تعيين المحتوى الكلي لمتعددات الفينول وللفلافونويدات والكاتشين EGCG-(-) في منقوع خمسة أنواع من الشاي المحضر بطريقة النقع المستمر

ميسون الحافظ[1] وملك الجبة[2] وفادي خضر[3]

تاريخ الإيداع 2013/04/15
قبل للنشر في 2013/06/18

الملخص

عُيّن المحتوى الكلي لمتعددات الفينول (TP) والفلافونويدات (TF) والكاتشين (-)-إيبي غالو كاتشين غالات (EGCG-(-)) في منقوع خمس عينات من الشاي الأسود والأخضر والأبيض بطريقة النقع المستمر، بنسبة نقع 20 غ في لتر من الماء درجة حرارته 85±5 °C ولأزمنة نقع بين 5-180 دقيقة. أظهرت النتائج أن أعلى تركيز للـTP كان بعد 180 دقيقة من نقع أوراق الشاي الأبيض بأنواعه الثلاثة المدروسة Wt-S وWt-P وWt-A، في حين احتاج كل من الشاي الأسود والأخضر مدة نقع أقل (5 و30 دقيقة على الترتيب) لتحرر الكمية العظمى من الـTP إلى المنقوع. وتبيّن أيضاً تقارب تراكيز متعددات الفينول المتحررة في منقوع أنواع الشاي المدروسة جميعها بعد النقع مدة 60 دقيقة. أعطى منقوع الشاي الأخضر والأبيض WT-S أعلى محتوى من الـEGCG بعد النقع 5 دقائق و180 دقيقة على الترتيب، بخلاف منقوع الشاي الأسود الذي يتميّز بأقل كمية من الـEGCG خلال أزمنة النقع جميعها.

تختلف الكميات المتحررة من TP وEGCG في منقوع الشاي بحسب عدة عوامل منها نوعه وشكله وزمن النقع، ولكن يمكن القول: إنَّ النقع مدة ساعة واحدة يكفي لتحرير أكبر كمية من متعددات الفينول والكاتشين EGCG، وإنَّ أي زيادة في زمن النقع لن تؤدي إلى زيادة ملحوظة في تراكيز هذه المركبات، بل قد تتسبب في خسارة بعض المركبات المرغوب فيها فضلاً عن هدر الطاقة والوقت.

الكلمات المفتاحية: متعددات الفينول، فلافونويدات، (-)-إيبي غالو كاتشين غالات (EGCG-(-))، نقع مستمر، شاي.

[1]طالبة ماجستير، [2]الأستاذ المشرف، [3]الأستاذ المشرف المشارك، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

Determination of total polyphenols, total flavonoids and (-)-EGCG in five tea infusions made by continuous infusion method.

M. AlHafez[(1)], M. AlJoubbeh[(2)] and F. Kheder[(3)]

Received 15/04/2013

Accepted 18/06/2013

ABSTRACT

Total polyphenols (TP), total flavonoids (TF) and (-)-epigallocatechin gallate ((-)-EGCG) were determined in five commercial tea infusions by continuous infusion method, using the ratio 20g of tea to 1L of water at 85±5 °C and brewing time between 5-180 min. The results showed that the highest content of TP was measured after 180 min of brewing for the three white teas (Wt-S, Wt-P and Wt-A), while it took a shorter infusion time for the black and the green tea (5 and 30 min, respectively). The results also indicated that TP concentration reached a similar value for all studied teas after brewing for 60 min. The highest amount of EGCG was obtained after 5 min of brewing for green tea, and 180 min for Wt-S. Whereas black tea infusion had the lowest amount of EGCG at all brewing times.

TP and EGCG content in tea infusions differ according to several factors, such as tea type, form and infusion time. However it's advised to brew for one hour at most when preparing tea infusion by continuous method to release the highest amount of TP and EGCG. Any further time might cause a loss of some important compounds in tea, as well as wasting time and energy.

Keywords: Polyphenols, Flavonoids, (-)-epigallocatechin gallate ((-)-EGCG), Continuous Infusion, Tea.

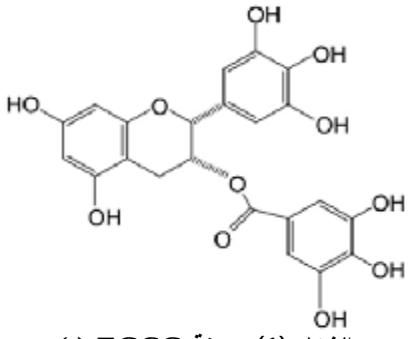
[(1)]MSC., Student, [(2)] Superviser, [(3)] Associated superviser, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria.

