

استخراج آبی ترکیبات فنلی چای سبز و سیاه به کمک فراصوت

*فرشته چکین^۱، نسترن کریمی روزبهانی^۲

^۱ دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت... آملی، ^۲ دانش آموخته گروه علوم و صنایع

غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت... آملی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۵

*مسئول مکاتبه: fchekin@yahoo.com

چکیده

ترکیبات فنلی، در گیاهان مختلف یافت می‌شوند اما بیش از همه در چای سبز حضور دارند. کاتچین‌های چای به عنوان گروهی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی طبیعی، دارای اثرات مفیدی و درمانی در بدن می‌باشند. از این رو استخراج و خالص‌سازی آن‌ها اهمیت بسیار دارد. امروزه استفاده از امواج فراصوت، با توجه به اثرات موثر آن در نگهداری و فرایند مواد غذایی رو به گسترش می‌باشد. این مطالعه برای شناسایی و استخراج ترکیبات فنلی موجود در چای سیاه و سبز با استفاده از فراصوت طراحی گردید. بدین صورت که ترکیبات فنلی موجود در چای توسط دستگاه فراصوت و بن‌ماری (برای دم‌آوری) در زمان‌ها و دماهای مختلف استخراج شد و مقدار آنها توسط دستگاه اسپکتروسکوپی UV-VIS تعیین گردید. در این بررسی امواج فراصوت به طور مستقیم در ترکیب مختلف زمانی (۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه) و دمایی (۲۵، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سانتیگراد) و بن‌ماری نیز در شرایط متفاوت زمانی (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) و دمایی (۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد) مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس آزمایشات انجام گرفته مقدار استخراج ترکیبات فنلی در چای سبز بیشتر از چای سیاه بوده و افزایش دما و زمان باعث افزایش میزان استخراج گردید. با توجه به نتایج، شرایط بهینه استخراج در چای سبز در دمای ۵۰°C و زمان ۳۰ دقیقه، دمای بن‌ماری ۵۰°C و زمان ۵ دقیقه بوده اما چای سیاه در دمای ۴۰°C و زمان ۳۰ دقیقه اولتراسوند، دمای ۵۰°C و زمان ۱۰ دقیقه بن‌ماری بیشترین استخراج را داشته است.

واژگان کلیدی: فراصوت، استخراج، ترکیبات فنلی، چای

مقدمه

اهمیت بسیار دارد (احمدزاده قویدل، ۱۳۹۰؛ حسنکاشی، ۱۳۸۹). کاربرد این ترکیبات به داروسازی محدود نشده و در موارد دیگری همچون مواد آرایشی _ بهداشتی و یا صنایع غذایی نیز می‌توان از آنها استفاده کرد (شی و همکاران، ۲۰۰۵؛ نصیری‌فر و همکاران، ۱۳۹۲).

ترکیبات فنلی، موادی هستند که در گیاهان مختلف یافت می‌شوند اما بیش از همه در چای سبز حضور دارند. با توجه به خواص درمانی آنها به عنوان گروهی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی طبیعی، استخراج و خالص‌سازی کاتچین‌ها

