

## اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و pH چای سبز در زمان‌های مختلف دم‌گذاری

طاهره رزاقی<sup>۱</sup>، مریم سلامی<sup>۲\*</sup>، مهناز قمی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد شیمی صنایع غذایی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> دکتری صنایع غذایی، استادیار - گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

<sup>۳</sup> دکتری شیمی تجزیه، استادیار - گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### چکیده

علاقه به مصرف غذاها و نوشیدنی‌های اسیدی روبه افزایش است. تجمع اسید در بدن به ایجاد بعضی از بیماری‌های مزمن کمک می‌کند. از این رو مصرف رژیم غذایی قلیایی برای سلامتی مفید است. هدف از این تحقیق بررسی تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و pH دم‌کرده چای سبز، به عنوان دومین نوشیدنی در تمام جوامع، در مدت زمان ۰-۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری است. همچنین اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش بر این دو پارامتر بررسی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی طبق روش رنگ سنجی ABTS و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و pH با استفاده از pH متر دیجیتال و در دمای اتاق، در زمان‌های ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری، مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام شد. نتایج نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز در آب بدون یون، در مدت زمان ۰-۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری کاهش معنی‌داری نداشت ( $p \geq 0/05$ ). نتایج مشابه در اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش نیز مشاهده شد ( $p \geq 0/05$ ). در مدت زمان ۰-۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری، pH دم‌کرده چای سبز افزایش یافت ( $p < 0/05$ )، pH دم‌کرده‌های چای سبز و عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش pH پس از ۶۰ دقیقه در دم‌کرده چای سبز حاوی عصاره گل محمدی بیش تر بود؛ بنابراین نوشیدن چای سبز به همراه گل محمدی توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** چای سبز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گل محمدی، لیمو ترش، رژیم غذایی قلیایی

## ۱- مقدمه

چای یک دم کرده است که از برگ‌های شکسته گیاه همیشه سبز گرمسیری *Camellia sinensis* بدست می‌آید. چای رتبه دوم را در میان نوشیدنی‌هایی که به طور گسترده در تمام دنیا مصرف می‌شوند را دارد (یانگ و لیو، ۲۰۱۳). چای سبز به طور چشمگیری شامل مقادیر بالای پلی‌فنول‌ها در مقایسه با چای سیاه و اولانگ است که مربوط به تفاوت‌های فرآیند برگ چای پس از برداشت محصول است (نامال سینانایاکه، ۲۰۱۳). پلی‌فنول‌های چای سبز از دو پلی‌فنول ساده و پیچیده تشکیل شده است. بخش عمده پلی‌فنول‌ها در چای سبز مونومر فلاوونوئید به نام کاتچین‌ها و فلاوونول‌ها می‌باشد (ای-هاربوی و اِبالنتین، ۱۹۹۷) و بیشترین اثرات مطلوب چای سبز به کاتچین‌ها نسبت داده می‌شود (کی-آنانینگسی، شارما و ژئو، ۲۰۱۳). مهم‌ترین کاتچین‌ها شامل اپی‌کاتچین<sup>۱</sup>، اپی‌گالوکاتچین<sup>۲</sup>، اپی‌کاتچین‌گالات<sup>۳</sup> و اپی‌گالوکاتچین‌گالات<sup>۴</sup> می‌باشند. این ۴ کاتچین، ۵۰ - ۳۰ درصد از مواد جامد عصاره چای سبز و نزدیک به ۱۰ درصد از