بررسی اثر زمان دم‌آوری بر ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی کافئین انواع چای سیاه، سفید، سبز و ماچا

میگل گیاهی[a]، مریم قراچورلو[b*]، پیمانه قاسمی افشار[c]

[a] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[c] استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاداسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۹

چکیده

مقدمه: فرآیند تولید چای‌ها و شرایط دم‌آوری آنها بر ویژگی‌ها و ترکیبات موجود در انواع چای نقش بسزایی دارند. در این تحقیق تاثیر زمان دم‌آوری چای بر میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی و کافئین عصاره‌های استخراجی از چهار نوع چای، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: انواع چای‌های سیاه، سفید، سبز و ماچا، در دو زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه و دمای ثابت ۹۰ درجه سانتی گراد دم‌آوری شدند، سپس میزان ترکیبات فنولیک کل با روش فولین سیوکالتیو، فعالیت آنتی اکسیدانی با دو روش *DPPH*و *FRAP* و میزان کافئین با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری، در عصاره‌ها اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها: افزایش زمان دم‌آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی کل و میزان کافئین در عصاره های بدست آمده از چای های مورد بررسی شد. در ۱۰ دقیقه دم آوری، بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل (۳۶۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) و خاصیت آنتی اکسیدانی بدست آمده از آزمون *FRAP* (۱۶۸۱/۳۶ میکرومولار سولفات آهن) و همچنین بیشترین میزان کافئین (۲۵/۵۹ میلی گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به چای ماچا و بیشترین میزان *IC50* بدست آمده از آزمون *DPPH* (۳/۹۸ گرم بر لیتر) متعلق به چای‌های سیاه قلمی بود. در ۳۰ دقیقه دم‌آوری چای‌ها، بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل (۳۷۹/۸۷ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) متعلق به چای سبز چینی، بیشترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی بدست آمده از آزمون*FRAP* (۱۷۴۲/۵۵ میکرومولار سولفات آهن) متعلق به چای سبز ایرانی، بیشترین میزان *IC50* (۲/۷۸ گرم بر لیتر) متعلق به چای سیاه قلمی و بیشترین میزان کافئین (۲۷/۰۱ میلی گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به چای سیاه *C.T.C* بود.

نتیجه گیری: نتایج نشان دهنده آن بود که نوع چای و شرایط دم‌آوری آن بر میزان ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره چای مصرفی، تاثیر بسزایی دارد.

واژه‌های کلیدی: *ترکیبات فنولی کل، چای، دم آوری، فعالیت آنتی اکسیدانی، کافئین*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: m_gharachorlo@srbiau.ac.ir

مقدمه

چای یکی از محبوب‌ترین نوشیدنی‌ها در سراسر جهان است. اثرات مفید بر سیستم گردش خون، بهبود عملکرد قلب، پیشگیری از چاقی، خواص ضد سرطان، ضد التهابی و ضد باکتریایی از جمله ویژگی‌های چای است (Yan *et al.*, 2020) که اکثر این ویژگی‌ها عمدتاً ناشی از وجود مواد زیست فعال در برگ‌های چای از قبیل ترکیبات پلی فنولی، آلکالوئیدها (تئوبرومین، تئوفیلین و کافئین) و تئانین می‌باشند (Prasanth *et al.*, 2019). چای بر حسب میزان تخمیر به سه نوع تقسیم می‌شود: چای تخمیری(سیاه)، غیر تخمیری (سبز و سفید)، چای نیمه تخمیری (اولانگ) (Yan *et al.*, 2020). تفاوت اصلی انواع چای‌ها با یکدیگر نوع فرآوری آنهاست (Reygaert, 2017). پلی فنل‌های غالب در چای کاتچین‌ها هستند که حدود ۳۶-۱۸ درصد ماده خشک برگ‌های چای را تشکیل می‌دهند و می‌توان آنها را به چهار نوع اپی گالوکاتچین-۳-گالات (EGCG)، اپی کاتچین-۳-گالات (ECG)، اپی گالوکاتچین (EGC) و اپی کاتچین (EC) تقسیم بندی نمود (Chu *et al.*, 2017). پلی فنل‌ها علاوه بر دارا بودن اثر آنتی اکسیدانی بالا و فواید اثبات شده بر بدن انسان، بر ظاهر و خواص ارگانولپتیک فرآورده غذایی از قبیل مزه، بو و رنگ نیز تأثیر دارند (Cory *et al.*, 2018).

علاوه بر فرآیند تولید چای و اجزای چای، شرایط دم‌آوری نیز می‌تواند بر سطوح آنتی اکسیدان‌های عصاره مصرفی چای‌ها تأثیر بگذارد. لذا بررسی اثر زمان دم‌آوری بر فعالیت آنتی اکسیدانی چای ضروری می‌باشد زیرا مصرف کنندگان باید از زمان بهینه دم‌آوری چای‌ها برای حفظ اثرات سلامتی بخش چای آگاه باشند (Mieczan *et al.*, 2024).

برخی از مطالعات نشان می‌دهند که محتوای پلی فنل بالاتر در چای Camellia sinensis را می‌توان با زمان‌های دم‌آوری طولانی‌تر (بیش از ۱۰ دقیقه) به دست آورد (Kowalska *et al.*, 2021).

بر اساس تحقیقات*Shannon* و همکاران (۲۰۱۸)، دمای آب و مدت زمان دم‌آوری چای بر راندمان استخراج ترکیباتی مانند پلی فنول‌ها و متیل زانتین‌ها (عمدتاً کافئین، تئوفیلین و تئوبرومین) تأثیر قابل توجهی دارد و برخی مطالعات نشان داده‌اند که زمان‌های دم‌آوری طولانی‌تر (بیش از ۱۰ دقیقه) سبب می‌شود محتوای پلی فنول بیشتری در چای حاصل شود و در عین حال، گسی و تلخی افزایش یابد. دمای مورد استفاده برای دم‌آوری چای معمولاً در محدوده ۶۵ الی ۹۶ درجه سانتی‌گراد است، در حالی که چای سبز و سفید معمولاً در دماهای کمتری نسبت به چای سیاه دم‌آوری می‌شوند (Shannom *et al.*, 2018).