المقدمة

يُعدُّ الشاي المشروب الثاني عالمياً بعد الماء، وذلك لرائحته الزكية ونكهته المميزة ولفوائده الصحية. تنحدر أنواع الشاي جميعها من نبتة واحدة اسمها العلمي *Camellia sinensis* من عائلة Theaceae (Martin, 2007). يُعرف للشاي عدة فوائد منها أنه قد يمنع من تطور بعض أنواع السرطان، ويسرع استهلاك الشاي من معدل الاستقلاب ويزيد من عملية أكسدة الشحوم، ممَّا يساعد على إنقاص الوزن، وأكدت العديد من الدراسات أن تناول الشاي يمنع تشكل الحصى الكلوية بعكس المعتقد السائد، فضلاً عن أن الشاي الأخضر يخفض تركيز الغلوكوز في الدم. (Nagle, Ferreira, & Zhou, 2006 ;Sajilata, Bajaj, & Singhal, 2008; Chacko, Thambi, Kuttan, & Nishigaki, 2010).

يعود الاختلاف بين أنواع الشاي إلى اختلاف طرائق المعالجة بعد القطاف، إذْ تمر الأوراق المقطوفة حديثاً عبر واحدة أو أكثر من خطوات المعالجة وهي التذبيل ثم اللف ثم التخمير (الأكسدة) ثم التجفيف وأخيراً التصنيف. تعدُّ مرحلة التخمير الخطوة الأهم في عملية تحضير أوراق الشاي لأنها تحدد طعم الشاي الناتج وقيمته ونوعه (Martin,2007). تنتج أنواع الشاي الأربعة الرئيسة عند معالجة الأوراق الطازجة، إذ ينتج الشاي الأسود عندما تخضع أوراق الشاي لمراحل المعالجة جميعها، في حين ينتج الشاي أولونغ Oolong عن تخمير الأوراق جزئياً، أمَّا الشاي الأخضر فلا يخضع لعملية الأكسدة، وهذا ما يجعله يحافظ على لونه الأخضر (Martin, 2007)، ويعدُّ الشاي الأبيض الأقل تعرضا للمعالجة إذْ يمر فقط بمرحلة التجفيف. يتكون الشاي الأبيض من البراعم والأوراق المقطوفة قبل تفتحها الكامل التي تحمل شعيرات بيضاء صغيرة ومن هنا اكتسب هذا الشاي اسمه (Sajilata, Bajaj, & Singhal, 2008) .

يتكون الشاي من كثير من المركبات من أهمها الكافيين والحموض الأمينية والحموض العضوية والأصبغة والمعادن ومتعددات الفينول (Polyphenols). يختلف تركيز مكونات منقوع الشاي بحسب نوع الشاي وصنفه ومنشأه وعوامل نموه التي تؤثر في تركيز مكونات أوراق الشاي، كما تؤثر طرائق تحضيره ونقعه في كمية متعددات الفينول المتحررة إلى المنقوع ونوعيتها التي تعدُّ مسؤولة جزئياً عن لون مشروب الشاي وطعمه القابض ونكهته (Hara, Lou, Wickremasinghe, & Yamanishi, 1995; Harbowy, Balentine, Davies, & Cai, 1997;Chacko, Thambi, Kuttan, & Nishigaki, 2010).



الشكل (1) صيغة EGCG-(-)

تقسم متعددات الفينول إلى عدة مجموعات منها الفلافونويدات Flavonoids ومن أهمها الكاتشينات Catechins وهي ثماني مركبات، لكن التشابه في صيغ هذه الكاتشينات يجعل من فصلها وتحليلها كمياً عملاً صعباً نوعاً ما (Song, Lin, Qu, & Huie, 2003)، ومع ذلك فقد أظهرت بعض الدراسات إمكانية تحديد تركيز إحدى هذه الكاتشينات (-)-إيبي غالوكاتشين غالات EGCG-(-) (الشكل 1) في الشاي، وذلك لارتفاع تركيزه مقارنة بغيره من الكاتشينات (Kyle & Duthie, 2006). ولوجود متعددات الفينول في الشاي -وخاصة الكاتشينات- فوائد صحية عديدة (Nagle, Ferreira, & Zhou, 2006; Sajilata, Bajaj, & Singhal, 2008)

هَدَفَ هذا البحث إلى تعيين المحتوى الكلي لمتعددات الفينول والفلافونويدات ومقارنتها بالطريقة الطيفية والكاتشين EGCG باستخدام الـHPLC في منقوع خمسة أنواع مختلفة من الشاي الأسود والأخضر والأبيض المحضرة بطريقة النقع المستمر التي تُعدُّ تطبيقاً لتحضير مشروب الشاي باستخدام السماور.

مواد البحث وطرائقه

الأجهزة والمواد المستخدمة

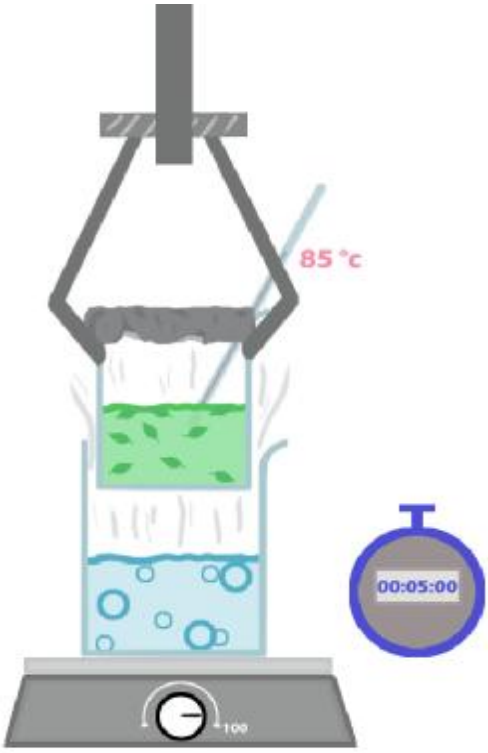
استُخدمت خمسة أنواع من الشاي: شاي أسود (Bt) وشاي أخضر (Gt) وشاي أبيض (Wt-A) اشتُريت من السوق المحلية، وشاي أبيض (Wt-S) وشاي أبيض (Wt-P) مصدرهما الصين. (الشكل 2).