مواد چای سیاه را شامل می‌شوند (یانگ و لیو، ۲۰۱۳). اپی‌گالوکاتچین فراوان‌ترین ترکیب کاتچینی موجود در برگ‌های چای سبز، سیاه و اولانگ است (نامال سینانایاکه، ۲۰۱۳). این ترکیبات دارای ویژگی‌های فیزیولوژیکی، آنتی‌اکسیدانی، ضد پرفشاری خون، کاهش سرعت پوسیدگی دندان و افزودنی غذایی هستند (هوریه و کوهاتا، ۲۰۰۰). نتایج اثبات کرد که تنوع در روش آماده‌سازی چای از جمله مقدار چای و آب مورد استفاده، زمان دمگذاری، مقدار تلاطم و بهم خوردگی فاکتورهای اصلی تعیین کننده ترکیبات شیمیایی استخراج شده از برگ چای هستند (آستیل، آر-بیرچ، داکومبه و همکاران، ۲۰۰۱). مطالعات نشان می‌دهد مدت زمان بهینه برای دمگذاری چای سبز کیسه‌ای ۵ دقیقه است که باعث بیشترین بازده در میزان محتوی مواد جامد محلول در آب، ترکیبات فنولیک و فلاوونوئید می‌شود؛ مدت زمان استخراج طولانی‌تر ممکن است سبب افزایش اکسایش مواد فنولیک شود (یانگ و لیو، ۲۰۱۳). اخیراً علاقه فراوانی به جایگزینی گیاهان معطر و سرشار از اسانس به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدان و ضد باکتری در صنایع غذایی ایجاد شده است (سلیمان و بادئا، ۲۰۰۲). عصاره آبی-الکلی گل محمدی (*Rosa damascena Mill.*) دارای فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد قوی‌تر در مقایسه با اثر مهاری پراکسیداسیون چربی است (یاسا، معصومی، روحانی رنکوهی و همکاران، ۲۰۰۹). اجزای اصلی اسانس به دست آمده از قسمت‌های هوایی گل محمدی نونادسین، هنیکوسان، دوکوسان، سیترونلول و ۹- نونادسین هستند (معین، کرمی، تولایی و همکاران، ۲۰۱۰). بر اساس نتایج تحقیق دیگر لینالول، نرول، ژرانیول، ۱- نونادسین، n-تریکوزان، هگزاتریکوتتان و n-پنتاکوزان اجزای اصلی موجود در اسانس روغنی آن بودند (یاسا، معصومی، روحانی رنکوهی و همکاران، ۲۰۰۹). عملکرد دارویی این گیاه به ترکیب فنولیک فراوان موجود در آن نسبت داده می‌شود. ترکیب فنولیک دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های دارویی مانند آنتی‌اکسیدان‌ها، جاذب رادیکال آزاد، ضد سرطان، ضد التهاب، ضد جهش و ضد افسردگی است. اثرات دارویی مختلف گل محمدی شامل: اثر بر مغز و اعصاب (خواب‌آور، ضد درد، ضد تشنج)، اثر بر سیستم تنفسی (ضد سرفه)، اثر بر قلب و عروق، اثرات ضد ویروس ایدز (HIV)، اثر ضد دیابت، اثرات ضد میکروبی قوی در برابر برخی از باکتری‌ها و اثرات ضد پیری است (بسک آبادی، شافعی، صابری و همکاران، ۲۰۱۰). در تحقیقی دم کرده ۱۲ رقم از گلبرگ‌های خشک شده در هوای این گل به منظور سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل و کل محتویات آنتوسیانین مورد بررسی قرار گرفت. میزان محتوای فنول کل در چای گل رز ۱۱۹/۵ - ۵۰/۷ معادل میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک، در مقایسه با چای سبز ۶۲/۱ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک، بود. ارتباط روشنی بین سطح آنتوسیانین و فعالیت مهار رادیکال مشاهده نشد (وینکور، ردو، رزنیک و همکاران، ۲۰۰۶). بیش‌ترین اثرات درمانی گل محمدی در طب باستان شامل درمان دردهای شکمی و قفسه سینه، تقویت قلب، درمان خونریزی قاعدگی، مشکلات گوارشی و کاهش التهاب به خصوص در ناحیه گردن است. گلاب محصولی متداول از گل محمدی در ایران است که شامل ۵۰-۱۰ درصد اسانس رز است و بیش‌تر برای ایجاد آرامش و تمدد اعصاب مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صنایع غذایی گلاب ارزش غذایی بالایی دارد و