با توجه به مطالعات انجام شده، انواع چای منبع ارزشمند ترکیبات فراسودمند مانند آنتی اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات پلی فنولی و ترکیبات بر پایه زانتین مانند کافئین هستند که تاثیر بسزایی بر سلامت بر بدن انسان دارند. بنابراین، بررسی تاثیر شرایط دم‌آوری بر این ترکیبات ارزشمند اهمیت بسزایی دارد. تعداد مطالعات در مورد مقایسه چای‌های سیاه، سفید، سبز و ماچا با یکدیگر و همچنین تاثیر زمان دم‌آوری بر ویژگی‌های آنها، محدود میباشد. لذا در این تحقیق میزان ترکیبات فنولی کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان کافئین در عصاره‌های چای‌های سیاه، سفید، سبز و ماچا پس از زمان دم‌آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه مورد بررسی و مقایسه بایکدیگر قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش چای سیاه در دو نوع قلمی ایرانی(BT2 و BT1) و C.T.C وارداتی از کشور کنیا (CBT1 و CBT2)، چای سبز ایرانی و چینی، چای ماچا وارداتی از کشور ژاپن، چای سفید ایرانی، خریداری شدند، شایان ذکر است که مبنای انتخاب چای‌های مذکور جهت انجام این پژوهش، دسترسی آسان به آنها و همچنین استفاده عموم افراد جامعه از این چای‌ها بوده است. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت‌های Merck و Sigma-Aldrich تهیه شدند.

- آماده سازی نمونه‌ها

آماده‌سازی نمونه ها با کمی تغییر به روش Nasirirad و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. تمامی نمونه‌ها به صورت روزانه و قبل از انجام هر آزمایش دم‌آوری شدند. برای آزمون اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، ۱ گرم چای و برای آزمون FRAP و آزمون تعیین مقدار کافئین، ۰/۵ گرم چای، توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۰۱ گرم (مدل BP

211D ساخت شرکت Sartorius آلمان) وزن گردید و به آنها ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر که به دمای جوش رسیده بود، اضافه شد و بر روی بن ماری (مدل WNB14 ساخت شرکت Memmert آلمان) با دمای ثابت ۹۰ درجه سانتی گراد و در ظروف یکسان، در دو زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه، دم‌آوری چای‌ها صورت گرفت و پس از فیلترکردن عصاره‌ها و خنک شدن آنها در دمای اتاق، بلافاصله آزمون‌های ذیل برای نمونه‌ها انجام شد (Nasirirad *et al.*, 2013).

- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل با استفاده از روش فولین – سیوکالتیو انجام شد. در این آزمایش از محلول اسید گالیک به عنوان محلول استاندارد استفاده شد و نمودار استاندارد جذب اسید گالیک رسم و معادله رگرسیون آن محاسبه گردید. پس از دم‌آوری چای‌ها در شرایط ذکر شده، مقداری از هر نمونه چای دم‌آوری شده با معرف فولین سیوکالتیو ۱۰درصد مخلوط گردید و پس از افزودن آب مقطر به آنها، توسط شیکر لوله آزمایش (مدل reax top ساخت شرکت Heidolph آلمان) به خوبی مخلوط شدند. پس از گذشت ۳ دقیقه کربنات سدیم ۷/۵ درصد و آب مقطر به محلول اضافه شد و مجددا توسط شیکر لوله آزمایش به خوبی مخلوط شدند. سپس محلول به دست آمده به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و تاریکی نگهداری شد و پس از آن میزان جذب نوری محلول در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری (مدل Carry 100 ساخت شرکت Varian استرالیا) قرائت گردید. عدد جذب خوانده شده در معادله رگرسیون منحنی استاندارد جذب اسیدگالیک قرار داده شد و مقدار ترکیبات پلی فنولی کل بر حسب میلی گرم بر لیتر اسیدگالیک، برای ۱۰۰ میلی لیتر عصاره استخراجی به دست آمد (Sielicka *et al.*, 2020).

- اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP با کمی تغییرات مطابق روش Sielicka و همکاران (۲۰۲۰)، انجام شد. در این آزمایش از محلول سولفات آهن ۷ آبه به عنوان محلول استاندارد استفاده شد و نمودار استاندارد جذب آن رسم و معادله رگرسیون آن محاسبه گردید. برای ساخت معرف فعال FRAP ابتدا محلول استوک TPTZ با غلظت ۱۰ میلی مولار، محلول بافر استات سدیم با pH= ۳/۶ و غلظت ۳۰۰ میلی مولار، محلول کلرید آهن شش آبه با غلظت ۲۰ میلی مولار ساخته شدند و سپس معرف فعال FRAP از اختلاط ۲/۵ میلی لیتر محلول استوک TPTZ با غلظت ۱۰ میلی مولار و ۲۵ میلی لیتر بافر استات سدیم با pH=۳/۶ و غلظت ۳۰۰ میلی مولار و ۲/۵ میلی لیتر محلول کلرید آهن شش آبه با غلظت ۲۰ میلی مولار تهیه شد. سپس تمامی نمونه‌های چای در شرایط ذکر شده دم‌آوری شدند. جهت انجام آزمون مقداری از هر نمونه با معرف فعال FRAP مخلوط گردید و توسط شیکر لوله آزمایش به خوبی مخلوط شدند و پس از نگهداری در دمای اتاق به مدت هشت دقیقه، میزان جذب نوری آنها در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری اندازه گیری شد و عدد خوانده شده در معادله منحنی استاندارد سولفات آهن ۷ آبه قرار داده شد و نتایج بر حسب میکرومولار سولفات آهن برای۱۰۰ میلی لیتر عصاره استخراجی به دست آمد (Sielicka et al., 2020).

- اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

ابتدا نمونه‌های چای با شرایط ذکر شده دم‌آوری شدند سپس محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH تهیه گردید و غلظت‌های مختلف از هر عصاره تهیه شدند. مقداری از هر غلظت نمونه / متانول (به عنوان شاهد) با محلول DPPH مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی نگهداری شدند. سپس عدد جذب نوری هر غلظت از نمونه توسط دستگاه طیف سنج نوری (مدل Carry100 ساخت شرکت Varian) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد بازدارندگی هر غلظت از نمونه توسط رابطه (۱) محاسبه گردید:

رابطه (۱)

درصد بازدارندگی = { (طول موج محلول شاهد – طول موج نمونه) / طول موج محلول شاهد } ×۱۰۰

نمودار درصد بازدارندگی – غلظت رسم گردید و IC50

هر نمونه چای توسط معادله منحنی درصدبازدارندگی-غلظت برحسب گرم بر لیتر محاسبه گردید (He *et al.*, 2020).