الشكل (2) أنواع الشاي المدروسة

المواد الكيميائية: أورتو حمض الفوسفور (نقاوة HPLC) من شركة Merck، ميتانول (نقاوة HPLC) من شركة Sham Lab. إيتانول وكلوروفورم من شركة Panreac، كاشف الفولين FCR والكيرستين (≤98%) وحمض الغاليك (97.5 -102%) من شركة Sigma، كربونات الصوديوم اللامائية من شركة Tekkim، خلات البوتاسيوم وكلوريد الألمينوم سداسي الماء من شركة Riedel-de Haën، إيبي غالو كاتشين غالات -(-) Epigallocatechin gallate (EGCG; 97.0%) من شركة Fluka. المواد والكواشف السابقة جميعها ذات نقاوة تحليلية، واستخدم الماء ثنائي التقطير في تحضير المحاليل جميعها.

الأجهزة:

- جهاز الطيف الضوئي المرئي وفوق البنفسجي T80+ UV/Vis Spectrometer- PG Instruments Ltd. مع مثبت لدرجة الحرارة PTC-2 Peltier temperature controller، إذْ ثُبتت للقياسات كلّها عند الدرجة 24 °C، ومتصل بحاسب آلي مزود ببرنامج UV WIN Spectrophotometer software Ver 5.1.1.
- جهاز كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء HPLC من نوع JASCO 980 مجهز بكاشف أشعة فوق البنفسجي JASCO-UV-970 ومضخة JASCO-PU-908 وجهاز إزالة الغازات JASCO-DG-980-50 وعمود من نوع ODS 150x0.46 mm، والجهاز متصل بحاسب آلي مزود ببرنامج BROWN.



الشكل (3) طريقة النقع المستمر

طرائق البحث

تحضير منقوع الشاي

سُخن 25 مل من الماء ثنائي التقطير في بيشر مغطى بورقة ألمنيوم إلى الدرجة 85±5°C، ثم رُفع البيشر عن السخان وأضيف إليه 0.50 غ من الشاي (نسبة 20 غ/لتر) مع التحريك الخفيف عدة مرات لترطيب الأوراق التي تبقى على السطح، ثم وُضع على حمام بخاري كما يوضّح الشكل (3) طوال مدة النقع (5 دقائق) مع إبقاء الغطاء. رُشح المنقوع بعد ذلك إلى عبوة زجاجية، بعد قياس درجة حرارته، وتُرك ليبرد إلى درجة حرارة الغرفة. أُخذ قسم من الرشاحة الناتجة لتعيين EGCG، وحُفظ الباقي في أنبوب مغلق عند الدرجة 4 °C إلى حين قياس محتوى متعددات الفينول الكلي والفلافونويدات الكلي.

كُرِّرت الخطوات السابقة من أجل مدد نقع مختلفة (30، 60، 180 دقيقة) لكل نوع من أنواع الشاي المدروسة وبتكرارية 3 مرات لكل عينة.

تعيين محتوى الفينولات الكلي (TP)

وضع 1000 ميكرولتر من رشاحة منقوع الشاي بعد تمديدها بالإيتانول 50% في أنبوب اختبار وأضيف إليها 4.8 مل ماء ثنائي التقطير و4 مل كربونات الصوديوم اللامائية (2%v/w) و200 ميكرولتر من كاشف الفولين. تُرك المزيج بعد التحريك في مكان بعيد عن الإضاءة المباشرة عند درجة حرارة الغرفة حتى لا يتخرب الكاشف مدة ساعة، ثم قيس الامتصاص بعد ذلك عند طول الموجة λmax= 750 nm بالاستناد إلى أنبوب شاهد يحوي المواد والكواشف السابقة جميعها باستثناء العينة حيث استبدل بها 1000 ميكرولتر من الإيتانول 50%. استُقرئت قيم التراكيز بالاستفادة من سلسلة معيارية محضرة بالطريقة نفسها باستخدام تراكيزَ من حمض الغاليك في الإيتانول 50% في المجال بين 0-150 مغ/ل (R^2=0.997)، وتم التعبير عن تراكيز الفينولات كمكافئات لحمض الغاليك (GaE) (Shaghaghi, Manzoori, & Jouyban, 2008).