<sup>1</sup> - (-) epicatechin

<sup>2</sup> - (-)epigallocatechin

<sup>3</sup> - (-)epicatechin-3-gallate

<sup>4</sup> - (-)epigallocatechin-3-gallate

برخی مواد غذایی خاص با استفاده از این محصول تهیه می‌شوند (بسک آبادی، شافعی، صابری و همکاران، ۲۰۱۰). لیمو (*Citrus limon*) به عنوان یک میوه بهبود دهنده سلامتی، منبع غنی از ترکیبات فنولی، ویتامین ها، مواد معدنی، فیبر رژیمی، روغن‌های ضروری و کاروتنوئیدها است (آنزالز-مولینا، دومینگوئز-پرلس، مورنو و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به اثر مهاری لیمو در برابر میکروارگانیسم‌ها، یک ضدعفونی کننده کارآمد، بی‌ضرر و مقرون به صرفه است که فواید قابل توجهی برای سلامت انسان و بهداشت عمومی دارد (د-کاستلو، د-آلوری، د-گوتفر و همکاران، ۲۰۰۰). آب لیمو حاوی مقادیر قابل توجهی از فلاونون‌ها، هسپریدین و اریوسیتین است. همچنین آب لیمو منبع بسیار غنی از فلاونون‌ها است. دیوسمین به عنوان یکی از اجزای اصلی فلاونوئیدی این عصاره شناخته شده است. آب لیمو غنی از دو ترکیب "دیوسمتین ۸،۶ - di - c - گلوکوزید" و "اپیجنین c - di - گلوکوزید" است (گاتوسو، بارسا، گارجیولیا و همکاران، ۲۰۰۷). ترکیب آب و آب لیمو، حلال مؤثر در استخراج ترکیبات فنولی چای سبز در ۵ دقیقه اول استخراج است که نشان می‌دهد سرعت استخراج ترکیبات فنولی از چای سبز با آب، می‌تواند توسط افزودن آب لیمو افزایش یابد. این تغییر سرعت می‌تواند با توجه به تغییر در pH حلال استخراج کننده باشد. تغییر در pH می‌تواند بر کنتیک مهاجرت کاتچین‌ها تأثیر داشته باشد، زیرا کاتچین‌ها به دلیل داشتن گروه‌های OH از تغییرات pH تأثیر می‌گیرند و در نتیجه یک یونیزاسیون مولکولی اتفاق می‌افتد. بازده استخراج مواد جامد چای در pH پایین افزایش می‌یابد (روساک، کومس، لایکس و همکاران، ۲۰۰۸). در پژوهشی اثر چای بدون شیر، چای با شیر و چای با لیمو بر سطح پراکسیداسیون لیپیدی سرم (به عنوان یک پارامتر شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد) بررسی شد. نتایج نشان داد که کاهش قابل توجهی در سطح پراکسیداسیون لیپیدی سرم (مالون آلدئید)، نیم ساعت پس از مصرف چای لیمو و چای بدون شیر وجود دارد که با گذشت زمان به میزان طبیعی می‌رسد. این کاهش در مورد چای لیمو نسبت به چای بدون شیر، پس از نیم ساعت یا یک ساعت مصرف، بسیار قابل توجه است. از این رو چای بدون شیر منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌ها است و علاوه بر این افزودن لیمو به چای خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش می‌دهد (تواری، گوپتا و باتاچاریا، ۲۰۰۰). چنانچه بدن در شرایط اسیدی قرار بگیرد، باعث بروز بیماری‌های مختلفی از جمله فرسایش دندان‌ها (آکیوز و یارات، ۲۰۱۰)، بیماری‌های متابولیک استخوان، سنگ کلیه کلسیمی و بیماری‌های مزمن می‌شود (ام-مینچ و اس-بلند، ۲۰۰۷). پوسیدگی دندان به دلیل میکروارگانیسم‌های فراوان موجود در دهان مثل استرپتوکوک موتانس اتفاق می‌افتد. استرپتوکوک‌های گروه موتانس و لاکتوباسیل‌ها که قادر به تولید مقادیر زیادی اسید بوده، تحمل بالایی نسبت به محیط اسیدی دارند. چای سبز می‌تواند سطح استرپتوکوک موتانس در جریان بزاق را به طور چشمگیری کاهش دهد و در نتیجه احتمال پوسیدگی کاهش یابد. از دیگر مکانیسم‌های دخیل در کاهش پوسیدگی دندان می‌توان به تأثیر چای سبز در کنترل pH اشاره کرد (طحانی، مستأجران، فقیهیان و همکاران، ۲۰۱۴). در این مقاله اثر افزودن عصاره گل محمدی و لیمو ترش بر حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز و تأثیر آنها بر pH دم‌کرده چای سبز تا یک ساعت پس از دم‌گذاری چای بررسی شده است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

معرف ABTS<sup>1</sup>، پتاسیم پرسولفات، دی سدیم هیدروژن فسفات، سدیم دی هیدروژن فسفات، آسکوربیک اسید از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. چای سبز، عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش نیز از فروشگاه محلی تهیه شدند.

### ۲-۲- آماده‌سازی نمونه‌های دم‌کرده چای

<sup>1</sup> - 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)

میزان ۲ گرم نمونه چای سبز را با استفاده از ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) بر روی شیشه ساعت توزین و در قوری چینی ریخته شد. سپس برای آماده‌سازی هر نمونه مراحل زیر انجام شد:

۱- آماده‌سازی نمونه‌های دم‌کرده چای سبز و چای سبز به همراه عصاره:

۱-۱- بر روی ۲ گرم نمونه چای سبز موجود در قوری چینی، ۱۰۰ میلی لیتر آب بدون یون جوشیده (۹۰ درجه سلسیوس) ریخته و به مدت ۵ دقیقه بر روی بخار آب جوش قرار می‌دهیم. عصاره حاصله را توسط قیف و کاغذ صافی در یک ارلن صاف کرده و به عنوان نمونه شماره ۱ (شاهد) در نظر می‌گیریم.

۱-۲- بر روی ۲ گرم نمونه چای سبز موجود در قوری چینی، ۱۰۰ میلی لیتر آب بدون یون جوشیده (۹۰ درجه سلسیوس) ریخته و به مدت ۵ دقیقه بر روی بخار آب جوش قرار می‌دهیم. عصاره حاصله را توسط قیف و کاغذ صافی در یک ارلن صاف کرده سپس به آن ۵ میلی لیتر عصاره گل محمدی افزوده و به عنوان نمونه شماره ۲ در نظر می‌گیریم.

۱-۳- بر روی ۲ گرم نمونه چای سبز موجود در قوری چینی، ۱۰۰ میلی لیتر آب بدون یون جوشیده (۹۰ درجه سلسیوس) ریخته و به مدت ۵ دقیقه بر روی بخار آب جوش قرار می‌دهیم. عصاره حاصله را توسط قیف و کاغذ صافی در یک ارلن صاف کرده سپس به آن ۵ میلی لیتر عصاره لیمو ترش افزوده و به عنوان نمونه شماره ۳ در نظر می‌گیریم (جدول ۱).

