء ثنائي التقطير ومزج بشكل جيد، ثم أخذ 1ml من مستخلص العينة الممددة ووضعت في أنبوب وأضيف لها 5ml من كاشف الفينول الممدد (10%) ومن ثم المزج وبعد مرور عشر دقائق من إضافة الكاشف تمت إضافة 4ml من كربونات الصوديوم % 7,5 ومزجت مرة أخرى ثم تركت عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة ،حتى ظهور اللون الأزرق ، وقيست الامتصاصية عند طول الموجة λ_{max}=765 nm باستخدام جهاز الطيف الضوئي (UV-VIS) وأخذت القراءات ثلاث مرات لكل عينة من عينات الشاي ثم أخذ متوسط الامتصاصية .

النتائج والمناقشة :

تم رصد قيم محتوى البوليفينولات الكلية TPC لكل نوع من أنواع الشاي الأسود بشكليه الناعم والخشن في الجداول (12-1) :

جدول (1) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي الربيع الخشن عند الاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	W_T	A	W_T	A	W_T	A	W_T	A	Temperature
0.385	9.208	0.429	8.246	0.394	6.734	0.339	3.188	0.210	60^o
0.380	11.599	0.516	11.159	0.500	8.878	0.417	40562	0.260	70^o
0.360	13.743	0.594	11.654	0.518	9.208	0.429	5.360	0.289	80^o
0.290	14.26	0.613	12.122	0.535	10.582	0.479	6.734	0.339	90^o
0.226	14 .66	0.625	12.451	0.547	11.654	0.518	10.665	0.482	100^o

جدول (2) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليالينا الخشن عند الاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.655	5.587	0.297	4.734	0.266	1.789	0.159	1.156	0.136	60o
0.557	7.046	0.350	6.854	0.343	2.917	0.200	2.000	0.167	70o
0.445	8.423	0.400	8.340	0.397	4.899	0.272	2.835	0.197	80o
0.334	10.322	0.469	10.019	0.458	8.120	0.389	4.349	0.252	90o
0.266	10.790	0.486	10.349	0.470	8.257	0.394	5.670	0.300	100o

جدول (3) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليبتون الخشن عندالاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.78	5.093	0.285	1.866	0.164	1.680	0.157	0.880	0.127	60o
0.43	7.413	0.372	6.160	0.325	3.840	0.238	2.586	0.146	70o
0.38	7.946	0.392	6.693	0.345	4.320	0.256	3.226	0.215	80o
0.31	8.091	0.397	7.866	0.389	7.386	0.371	3.600	0.229	90o
0.24	12.667	0.569	10.320	0.481	10.026	0.470	5.626	0.305	100o

جدول (4) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي الربيع الناعم عند الاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.207	2.767	0.349	2.669	0.340	2.354	0.311	1.681	0.249	60o

0.165	3.103	0.380	2.940	0.365	2.517	0.326	2.116	0.289	70o
0.155	3.320	0.400	3.016	0.372	2.767	0.349	2.267	0.303	80o
0.158	3.483	0.415	3.136	0.383	2.973	0.368	2.354	0.311	90o
0.155	3.602	0.426	3.287	0.397	3.179	0.387	2.463	0.321	100o

جدول (5) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليالينا الناعم عند الاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.18	3.384	0.412	2.8203	0.359	2.437	0.323	2.245	0.305	60o
0.11	3.884	0.459	3.5121	0.424	2.756	0.353	2.6181	0.340	70o
0.21	4.289	0.497	3.735	0.445	2.9799	0.374	2.671	0.345	80o
0.22	4.576	0.524	3.778	0.449	3.086	0.384	2.837	0.370	90o
0.15	4.618	0.528	4.257	0.494	3.544	0.427	3.331	0.407	100o

جدول (6) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليبتون الناعم عند الاستخلاص حسب الطريقة المرجعية