چای گیاهی است با مقادیر زیاد ترکیبات فنولی که کاتچین، کافئین و اسید گالیک مواد اصلی شناخته شده در آن می‌باشند و فواید بالینی آنها در مواردی مانند خاصیت ضدسرطانی، ضدجوش‌زایی، ضدبیماری و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (سرانو و همکاران، ۲۰۰۶؛ لو و همکاران، ۲۰۰۴؛ ال-بشیشی و همکاران، ۲۰۱۱). فلانوئیدها حاصل متابولیسم ثانویه گیاهان می‌باشند که به طور گسترده‌ای در قلمرو گیاهان یافت می‌شوند. این ترکیبات را می‌توان بر اساس ساختار و موقعیت حلقه هتروسیکلیک اکسیژن به شش گروه فلاون‌ها، فلاوانون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونول‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانین‌ها تقسیم‌بندی کرد (بانون و همکاران، ۲۰۰۷؛ کوماموتو و همکاران، ۱۹۹۸). مهمترین فلانوئید موجود در چای، فلاونول یا به طور دقیق‌تر کاتچین‌ها می‌باشند (لابه و همکاران، ۲۰۰۶؛ هارا، ۲۰۰۱؛ یوسف و همکاران، ۲۰۰۷). میزان حضور ترکیبات فنولیک در محصولات غذایی به صورت طبیعی یا غنی شده، نشان دهنده ارزش غذایی آن محصول در حفظ سلامتی بشر است؛ از این رو استخراج بهینه ترکیبات فنولیک حائز اهمیت می‌باشد (حیدری مجد و همکاران، ۱۳۹۱؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۱). امروزه استخراج این ترکیبات از طریق فن‌آوری‌های نوین در حال بررسی بوده و استخراج به کمک فراصوت، یکی از مهمترین روش‌های استحصال ترکیبات ارزشمند از منابع غذایی است که در مقیاس صنعتی و آزمایشگاهی قابل اجرا می‌باشد. در مقایسه با سایر روش‌های

استخراج، از جمله استخراج بر پایه ماکروویو، استفاده از امواج فراصوت ارزان‌تر بوده و کاربرد آن ساده‌تر است (لی و همکاران، ۲۰۰۴؛ جرکویک و همکاران، ۲۰۰۷؛ کرمی و همکاران، ۱۳۹۰). امواج فراصوت، مراحل فرایند استخراج یعنی تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره بافت، همچنین بهبود انتشار و انتقال جرم را تسهیل و تسریع می‌کنند (ماسون، ۱۹۹۶؛ ویلخ و همکاران، ۲۰۰۸؛ شوان و همکاران، ۲۰۱۱). از این رو استفاده از این امواج در استخراج ترکیبات مختلف از منابع غذایی، راندمان عمل و سرعت فرایند استخراج را افزایش داده، مصرف حلال را کاهش می‌دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را نیز امکان‌پذیر می‌سازد (ونگ و همکاران، ۲۰۰۶؛ یاکین و همکاران، ۲۰۰۹). تاکنون تحقیقات محدودی توسط آریان‌فر و همکاران (۲۰۱۵) مرتبط با اثر فراصوت بر استخراج آبی ترکیبات فنلی از چای گزارش شده است. از این رو در این پژوهش، استخراج آبی فنل‌ها و اثر فاکتورهای مختلف نظیر دما و زمان و نیز اثر فراصوت بر راندمان استخراج فنل در محیط آبی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها: در این تحقیق از دو نوع چای (چای سبز و چای سیاه: گلستان، ایران)، معرف فولین سیوکالچو (مرک، آلمان) و کربنات

استاندارد اسید گالیک، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین- سیوکالچو (برای تهیه این معرف، معرف فولین- سیوکالچو غلیظ با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد) و ۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه گردید و با آب خالص به حجم نهایی رسانده شد. محلول در طول شب، نگهداری گردید و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: بررسی مقایسه‌ای اثر فراصوت و دم‌آوری در استخراج آبی ترکیبات فنلی در دو نمونه چای سبز و سیاه، با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تیمارها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج به دست آمده، توسط روش‌های آنالیز واریانس یکطرفه (One- Way - ANOVA) و آنالیز واریانس تک متغیره GLM Univariate بررسی شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال $P < 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. آنالیزهای آماری نیز با استفاده از نرم افزار Spss V.16 انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL رسم گردید.

بحث و نتایج

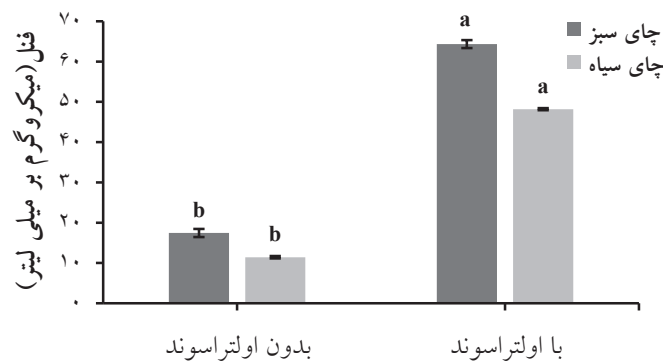
اثر فراصوت: نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی مقایسه‌ای استخراج فنل در دو شرایط با فراصوت و بدون فراصوت در دو نمونه چای سبز و سیاه در شکل (۱) نشان می‌دهد که دو شرایط استخراج با یکدیگر دارای اختلاف آماری