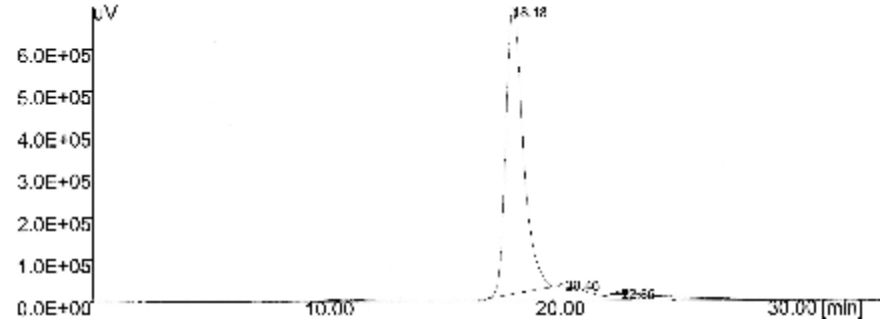
تعيين محتوى الفلافونويدات الكلي (TF)

وضع 1000 ميكرولتر من رشاحة منقوع الشاي بعد تمديدها بالإيتانول 50% في أنبوب اختبار، وأُضيف إليها 3 مل من الإيتانول 95% و200 ميكرولتر من محلول كلوريد الألمنيوم (10%v/w) و200 ميكرولتر من خلات البوتاسيوم (1 مول/ل) و5.6 مل ماء ثنائي التقطير، ثم تُرك الأنبوب بعد التحريك في مكان بعيد عن الإضاءة المباشرة عند درجة حرارة الغرفة مدة 40 دقيقة. قيس الامتصاص بعد ذلك عند طول الموجة λmax = 435 nm بالاستناد إلى أنبوب شاهد يحوي المواد والكواشف السابقة جميعها باستثناء العينة إذْ استبدل بها 1000 ميكرولتر من الإيتانول 50%. استُقرئتْ قيم التراكيز بالاستفادة من سلسلة معيارية محضرة بالطريقة نفسها باستخدام تراكيزَ من الكيرستين في الإيتانول 50% في المجال بين 5-100 مغ/ل (R^2=0.999)، وتم التعبير عن تراكيز الفلافونويدات كمكافئات للكيرستين (QE) (Shaghaghi M., Manzoori, Afshar, & Jouyban, 2009).

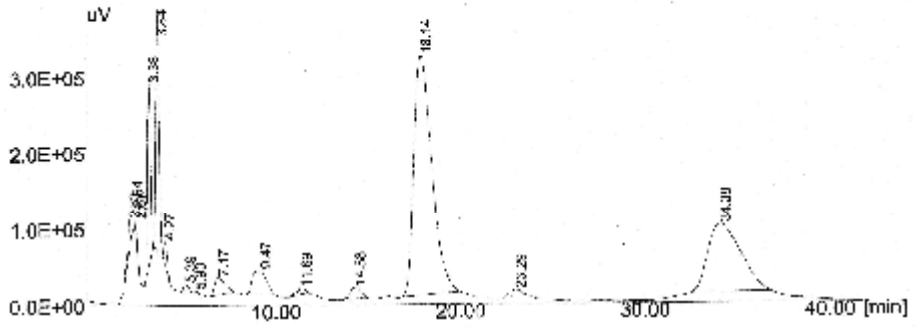
تعيين محتوى إيبي غالوكاتشين غالات (EGCG)

من أجل تعيين EGCG يجب إنقاص تركيز الكافيين والأصبغة مثل الكلوروفيل وبعض الشوائب اللاقطبية (Cheong, Park, Kang, Ko, & Seo, 2005; Row & Jin, 2006) الذي تم بإضافة 5 مل من الكلوروفورم إلى 10 مل من كل رشاحة ناتجة عن النقع ومُزج الطوران مدة 20 دقيقة تقريباً، ثم فُصلت الطبقة المائية، كُررّت الخطوة السابقة باستخدام 5 مل جديدة من الكلوروفورم، ثم فُصلت الطبقة المائية ومُددتَ بعامل تمديد مناسب بالماء ثنائي التقطير وحُفظت عند درجة الحرارة 4C° إلى حين تحليلها باستخدام جهاز الـHPLC.

حُقن 20 ميكرولتراً من العينة في جهاز الـ HPLC باستخدام الطور المتحرك ماء/ميتانول/حمض فوسفور 0.3:20:79.7 % حجماً (Wang, Helliwell, & You, 2000) بمعدل تدفق 1.2 مل/د، وكُشف عن الـEGCG عند طول الموجة 210 nm، إذْ كان زمن الاستبقاء في هذه الشروط نحو 18 دقيقة كما يُظهر الكروماتوغرام في الشكل (4) والشكل (5). استقرئتْ قيم التراكيز بالاستفادة من سلسلة معيارية محضرة من الـEGCG في المجال بين 0.7 - 250 مغ/ل (R^2=0.999).



الشكل (4) كروماتوغرام EGCG المعياري بتركيز 250مغ/ل



الشكل (5) كروماتوغرام عينة شاي Wt-S بعد النقع مدة 180 دقيقة

معالجة النتائج إحصائياً

استخدم لمعالجة النتائج برنامج IBM SPSS Statistics 20.0، وهي حزمة برمجية للتحليل الإحصائي وإدارة البيانات، إذْ كُررت كل تجربة 3 مرات (n=3) وبمجال ثقة 95% (α=0.05).