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.289	2.315	0.309	2.078	0.287	1.960	0.276	1.077	0.194	60o
0.348	2.854	0.359	2.229	0.301	1.981	0.278	1.238	0.209	70o
0.235	3.047	0.377	2.660	0.341	2.110	0.290	1.766	0.258	80o
0.186	3.187	0.390	2.746	0.602	2.466	0.349	2.035	0.283	90o
0.373	5.471	0.426	3.575	0.390	3.187	0.323	2.250	0.303	100o

جدول (7) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي الربيع الخشن عند الاستخلاص بالماء فقط

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.30	2.638	0.190	2.583	0.188	2.528	0.186	1.209	0.138	60o
0.40	4.150	0.217	3.930	0.237	3.188	0.210	1.346	0.143	70o
0.33	6.267	0.222	6.019	0.313	5.662	0.300	2.556	0.187	80o
0.29	7.394	0.266	6.624	0.335	6.322	0.324	3.353	0.216	90o
0.27	9.098	0.425	6.954	0.347	6.817	0.342	4.535	0.259	100o

جدول (8) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليالينا الخشن عند الاستخلاص بالماء فقط

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.70	1.990	0.281	1.692	0.253	0.798	0.169	0.1915	0.112	60o
0.64	2.266	0.307	2.128	0.294	0.9046	0.179	0.3937	0.131	70o
0.60	2.841	0.361	2.362	0.316	0.968	0.185	0.723	0.162	80o

0.66	2.990	0.375	2.458	0.325	1.309	0.217	0.830	0.172	90o
0.36	3.363	0.410	2.926	0.369	1.958	0.278	1.447	0.230	100o

جدول (9) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليبتون الخشن عند الاستخلاص بالماءفقط

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.78	3.573	0.228	1.38	0.146	0.986	0.131	0.693	0.120	60o
0.51	4.500	0.263	3.200	0.169	2.240	0.178	1.146	0.137	70o
0.39	4.773	0.273	3.946	0.242	3.253	0.216	1.626	0.155	80o
0.23	5.093	0.285	4.400	0.259	3.733	0.234	2.853	0.201	90o
0.17	5.866	0.314	5.200	0.289	4.906	0.278	3.813	0.237	100o

جدول (10) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي الربيع الناعم عند الاستخلاص بالماء فقط

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.23	0.803	0.168	1.00	0.187	0.651	0.154	0.596	0.149	60o
0.21	1.247	0.222	1.388	0.209	0.944	0.181	0.878	0.175	70o
0.4	1.953	0.274	2.398	0.315	1.291	0.213	0.933	0.180	80o
0.36	2.181	0.295	2.484	0.323	1.519	0.234	1.020	0.188	90o
0.35	2.615	0.381	3.103	0.335	2.669	0.340	1.443	0.227	100o

جدول (11) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليالينا الناعم عند الاستخلاص بالماء فقط

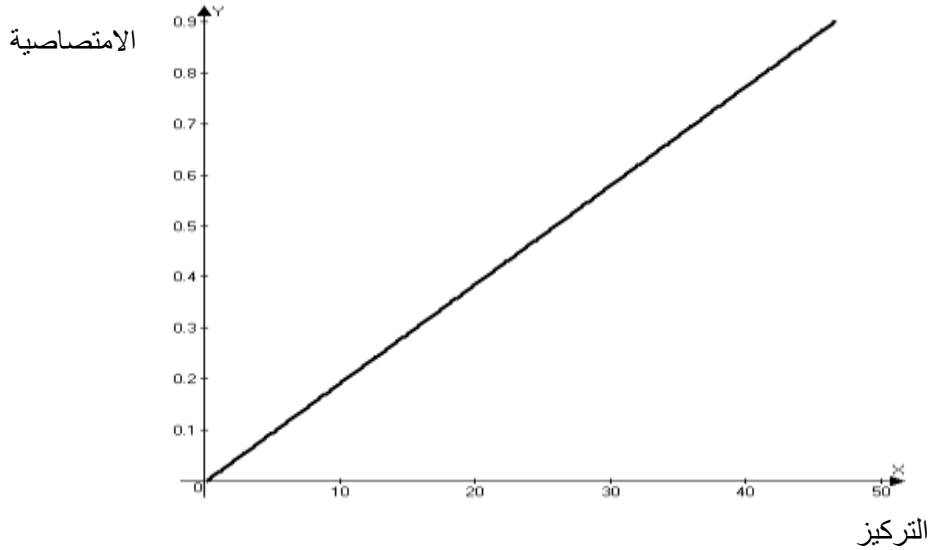
RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.37	0.691	0.159	1.042	0.192	0.585	0.149	0.436	0.135	60o
0.05	1.181	0.205	1.607	0.245	1.255	0.212	1	0.188	70o
0.13	1.575	0.242	1.8092	0.264	1.6177	0.246	1.330	0.219	80o
0.89	1.607	0.245	1.9476	0.277	1.7879	0.262	1.6177	0.246	90o
0.098	2.373	0.317	2.894	0.366	2.65	0.343	2.352	0.315	100o