سدیم (مرک، آلمان) استفاده شد. در ابتدای کار، ۲ گرم از نمونه چای با ۵ میلی لیتر آب مقطر در دمای محیط مخلوط شده و سپس در مدت زمان متفاوت (۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه) با دمای مختلف (۲۵، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سانتیگراد) در حمام اولتراسوند (فرکانس ۶۰ کیلو هرتز) قرار گرفتند. آنگاه نمونه‌ها در حمام بن‌ماری با دمای متفاوت (۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد) در زمان‌های مختلف (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه) جای گرفتند تا دم کردن صورت گیرد. در مرحله بعد، نمونه‌ها خنک شده، با کاغذ صافی (واتمن ۴۴)، صاف گردید و عصاره‌ی آن از تفاله جدا شد. نمونه صاف شده، تا ۱۰ برابر با آب مقطر رقیق گردید و در ادامه ۱ میلی لیتر از نمونه رقیق، با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالچو ۰/۵٪ حجمی مخلوط و به مدت ۳ دقیقه همزده شد. سپس به لوله‌های نمونه، ۱ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۳/۲۵ گرم وزنی اضافه گردید و عمل اختلاط صورت پذیرفت. در نهایت نمونه‌ها پس از ۱ ساعت نگهداری در دمای اتاق، در داخل سل ریخته و جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروسکوپی UV-Vis در طول موج ۷۶۵ nm خوانده شد (آلودات و همکاران، ۲۰۱۰). در این تحقیق، آب مقطر به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

رسم نمودار استاندارد: برای رسم نمودار استاندارد، محلول‌های استاندارد اسید گالیک در متانول با غلظت‌های مختلف در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۷ میلی گرم در میلی لیتر آماده شد. سپس به بالن ژورنه‌های ۵۰ میلی لیتری، ۱ میلی لیتر محلول

می‌دهد. کرمی و همکاران (۱۳۹۰) به استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه شیرین‌بیان، با کمک اولتراسوند و سوکسله پرداخته و بیان داشتند با توجه به میزان بالای استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه شیرین‌بیان در زمان کوتاه، بهبود کیفیت ترکیبات فنولی استخراج شده و کاهش حلال مصرفی، روش استخراج با اولتراسونیک جایگزین مناسبی برای روش‌های سنتی (سوکسله) می‌باشد. همچنین یاکین و همکاران (۲۰۰۹) ضمن بررسی روند استخراج ترکیبات فنولیک از نوعی مرکبات بیان داشتند که استفاده از اولتراسونیک باعث افزایش معناداری در استخراج ترکیبات فنولیک نسبت به روش غرقابی شده است.

معنی‌داری بودند ($P < 0/05$). به طوری که در هر دو نمونه چای، فراصوت از تأثیر بسزایی در استخراج ترکیبات فنولی برخوردار بوده و بالاترین میزان ترکیبات فنل را داشته است. به نظر می‌رسد که امواج فراصوت، مراحل فرایند استخراج یعنی تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره بافت و همچنین بهبود انتشار و انتقال جرم را تسهیل و تسریع می‌کنند (ونگ و همکاران، ۲۰۰۶؛ حسین و همکاران، ۲۰۱۲؛ ونگ و همکاران ۲۰۱۳). از این رو استفاده از این امواج در استخراج ترکیبات مختلف از منابع غذایی، راندمان عمل و سرعت فرایند استخراج را افزایش