۲- نمونه‌های حاصل از مرحله ۱ را به مدت ۳۰ دقیقه، پس از دم‌گذاری، در دمای محیط قرار می‌دهیم.

۱- نمونه‌های حاصل از مرحله ۱ را به مدت ۶۰ دقیقه، پس از دم‌گذاری، در دمای محیط قرار می‌دهیم.

جهت بررسی تأثیر pH آب بر pH چای، مراحل ۱-۱، ۲ و ۳ برای نمونه‌های چای سبز دم‌گذاری شده با آب مقطر نیز تکرار شد.

طبق استاندارد شماره ۵۶۰۸، جهت دم‌گذاری چای به ازاء هر ۲ گرم چای، ۱۰۰ میلی لیتر آب جوش اضافه می‌شود.

جدول ۱- روش آماده‌سازی نمونه‌ها

شماره نمونه	وزن چای (g)	حجم عصاره (ml)	حجم آب بدون یون (ml)	دمای آب (c°)	زمان دم‌گذاری (min.)
۱*	۲	-	۱۰۰	۹۰	۵
۲	۲	۵	۱۰۰	۹۰	۵
۳	۲	۵	۱۰۰	۹۰	۵

\*نمونه شاهد

### ۳-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های دم‌کرده چای طبق روش ABTS اندازه‌گیری شد (کارلونی، تیانو، پادلا و همکاران، ۲۰۱۳). جهت تهیه محلول رادیکالی ABTS ( $ABTS^+$ )، ۲۲ میلی‌گرم ABTS و ۴ میلی‌گرم پتاسیم پرسولفات ( $K_2S_2O_8$ ) درون یک ظرف تیره، با آب بدون یون به حجم ۶ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۶-۱۲ ساعت در مکان تاریک و در دمای محیط نگهداری شد. قبل از استفاده، با استفاده از بافر فسفات ۵ میلی‌مولار ( $pH = 7/8$ ) این محلول حدود ۴۸ مرتبه رقیق شد تا در طول موج ۷۳۴ نانومتر، میزان جذب آن به  $(0/7 \pm 0/2)$  برسد (مصلحی‌شاد، احسانی، سلامی و همکاران، ۲۰۱۳). به  $2/227$  از محلول رادیکال آزاد،  $0/015$  میلی‌لیتر از دم‌کرده چای یا محلول استاندارد آسکوربیک اسید افزوده شد (کارلونی، تیانو، پادلا و همکاران، ۲۰۱۳). نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک و دمای اتاق نگهداری شدند. سپس میزان جذب آنها در طول موج ۷۳۴ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>۱</sup> (T80+ UV/Vis Spectrometer-PG Instruments Ltd) خوانده شد (مصلحی‌شاد، احسانی، سلامی و همکاران، ۲۰۱۳). درصد مهار رادیکال با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهارکنندگی} = ((A_1 - A_2) \div A_1) \times 100$$

$A_1$  = جذب محلول رادیکالی ABTS

$A_2$  = جذب نمونه

تمامی مقادیر با استفاده از رگرسیون خطی حاصله از منحنی استاندارد آسکوربیک اسید، به صورت غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر) معادل مهارکنندگی آسکوربیک اسید بیان می‌شوند (رگاوندرا، ردی، رگنووییر و همکاران، ۲۰۱۳).

### ۴-۲- اندازه‌گیری pH

pH نمونه‌های چای با استفاده از pH متر دیجیتال (Sana (pH. MV. TEM. / Meter) SL-901)، در دمای اتاق اندازه‌گیری شد.

### ۵-۲- روش تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تعیین اختلاف بین میانگین داده‌ها (سه تکرار جهت هر آزمون) پس از آنالیز واریانس، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان  $0/05$  استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲، انجام شد.

## ۳- نتایج

### ۱-۳- اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیموترش بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز

بر اساس جدول ۲، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز در سه زمان ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p \geq 0/05$ ). به طوریکه کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز از ۱۰۰ درصد در زمان صفر (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۹۵/۲۹ درصد و ۹۳/۴۱ درصد، در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) کاهش یافت. نتایج مشابه در اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیموترش نیز مشاهده شد. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز حاوی عصاره گل محمدی از ۱۰۰ درصد در زمان صفر (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۹۹/۹۹ درصد و ۹۹/۹۸ درصد، در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) کاهش یافت ( $p \geq 0/05$ ). کاهش فعالیت

<sup>1</sup> - Ultraviolet-visible spectroscopy

آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز حاوی عصاره لیمو ترش از ۱۰۰ درصد در زمان صفر (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۹۷/۶۰ درصد و ۹۳/۸۵ درصد، در زمان های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) کاهش یافت ( $p \geq 0.05$ ).