النتائج والمناقشة

تعدُّ طريقة النقع المستمر تطبيقاً لتحضير الشاي باستخدام السماور. أُدرجت قيم تراكيز متعددات الفينول والفلافونويدات والـــEGCG في منقوع أنواع الشاي المدروسة باختلاف زمن النقع وبثبات درجة الحرارة في الجدول (1).

الجـــدول (1) المحتـــوى الكلـــي لمتعـــددات الفينـــول (مـــغGaE/غ شـــاي) والفلافونويـــدات (مغQE/غ شاي) والـــEGCG (مغEGCG/غ شاي) في منقوع أنـــواع الـــشاي المدروسة باختلاف زمن النقع وبثبات درجة حرارة ماء النقع الابتدائيـــة (5±85 °C). الانحراف المعياري±المتوسط، (n=3، α=0.05)

نوع الشاي	زمن النقع (دقيقة)	TP	TF	EGCG
Bt	5	136.6 ± 10.1	5.65 ± 0.42	3.15 ± 0.25
	30	160.4 ± 4.1	6.71 ± 0.28	3.86 ± 0.22
	60	152.2 ± 12.4	6.59 ± 0.32	3.79 ± 0.83
	180	168.0 ± 20.9	7.91 ± 1.14	4.46 ± 0.48
Gt	5	90.7^{a} ± 2.7	2.19^{a} ± 0.33	23.68 ± 0.40
	30	168.5^{b} ± 1.4	4.18^{b} ± 0.23	37.61 ± 10.78
	60	169.3^{b} ± 12.7	$4.85^{b,c}$ ± 0.41	43.98 ± 4.53
	180	198.6^{b} ± 14.6	5.84^{c} ± 0.33	33.35 ± 2.95
Wt-S	5	22.1^{a} ± 4.1	0.19^{a} ± 0.06	7.60^{a} ± 1.81
	30	92.5^{b} ± 15.6	$0.86^{a,b}$ ± 0.22	26.65^{b} ± 3.31
	60	133.1^{b} ± 10.6	$1.52^{a,b}$ ± 0.29	31.21^{b} ± 1.25
	180	223.4^{c} ± 9.1	2.89^{b} ± 0.86	45.28^{c} ± 0.52
Wt-P	5	35.7^{a} ± 6.5	1.18^{a} ± 0.22	9.10^{a} ± 2.13
	30	103.6^{b} ± 12.4	3.85^{b} ± 0.22	$21.74^{a,b}$ ± 4.17
	60	$166.0^{b,c}$ ± 14.1	$4.83^{b,c}$ ± 0.28	31.08^{b} ± 3.12
	180	160.1^{c} ± 1.4	5.80^{c} ± 0.47	$21.99^{a,b}$ ± 0.52
Wt-A	5	108.6^{a} ± 0.1	4.93^{a} ± 0.02	20.16 ± 0.50
	30	133.6^{a} ± 5.5	6.35^{b} ± 0.01	22.16 ± 0.58
	60	138.9^{a} ± 2.7	6.21^{b} ± 0.31	25.50 ± 3.19
	180	193.4^{b} ± 16.5	9.85^{c} ± 0.08	27.97 ± 1.91

^{a,b,c} تدل الأحرف على وجود فرق معنوي في التركيز بين أزمنة النقع لكل نوع شاي على حدة استناداً إلى برنامج SPSS.

يُلاحظ من القيم المدرجة في الجدول السابق أن تراكيز كل مـــن الـــــTP والـــــTF والـــEGCG للشاي الأسود بقيت ثابتةً تقريباً بازدياد زمن النقع إذْ يتحرر أعلى تركيز من هذه المركبات إلى المنقوع خلال الدقائق الخمس الأولى من النقع.