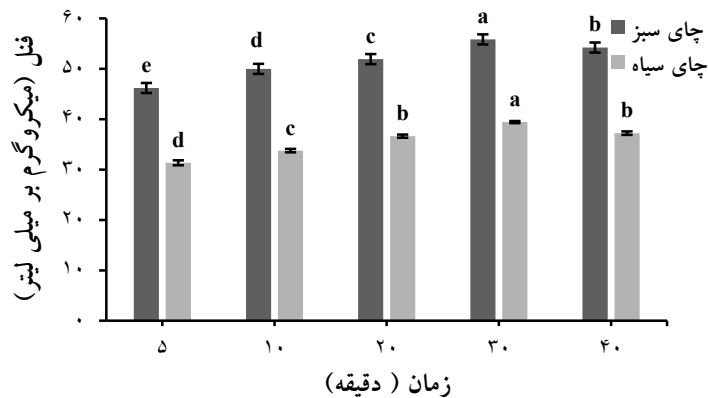
شکل ۱- مقایسه میانگین فنل استخراج شده از دو شرایط: استفاده از دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، مدت ۳۰ دقیقه، فراصوت ۶۰ کیلو هرتزی و عدم استفاده از فراصوت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، مدت ۵ دقیقه، با بکارگیری بن‌ماری برای دو نمونه چای

به استثنای زمان‌های ۲۰ و ۴۰ دقیقه، نمونه چای سیاه دارای اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر بودند ($P < 0/05$) و در مقایسه بین دو نمونه در هر زمان همواره نمونه چای سبز، میزان فنل بالاتری نسبت به نمونه چای سیاه داشته است.

زمان فراصوت: نتایج آنالیز آماری داده‌های حاصل از ارزیابی فراصوت و بررسی فاکتور زمان بر میزان بازده استخراج ترکیبات فنولی در دو نمونه چای سبز و سیاه در شکل (۲) نشان می‌دهد که از نظر میزان فنل استخراج شده در زمان‌های مختلف

زمان‌های بیشتر، کاتچین‌هایی با وزن مولکولی بالا نظیر اپی کاتچین گالات (ECG) و اپی گالوکاتچین گالات (EGCG) نیز اضافه گردیده و افزایش قابل ملاحظه‌ای در مقدار فنل‌ها مشاهده می‌شود (پرایس و همکاران، ۱۹۹۴؛ نصیری‌راد و همکاران، ۱۳۹۱).

هر دو نمونه زمان‌های ۳۰ و ۵ دقیقه به ترتیب، از بیشترین و کمترین میزان استخراج فنل برخوردار بودند. به نظر می‌رسد که در مدت زمان کمتر از ۳۰ دقیقه، ترکیبات فنلی از جمله کاتچین‌هایی با وزن مولکولی کم، مانند اپی کاتچین (EC) و اپی گالوکاتچین (EGC) استخراج می‌شوند اما در



شکل ۲- مقایسه میانگین بازده فنل استخراج شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد از فراصوت (بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه) با تأثیر زمان‌های متفاوت فراصوت (فرکانس ۶۰ کیلو هرتز) بر دو نمونه چای

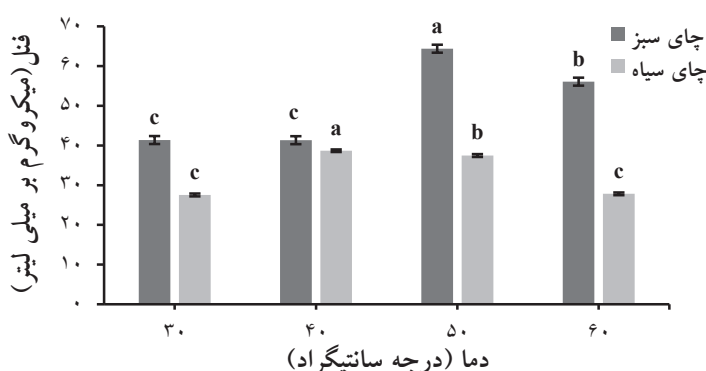
است. تحقیق انجام شده توسط کومز و همکاران (۲۰۰۹) و کاروری و همکاران (۲۰۰۷) بر روی نمونه‌های چای کشورهای چین، ژاپن و کنیا نیز نشان داد که میزان پلی فنل کل نمونه‌های چای سبز بیشتر از انواع چای سیاه بوده و تفاوت معناداری بین مقادیر به دست آمده، وجود دارد. به طوری که دو شرایط دمایی ۳۰ و ۵۰ درجه سانتیگراد برای چای سبز و دو شرایط دمایی ۴۰ و ۳۰ درجه سانتیگراد برای چای سیاه، به ترتیب از بیشترین و کمترین میزان استخراج فنل برخوردار بودند. به نظر می‌رسد در دماهای پایین،