## جدول ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی ( $\mu\text{g/ml}$ ) دم‌کرده چای سبز و اثر عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در زمان‌های ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری

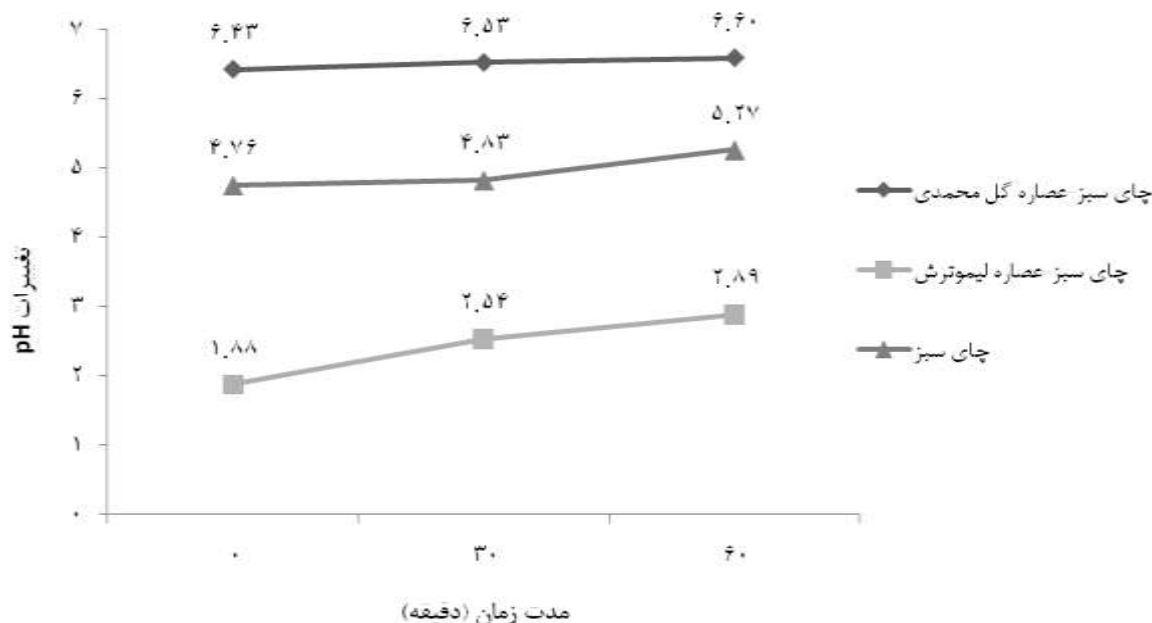
شماره نمونه	مدت زمان پس از دم‌گذاری (min.)	درصد مهارکنندگی (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	
			( $\mu\text{g/ml}$ )	(%)
دم‌کرده چای سبز				
۱*	۰	۹۹/۴۴ ± ۰/۰۴	۱۴۵۲/۷۲۶ ± ۲/۲۵ <sup>a</sup>	۱۰۰
۲	۳۰	۹۸/۱۴ ± ۰/۰۷	۱۳۸۴/۲۶۰ ± ۴/۷۲۴ <sup>a</sup>	۹۵/۲۹
۳	۶۰	۹۷/۶۲ ± ۱/۳۵	۱۳۵۷/۰۰۰ ± ۵/۱۲۴ <sup>a</sup>	۹۳/۴۱
دم‌کرده چای سبز - عصاره گل محمدی				
۱*	۰	۹۹/۳۲ ± ۰/۰۲	۱۴۴۶/۰۵۸ ± ۱/۱۹۲ <sup>a</sup>	۱۰۰
۲	۳۰	۹۹/۳۱ ± ۰/۰۶۹	۱۴۴۵/۸۶۰ ± ۴/۰۲۰ <sup>a</sup>	۹۹/۹۹
۳	۶۰	۹۹/۲۹ ± ۰/۳۲	۱۴۴۵/۷۸۱ ± ۳/۰۷۱ <sup>a</sup>	۹۹/۹۸
دم‌کرده چای سبز - عصاره لیمو ترش				
۱*	۰	۹۹/۳۹ ± ۰/۰۵	۱۴۴۹/۹۶۸ ± ۲/۸۵۷ <sup>a</sup>	۱۰۰
۲	۳۰	۹۸/۷۳ ± ۱/۱۳	۱۴۱۵/۱۷۰ ± ۵/۷۲۰ <sup>a</sup>	۹۷/۶۰
۳	۶۰	۹۷/۷۰ ± ۰/۷۶	۱۳۶۰/۸۰۶ ± ۴/۰۶۰ <sup>a</sup>	۹۳/۸۵

\*نمونه شاهد

حروف کوچک انگلیسی نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در غلظت‌های مشابه می‌باشد.