جدول (12) يبين النسبة المئوية لكمية البوليفينولات WT في شاي ليبتون الناعم عند الاستخلاص بالماءفقط

RSD %	10 min		5 min		3 min		1 min		Time
	WT	A	WT	A	WT	A	WT	A	Temperature
0.6	0.129	0.106	0.161	0.109	0.096	0.103	0.021	0.063	60o
0.07	0.366	0.128	0.635	0.153	0.247	0.117	0.053	0.096	70o
0.74	1.033	0.190	1.389	0.223	0.398	0.131	0.183	0.111	80o
0.56	1.335	0.218	1.432	0.227	0.678	0.157	0.323	0.124	90o
0.39	1.443	0.228	1.701	0.252	0.872	0.175	0.700	0.159	100o

وتم استخدام حمض الغاليك كمحلول عياري لتحضير السلسلة العيارية فكانت معادلة المنحني العياري

R^2=0.985 ، Y=0.0194x−0.0794



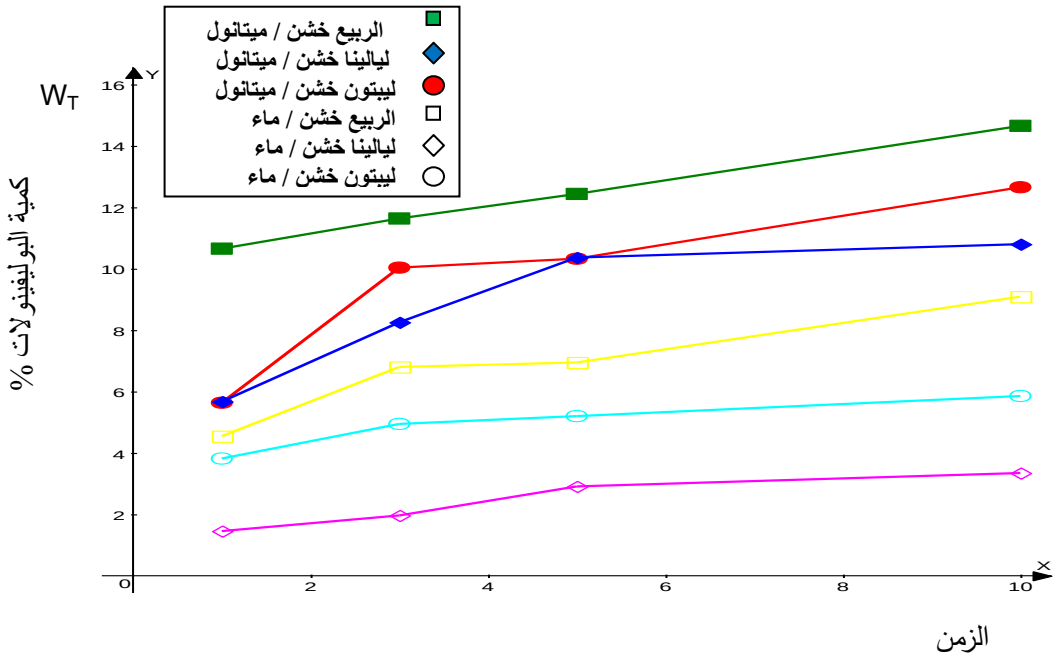
المنحني العياري لحمض الغاليك

بحسب الطريقة المرجعية iSO−14502−1 لاستخلاص الشاي الخشن وجد أن النسبة المئوية لكمية البوليفينولات الكلية W_T في المستخلصات الكحولية للشاي الأسود الخشن أكبر مماهي في الشاي الناعم على الترتيب:

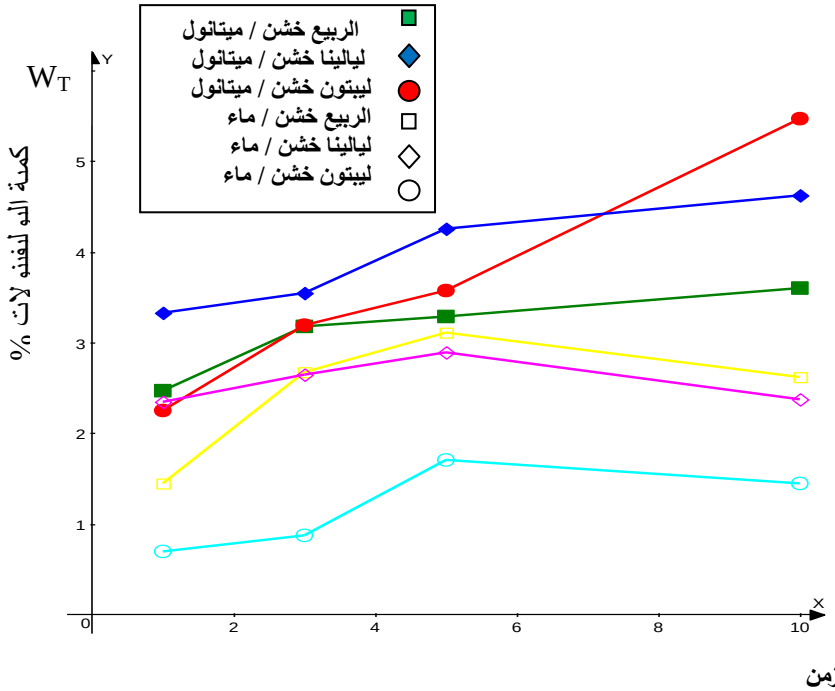
(الربيع خشن ، ليبتون خشن ، ليالينا خشن) (الربيع ناعم، ليالينا ناعم ، ليبتون ناعم). وبحسب الطريقة المقترحة للاستخلاص تبعا للشروط (70°C ، الماء 100% ، 10min) للشاي الخشن و(60°C ، الماء100% ، 10 min).وكانت النسبة المئوية لكمية البوليفينولات الكلية W_T في المستخلصات المائية للشاي الأسود الخشن أكبر مماهي في الشاي الناعم على الترتيب:

(ليبتون خشن ، الربيع خشن ، ليالينا خشن) (الربيع ناعم ، ليالينا ناعم ، ليبتون ناعم).

وبالمقارنة نجد أن W_T للشاي الخشن والناعم في المستخلصات الكحولية أكبر من المستخلصات المائية، وفي الشاي الخشن أعلى من الشاي الناعم وفق هذه الطريقة كما هو موضح في الشكل (1) و(2) .