دمای فراصوت: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از ارزیابی فراصوت بر میزان بازده استخراج ترکیبات فنلی در دو نمونه چای سبز و سیاه تحت شرایط دمایی ۳۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد در شکل (۳) نشان می‌دهد که میزان فنل استخراج شده در شرایط دمایی ۳۰ درجه و ۴۰ درجه سانتیگراد در چای سبز و نیز ۳۰ درجه با ۶۰ درجه سانتیگراد در چای سیاه، فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده است ($P > 0.05$). البته در هر شرایط دمایی همواره نمونه چای سبز، بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنل را داشته



بالا از مقاومت حرارتی زیادی برخوردار نبوده و مقدار فنل کاهش می‌یابد. غفور و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که رابطه خطی بین میزان کاتچین‌های استخراج شده و دمای فراصوت وجود ندارد.

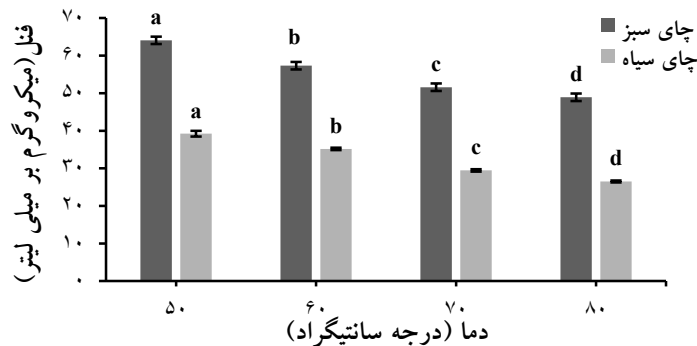
حلالیت ترکیبات فنلی از جمله کاتچین‌ها با وزن مولکولی بالا، کم می‌باشد اما با افزایش دما تا ۵۰ درجه برای چای سبز و ۴۰ درجه برای چای سیاه، بیشترین فنل را داریم. از سوی دیگر می‌توان گفت با افزایش دما، کاتچین‌های با وزن مولکولی



شکل ۳- مقایسه میانگین بازده فنل استخراج شده به مدت ۳۰ دقیقه از فراصوت (بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه) با توجه به تأثیر فاکتورهای دمایی مختلف فراصوت (فرکانس ۶۰ کیلو هرتز) بر دو نمونه چای

دمای ۵۰ درجه تقریباً تمام کاتچین‌های دارای وزن مولکولی کم و زیاد، وارد فاز محلول شدند و افزایش دما نه تنها به میزان استخراج فنل‌ها کمک نمی‌کند، بلکه اثر منفی نیز داشته است؛ زیرا بیشتر کاتچین‌های با وزن مولکولی زیاد، در دمای بالا تجزیه می‌گردند. وانیکا و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتایج مطالعات انجام شده خود را این گونه بیان کردند که شدت دم کردن در کنار سایر فاکتورهای مربوط به گیاه، کشت و خاک باغ، بر روی میزان کاتچین‌های استخراج شده تأثیر می‌گذارد.