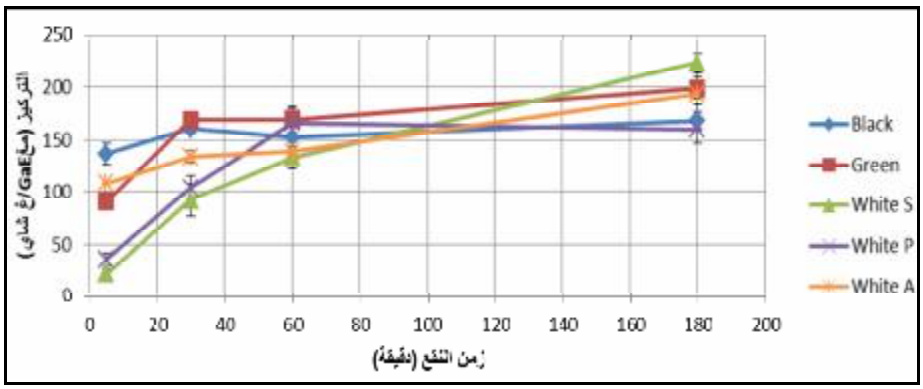
ويلاحظ ازدياد تركيز كل من الـــTP والـــTF في منقوع الشاي الأخـــضر بعـــد 30 دقيقة من النقع بالنسب 85.8% و90.9% على الترتيب مقارنة بقيم التراكيز بعد 5 دقـــائق من النقع، استمر بعدها تركيز الـــTF بالازدياد حتى بلغ نسبة 166.6% من قيمة التركيز عند النقع مدة 5 دقائق، في حين بقي تركيز الـــTP ثابتاً حتى نهاية مدة النقع. أمَّا تركيز الـــEGCG فبقي ثابتاً تقريباً عند أزمنة النقع جميعها، إذْ إنّ التناقص المُلاحظ فـــي قـــيم الـــEGCG بعد 180 دقيقة من النقع غير معنوي استناداً إلـــى برنـــامج SPSS. وهـــذا بخلاف ما وجده فريق بحث D.Labbé عند دراسته لمنقوع الشاي الأخـــضر إذْ اســـتُخدم حماماً مائياً درجة حرارته بين (°C 50-80) ومدداً زمنية (5-80 دقيقـــة) واســـتنتج أن تركيز الـــEGCG يزداد بازدياد زمن النقع ودرجة حرارة المنقوع (Labbé, Tremblay, & Bazinet, 2006).

أما بالنسبة إلى منقوع الشاي Wt-S فقد ازدادت تراكيز الـــTP والـــTF والـــEGCG بعد النقع مدة 30 دقيقة بالنسب 318.6% و352.6% و250.7% على الترتيب مقارنة بقيم التراكيز عند النقع مدة 5 دقائق. واستمر تركيز هذه المركبات بالازدياد حتى نهاية مـــدة النقع (180 دقيقة) بالنسب 910.9% و1421.1% و495.8% مقارنة بقيم التراكيـــز بعـــد الدقائق الخمس الأولى من النقع. يمكن أن يعود سبب هذا الازدياد الكبير في التركيز إلى شكل هذا النوع من الشاي إذْ يتألف من البراعم التي تحمل شعيرات بيضاء صغيرة كارهة للماء، ومن ثمَّ يصبح ترطيب الأوراق أكثر كفاءة وقدرة على تحرير كميات أكبـــر مـــن المواد المدروسة إلى المنقوع بزيادة زمن النقع عند درجة حرارة مرتفعة وثابتة.

وفي منقوع الشاي Wt-P ازداد تركيز كل من الـــTP والـــTF بعد النقـــع مـــدة 180 دقيقة بالنسب 348.5% و391.5% على الترتيب مقارنة بقيم التراكيز عند النقـــع مـــدة 5 دقائق. وازداد تركيز الـــEGCG بعد النقع مدة 60 دقيقة بنسبة 241.5% مقارنة بقيمـــة التركيز عند النقع مدة 5 دقائق، في حين تناقص تركيزه عند النقع مدة 180 دقيقة بنـــسبة 29.3% مقارنة بالتركيز عند النقع مدة 60 دقيقة. يمكن أن يكون سبب هذا التناقص فـــي تركيز الـــEGCG ظاهرة التماكب الإيبيميري (Epimerization) إذْ يتحول جـــزء مـــن الـــEGCG إلى مماكبه GCG، وهذا ما لاحظه فريق عمل Wang عند دراسة الـــشاي الأخضر(Wang & Helliwell, 2000) مع الإشارة إلى أن الشاي الأبيض Wt-P يحـــوي بعض الأوراق الخضراء فضلاً عن البراعم.

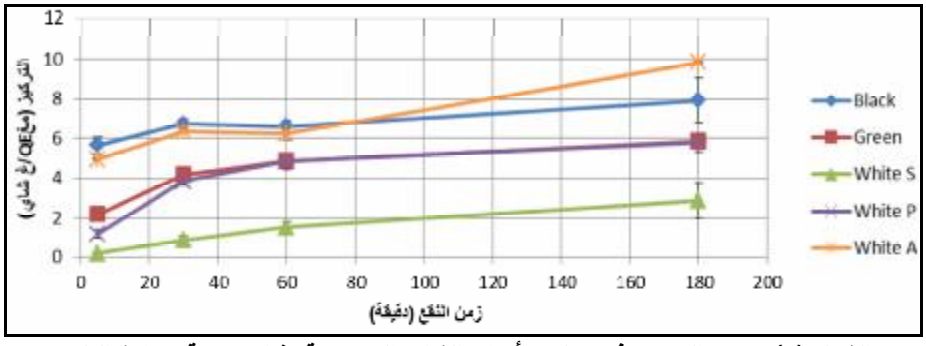
لوحظ أخيراً في منقوع الشاي Wt-A ازدياد تركيز كل من الـــTP والـــTF بعد النقع مدة طويلة (180 دقيقة) بنسبة 78.1% و99.8% على الترتيب مقارنة بقيم التراكيز عنـــد النقع مدة 5 دقائق، في حين لم يُلاحظ أي ازدياد معنوي فـــي قـــيم الـــــEGCG. أي إنَّ الشكل المطحون لهذا النوع من الشاي قد يساعد على تحرير الكمية العظمى من EGCG في أقل زمن نقع (5 دقائق).