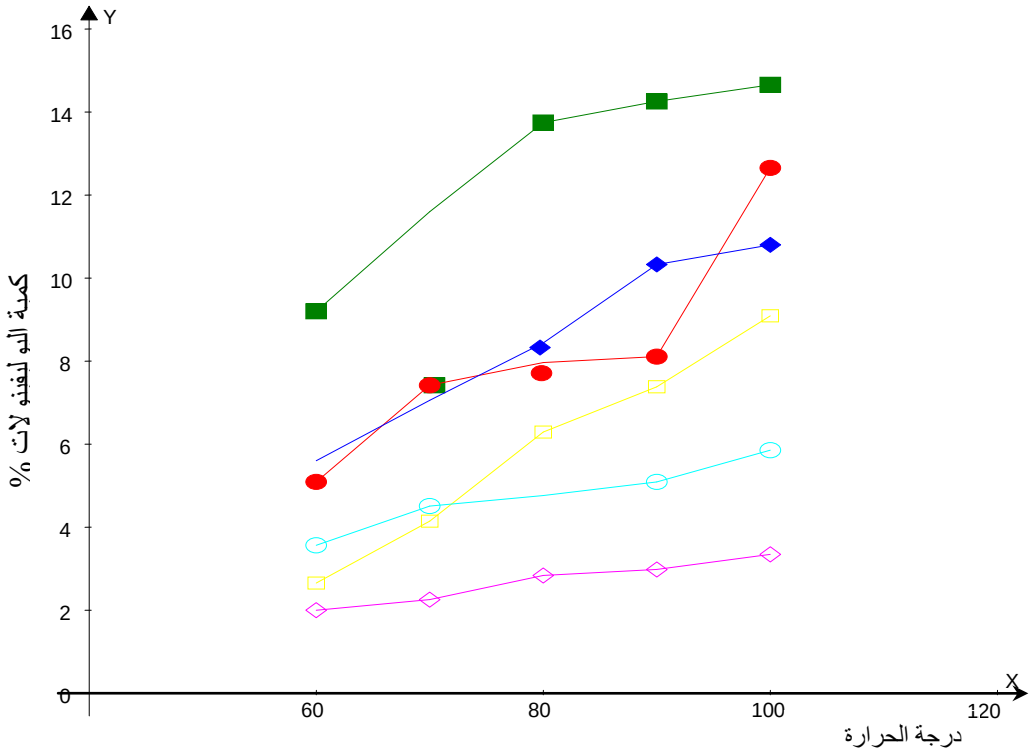
الشكل (1): يبين تأثير الزمن على كمية البوليفينولات عند استخلاص الشاي الخشن بالميتانول % 70 و الماء 100% ودرجة الحرارة 100مئوية



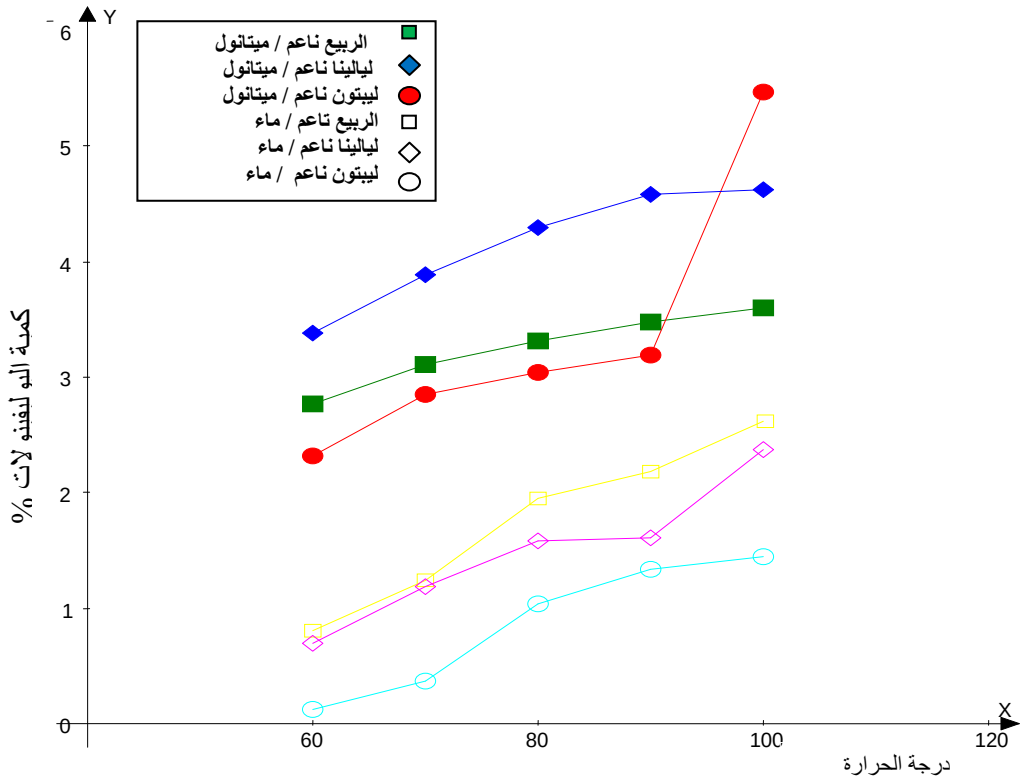
الشكل (2): يبين تأثير الزمن على كمية البوليفينولات عند استخلاص الشاي الناعم بالميتانول % 0 7 والماء 100% ودرجة الحرارة 100مئويةالا 100% ودرجة الحرارة 100مئوية