- اندازه‌گیری میزان کافئین

در این آزمایش از کافئین خالص به عنوان استاندارد استفاده شد، نمودار استاندارد رسم و معادله رگرسیون آن محاسبه شد. پس از دم‌آوری نمونه‌های چای و فیلتر کردن آنها، ابتدا کربنات سدیم به منظور رسوب دادن تانن‌ها به عصاره استخراجی از چای‌ها اضافه شد و بر روی شوف بالن (مدل KI 2 ساخت شرکت Gerhardt آلمان) به آرامی جوشانده شد. سپس محلول به دست آمده در دمای اتاق سرد و پس از آن توسط کاغذ صافی، فیلتر شد. سپس مقداری از محلول فیلتر شده داخل قیف دکانتور ریخته و به آن مقداری کلروفرم اضافه گردید. پس از تکان دادن قیف دکانتور جهت اختلاط نمونه با کلروفرم و استخراج بهتر کافئین از نمونه و پس از جدا شدن چای و کلروفرم به صورت دو فاز از یکدیگر، فاز زیرین که شامل کلروفرم حاوی کافئین استخراج شده از نمونه بود، از فاز رویی جدا شد. این مرحله سه بار و هر بار با کلروفرم خالص تکرار شد. در نهایت میزان جذب کلروفرم‌های جمع‌آوری شده که حاوی کافئین نمونه بودند، در طول موج ۲۷۳ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری (مدل Carry 100 ساخت شرکت Varian استرالیا) خوانده شد. سپس اعداد خوانده شده در معادله رگرسیون منحنی استاندارد کافئین خالص قرار داده شدند و نتیجه بر حسب میلی گرم بر لیتر کافئین خالص برای ۱۰۰ میلی لیتر عصاره استخراج شده اعلام گردید (Garg, 2021).

- تجزیه و تحلیل آماری

طرح مورد بررسی در این پژوهش، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار بود. فاکتور مورد بررسی عبارت است از زمان دم‌آوری (۱۰ و ۳۰ دقیقه). به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج، برای مقایسه انواع چای با یکدیگر از نظر میزان ویژگی‌های مورد بررسی، از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA و مقایسه میانگین دانکن در سطح معناداری ۵ درصد و نیز برای بررسی تاثیر زمان دم‌آوری بر روی آنها، از آزمون Independent T-sample test استفاده گردید. برای سازماندهی داده‌ها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2016 و برای تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS27 استفاده گردید.

یافته‌ها

- میزان ترکیبات فنولی کل

در جدول ۱ میزان ترکیبات فنولی کل به دست آمده برای نمونه‌های چای مورد بررسی در دو زمان دم‌آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه، پس از ۱۰ دقیقه دم آوری، از لحاظ میزان ترکیبات فنولی کل بین سه نمونه چای نوع سیاه با یکدیگر و با نمونه‌های چای نوع سبز مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد پس از ۱۰ دقیقه دم‌آوری نمونه‌های چای، کمترین میزان ترکیبات فنولی کل (۱۹۵/۴۹ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) متعلق به چای سیاه قلمی (BT2) و بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل (۳۶۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) متعلق به چای ماچا بود. پس از ۳۰ دقیقه دم‌آوری نمونه‌های چای میزان ترکیبات فنولی کل در همه نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت و کمترین میزان ترکیبات فنولی (۲۶۱/۵۸ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) در چای سیاه قلمی (BT2) و بیشترین میزان این ترکیبات (۳۷۹/۸۷ میلی گرم بر لیتر گالیک اسید) در چای سبز چینی مشاهده شد. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی تاثیر زمان دم‌آوری بر روی استخراج ترکیبات فنولی کل موجود در نمونه‌های چای، مقایسه‌ای میان عصاره‌های استخراجی بدست آمده در دو زمان دم‌آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه صورت گرفت. بر اساس نتایج آزمون آماری Independent T-Sample Test ، بین میزان ترکیبات فنولی کل عصاره نمونه‌های چای سیاه قلمی (BT2) و چای سفید در زمان دم‌آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه اختلاف آماری معنادار وجود داشت ($p<۰/۰۵$). افزایش زمان دم‌آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، سبب افزایش میزان ترکیبات فنولی به میزان ۳۳/۸۱ درصد در چای سیاه قلمی (BT2) و ۵۸/۰۴ درصد در چای سفید شد. در حالی که افزایش زمان دم‌آوری تأثیر معنی‌داری در افزایش ترکیبات فنولی کل سایر انواع چای‌های مورد بررسی نداشت.

جدول ۱ – میزان ترکیبات فنولی کل در نمونه‌های چای مورد بررسی پس از زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه
Table 1 – Total phenolic contents of tea samples after 10 and 30 min of brewing

	Total phenolic contents of tea samples after 10 min of brewing (mg / l of gallic acid)	Total phenolic contents of tea samples after 30 min of brewing (mg / l of gallic acid)
Black tea (BT1)	248.26 [b]	279.26 [b]
Black tea (BT2)	195.46 [c]	261.58 [b.]
C.T.C black tea (CBT2)	354.29 [a]	372.26 [a]
C.T.C black tea (CBT1)	337.06 [a]	365.68 [a]
Iranian Green tea	357.64 [a]	366.35 [a]
Chinese Green tea	335.74 [a]	[a] 379.87
Matcha tea	360.10 [a.]	362.85 [a]
White tea	229. 64 [bc]	362.93 [a]

Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$) in the total phenolic contents between treatments at a specific brewing time ($p<0.05$).

حروف کوچک مختلف بیانگر تفاوت معنی دار (p<۰/۰۵) در مقدار ترکیبات فنولی کل بین تیمارها در یک زمان مشخص دم آوری می باشد.

- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP

بر اساس نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه، از لحاظ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های چای، در هر دو زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه دم آوری بین نمونه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی دار وجود داشت (*p*<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد پس از ۱۰ دقیقه دم آوری نمونه های چای، کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۱۹۶/۰۵ میکرومولار سولفات آهن) متعلق به چای سیاه قلمی (BT1) و بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۱۶۸۱/۳۶ میکرومولار سولفات آهن) متعلق به چای ماچا بود. پس از ۳۰ دقیقه دم آوری نمونه‌های چای میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۴۶۴/۵۵ میکرومولار سولفات آهن) در چای سیاه (BT1) و بیشترین میزان این ترکیبات (۱۷۴۲/۵۵ میکرومولار سولفات آهن) در چای سبز ایرانی مشاهده شد. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی تاثیر زمان دم آوری بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های چای، مقایسه‌ای میان عصاره‌های استخراجی بدست آمده از چای‌های مورد بررسی در دو زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه صورت گرفت. مطابق نتایج به دست آمده از آزمون آماری Independent T-sample Test، افزایش زمان دم آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، به طور معناداری سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در کلیه عصاره‌های مورد بررسی شد که بیشترین میزان افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره چای سفید (۷۱ درصد) و کمترین آن در عصاره چای ماچا (۲/۶ درصد) مشاهده شد.

همچنین در نتیجه بررسی همبستگی میان میزان ترکیبات فنولیک کل حاصل از آزمون فولین سیوکالتیو و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی حاصل از آزمون FRAP هر یک از چای‌ها، با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ و ضریب همبستگی آنها (R^2)، در ۱۰ و ۳۰ دقیقه دم‌آوری نمونه‌های چای، همبستگی کمی میان مقدار ترکیبات پلی فنولی کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد.

- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

براساس نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه، از لحاظ میزان IC50 در عصاره نمونه‌های چای، در هر دو زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه دم آوری، بین نمونه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت (*p*<۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که پس از ۱۰ دقیقه دم آوری نمونه‌های چای کمترین میزان IC50 (۱,۷۲ گرم بر لیتر) متعلق به چای ماچا و بیشترین میزان آن (۳,۹۸ گرم بر لیتر) متعلق به چای‌های سیاه قلمی بود. پس از ۳۰ دقیقه دم آوری چای‌ها، میزان IC50 در تمامی عصاره‌ها کاهش یافت که با توجه به رابطه عکس میان میزان IC50 و فعالیت آنتی اکسیدانی، بیانگر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی پس از ۳۰ دقیقه دم آوری در تمامی عصاره چای‌های مورد بررسی می‌باشد لذا برای ۳۰ دقیقه دم‌آوری نمونه‌ها، بیشترین میزانIC50 (۲/۷۸ گرم بر لیتر)

متعلق به چای سیاه قلمی (BT2) و کمترین آن (۰/۷۷ گرم بر لیتر) متعلق به چای سبز چینی بود. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی تاثیر زمان دم آوری بر روی میزان IC50 نمونه‌های چای، مقایسه‌ای میان عصاره‌های استخراجی بدست آمده از چای‌های مورد بررسی در دو زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه صورت گرفت. مطابق نتایج آزمون آماری Independent T-Sample Test ، افزایش زمان دم آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، به طور معناداری سبب کاهش میزان IC50 و در نتیجه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کلیه عصاره‌های چای‌های مورد بررسی شد که بیشتری میزان کاهش IC50 در عصاره چای سبز ایرانی (۵۸/۱۹ درصد) و کمترین آن در عصاره چای ماچا (۴/۶ درصد) مشاهده شد.

همچنین در نتیجه بررسی همبستگی میان میزان ترکیبات فنولیک حاصل از آزمون فولین سیوکالتیو و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی حاصل از آزمون DPPH بدست آمده از هر یک از چای‌ها، با توجه به نمودار ۵ و ضریب همبستگی آن (R^2)، در ۳۰ دقیقه دم آوری چای‌ها، همبستگی کمی میان مقدار ترکیبات پلی فنولی کل و میزان IC50 وجود دارد و با توجه به ضریب همبستگی نمودار ۳ برای دم آوری چای‌ها در ۱۰ دقیقه، همبستگی میان این دو پارامتر بالا بود.

جدول ۲- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های چای مورد بررسی پس از زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه

Table 2- Antioxidant activity of tea samples after 10 and 30 min of brewing

	The antioxidant activity in 10 min of tea brewing (µM $Feso_4$)	The antioxidant activity in 30 min of tea brewing (µM $Feso_4$)
Black tea (BT1)	396.05 ^{h}	464.55 ^{h}
Black tea (BT2)	417.55 ^{g}	644.30 ^{g}
C.T.C black tea (CBT2)	886.36 $^{e.}$	1189.66 ^{e}
C.T.C black tea (CBT1)	1345.24 ^{c}	1559.05 ^{d}
Iranian Green tea	1402.24 ^{b}	1742.55 ^{a}
Chinese Green tea	1255.86 ^{d}	1638.67 ^{c}
Matcha tea	1681.36 ^{a}	1726.74 ^{b}
White tea	458.67 ^{f}	784.36 ^{f}

Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$) in the amount of antioxidant activity between treatments at a specific brewing time.

حروف کوچک مختلف بیانگر تفاوت معنی دار ($p<۰/۰۵$) در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بین تیمارها در یک زمان مشخص دم آوری می باشد.

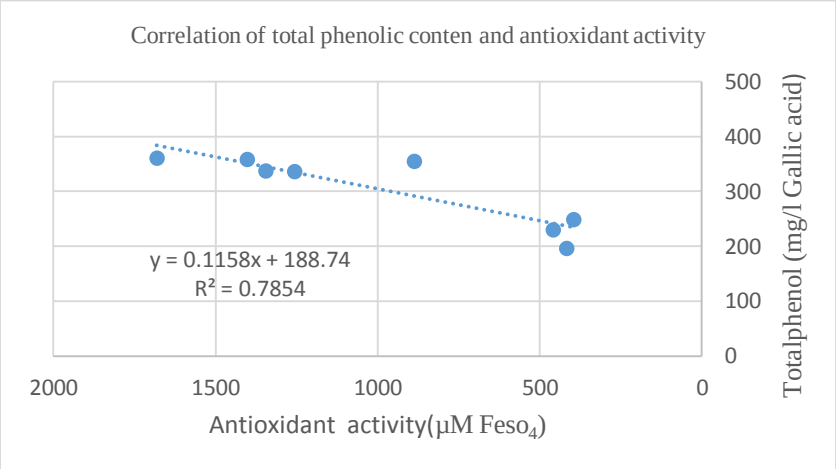

Fig. 1- Correlation chart of total phenolic contents and antioxidant activity of tea samples after 10 min of brewing

نمودار ۱- نمودار همبستگی ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های چای پس از ۱۰ دقیقه دم آوری

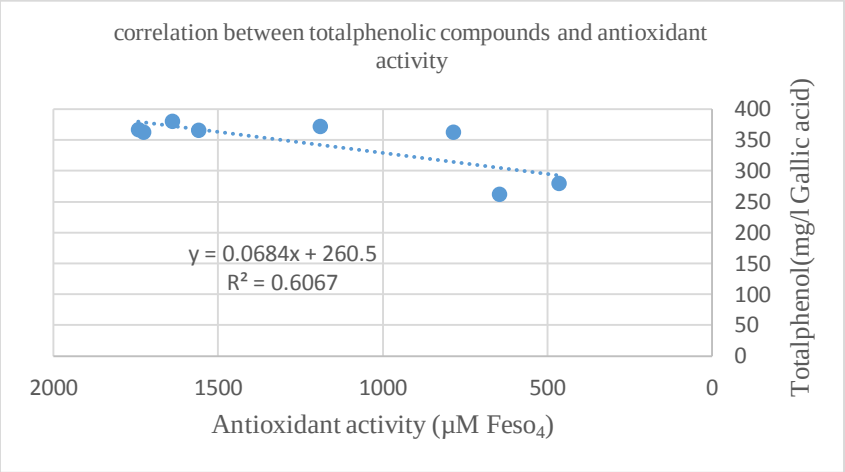

Fig. 2- Correlation chart of total phenolic contents and antioxidant activity of tea samples after 30 min of brewing

نمودار۲- نمودار همبستگی ترکیبات فنولی کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های چای پس از ۳۰ دقیقه دم آوری

جدول ۳- میزان *IC50* نمونه‌های چای پس از زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه

Table 3- The IC50 of tea samples after 10 and 30 min of brewing

	IC50 of tea samples after 10 and 30 min of tea brewing (g / l)	IC50 of tea samples after 30 min of brewing (g / l)
Black tea (BT1)	3.98 [a]	2.70 [b]
Black tea (BT2)	3.98 [a]	2.78 [a]
C.T.C black tea (CBT2)	1.96 [c]	0.94 [e]
C.T.C black tea (CBT1)	1.97 [c]	0.92 [f]
Iranian Green tea	1.77 [d]	0.74 [h]
Chinese Green tea	1.81 [d]	0.77 [g]
Matcha tea	1.72 [e]	1.64 [d]
White tea	3.84 [b]	2.20 [c]

Different letters indicate a significant difference (P<0.05) in the IC50 value between treatments at a specific brewing time.