## ۲-۳- اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش بر تغییرات pH دم‌کرده چای سبز

pH دم‌کرده چای با گذشت زمان در هر سه نوع نمونه به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). با افزودن عصاره گل محمدی (pH= ۶/۱۸)، به چای سبز دم‌گذاری شده در آب بدون یون (pH= ۴/۷۸)، pH دم‌کرده از ۶/۴۳ در زمان صفر (۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۶/۵۳ و ۶/۶۰، در زمان های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) افزایش یافت. همچنین با افزودن عصاره لیمو ترش (pH= ۲/۵۴)، به چای سبز دم‌گذاری شده در آب بدون یون (pH= ۴/۷۸)، pH دم‌کرده از ۱/۸۸ در زمان صفر (۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۲/۵۴ و ۲/۸۹، در زمان های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) افزایش یافت. نمودار ۱ نتایج تغییرات pH در نمونه‌های چای سبز، چای سبز و عصاره گل محمدی، چای سبز و عصاره لیمو ترش که در آب بدون یون دم‌گذاری شده‌اند را در زمان‌های مختلف پس از دم‌گذاری چای نشان می‌دهد.



شکل ۱- نمودارهای تغییرات pH در دم کرده‌های چای سبز، چای سبز - عصاره گل محمدی، چای سبز - عصاره لیمو ترش در زمان‌های ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری

### ۳-۳- اثر مدت زمان بر تغییرات pH دم کرده چای سبز

اگرچه pH دم کرده چای سبز ارتباط مستقیم با pH آب داشت ( $p < 0/05$ )، اما با گذشت زمان دم‌گذاری، pH دم کرده چای سبز به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). به طوریکه pH چای سبز دم‌گذاری شده در آب بدون یون ( $pH = 4/78$ )، از ۴/۷۶ در زمان صفر (۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۴/۸۳ و ۵/۲۷، در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) افزایش یافت. همچنین pH چای سبز دم‌گذاری شده در آب مقطر ( $pH = 6/08$ )، از ۶/۴۳ در زمان صفر (۹۰ درجه سلسیوس) به ترتیب به ۶/۵۳ و ۶/۶۰، در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از دم‌گذاری (دمای محیط) افزایش یافت.

### ۴- بحث و نتیجه‌گیری

فاکتورهای اثرگذار بر ترکیبات نهایی دم کرده چای شامل ابعاد برگ‌های چای (آستیل، آر-بیرچ، داکومبه و همکاران، ۲۰۰۱)، قسمت‌های مختلف مورد استفاده گیاه چای است (ای-هاربوی و ای-بالتین، ۱۹۹۷). همچنین روش آماده‌سازی، از جمله مدت زمان استخراج، نسبت آب به برگ چای و دمای آب بر غلظت نهایی ترکیبات دم کرده چای مؤثر است (یانگ و لیو، ۲۰۱۳). بیشترین اثرات مطلوب چای سبز به کاتچین‌ها نسبت داده می‌شود (کی-آنانینگسی، شارما و ژئو، ۲۰۱۳)، این ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و به طور کامل با دم‌گذاری در آب داغ استخراج نمی‌شوند (هوریه و کوهاتا، ۲۰۰۰). استخراج کاتچین‌های چای در زمان‌های دم‌آوری طولانی و بیش از ۱۵ دقیقه حاصل می‌شود (نصیری‌راد، حدادخداپرست، الهامی‌راد و همکاران، ۲۰۱۳). گل محمدی دارای ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد قوی است (یاسا، معصومی، روحانی رنکوهی و همکاران، ۲۰۰۹). عملکرد دارویی این گیاه به ترکیب فنولیک فراوان موجود در آن نسبت داده می‌شود (بسک آبادی، شافعی، صابری و همکاران، ۲۰۱۰). اجزای اصلی اسانس این گیاه شامل نونادسین، هنیکوسان، دوکوسان، سیترونلول و ۹-نونادسین (معین، کرمی، تولایی و همکاران، ۲۰۱۰)، لینالول، نرول، ژرانیول، ۱-نونادسین، n-تریکوزان، هگزاتریکوتان و n-پنتاکوزان هستند (یاسا، معصومی، روحانی رنکوهی و همکاران، ۲۰۰۹). میزان محتوای فنول کل در چای گل رز ۱۱۹/۵ - ۵۰/۷ معادل میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک، در مقایسه با چای سبز ۶۲/۱ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک، است