استخلص الشاي الأسود بطريقة النقع العادي عند درجات حرارة مختلفة (60,70, 80 , 90, 100 درجة مئوية) وعند أزمنة نقع (1,3,5,10 دقائق) واستخدام مذيب (ميتانول–ماء) % 70 للشاي الخشن والأسيتونتريل 100% للشاي الناعم .وكانت W_T تزداد بزيادة درجة الحرارة وزمن النقع للشاي الخشن والناعم كماأنها في الشاي الخشن أعلى من الشاي الناعم وذلك للأنواع الثلاثة وفق الترتيب الآتي:

(الربيع خشن ، ليبتون خشن ، ليالينا خشن) (ليبتون ناعم، ليالينا ناعم، الربيع ناعم)، إذ أعطت جميع العينات المستخلصة وفق طريقة النقع العادي النسبة المئوية الأكبر لكمية البوليفينولات الكلية سواء للشاي الخشن أو الناعم عند درجة الحرارة 100 وزمن النقع 10 دقائق كما هو موضح في الشكل (3) (4).



الشكل(3): يبين تأثير درجة الحرارة على كمية البوليفينولات عند استخلاص الشاي الخشن بالميتانول 70%والماء 100 % والزمن 10 دقيقة.



الشكل (4): يبين تأثير درجة الحرارة على كمية البوليفينولات عند استخلاص الشاي الناعم بالميتانول 70 %والماء 100% والزمن 10 دقيقة .

أما بتطبيق طريقة النقع العادي عند درجات حرارة مختلفة (60,70, 80 , 90, 100 درجة مئوية) وعند أزمنة نقع(1,3,5,10 دقائق) واستخدام الماء 100% كمذيب لاستخلاص الشاي الخشن والناعم فكانت النسبة المئوية لكمية البوليفينولات الكلية W_T في الشاي الخشن أكبر من الشاي الناعم للأنواع الثلاثة على الترتيب:

(الربيع خشن ، ليبتون خشن ، ليالينا خشن) (الربيع ناعم ، ليالينا ناعم ، ليبتون ناعم) ، والنسبة المئوية الأكبر لكمية البوليفينولات في المستخلصات المائية للشاي الخشن عند (5min,100 °C) وللشاي الناعم عند(10min, 100°C).

وبالتالي طريقة النقع العادي أفضل من طريقة iSO-14502-1 لأنها أعطت النسبة الأكبر من كمية البوليفينولات،ويرجع الاختلاف في كمية البوليفينولات المتواجدة بأنواع الشاي التجاري الى نوع الشاي المستخدم للتصنيع و طريقة الاستخلاص المتبعة، وان اختلاف اللون والرائحة العطرية المميزة يتبع الشروط الجغرافية و المناخية للشاي الأسود [18] .