حروف کوچک مختلف بیانگر تفاوت معنی دار (p<۰/۰۵) در مقدار IC50 بین تیمارها در یک زمان مشخص دم آوری می باشد.

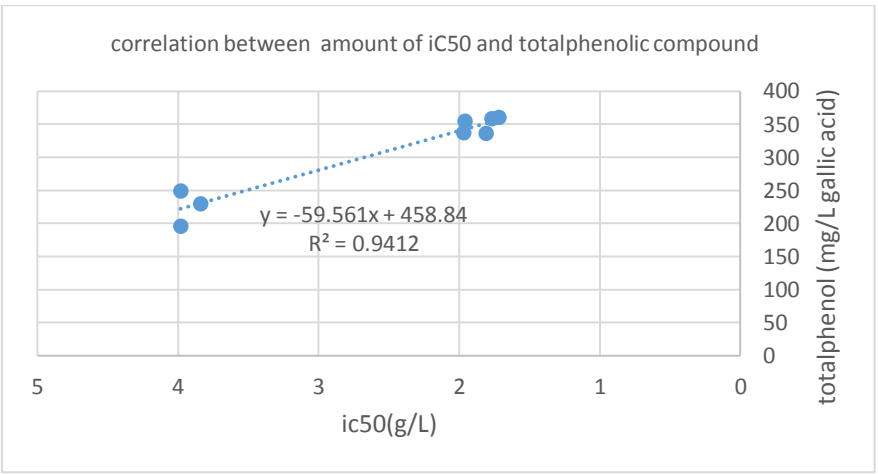

Fig. 3- Correlation chart of total phenolic content and IC50 of tea samples after10 min of brewing

نمودار ۳- نمودار همبستگی میزان ترکیبات فنولی کل و IC50 نمونه‌های چای پس از ۱۰ دقیقه دم آوری

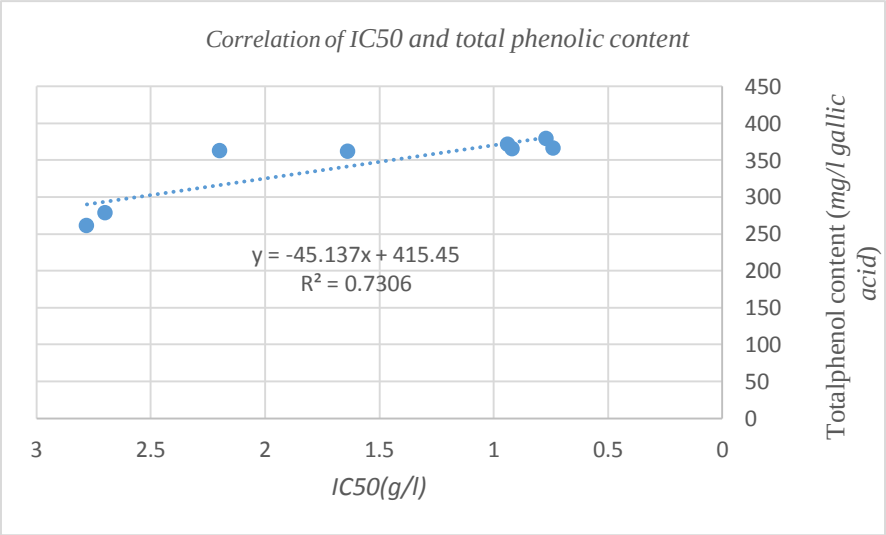

Fig. 4- Correlation chart of total phenolic content and IC50 of tea samples after 30 min of brewing

نمودار ٤- نمودار همبستگی ترکیبات فنولی کل و میزان IC50 نمونه‌های چای پس از ۳۰ دقیقه دم آوری

- میزان کافئین

بر اساس نتایج آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه، از لحاظ میزان کافئین در عصاره نمونه‌های چای، در هر دو زمان ۱۰ و ۳۰ دقیقه دم آوری، بین نمونه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که پس از ۱۰ دقیقه دم آوری نمونه‌های چای کمترین میزان کافئین (۸/۰۶ میلی گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به عصاره استخراجی از چای سبز چینی و بیشترین میزان آن (۲۵/۵۹ میلی گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به عصاره چای ماچا بود. پس از ۳۰ دقیقه دم آوری چای‌ها میزان کافئین موجود در تمامی عصاره چای‌های مورد بررسی افزایش یافت و بیشترین آن (۲۷/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به چای سیاه (CBT2) C.T.C و کمترین آن (۱۰/۲۸ میلی گرم بر لیتر کافئین خالص) متعلق به چای سبز چینی بود. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی تاثیر زمان دم آوری بر روی میزان کافئین نمونه‌های چای، مقایسه‌ای میان دم کرده‌های نمونه‌های چای مورد بررسی در دو زمان دم آوری ۱۰ و ۳۰ دقیقه صورت گرفت. مطابق نتایج به دست آمده از آزمون آماری Independent T-Sample Test، افزایش زمان دم آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان کافئین در عصاره‌های بدست آمده از چای‌های مورد بررسی شد که بیشترین میزان افزایش میزان کافئین در عصاره چای سیاه قلمی (BT2) (۳۰/۰۲ درصد) و کمترین آن در عصاره چای ماچا (۰/۱۹ درصد) مشاهده شد.