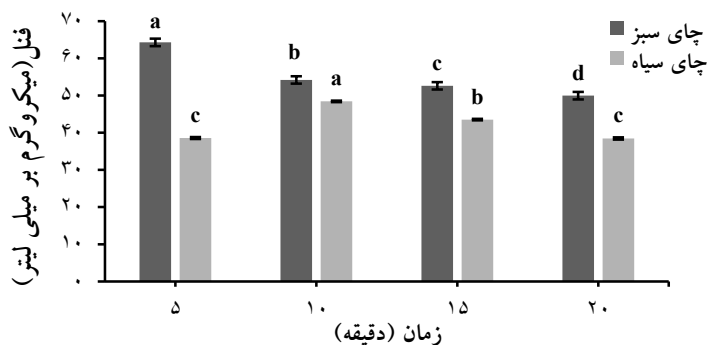
دمای بن‌ماری: طبق شکل (۴) بررسی فاکتور دمای حاصل از بن‌ماری بر میزان ترکیبات فنلی استخراج شده در دو نمونه چای سبز و سیاه نشان می‌دهد که میزان فنل استخراج شده در دو نمونه چای، با افزایش دما روند کاهشی داشته و اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$), به طوری که هر دو نمونه در دماهای ۵۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد به ترتیب، بیشترین و کمترین میزان استخراج فنل را داشتند. همچنین در تمامی موارد همواره چای سبز از بالاترین میزان ترکیبات فنلی برخوردار بوده است. به نظر می‌رسد که تا



شکل ۴- مقایسه میانگین بازده فنل استخراج شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه از فراصوت (۶۰ کیلو هرتز) و مدت زمان ۵ دقیقه بن ماری با توجه به تأثیر دماهای مختلف بن ماری بر دو نمونه چای

می‌گیرد، در حالی که برای چای سیاه در زمان کمتر از ۱۰ دقیقه عمده کاتچین‌های با وزن مولکولی کم و مقداری از کاتچین‌های دیگر استخراج می‌شوند اما در مدت زمان بیشتر دم‌آوری، استخراج کاتچین‌های بیشتر انجام نمی‌گیرد. در واقع تحقیقات نشان داده که سرعت خروج فلاوانول‌های بدون گالات بیشتر از فلاوانول‌های دارای گالات می‌باشد (شارما و همکاران، ۲۰۰۵) و تفاوت در وزن مولکولی کاتچین‌ها عامل اصلی در وابستگی آنها به زمان دم‌آوری است. بازینت و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند.

زمان بن ماری: تأثیر مدت زمان استفاده از بن ماری بر میزان بازده استخراج ترکیبات فنلی در دو نمونه چای سبز و سیاه مطابق شکل (۵) نشان می‌دهد که فقط در نمونه چای سیاه، میزان فنل استخراج شده بین فواصل زمانی ۵ تا ۲۰ دقیقه فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده ($P > 0/05$)، در حالی که در دیگر زمان‌ها در هر دو نمونه اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). البته در تمامی زمان‌ها، چای سبز دارای مقادیر بیشتری ترکیبات فنلی نسبت به چای سیاه بوده است. به نظر می‌رسد عمده استخراج کاتچین‌ها در چای سبز در همان ۵ دقیقه اول صورت



شکل ۵- مقایسه میانگین بازده فنل استخراج شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه از فراصوت و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد بن ماری با توجه به تأثیر مدت زمان‌های مختلف بن ماری بر دو نمونه چای

نتیجه گیری

مقایسه میانگین فنل استخراج شده از دو شرایط استفاده و عدم استفاده از فراصوت در دو نمونه چای سبز و سیاه نشان داد که بازده استخراج با کمک فراصوت به دلیل تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره بافت و همچنین بهبود انتشار و انتقال جرم، بیشتر از عدم استفاده از فراصوت است. همچنین نتایج نشان داد که در مدت زمان کمتر از ۳۰ دقیقه کاتچین‌های با وزن مولکولی کم مانند اپی کاتچین و اپی گالوکاتچین استخراج می‌شوند اما در زمان‌های طولانی‌تر، کاتچین‌های با وزن مولکولی زیاد نظیر اپی کاتچین گالات و اپی گالوکاتچین گالات اضافه شده و افزایش در مقدار فنل‌ها

مشاهده می‌گردد. از سوی دیگر در دماهای پایین، حلالیت ترکیبات فنلی کم است اما با افزایش دما تا ۵۰ درجه برای چای سبز و ۴۰ درجه برای چای سیاه، بیشترین میزان این ترکیبات را خواهیم داشت. مقایسه میانگین بازده فنل استخراج شده از تأثیر فاکتور دماهای مختلف بن‌ماری بر چای سبز و سیاه نشان داد که تا دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تقریباً تمام کاتچین‌های با وزن مولکولی کم و زیاد وارد فاز محلول می‌شوند. همچنین میانگین بازده فنل استخراج شده از تأثیر مدت زمان‌های مختلف بن‌ماری بر چای نشان داد که در مدت زمان کم دم‌آوری، ممکن است کاتچین‌های با وزن مولکولی بالا استخراج نشوند و نیاز به مدت زمان بیشتری جهت دم‌آوری داشته باشند.