أظهرت التجارب أأن الشاي الخشن يعطي كمية أكبر من البوليفينولات مهما اختلفت شروط التجربة مما يؤكد أن الشاي الناعم المعبأ ماهو الابقايا أوراق ومخلفات صناعة الشاي وليست أوراق شاي مطحونة وللحصول على أعلى كمية من مضادات الأكسدة الموجودة في الشاي الأسود ننصح تحضيره بالماء عند الدرجة 100مئوية وفترة نقع لخمس دقائق مع العلم أن الطعم المر واللون الداكن الذي نحصل عليه ماهو الا مركبات الثيافلافين والثياروبيجين الناتجة عن الأكسدة الكاملة للكاتشينات المتواجدة في الشاي [19] وهي مركبات مهدئة للأعصاب وتؤمن الوقاية من الأمراض

القلبية [20] ومضادة للأكسدة إذ تتفاعل مع الجذورالحرة في الجسم أكثر من EGCG بمرات عشر الذي يعتبر الأقوى بين الكاتشينات [22] .كما ينصح باستخدام الشاي الخشن ذو الأوراق الكاملة غير المطحونة لأن عملية تكسر الأوراق أثناء جمعها أو صناعتها تؤدي لأكسدتها بالهواء بوجود أنزيم polyphenol oxidase مما يجعل الجودة أقل في أوراق الشاي [23].

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

1- يزداد المحتوى الكلي للبوليفينولات في الشاي الأسود بشكليه الناعم والخشن بازدياد زمن الاستخلاص (زمن النقع) ودرجة الحرارة.

2- يعطي الشاي الأسود عند استخلاصه بالميتانول (% 70) كمية من البوليفينولات أكبر بالمقارنة مع الاستخلاص بماء الصنبور (% 100).

3- أن كمية البوليفينولات في الشاي الأسود الخشن أكبر منها في الشاي الأسود الناعم بجميع شروط الاستخلاص.

4-يعتبرشاي الربيع الأسود بشكليه الناعم والخشن هوالأفضل بالنسبة لباقي الأنواع المدروسة لأنه أعطى أعلى محتوى من البوليفينولات وبالتالي كمية مضادات الأكسدة أكبر .

5-تم الحصول على أكبر كمية من مضادات الأكسدة الشاي الخشن عند غلي ماء الصنبور الى درجة الحرارة 100 مئوية وتركه للنقع مدة 5-10 دقائق .

6-يكون التحضير الأمثل للشاي الناعم بغلي ماء الصنبور إلى الدرجة 100 مئوية وتركه مدة 3-5 دقائق للنقع .

التوصيات:

1- الاعتماد على مشروب الشاي كمصدر لمضادات الأكسدة ذات المنشأ الطبيعي .

2- والبحث عن مصادر أخرى تكون آمنة للإنسان مثل الفاكهة والخضروات ....وغيرها .

3- الابتعاد عن مضادات الأكسدة المصنعة نظرا" لتأثيراتها المسرطنة والسامة على صحة الإنسان .

المراجع

[1] YUENGAN GZU.*Simultaneous Determination of Catechins,Caffeine and gallic acid in Green ,Oolong ,Black and pu-ersh Teas using HPLC.Talanta*(2002)307-316.

[2] ANKITA SOOD..*Extraction,purification and Extraction of Tea Catechins*.Institute of Himalayan Biore Source Technology(2007-2009).

[3] RUCHI VERMA ;LALIT KUIMR.*Characterization of Caffeine Isolated From Camellia Sinensis Leaves of Sikkim Himalayan Region* .Journal of Chemical and Pharmaceutical ,Research.J.Chem.pharm.Res;2010,2(4):194-198.ISSN NO:0975-7384,CODEN(USA):JCPRC5.

[4] GARYR,BEECHER. *Analysis of Tea polyphenol* . proc soc Expiol Med 1999,220:267-270.doi:10.381/00379727-220-44377A http://emb.rsm journals.com/on April 22,2012.

[5] IRENA,VOVK.*Separation of eight selected Flavan-3-ols on Cellulose Thin-Layer Chromatographic Plates*. Science @Direct Journal of Chromatography A,1077(2005)188-194.