بحث

چای‌هایی که از گیاه کاملیاسیننسیس تهیه و تولید می‌شوند به سه گروه چای‌های غیرتخمیری(مانند چای‌های سبز و سفید)، نیمه تخمیری (مانند چای اولانگ) و کاملا تخمیری (مانند انواع چای سیاه) طبقه بندی می‌شوند. طبق یک قاعده کلی چای‌هایی که فرایند تخمیر بر روی آنها صورت نگرفته است، دارای میزان ترکیبات فنولی بیشتری هستند. بدین صورت که در حین فرایند تولید چای‌های تخمیری از فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز جلوگیری نمی‌شود و فعالیت این آنزیم باعث اکسید شدن ترکیبات فنولی چای سیاه و افت میزان این ترکیبات در این چای می‌شود اما در فرایند تولید چای‌های غیرتخمیری با اعمال حرارت از فعالیت این آنزیم جلوگیری می‌شود لذا ترکیبات فنولی در این نوع چای، اکسید نشده و دست نخورده باقی می‌مانند و این امر موجب بیشتر بودن میزان این ترکیبات در چای سبز نسبت به چای سیاه می‌باشد (Wang et al., 2022). در پژوهش حاضر نیز در هر دو زمان دم آوری بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل متعلق به عصاره‌های حاصل از چای‌های سیاه قلمی و بیشترین میزان متعلق به عصاره‌های حاصل از چای‌های سبز بود.

جدول٤- میزان کافئین در نمونه‌های چای پس از ۱۰ و ۳۰ دقیقه دم آوری

Table 4- The caffeine content of tea samples after 10 and 30 min of brewing

	The caffeine content of tea samples after 10 min of brewing (ppm of pure caffeine)	The caffeine content of tea samples after 30 min of brewing (ppm of pure caffeine)
Black tea (BT1)	14.54 [e]	17.65 [e]
Black tea (BT2)	11.82 [g]	15.93 [g]
C.T.C black tea (CBT2)	25.05 [b]	27.01 [a]
C.T.C black tea (CBT1)	23.87 [c]	24.38 [c]
Green tea (Iranian)	13.49 [f]	17.47 [f]
Green tea (Chinese)	8.06 [h]	10.28 [h]
Matcha tea	25.59 [a]	25.64 [b]
White tea	16.61 [d.B]	20.18 [d.A]

Different lowercase letters indicate a significant difference (P<0.05) in the amount of caffeine between treatments at a specific brewing time**.**

حروف کوچک مختلف بیانگر تفاوت معنی دار ($p<۰/۰۵$) در مقدار کافئین بین تیمارها در یک زمان مشخص دم آوری می باشد.

در سال ۲۰۰۲ نیز پژوهشی مشابه با پژوهش حاضر، صورت گرفت که میزان ترکیبات فنولی کل را در دو چای سبز (از سه برند متفاوت) و چای سیاه (از چهار برند متفاوت) را بایکدیگر مقایسه کردند و دریافتند که سطح ترکیبات فنولی کل در چای سبز بیشتر از چای سیاه است اما در یک مقایسه چای سیاه سیلان دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل بود در حالیکه چای سبز ژاپنی دارای کمترین مقدار بود. آنها دریافتند که سطح فنول کل در چای‌های مختلف بسیار متغیر است و مقایسه داده‌های حاصل از مطالعات مختلف بر روی چای‌های مختلف ممکن است برای این نتیجه‌گیری که نوع خاصی از چای به طور کلی از نظر میزان ترکیبات فنولی کل فقیر است یا غنی کافی نباشد (Magnusdottir and Khokhar, 2002).

همچنین در سال ۲۰۱۴ نیز پژوهشی در این زمینه انجام شد و خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی کل سه نوع چای سیاه، سفید و سبز تعیین و با یکدیگر مقایسه شد. نتایج حاکی از آن بود که میزان فنول کل در چای سبز بیشتر از چای سیاه و سفید بود. همچنین آنها در مقایسه برندهای مختلف از یک نوع چای دریافتند که بین اکثر آنها نیز تفاوت معنی‌دار وجود داشت (Pereira *et al*., 2014). زمان و نحوه برداشت چای‌ها نیز، در میزان ترکیبات مختلف موجود در آنها از جمله ترکیبات فنولی چای، تاثیر بسزایی دارند (Tseng and Lai., 2022). شایان ذکر است که زمان دم آوری از مهمترین عوامل تاثیرگذار بر میزان استخراج ترکیبات فنولی از جمله کاتچین‌های موجود در چای‌ها می‌باشد (Zhang *et al*., 2017). در پژوهشی که در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت، تأثیر زمان دم آوری چای سیاه را بر میزان ترکیبات فنلی کل بررسی کردند در این پژوهش چند نوع چای سیاه را در زمان‌های ۲/۵–۷/۵–۱۰–۱۵–۲۰–۲۵–۳۰ دقیقه دم آوری کردند و تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش نیز نشان داد که محتوی ترکیبات فنولی کل در همه عصاره‌های مختلف چای سیاه تهیه شده تا ۱۰ دقیقه، به طور معنی داری متفاوت است ($p<۰/۰۵$) و پس از آن در اکثر نمونه‌ها میزان محتوی فنول کل تفاوت معنی داری نداشت (Ramalho *et al*., 2012). در طی فرایند تخمیر بخش اعظمی از ترکیبات فنولی چای مانند کاتچین‌ها تخمیر شده و به تئافلاوین ها و تئاروبیگین‌ها تبدیل می‌شوند و تا حدی از میزان فعالیت آنتی اکسیدانی این چای‌ها کاسته می‌شود (Wang *et al*., 2022). با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نیز در هر دو زمان دم آوری بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به چای های سبز و کمترین آن متعلق به چای های سیاه قلمی بود.

مطابق با پژوهش‌های صورت گرفته آب و هوا و محل رشد گیاه چای تاثیر بسزایی در میزان ترکیبات زیست فعال چای و در نتیجه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد (Tseng and Lai., 2022). همچنین در سال ۲۰۲۲ نیز، خاصیت آنتی اکسیدانی چای‌های سبز و سیاه سریلانکا را تعیین کردند با توجه به نتایج به دست آمده دریافتند که چای سبز خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به چای سیاه دارد.