يُلاحظ لدى مقارنة تراكيز متعددات الفينول الكلية المتحررة في منقوع أنواع الـشاي المختلفة عند النقع بثبات درجة الحرارة (°C 5±85) ازدياد التركيز بازدياد زمـن النقـع (الشكل 6)، ويظهر من الشكل تقارب كمية متعددات الفينول المتحررة من أنواع الـشاي الخمسة المدروسة بعد النقع مدة تتجاوز 60 دقيقة. ومن ثمَّ فإن النقع لهـذه المـدة كـاف للحصول على تركيز مرتفع من متعددات الفينول من معظم أنواع الشاي المدروسة.



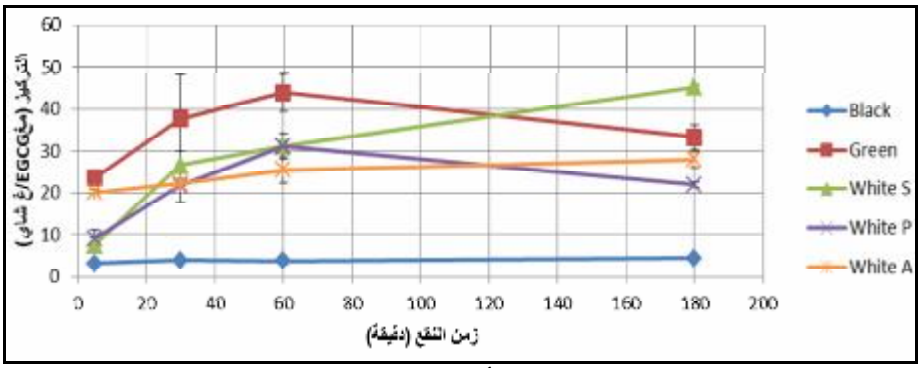
الشكل (6) تركيز الـــTP في منقوع أنواع الشاي المدروسة بثبات درجة حرارة النقع

بمقارنة تراكيز الفلافونويدات الكلية بين أنواع الشاي المختلفة عند النقع بثبات درجـة الحرارة (°C 5±85) يُلاحظ ازدياد تركيز الفلافونويدات في المنقوع بازدياد زمن النقـع (الشكل 7)، إذْ يظهر أن قيم التراكيز الأعلى كانت للشاي الأسود والأبيض Wt-A، وقـد يعود السبب إلى أن أوراق هذين النوعين مطحونة، أي إنها ذات سطح تماس كبير، فيكون تحرر الفلافونويدات سهلاً وسريعاً. ويُلاحظ أيضاً أن الشاي الأخـضر والأبـيض Wt-P متقاربان جداً في قيم تركيز الـــTF عند مختلف أزمنة النقع، الذي يمكن أن يُفسر باحتواء هذا النوع من الشاي الأبيض على بعض الأوراق الخضراء للشاي. ويُلاحـظ كـذلك أن للشاي الأبيض Wt-S المحتوى الأقل من الـــTF وذلك لأنه يتكـون مـن البـراعم ذات الشعيرات الكارهة للماء فهو يحتاج زمن نقع أطول من 180 دقيقـة لتترطـب البـراعم وتتفتح في الماء الساخن.



الشكل (7) تركيز الــTF في منقوع أنواع الشاي المدروسة بثبات درجة حرارة النقع

يُلاحظ بمقارنة تركيز الكاتشين EGCG في منقوع أنواع الشاي المختلفة عند النقع بثبات درجة الحرارة (85±5 °C) (الشكل 8) ازدياد كبير للتركيز في منقوع الشاي الأبيض Wt-S بعد النقع مدة 180 دقيقة، وثباته في منقوع كل من الشاي الأسود والأخضر والأبيض Wt-A. من جهة أخرى يتميّز منقوع الشاي الأسود بأقل محتوى للــEGCG بين أنواع الشاي المدروسة الذي قد يعود لتكاثف مجموعة من الكاتشينات لتشكيل مركبات التيافلافينات والتياروبينات المسؤولة عن اللون الأحمر لمنقوعه (Harbowy, Balentine, Davies, & Cai, 1997)، في حين يكون التركيز الأعظمي لــEGCG في منقوع الشاي الأخضر والأبيض Wt-S. ويُلاحظ أيضاً تناقص تركيز الــEGCG في منقوع الشاي الأبيض Wt-P بعد 180 دقيقة من النقع الذي يمكن أن يعود إلى تحول جزء من الــEGCG إلى مماكبه الإيبيميري GCG، ولم يُسجل في هذه الحالة أي تناقص في كمية الــTP المتحررة، إذ إنَّ الــGCG من متعددات الفينول أيضاً ويُقاس معها، ولكنه يعطي قمة مختلفة عن قمة الــEGCG عند تحليله باستخدام جهاز الــHPLC.