(وینکور، ردو، رزنیک و همکاران، ۲۰۰۶). آب لیمو حاوی مقادیر قابل توجهی از فلاونون‌ها، هسپریدین و اریوسیتین است. همچنین آب لیمو منبع بسیار غنی از فلاون‌ها است (گاتوسو، بارسا، گارجیولیا و همکاران، ۲۰۰۷). در این تحقیق معیارهای اثرگذار نسبت برگ - آب ۱:۵۰، دمای آب ۹۰ درجه سلسیوس، مدت زمان دمگذاری ۵ دقیقه بود. نتایج ما نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز در آب بدون یون، در مدت زمان ۶۰-۰ دقیقه پس از دمگذاری کاهش معنی‌داری نداشت ( $p \geq 0/05$ )؛ اما pH دم‌کرده چای سبز در مدت زمان ۶۰-۰ دقیقه پس از دمگذاری به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $0/05 < p$ ). نتایج مشابه در اثر افزودن عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش نیز مشاهده شد؛ به طوریکه کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز حاوی عصاره‌های گل محمدی و لیمو ترش در مدت زمان ۶۰-۰ دقیقه پس از دمگذاری معنی‌داری نبود ( $p \geq 0/05$ )، اما در نمونه‌های چای سبز - عصاره گل محمدی میزان تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نسبت به نمونه‌های دیگر کم‌تر بود. بنابر نتایج مطالعات انجام شده افزودن لیمو به چای خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش می‌دهد (تواری، گوپتا و باتاچاریا، ۲۰۰۰). ترکیب آب و آب لیمو، حلال مؤثر در استخراج ترکیبات فنولی چای سبز در ۵ دقیقه اول استخراج است. این تغییر سرعت می‌تواند با توجه به تغییر در pH حلال استخراج کننده باشد. بازده استخراج مواد جامد چای در pH پایین افزایش می‌یابد (روساک، کومس، لایکیس و همکاران، ۲۰۰۸)؛ اما در این مطالعه چون چای سبز به روش چای کیسه‌ای دمگذاری شده است و پس از جدا کردن برگ چای، عصاره‌ها به آن افزوده شده است، این دو عصاره بر استخراج ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز اثر هم‌افزایی نداشتند. pH دم‌کرده چای حاوی عصاره گل محمدی و لیمو ترش نیز با گذشت زمان در هر سه نوع نمونه به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). pH دم‌کرده چای سبز - عصاره گل محمدی در هر سه زمان بیش‌تر از pH دم‌کرده چای سبز بود و pH دم‌کرده چای سبز - عصاره لیمو ترش کم‌تر از pH دم‌کرده چای سبز بود ( $p < 0/05$ ). بنابر نتایج این مطالعه، نوشیدن چایی که مدت زمانی از دمگذاری آن گذشته باشد، ارزش غذایی بالاتری خواهد داشت؛ چراکه در این مدت زمان خاصیت آنتی‌اکسیدانی دم‌کرده چای سبز کاهش معنی‌داری نداشت اما pH آن به طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابر مطالعات چنان‌چه بدن در شرایط اسیدی قرار بگیرد، باعث بروز بیماری‌های مختلفی از جمله فرسایش دندان‌ها (آکیوز و یارات، ۲۰۱۰)، بیماری‌های متابولیک استخوان، سنگ کلیه کلسیمی و بیماری‌های مزمن می‌شود (ام-مینچ و اس-بلند، ۲۰۰۷). این خاصیت در دم‌کرده چای سبز حاوی عصاره گل محمدی بیش‌تر بود و نوشیدن چای سبز به همراه گل محمدی و پس از گذشت مدت زمانی از دمگذاری در افراد حساس به رژیم غذایی اسیدی، توصیه می‌شود.

##### ۵-سپاسگزاری

نویسندگان مقاله علمی - پژوهشی حاضر از معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی جهت یاری رساندن در انجام طرح، صمیمانه قدردانی می‌نمایند.



## مراجع

1. Akyuz, S., & Yarat, A. (2010). The pH and neutralisable acidity of the most-consumed turkishfruit and herbal Teas. *Oral Health and Dentaln Management in the Black Sea Countries (OHDMBSC)*, IX,75-78.
2. Astill, C., R.Birch, M., Dacombe, C., G.Humphrey, Ph., & T.Martin, Ph. (2001). Factors Affecting The Caffeine And Polyphenol Contents Of Black And Green Tea Infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49,5340-5347.
3. Boskabady, MH., Shafei, MN., Saberi, Z., & Amini, S. (2011). Pharmacological Effects of Rosa Damascena. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 14,295-307.
4. Carloni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customu, Ch., Kay, A., & Damiani, E. (2013). Antioxidant Activity Of White, Green And Black Tea Obtained From The Same Tea Cultivar. *Food Research International*, 53,900-908.
5. De Castllo, MC., De Allori, CG., De Gutferre, RC., De Saab, OA., De Fernandez, NP., De Ruiz, CS., De Ruiz Holgado, A.P., & De Nader, O.M. (2000). Bactericidal Activity of Lemon Juice and Lemon Derivatives against *Vibrio Cholerae*. *Pharmaceutical Society of Japan*, 23,1235-1238.
6. E.Harbowy, M., & A.Balentine, D. (1997). Tea Chemistry. *Critical Reviews ill Plant Sciences*, 16,415-480.
7. Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U., & Caristi, C. (2007). Flavonoid Composition of CitrusJuices. *Molecules*, 12,1641-1673.
8. Horie, H., & Kohata, K. (2000). Analysis Of Tea Components By High-Performance Liquid chromatography And High-Performance Capillary Electrophoresis. *Journal Of Chromatography A*, 88,1425-438.
9. K.Ananingsih, V., Sharma, A., & Zhou, W. (2013). Green Tea Catechins During Food Processing And Storage: A Review On Stability And Detection. *Food Research International*, 50,469-479.
10. M.Minich, D., & S.Bland, J. (2007). Acid-alkaline balance: role in chronic disease and detoxification. *Alternative Therapies*, 13,62-65.
11. Moein, MR., Karami, F., Tavallali, H., & Ghasemi, Y. (2010). Composition of the Essential Oil of *Rosa damascene* Mill, From South of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6,59-62.
12. Moslehisad, M., Ehsani, MR., Salami, M., Mirdamadi, S., Ezzatpanah, H., Niasari Naslaji, A., & Moosavi-Movahed, A.A. (2013). The Comparative Assessment Of ACE-Inhibitory And Antioxidant Activities Of Peptide Fractions Obtained From Fermented Camel And Bovine Milk By *Lactobacillus Rhamnosus* PTCC 1637. *International Dairy Journal*, 29,82-87.
13. NamalSenanayake, SPJ. (2013). Green Tea Extract: Chemistry, Antioxidant Properties And Food Applications – A Review. *Journal Of Functional Foods*, 68,114-125.
14. Nassiri Rad, R., Haddad Khodaparast, MH., Elhami Rad, AH., & Roufigari Haghighat, Sh. (2013). A study on the Effect of Harvesting Season and Brewing Condition on Total Polyphenole Content in the Iranian Green Tea. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 8,349.
15. Onzález-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, DA., & García-Viguera C. (2010). Natural Bioactive Compounds of *Citrus limon* for Food and Health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51,327-345.
16. Raghavendra, M., Reddy, AM., Raghuvver Yadav, P., Sudharshan Raju, A., & Siva KumaR, L. (2013). Comparative Studies On The In Vitro Antioxidant Properties Of Methanolic Leafy Extracts From Six Edible Leafy Vegetables Of India. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 6,96-99.

17. Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzic, D., & Kovac, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110,852–858.
18. Soliman, KM., & Badeaa, RI. (2002). Effect of Oil Extracted from Some Medicinal Plants on Different Mycotoxigenic Fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 40,1669-1675.
19. Tahani, B., Mostajeran, E., Faghihian, R., Tavakol, F., Ehteshami, A., & Ziaei, S. (2014). Effects of Green Tea Products in Controlling and Decreasing the Periodontal Disease and Dental Caries- A Systematic Review. *Journal of Mashhad Dental School*, 38,169-184.
20. Tewari, S., Gupta, V., & Bhattacharya, S. (2000). Comparative Study of Antioxidant Potential of Tea With and Without Additives. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 44,215-219.
21. Vinokur, Y., Rodov, V., Reznick, N., Goldman, G., Horev, B., Umiei, N., & Friedman, H. (2006). Rose Petal Tea as an Antioxidant- rich Beverage: Cultivar Effects. *Journal of Food Science*, 71,842-847.
22. Yang, J., & H.Liu, R. (2013). The Phenolic Profiles And Antioxidant Activity In Different Types Of Tea. *International Journal of Food Science and Technology*, 48,163–171.
23. Yassa, N., Masoomi, F., Rohani Rankouhi, SE., & Hadjiakhoondi, A. (2009). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Extract and Essential oil of *Rosa damascena* from Iran, Population of Guilan. *DARU*, 17,175- 180.

## The effect of adding the rose and lemon extracts on green tea's antioxidant activity and pH at different times of brewing

Tahereh Razzaghi<sup>1</sup>, Maryam Salami<sup>2</sup>, Mahnaz Ghomi<sup>3</sup>

1- A senior expert of Food Industry Chemistry, Faculty of Science and New Technologies, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- PhD in Food Industry, Assistant Professor-Department of Food Industry's Science and Engineering, Faculty of Agriculture's Engineering and Technology, College of Agriculture, Tehran University, Tehran, Iran.

3-PhD in Analytical Chemistry, Assistant Professor-Department of Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Department of Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

---

### Abstract

Interest is increasing in using foods and acidic drinks. Acid accumulation in the body helps to create some chronic diseases. So the alkaline diet is beneficial to health. The aim of this study is evaluating the antioxidant and pH activity changes in brewed green tea, as the second drink in all communities, within 0-60 minutes after brewing. Also the effect of adding the rose and lemon extracts was evaluated on these two parameters. The antioxidant activity was measured according to ABTS colorimetry and by using a spectrophotometer device and by using the pH digital meter and at room temperature, at 0, 30 and 60 minutes after the brewing. Statistical analysis of the information was performed with Duncan's multiple range tests with a confidence level of 0.05. The results showed that the antioxidant activity of brewed green tea did not significantly reduce in deionized water, at the time 0-60 minutes after brewing ( $p \geq 0.05$ ). Similar results were also observed on effect of adding the rose and lemon extracts ( $p \geq 0.05$ ). PH of brewed green tea was increased within 0-60 minutes after brewing ( $p < 0.05$ ), pH of green tea and the rose and lemon extracts also were increased significantly ( $p < 0.05$ ). Maintaining the antioxidant feature and pH increase was more at brewed green tea consisting rose extract after 60 minutes; therefore drinking green tea with rose is recommended.

**Keywords:** Green tea, Antioxidant activity, Rose, Lemon, Alkaline diet

---