برخی مطالعات نشان می‌دهند که خاصیت آنتی اکسیدانی چای سیاه بهتر از چای سبز است اگرچه برخی دیگر عدم وجود هیچگونه تفاوت قابل توجهی را میان این دو چای گزارش می‌کنند، آنها نیز دریافتند که عوامل متعددی بر اجزای چای مانند نوع گونه، شرایط رشد، شیوه کشت، فناوری‌های مختلف تولید چای مانند ارتدکس، تاثیر گذارند و دلیل این تحقیقات متناقض هستند (Thennakoon *et al*., 2022). در سال ۲۰۲۲ نیز، خاصیت آنتی‌اکسیدانی چهار نوع چای سبز، سفید، سیاه و اولانگ را با یکدیگر مقایسه کردند. نتایج پژوهش آنها نیز حاکی از آن بود که چای سیاه و اولانگ به طور معناداری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به چای سبز و سفید هستند ($p<۰/۰۵$) و دریافتند که چای سبز غنی از کاتچین‌ها هستند که در خاصیت آنتی اکسیدانی بالای آن تاثیر بسزایی دارند (He *et al*., 2022). شرایط دم‌آوری چای‌ها مانند زمان دم‌آوری نیز بر میزان خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از چای‌ها تاثیرگذار می‌باشد (Pastoriza *et al*., 2016). بطوریکه در پژوهش حاضر، افزایش زمان دم‌آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های بدست آمده از چای‌های مورد بررسی شد. در سال ۲۰۱۶، تاثیر زمان‌های مختلف دم‌آوری را بر روی میزان خاصیت آنتی اکسیدانی دو نوع چای برگ چای سیاه و چای سیاه کیسه‌ای را مورد تحقیق قرار دادند. در این پژوهش چای‌های سیاه کیسه‌ایی در پنج زمان متفاوت و برگ چای‌های سیاه نیز در پنج زمان متفاوت تحت دم آوری قرار گرفتند. نتایج آن پژوهش نیز همانند پژوهش حاضر حاکی از آن بود که میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های چای سیاه و چای‌های سیاه کیسه ایی به زمان دم آوری آنها بستگی دارد (Nikniaz *et al*., 2016). در سال ۲۰۱۳ نیز تاثیر زمان دم آوری را مانند پژوهش حاضر بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی چای سیاه مورد آزمایش قرار دادند. نمونه‌های چای سیاه را در ۹ زمان متفاوت دم آوری کردند و خاصیت آنتی اکسیدانی آنها را مورد سنجش قرار دادند. نتایج آن پژوهش نیز بدین صورت بود که خاصیت آنتی اکسیدانی دم کرده‌های چای تا ۳۰ دقیقه دم آوری رو به افزایش هست اما در زمان‌های بعدی خاصیت آنتی اکسیدانی تقریبا ثابت باقی می‌ماند (Saha *et al*., 2013).

طبق بررسی‌های صورت گرفته با توجه به نمودارهای ۳ و ۴، کم بودن میزان همبستگی میان مقدار ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات دیگری باشد که همراه با ترکیبات پلی فنولی، در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌ها تاثیر بسزایی دارند به عنوان مثال چای سبز که منبع مغذی از آنتی‌اکسیدان‌ها در نظر گرفته می‌شود سرشار از پلی فنول‌ها (به ویژه کاتچین‌ها و اسید گالیک) است، اما حاوی کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، اسید اسکوربیک، مواد معدنی مانند کروم، منگنز و زینک و ترکیبات فیتوشیمیایی خاص نیز می‌باشد که این ترکیبات می‌توانند پتانسیل آنتی اکسیدانی این چای را افزایش دهند لذا نمی‌توان میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌های مورد بررسی را فقط مرتبط با میزان ترکیبات پلی فنولی دانست (Cabrera *et al*., 2013). به عنوان مثال دمنوش چای ماچا بسته به شرایط آماده‌سازی و نوع چای دارای ۳۲/۱۲ تا ۴۴/۸ میلی گرم در لیتر ویتامین C می‌باشد، همچنین با توجه به نحوه کشت چای ماچا، این چای دارای میزان رنگدانه کلروفیل قابل توجهی می‌باشد که از خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است (kochman *et al*., 2021).

از عوامل کلیدی و تاثیرگذار در میزان کافئین موجود در عصاره های حاصل از دم آوری انواع چای نیز میتوان به شرایط دم آوری مانند نوع حلال، زمان و دمای دم آوری اشاره کرد و از دیگر عوامل میتوان به نوع بسته بندی چای، اندازه برگ‌های چای اشاره نمود (Musilova and Kubickova., 2018). بطوریکه در پژوهش حاضر افزایش زمان دم‌آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه موجب افزایش میزان کافئین در عصاره‌های حاصل از دم آوری چای‌های مورد بررسی شد. طبق یک قاعده کلی با توجه به نحوه کشت چای ماچا که کشت در سایه می‌باشد بدین صورت که در طول پرورش این چای، از آنها در مقابل نور خورشید محافظت می‌شود و چای‌ها در سایه رشد می‌کنند که این نحوه کشت موجب افزایش تولید کافئین در این نوع چای نسبت به دیگر انواع چای، می‌شود (jakubczyk *et al*., 2020).

همچنین S.dobrinas و همکاران (۲۰۱۳)، تاثیر زمان دم آوری را بر میزان کافئین در چای‌های سیاه و سبز توسط دستگاه طیف سنج نوری در طول موج ۲۷۳ نانومتر

اندازه‌گیری کردند. آنها نیز نتیجه گرفتند که برای هر دو نوع چای از ۰/۵ تا ۱۵ دقیقه با افزایش زمان دم آوری، میزان کافئین به سرعت افزایش می‌یابد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده، افزایش زمان دم آوری از ۱۰ به ۳۰ دقیقه باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی کل و میزان کافئین در عصاره های بدست آمده از چای‌های مورد بررسی شد. بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به عصاره‌های حاصل از ۳۰ دقیقه دم آوری چای‌های سبز بود و نیز عصاره حاصل از ۳۰ دقیقه دم‌آوری چای سیاه C.T.C بیشترین میزان کافئین را دارا بود.

منابع

Chang, M.Y., Lin, Y.Y., Chang, Y.C., Huang, W.Y., Lin, W.S., Chen, C.Y., Huang, S.L. & Lin, Y.S., (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. Applied Sciences, 10(8), 2685. https://doi.org/10.3390/app10082685

Chu, C., Deng, J., Man, Y. & Qu, Y. (2017). Green tea extracts epigallocatechin-3-gallate for different treatments. BioMed Research International, 5615647. https://doi.org/10.1155/2017/5615647

Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M. & Mattei, J. (2018). The Role of Polyphenols in human health and food systems: A mini-review. Frontiers in Nutrition, 5, 87. https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087

Dobrinas, S., Soceanu, A., Popescu, V., Stanciu, G. & Smalberger, S. (2013). Optimization of a UV-VIS spectrometric method for caffeine analysis in tea, coffee and other beverages. Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology. Food Industry, 14(2), 71.