[6] CLAUDIA ANESIA,*Total poly phenol Content And Antioxidant Cpacity of Commerically Availabe Tea (Camellia Sinensis)in Argentina*. J.Agric.FoodChem.2008,56,9225-9229.

[7] MARIA ,AGELICA.*TeaChemistry* .Pricipal Scientist,February(2012).

[8] JIN DAI AND RUSSELLJ,MUMPER. *plant phenolics:Extraction ,Analysis and Their Antioxidant and Anti Cancer Properties* .Moleculesw (2010),15,7313-7352;doi :10.3390/molecules.

[9] KARORI,S.M .*Antioxidant capacity of different types of tea products*.African journal of Biotechnology vol.6(19) 2007,pp.2287-2296,4 October ,ISSN 1684-5315,Academic Journals.

[10] NEGUKHULA, SHONISANI .*Effects of brewing temperature and duration on quality of black tea (Camellia sinensis) and equal (50:50) combination of bush tea (Athrixia phlicoides DC) and black tea* .University of Limpopo (2010) .

[11] SHELLY COE. *Polyphenol Bioaccessibility and sugar Reducing Capacity of Black ,Green and White Teas* .International Journals of Foods Science Hindwai publishing corporation

http://dx.doi.org/10.1155/2013/238216

[12] ABDUL QAYOOM,LAGHARI .*Extraction,Identification and Antioxidative properties of The Flavonoid –Rich Fractions FROM Leaves and Flowers ofCassiaangu stifolia* .American Journal of Analytical Chemistry ,2011,2,871-878.

[13] NIHAL TURKMEN . *Effect of Extraction connditions on Measured total polyphenol contents and Antioxisant and Antibacterial Activities of black tea* . Molecules 2007,12,484-496,ISSN 1420-3049 .

[14] ISO, *Instant Tea in solid form –Determination of moisture content(loss in mass at 103℃)* , iso 7513: 1990.

[15] DEVJANI CHKROBORTY AND SUNANDA CHKROBORTI . *Bioassay –Guided isolation and identification of antibacterial and antifungal component From Methanlic Extract of green tea leavs (Camellia Sinsensis)*. Research Journal of phytochemistry 2010, ISSN 1819 -3471.

[16] ISO,*Determination of subances characteristic of green and black tea –part 1:content of Total polyphenolic Tea-Colorimetric method using Folin-Ciocateu reagent,iso* 14502-1,2005.

[17] AZLIM ALMEYA .A . *Total Phenolic Content and primary Antioxidant Activity of methanolic and ethanolic extracts of aromatic plants leaves* .International Food Rsearch Journal(2010); 17:1077-1084.

[18] M.G SAJILATA .*Tea Polyphenols as Nutraceuticals* .comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety –vol.7,2008 Mumbai 400019 ,INDIA.

[19] SONALI RAY AND B.DE . *Acetyl cholinesterase inhibitory properties of Black Tea and its polyphenolic components* .International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences VOL(4),SUPPL 3,2012 , ISSN-0975-1491.

[20] THE PPAKORN ,T . *Simultaneous determination of caffine and 8 catechins in olong teas produced in Thilan*d . international Food Research Journal(2014); 21(5):2055-2061.

http://www.infrj.ump.edu.my

[21] P.A.NIMAL PUNYASIR **.***New sample preparation Method For Quantification of phenolic compounds of Tea (Camellia SinsensisL.kuntze):Apoly phenol Rich plant* **.**Hindwai puplishing corporation Journal of Analytical Methods in Chemistry http://dx.doi.org/10.1155/2015/

[22] MAGDALENA SKOTNICKA **.***The black Tea bioactivity***.**an over view,central European Journal of Immulogy 2011;36(4):284-292 .

[23] ARUMUGAM RAJAVELU**.***The inhibition of the mammalian DNA methytrans frease3a (Dnmt3a)by dietary black Tea coffe poly phenols***.** BMC biochemistry 2011,12:16 http://www.biomed central.com/ 1471-2091/12/16