منابع

۱. احمدزاده قویدل، ر.، قیافه داوودی، م.، شیخ‌الاسلام، ز. و بهمن‌آبادی، ج. ۱۳۹۰. بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک میوه زرشک توسط فناوری اولتراسوند. همایش ملی صنایع غذایی (فن‌آوری‌های نوین، کنترل کیفیت و بسته‌بندی مواد غذایی)، قوچان، ایران.
۲. حسناکاشی، س. ۱۳۸۹. استخراج کاتچین‌ها از برگ چای سبز با استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران، ۱۲-۴.
۳. حیدری مجد، م. و مرتضوی، س. ع.، اصیلی، ج.، بلوریان، ش.، آرمین، م. و عبدالشاهی، آ. ۱۳۹۱. بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه پونه گاوی با دستگاه اولتراسوند. *داروهای گیاهی*، دوره ۳، شماره ۱، ۱۳-۷.
۴. صمصام شریعت، س. ه. ۱۳۷۱. *عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها*. انتشارات مانی، اصفهان، ۳۴-۲۰.
۵. کریمی، ز.، امام جمعه، ز.، میرزایی، ح.، صادقی ماهونک، ع.، خمیری، م. و آیدانی، ع. ۱۳۹۰. بررسی و مقایسه روش‌های استخراج به کمک اولتراسوند و سوکسله در استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه

- شیرین بیان. فرآوری و نگهداری مواد غذایی، دوره ۳، شماره ۲، ۲۲-۱.
۶. نصیری فر، ز.، صادقی ماهونک، ع. و کمالی، ف. ۱۳۹۲. تاثیر شرایط عصاره گیری به کمک فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه داغداغان. فرآوری و نگهداری مواد غذایی، دوره ۵، شماره ۲، ۱۳۰-۱۱۵.
۷. نصیری راد، ر.، حداد خداپرست، م. ح.، الهامی راد، ا. ح. و روفیگری حقیقت، ش. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر فصل برداشت و شرایط دم آوری بر میزان کل ترکیبات فنولیک چای سبز ایرانی. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۸، شماره، ۳۵۲-۳۴۹.
8. Alu'datt, M., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M., Al-Tawaha, A. and Rababeh, T. 2010. Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. *Food Chemistry*, 123: 117-122.
9. Arianfar, A., Shahidi, F., Kadkhodayi, R. and Varidi, M. 2015. Evaluation of factors effecting on extraction of the green tea polyphenols and antioxidant properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11: 285-295.
10. Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M., Garrido, M.D. and Price, A. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 19: 432-437.
11. 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.
12. El-Beshbishy, H.A., Tork, O.M., El-Bab, M.F. and Autifi, M.A. 2011. Antioxidant and antiapoptotic effects of green tea polyphenols against azathioprine-induced liver injury in rats. *Pathophysiology*, 18: 125-135.
13. Ghafoor, K., Choi, Y.H., Jeon, J.Y., Jo, I.H. 2009. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Agricultural Food Chemistry*, 57: 4988-4994.
14. Hara, Y. 2001. *Green Tea: Health Benefits and Applications*. CRC Press, Boca Raton, 280 p.
15. Hossain, M.B., Brunton, N.P., Patras, A., Tiwari, B. and O'Donell, C.P. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 582-590.
16. Kumamoto, M. and Sonda, T. 1998. Evaluation of the antioxidative activity of tea by an oxygen electrode method. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 62: 175-177.
17. Labbe, D., Tremblay, A. 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.
18. Li, J., Shen, D., Li, Y. and Zhang, R. 2004. Ultrahigh pressure extraction as a tool to improve the antioxidant activities of green tea extracts. *Food Research International*, 44: 2783-2787.
19. Luo, Q., Cai, Y., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157-2184.
20. Jerkovic, I., Mastelic, J., Marijanovic, Z., Klein, Z. and Jelic, M. 2007. Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia* L. & *Castanea sativa* L. *Ultrasonics*

Sonochemistry, 14: 750-756.