Garg, A.K., (2021). Quantitative Analysis of Caffeine in the Green Tea, Black Tea and Soft Drink Using UV-Visible Spectrophotometer. Indian Journal of Science and Technology, 14(37), 2860-2864. https://doi.org/10.17485/IJST/v14i37.2241

He, Y., Lin, Y., Li, Q. & Gu, Y. (2020). The contribution ratio of various characteristic tea compounds in antioxidant capacity by DPPH assay. Journal of food biochemistry, 44(7), p.e13270. https://doi.org/10.1111/jfbc.13270

Jakubczyk, K., Kochman, J., Kwiatkowska, A., Kałduńska, J., Dec, K., Kawczuga, D. & Janda, K. (2020). Antioxidant properties and nutritional composition of matcha green tea. Foods, 9(4), 483. https://doi.org/10.3390/foods9040483

Khokhar, S. & Magnusdottir, S.G.M. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. Journal of agricultural and food chemistry, 50(3), 565-570. https://doi.org/10.1021/jf010153l

Li, S., Lo, C.Y., Pan, M.H., Lai, C.S. & Ho, C.T. (2013). Black tea: chemical analysis and stability. Food & function, 4(1), 10-18. https://doi.org/10.1039/C2FO30093A

Mukhopadhyay, M., Mondal, T.K. & Chand, P.K. (2016). Biotechnological advances in tea (Camellia sinensis [L.] O. Kuntze): a review. Plant cell reports, 35, 255-287. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1884-8

Musilová, A. & Kubíčková, A. (2018). Effect of brewing conditions on caffeine content in tea infusions simulating home-made cup of tea. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly, 149, pp.1561-1566. https://doi.org/10.1007/s00706-018-2204-0

Musial, C., Kuban-Jankowska, A. & Gorska-Ponikowska, M. (2020). Beneficial properties of green tea catechins. International journal of molecular sciences, 21(5), 1744. https://doi.org/10.3390/ijms21051744

Nasirirad, R., Haddadkhodaparast, M., Elhamirad, A. & Roofigarihaghighat, Sh. (2013). Investigating the effect of harvest season and brewing conditions on total

phenolic compounds of Iranian green tea. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 8 (4), 349.352 [In Persian]

Nikniaz, Z., Mahdavi, R., Ghaemmaghami, S.J., Yagin, N.L. & Nikniaz, L. (2016). Effect of different brewing times on antioxidant activity and polyphenol content of loosely packed and bagged black teas (Camellia sinensis L.). Avicenna Journal of Phytomedicine, 6(3), 313.

Pereira, V.P., Knor, F.J., Vellosa, J.C.R. & Beltrame, F.L. (2014). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of Camellia sinensis (L.) Kuntze, Theaceae. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 16, 490-498. https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_061

Pastoriza, S., Perez-Burillo, S. & Rufián-Henares, J.Á. (2017). How brewing parameters affect the healthy profile of tea. Current Opinion in Food Science, 14, 7-12. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.12.001

Ramalho, S.A., Nigam, N., Oliveira, G.B., de Oliveira, P.A., Silva, T.O.M., dos Santos, A.G.P. & Narain, N. (2013). Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea. Food research international, 51(1), 155-161. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.031

Reygaert, W.C. (2017). An update on the health benefits of green tea. Beverages, 3(1), 6. https://doi.org/10.3390/beverages3010006

Saha, C., Pal, S., Ghosh, D. & Dey, S.K. (2013). Effect of infusion time and consecutive brewing on antioxidant status of black tea infusion. International Journal of Tea Science, 9(02 and 03), 65-68. https://doi.org/10.20425/ijts.v9i2and3.4541

Sielicka-Różyńska, M., Isik, E. & Szulc, J. (2020). Comparison of phenolic content and antioxidant activity of matcha, green leaf and white leaf tea infusions. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 26(6).

Shannon, E., Jaiswal, A.K. & Abu-Ghannam, N. (2018). Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: A kinetic study. Food Research, 2, 1–11. https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).117

Thennakoon, T.M.E.S., Abeysinghe, P.D., Ranasinghe, P., Pathirana, R.N., White, A., Fernando, W.G.D., Abeysinghe, S. & Premakumara, S. (2022). Total phenolic content, total flavonoid content and in vitro antioxidant activities measured by the FRAP, ABTS, DPPH and ORAC assays of Sri Lankan black and green tea (Camellia sinensis) infusions.

Wang, C., Han, J., Pu, Y. & Wang, X. (2022). Tea (Camellia sinensis): a review of nutritional composition, potential applications, and Omics Research. Applied Sciences, 12(12), 5874.
https://doi.org/10.3390/app12125874

Winiarska-Mieczan, A., & Baranowska-Wójcik, E. (2024). The Effect of Brewing Time on the Antioxidant Activity of Tea Infusions. *Applied Sciences*, *14*(5), 2014.
https://doi.org/10.3390/app14052014

Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q. & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. Animal Nutrition, 6, 115–123. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.01.001

Zhang, H., Li, Y., Lv, Y., Jiang, Y., Pan, J., Duan, Y., Zhu, Y. & Zhang, S. (2017). Influence of brewing conditions on taste components in Fuding white tea infusions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(9), 2826-2833. https://doi.org/10.1002/jsfa.8111

Zhang, L., Ho, C.T., Zhou, J., Santos, J.S., Armstrong, L. & Granato, D. (2019). Chemistry and biological activities of processed Camellia sinensis teas: A comprehensive review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18(5), 1474-1495. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12479

Effect of Brewing Time on Caffeine Content, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Tea Types (Black, White, Green and Matcha)

M. Giahi [a], M. Gharachorloo [b*], P. Ghasemiafshar [c]

[a] MSc Graduated of the Department of Food Science and Technology, Scienece and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[c] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran.

Received: 12 October 2024 Accepted: 7 February 2025

Abstract

Introduction: The production process of teas and their brewing conditions play a significant role in the properties and compounds found in various types of tea. In this research, the effect of tea brewing time on the amount of total phenolic compounds, antioxidant activity and caffeine content of extracts from four types of tea was investigated**.**

Materials and Methods: Black, white, green and matcha teas were brewed at a constant temperature of 90°C for 10 and 30 minutes, then the total phenolic compounds were determined by the Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity was measured by the DPPH and FRAP methods. Caffeine content was also measured by spectrophotometry.

Results: Increasing the brewing time from 10 to 30 minutes increased the antioxidant activity, total phenolic compounds, and caffeine content in the tea extracts. In 10 minutes of brewing the examined teas, the highest amounts of total phenolic compounds (360.10 g/L of gallic acid), antioxidant properties obtained from the Frap test (1681.36 µm FeSO4) and caffeine content (25.59 mmol/L) belonged to matcha tea while the highest IC50 value obtained from the DPPH test (3.98 mmol/L) belonged to black teas. In 30 minutes of tea brewing, the highest amounts of total phenolic compounds (379.87 mg/L of gallic acid) and antioxidant activities obtained from the FRAP test (1742.55 µm FeSO4) belonged to chinese green tea and Iranian green tea, respectively. The highest amounts of IC50 (2.78 g/L) and caffeine (27.01 mg/L) belonged to black teas.

Conclusion: The results showed that the type of tea and its brewing conditions have a significant effect on the amount of bioactive compounds present in the consumed tea extract.

Keywords: *Antioxidant Activity, Brewing, Caffeine, Total Phenolic Compounds, Tea.*

* Corresponding Author: m_gharachorlo@srbiau.ac.ir