الشكل (8) تركيز الــEGCG في منقوع أنواع الشاي المدروسة بثبات درجة حرارة النقع

الاستنتاجات

يختلف محتوى متعددات الفينول الكلية في كل نوع من أنواع الشاي المدروسة بحسب القيم في الجدول (1)، ومع ذلك تعطي طريقة النقع المستمر بثبات درجة الحرارة قيماً متقاربة من تراكيز هذه المركبات في منقوع أنواع الشاي جميعها بعد 60 دقيقة من النقع عند درجة الحرارة 85±5 °C. يؤدي النقع الطويل (> 60 دقيقة) عند درجة حرارة ثابتة إلى فقدان جزء من كمية الـEGCG المتحررة في منقوع الشاي الأبيض Wt-P على وجه الخصوص، الذي قد يعود سببه إلى ظاهرة التماكب الإيبيميري بين EGCG وGCG. بالنسبة إلى الشاي الأبيض Wt-S، تزداد كمية الـEGCG المتحررة في منقوعه بازدياد زمن النقع، في حين لم يؤثر زمن النقع في الكميات المتحررة للـEGCG في منقوع الشاي الأسود أو الشاي الأخضر أو الشاي الأبيض Wt-A.

لذلك يُنصح (عند استخدام هذه الطريقة في تحضير منقوع هذه الأنواع من الشاي بنسبة 20 غ من الشاي في لتر من الماء) أن يستمر النقع ساعة واحدة فقط، إذ تكفي هذه المدة لتحرير أكبر كمية ممكنة من متعددات الفينول والكاتشين EGCG، وأي زيادة في زمن النقع لن تؤدي إلى زيادة ملحوظة في تراكيز هذه المواد، بل قد تتسبب في خسارة بعض المركبات المرغوب فيها فضلاً عن هدر الطاقة والوقت.

تختلف الطريقة الفُضلى للنقع من مستهلك إلى آخر، ولكن إذا كان المرغوب فيه عند تحضير الشاي كمية مرتفعة من الـEGCG فينصح بشرب الشاي الأخضر المحضر بنسبة 20 غ في لتر من الماء بطريقة النقع المستمر بثبات درجة الحرارة مدة ساعة ، أو الشاي الأبيض Wt-S المنقوع مدة 3 ساعات بالنسبة السابقة نفسها. وإذا كان المرغوب فيه كمية مرتفعة من الفلافونويدات فينصح بشرب الشاي الأبيض Wt-A المحضر بهذه الطريقة مدة 3 ساعات أو الشاي الأسود المنقوع مدة 5 دقائق أيضا بالنسبة نفسها. أمَّا إذا كان المرغوب فيه كمية مرتفعة من متعددات الفينول فيُنصح بشرب الشاي الأبيض Wt-S المحضر بهذه الطريقة مدة 3 ساعات أو الأخضر مدة ساعة.

REFERENCES

Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R., & Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine, 5*(13), 1-9.

Cheong, W. J., Park, M. H., Kang, G. W., Ko, J. H., & Seo, Y. J. (2005). Determination of Catechin Compounds in Korean Green Tea Infusions under Various Extraction Conditions by High Performance Liquid Chromatography. *Bull. Korean Chem. Soc, 26*(5), 747-754.

Hara, Y., Lou, S.-J., Wickremasinghe, R., & Yamanishi, T. (1995). V.Chemical composition of tea. *Food Reviews International, 11*(3), 435-456.

Harbowy, M., Balentine, D., Davies, A., & Cai, Y. (1997). Tea chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences, 16*(5), 415-480.

Kyle, J., & Duthie, G. (2006). Flavonoids in Foods. In Ø. M. Andersen, & K. R. Markham (Eds.), *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications* (p. 239). CRC, Taylor & Francis.

Labbé, D., Tremblay, A., & 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), 1-9.

Martin, L. C. (2007). *Tea: The Drink That Changed the World* (1st Edition ed.). USA: Tuttle Publishing.

Nagle, D. G., Ferreira, D., & Zhou, Y.-D. (2006). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives. *Phytochemistry, 67*, 1849-1855.

Row, K. H., & Jin, Y. (2006). Recovery of catechin compounds from Korean tea. *Bioresource Technology, 97*(5), 790-793.

Sajilata, M., Bajaj, P. R., & Singhal, R. (2008). Tea Polyphenols as Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 7*(3), 229-254.

Shaghaghi, M., Manzoori, J. L., & Jouyban, A. (2008). Determination of total phenols in tea infusions, tomato and apple juice by terbium sensitized fluorescence method as an alternative approach to the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method. *Food Chemistry, 108*(2), 695-701.

Shaghaghi, M., Manzoori, J., Afshar, D., & Jouyban, A. (2009). Determination of flavonoids in pharmaceutical preparations using terbium sensitized fluorescence method export citation. *DARU - Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, 17*(4), 264-268.

Song, G., Lin, J., Qu, F., & Huie, C. (2003). Extraction of catechins and caffeine from different tealeaves and comparison with miceller electokinetic chromatography. *Chinese Science Bulletin, 48*(22), 2438-2443.

Wang, H., & Helliwell, K. (2000). Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chemistry, 70*(3), 337-344.

Wang, H., Helliwell, K., & You, X. (2000). Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chemistry, 68*(1), 115-121.