21. Karori, S.M., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K. and Ngure, R.M. 2007. Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6: 2287-2296.
22. Komes, D., Horzic, D., Belscak, A., Kovacevic, K. and Baljak, A. 2009. Determination of caffeine content in tea and mate tea by using different methods. *Czech Journal of Food Science*, 27: 213- 216.
23. Price, W.E. and Spitzer J.C. 1994. The kinetics of extraction of individual flavanols and caffeine from a Japanese green tea (Sen Cha Uji Tsuyu) as a function of temperature. *Food Chemistry*, 50: 19-23.
24. Quan, V.V., Costase, S. and Pauld, R. 2011. Isolation of green tea catechins and their utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 27: 227-247.
25. Serrano, J., Goñi, I. and Saura, C.F. 2006. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40: 15-21.
26. Sharma, V., Gulati, A. and Ravindranath, S.D. 2005. Extractability of tea catechins as a function of manufacture procedure and temperature of infusion. *Food Chemistry*, 93: 141-148.
27. Shi, J, Nawaz, H, Pohorly, J. and Mittal, G. 2005. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods—engineering and technology. *Food Reviews International*, 21: 1-12.
28. Mason, T.j., Paniwnyk, L. and Lorimer, J.P. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics sonochemistry*, 3: 253-260.
29. Vilkh, K., mawson, R., Simons, L. and Bates, D. 2008. Application & opportunities for ultrasound assisted in the food industry. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 161-169.
30. Wang, L. and Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 300-312.
31. Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q. and Wu, Q. 2013. Optimisation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from Sparganii rhizoma with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 846-854.
32. Wanyiaka, H.N., Gatebe, E.G., Gitu, L.M., Ngumba, E.K. and Maritim, C.W. 2010. Determination of caffeine content of tea and instant coffee brands found in the Kenyan market. *African Journal of Food Science*, 4: 353-358.
33. Ya-Qin, M. and Jian-Chu, Ch. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compound of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 57-62.
34. Yusuf, N., Irby, C., Katiyar S. K. and Elmets, C.A. 2007. Photoprotective effects of green tea polyphenols. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 23: 48-56.

Aqueous extraction of phenolic compounds of green and black tea by ultrasound

*F. Chekin¹, N. Karimi Rouzbahani²

¹ Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Science, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, ² MSc Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Food Science, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch

Received: 27-11-2016; Accepted: 4-1-2017

Abstract

The phenolic compounds are found in different plants but there is more in green tea. Extraction and purification of catechins as the natural antioxidants with clinical and health impact on the body are very important. Recently, the use of ultrasound because of its beneficial effect on preserving and processing of food materials is increasing. This study has been designed to identify and extract of phenolic compounds in black and green tea using ultrasound. The phenolic compounds in tea were extracted by ultrasound and water bath instruments in different times and temperatures and were measured by UV-Vis spectroscopy. In this investigation, direct ultrasound was studied at different intervals (5, 10, 20 30 and 40 min) and temperatures (25, 30, 40 and 50 °C) of ultrasound and different times (5, 10, 20, and 30 min) and temperatures (50, 60, 70 and 80 °C) of water bath. According to the experiments, the extracted phenolic compounds in green tea are more than black tea, and also the increase of temperature and time increases the extraction yield. The optimized conditions of extraction for green tea is temperature of 50 °C and time of 30 min of ultrasound and temperature of 50 °C and time of 5 min of water bath. But for black tea, the most extraction yield obtained at 40 °C and 30 min of ultrasound and temperature of 50 °C and time of 10 min of water bath.

Keywords: Ultrasound, Extraction, Phenolic compounds, Tea